

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ- ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΧΕΡΣΑΙΩΝ ΚΑΙ  
ΘΑΛΑΣΣΙΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΟΡΩΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗΣ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ  
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : Α.Π. ΟΙΚΟΝΟΜΟΠΟΥΛΟΣ  
ΔΕΥΤΕΡΟΣ ΕΞΕΤΑΣΤΗΣ : Ε. ΖΟΥΡΟΣ

ΘΕΜΑ:

‘Τεχνητή εκτροφή προνύμφης δάκου ελιάς [*Bactrocera (=Dacus) oleae* (Rossi), Diptera-Tephritidae]: αντικατάσταση βασικού υλικού υφής μίγματος (κυτταρίνη χρωματογραφίας) από προσφορότερα και/ή φθηνότερα υλικά. Τροφές Εκκίνησης και Πετάτωσης προνυμφικού σταδίου, Επαναχρησιμοποίηση τροφών προνύμφης’



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΚΟΝΣΟΛΑΚΗ ΜΑΡΙΝΑ

Ηράκλειο  
Ιανουάριος 2005

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

## 1. Εισαγωγή

### 1.1 Θρέψη

1.1.1 Θρέψη εντόμων

1.1.2 Θρέψη του δάκου της ελιάς (*Bactrocera oleae*)

1.1.3 Συμβιωτικά βακτήρια

### 1.2 Μαζική εκτροφή εντόμων

1.2.1 Ποιότητα εκτρεφόμενων εντόμων

### 1.3 Δάκος ελιάς

1.3.1 Αναπτυξιακά στάδια του εντόμου

1.3.2 Θρεπτικό υπόστρωμα προνυμφών δάκου τεχνητής εκτροφής

### 1.4 Σκοπός μελέτης

## 2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στους πειραματικούς χειρισμούς

2.2 Τεχνητή εκτροφή εντόμων

2.2.1 Εκτροφή ενηλίκων

2.2.2 Συλλογή αυγών

2.2.3 Εκτροφή προνυμφών

2.2.4 Συλλογή νυμφών

2.3 Αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς

2.4 Εναλλακτικές μέθοδοι αξιοποίησης υποστρώματος εκτροφής προνυμφών

2.4.1 Μέθοδος Επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών (Recycling)

2.4.2 Μέθοδος Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης της εκτροφής προνυμφών (Starter-Finisher)

2.4.3 Συνδυασμός των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling

### **3. Αποτελέσματα**

**3.1 Αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς**

**3.2 Εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων αξιοποίησης υποστρώματος εκτροφής προνυμφών**

**3.2.1 Εφαρμογή μεθόδου Επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών (Recycling)**

**3.2.2 Εφαρμογή μεθόδου Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης της εκτροφής προνυμφών (Starter-Finisher)**

**3.2.3 Εφαρμογή συνδυασμού των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling**

### **4. Συζήτηση-Συμπεράσματα**

**4.1 Αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς**

**4.2 Εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων αξιοποίησης υποστρώματος εκτροφής προνυμφών**

**4.2.1 Μέθοδος Επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών (Recycling)**

**4.2.2 Μέθοδος Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης της εκτροφής προνυμφών (Starter-Finisher)**

**4.2.3 Συνδυασμός των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling**

**4.3 Γενικό συμπέρασμα**

**Περίληψη**

**Abstract**

**Πίνακες αποτελεσμάτων**

**Βιβλιογραφία**

**Ευχαριστίες**

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Θρέψη

### 1.1.1 Θρέψη εντόμων

Η ανάπτυξη των ασηπτικών καλλιεργειών (καλλιέργειες σε συνθήκες αποστείρωσης για την παρεμπόδιση μολύνσεων από μικροοργανισμούς του περιβάλλοντος) έκανε δυνατό τον προσδιορισμό των θρεπτικών αναγκών των εντόμων, χωρίς την παρεμβολή των μικροοργανισμών. Η χημική ανάλυση των εντόμων και των τροφών που καταναλώνουν έδειξε ότι τα έντομα καλύπτουν τις θρεπτικές τους ανάγκες από τα λίπη, τα αμινοξέα και τους υδατάνθρακες, με τη διαφορά ότι ο βαθμός χρησιμοποίησης της κάθε μίας από τις πηγές αυτές διαφέρει με το είδος του εντόμου. Πολλοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι τα βασικά θρεπτικά που χρησιμοποιούν τα έντομα και τα θηλαστικά είναι όμοια. Σύμφωνα με τους Hoskins and Graig (1935), τα έντομα και τα θηλαστικά έχουν καθορισμένες απαιτήσεις σε βασικά είδη διατροφής, τα οποία περιλαμβάνουν βιταμίνες και μέταλλα.

Τα έντομα χρειάζονται σχετικά μεγάλες ποσότητες αλάτων καλίου, μαγνησίου και φωσφόρου και πολύ μικρότερες νατρίου, ασβεστίου και χλωριδίων. Ορισμένα είδη χρειάζονται επιπλέον ίχνη ψευδαργύρου, σιδήρου, μαγγανίου και χαλκού. Τα αμινοξέα το έντομο τα εξασφαλίζει από την πέψη των πρωτεϊνών. Τα απαραίτητα για τα έντομα αμινοξέα είναι τα ίδια με αυτά των ανώτερων ζώων. Γενικά, μόνο τα L-αμινοξέα είναι χρησιμοποίησιμα από τα έντομα. Απαραίτητα αμινοξέα που λείπουν ή είναι ανεπαρκή στην τροφή, συχνά εξασφαλίζονται διαμέσου συμβιωτικών μικροοργανισμών (αναφορά στους συμβιωτικούς οργανισμούς γίνεται στην ειδική ενότητα 1.1.3 ) (Τζανακάκης 1995).

Τα λίπη είναι γνωστό ότι μεταβολίζονται και αποθηκεύονται για την παροχή ενέργειας και αν απουσιάζουν από την διατροφή, συντίθενται από άλλες τροφές. Οι ουσίες διαλυτών λιπιδίων έπαιξαν σημαντικό ρόλο στην έρευνα που αφορά τους παράγοντες ανάπτυξης (Hobson 1935). Οι τροφικές απαιτήσεις των εντόμων σε στερόλες είναι η μόνη αποδεδειγμένη διαφορά στις θρεπτικές απαιτήσεις εντόμων και θηλαστικών. Τα έντομα δεν μπορούν να συνθέσουν τον στερολικό δακτύλιο. Όλα σχεδόν τα έντομα χρειάζονται στερόλες ή τουλάχιστον μια στερόλη στην τροφή τους, την οποία τα πλείστα μπορούν να μετατρέψουν σε χοληστερόλη. Ορισμένες στερόλες είναι αναγκαίες για κανονική ωογένεση, εμβρυογένεση και προνυμφική ανάπτυξη,

ενώ άλλες είναι αναγκαίες και για την νύμφωση και ενηλικίωση του εντόμου, ή μόνο για την νύμφωση. Ορισμένες στερόλες, όπως η χοληστερόλη και η εργοστερόλη είναι πρόδρομες ουσίες των εκδυσονών (ορμονών έκδυσης) (Τζανακάκης 1995).

Η διαπίστωση ότι οι στερόλες και τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αποτελούν παράγοντες ανάπτυξης καθυστέρησε εξ' αιτίας της μεγάλης ευαισθησίας των εντόμων σε μικρές ποσότητες λιπιδίων.

Τα πιο πολλά είδη εντόμων χρειάζονται τις περισσότερες βιταμίνες του συμπλόκου Β με εξαίρεση τη Β<sub>12</sub>, και μεγαλύτερες ακόμα ποσότητες ινσιτόλης και χολίνης. Λίγα από τα είδη που μελετήθηκαν χρειάζονται ασκορβικό οξύ, α-τοκοφερόλη (βιταμίνη Ε) και καροτινοειδή συγγενή της βιταμίνης Α (Τζανακάκης 1995).

Οι απαιτήσεις σε βιταμίνη Α ή στους προδρόμους της β-καροτένιο και βιταμίνη Ε, δεν είχε διαπιστωθεί μέχρι σχετικά πρόσφατα (Dadd 1970). Οι βιταμίνες είναι αποτελεσματικές σε τόσο μικρές ποσότητες, που ακόμα και ίχνη αυτών σε 'καθαρά' λιπίδια μπορεί να είναι μολυσματικά. Επίσης, οι βιταμίνες μπορεί να μεταφέρονται από μία γενιά του εντόμου στην επόμενη μέσω του αυγού.

Τα ασκορβικό οξύ και η βιταμίνη C είναι ουσίες που δεν αναγνωρίστηκαν ως θρεπτικά εντόμων για πολλά χρόνια. Στις αρχικές προσπάθειες για την εκτροφή του φυτοφάγου εντόμου *Ostrinia nubilalis*, σε τεχνητό υπόστρωμα εκτροφής (Beck *et al.* 1949, Bottger 1942) παρουσιάστηκαν δυσκολίες εξαιτίας της αναγκαιότητας προσθήκης ενός άγνωστου τότε παράγοντα ανάπτυξης, του ασκορβικού οξέος (Chippendale and Beck 1964).

Ειδικοί παράγοντες ανάπτυξης για συγκεκριμένες ομάδες εντόμων έχουν περιληφθεί στην διατροφική έρευνα. Τα νουκλεϊκά οξέα και τα συνθετικά τους διεγείρουν την ανάπτυξη σε πολλά δίπτερα και σε ορισμένα κολεόπτερα (Dadd 1970). Οι Neville and Luckey (1971) αναφέρουν ότι τα βιοφλαβονοειδή αποτελούν παράγοντες ανάπτυξης για το *Acheta domesticus*.

Μια θρεπτικά ολοκληρωμένη διατροφή για τα περισσότερα έντομα σε ασηπτικές συνθήκες περιλαμβάνει το σύνολο ή μέρος των παρακάτω συστατικών: πρωτεΐνη ή αμινοξέα, υδατάνθρακες, λιπαρά οξέα, παντοθενικό οξύ, χοληστερόλη, χολίνη, ινσιτόλη, θειαμίνη, ριβοφλαβίνη, φολικό οξύ, πυριδοξίνη, βιοτίνη, βιταμίνη Β<sub>12</sub>, β-καροτένιο ή βιταμίνη Α, α-τοκοφερόλη, ασκορβικό οξύ, νικοτιναμιδίνη, διάφορα μέταλλα και νερό. Σε ορισμένες περιπτώσεις, συστατικά παρόμοιας σύνθεσης μπορούν να αντικαταστήσουν τα προαναφερόμενα ή να απαιτείται η προσθήκη επιπλέον συστατικών (Vanderzant 1966).

### 1.1.2 Θρέψη του δάκου της ελιάς

Ο δάκος της ελιάς (*Bactrocera oleae* Gmel.), ως ολομετάβολο δίπτερο έντομο φρούτων εμφανίζει έντονη διαφοροποίηση μεταξύ προνυμφικού και ώριμου σταδίου, όσον αφορά το είδος της τροφής και τα στοματικά εξαρτήματα (Christenson and Foote 1960). Ενώ οι προνύμφες διαθέτουν μασητικά στοματικά μόρια (γναθικά άγκιστρα), τα ενήλικα άτομα διαθέτουν μυζητήρα και τρέφονται απομυζώντας ποικίλες σακχαρούχες και αζωτούχες ουσίες στη φύση, πιθανότατα και μικροοργανισμούς, χωρίς να προκαλούν ζημιά σε φυτά ή άλλους οργανισμούς. Το ενήλικο θηλυκό ωοτοκεί και η προνύμφη που εκκολάπτεται τρέφεται και αναπτύσσεται μόνο στο μεσοκάρπιο της καλλιεργούμενης ελιάς (*Olea europaea*) και της αγριελιάς (*O. europaea* ssp. *oleaster*). Συνεπώς, ο δάκος της ελιάς είναι μονοφάγο έντομο, καθώς ο βιολογικός του κύκλος μπορεί να συμπληρωθεί μόνο στην ελιά (Τζανακάκης 1995).

Η θρέψη του εντόμου στο στάδιο της προνύμφης είναι πολύ σημαντική, αφού απαιτούνται θρεπτικά συστατικά, ποσοτικά και ποιοτικά, όχι μόνο για τον εφοδιασμό της προνύμφης με την απαιτούμενη ενέργεια για την επιβίωση και ανάπτυξη, αλλά και για την εναποθήκευση θρεπτικών και την αξιοποίηση τους στο στάδιο της νύμφης. Στο στάδιο της νύμφης τα θρεπτικά απαιτούνται για την μεταμόρφωση και μέρος αυτών μεταφέρεται στο στάδιο του ενηλίκου, κυρίως ως λιπίδια στο λιπώδη ιστό (Tsitsipis 1989). Ενήλικα άτομα του δάκου της ελιάς αμέσως μετά την έξοδο τους, επιβίωσαν για 1-2 ημέρες χωρίς τροφή, ενώ μετέφεραν αρκετή πρωτεΐνη για να ωριμάσουν μερικά αυγά (Fletcher 1987).

Μελέτες έδειξαν ότι ενώ το στάδιο της προνύμφης έχει αυξημένες ανάγκες τόσο σε πρωτεΐνες όσο και σε υδατάνθρακες και λίπη, στα ενήλικα άτομα παρατηρείται μια μειωμένη απαίτηση σε λιπίδια, ενώ οι ανάγκες σε υδατάνθρακες (ως πηγή ενέργειας) και σε αμινοξέα (συστατικά για πρωτεϊνοσύνθεση) εξακολουθούν να είναι μεγάλες (Tsiropoulos 1992). Η γνώση όσον αφορά τις ποσοτικές θρεπτικές ανάγκες του εντόμου και τη βιοδιαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων είναι ελλιπής. Το γεγονός αυτό, προκαλεί δυσκολίες στην διαπίστωση της σχέσης μεταξύ των αποτελεσμάτων της διατροφικής έρευνας και την ανάπτυξη και συμπεριφορά του εντόμου (Μανούκας 1994).

### 1.1.3 Συμβιωτικά βακτηρία

Πολλά είδη εντόμων έχουν συμβιωτικούς μικροοργανισμούς, συνήθως μύκητες ή βακτήρια, χρήσιμους ή απαραίτητους για την επιβίωση τους. Σε ορισμένα είδη οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι εξωκυτταρικοί και βρίσκονται συνήθως στον πεπτικό σωλήνα. Σε άλλα είδη οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί είναι ενδοκυτταρικοί και βρίσκονται σε ειδικά κύτταρα, που ονομάζονται μυκητοκύτταρα. Γενικά, οι συμβιωτές αυτοί έχουν ένζυμα για την πέψη ορισμένων συστατικών της τροφής του εντόμου, που το έντομο δε τα έχει, ή δίνουν στο έντομο ορισμένες βιταμίνες, αμινοξέα ή άλλες θρεπτικές ουσίες που το έντομο δε μπορεί να συνθέσει, ούτε να πάρει από την τροφή του. Τις ουσίες αυτές, που του παρέχουν οι συμβιωτικοί μικροοργανισμοί, το έντομο τις παίρνει είτε από τον περιβάλλοντα των συμβιωτών χώρο, είτε πέπτοντας τα κύτταρα των συμβιωτών (Τζανακάκης 1995).

Συμβιωτικές σχέσεις έχουν περιγραφεί σε πολλά είδη της οικογένειας Tephritidae. Ο Stammer (1929) εξέτασε 37 είδη της οικογένειας Tephritidae και κατέληξε ότι όλα σχετίζονται με συμβιωτικά βακτήρια. Η Hellmuth (1956) επέκτεινε τις έρευνες σε 43 είδη καταλήγοντας στο ίδιο συμπέρασμα, ενώ διαπίστωσε σημαντικό βαθμό συνεξέλιξης εντόμων και συμβιωτικών βακτηρίων, ιδιαίτερα στα είδη του γένους *Dacus* της υποοικογένειας Dacinae (Tsiropoulos 1992).

Πρώτος ο Petri (1910) περιέγραψε τη συμβιωτική σχέση του δάκου της ελιάς με το βακτήριο *Bacillus (Pseudomonas) savastanoi*. Από τότε οι περισσότερες μελέτες συνεχίζουν να αναφέρονται στα βακτήρια που σχετίζονται με τα δίπτερα των φρούτων, ως συμβιωτικοί οργανισμοί (Manousis and Ellar 1988). Μελετώντας τα βακτήρια που βρίσκονται στον πεπτικό σωλήνα του δάκου, ο Petri περιέγραψε και ένα άλλο βακτήριο το *Ascobacterium luteum*. Στην εργασία αυτή δηλώνεται ότι τα βακτήρια επαλείφονται στην επιφάνεια του αυγού από αδένες στο ορθό του εντόμου, που εκβάλουν στον ωαγωγό. Στην συνέχεια τα βακτήρια εισέρχονται στο αυγό μέσω της μικροπύλης. Στην προνύμφη τα βακτήρια αναπτύσσουν αποικίες σε τέσσερις θυλάκους στο μπροστινό τμήμα του μέσου εντέρου και από εκεί μεταφέρονται στο ενήλικο όπου ενσωματώνονται στον οισοφαγικό θύλακο (oesophageal diverticulum) που αναπτύσσεται στην νύμφη των πέντε ημερών (Mazzini and Vita 1981). Το *P. savastanoi* είναι ο συχνότερα απαντώμενος μικροοργανισμός της μικροχλωρίδας των φύλλων της ελιάς (Ercolani 1978).

Σύμφωνα με τους Hagen *et al.* (1963), η προνύμφη του δάκου της ελιάς έχει την ανάγκη παρουσίας εξωκυτταρικών συμβιωτικών βακτηρίων στον πεπτικό της σωλήνα για να μπορέσει να πέψει τις πρωτεΐνες του μεσοκαρπίου της ελιάς. Σύμφωνα με τους Narasaki and Katakura (1954), το βακτήριο *P. savastanoi* υδρολύει την πρωτεΐνη του

φρούτου για να την κάνει προσιτή στις προνύμφες και να τις εφοδιάσει με τα απαραίτητα αμινοξέα, μεθειονίνη και θρεονίνη στα οποία ο ελαιόκαρπος είναι ελλιπής.

Ο Hagen (1966) αναφέρει ότι η προσθήκη στρεπτομυκίνης, ως αντιβιοτικό, στην διαίτα των ενηλίκων θανατώνει τα συμβιωτικά βακτήρια *P. Savastanoi*. Σε αντίθεση με τους άλλους ερευνητές οι Yamvriasis *et al.* (1970) σημειώνουν την πλήρη αδυναμία ανίχνευσης τόσο του *P. savastanoi* όσο και του *A. luteum* στα αυγά και τον οισοφαγικό θύλακο φυσικών πληθυσμών του δάκου της ελιάς.

Οι Luethy *et al.* (1983) παρουσιάζουν στοιχεία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης, οισοφαγικών θυλάκων του δάκου της ελιάς όπου εμφανίζονται συμβιωτικά βακτήρια παρόλο που η αναγνώριση τους δεν έγινε δυνατή. Ο Tsiropoulos (1983) μετά από εξέταση οισοφαγικών θυλάκων και ωοθητών από πληθυσμούς εργαστηριακών και φυσικών εντόμων, κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπάρχει ένα αρκετά πιο πολύπλοκο σύστημα απ' ότι αρχικά πιστευότο. Η ύπαρξη εξωκυτταρικών συμβιωτικών βακτηρίων στον πεπτικό σωλήνα της προνύμφης είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη της σε ανώριμους (πράσινους) ελαιοκάρπους. Αυτό αποδείχθηκε με πειράματα κατά τα οποία προνύμφες που προήλθαν από θηλυκά τα οποία είχαν λάβει αντιβιοτικό, ή τοποθετήθηκαν σε καρπούς που υποβλήθηκαν σε αντιβιοτικά δεν κατόρθωσαν να αναπτυχθούν (Hagen 1966, Tzanakakis and Stavrinidis 1973). Στην περίπτωση κατά την οποία οι προσφερόμενοι καρποί έχουν περάσει σε ένα στάδιο ωρίμανσης ή στην περίπτωση που συλλέχθηκαν ανώριμοι και τοποθετήθηκαν για μεγάλο χρονικό διάστημα στο ψυγείο πριν να χρησιμοποιηθούν ως τροφή για τις προνύμφες, η ύπαρξη συμβιωτικών βακτηρίων δεν είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των προνυμφών (Fytizas and Tzanakakis 1966a, b). Τα συμβιωτικά βακτήρια φαίνεται ότι βοηθούν την προνύμφη να αξιοποιεί καλύτερα τις πρωτεΐνες του μεσοκαρπίου της ελιάς, καθώς προνύμφες προερχόμενες από έντομα που τρέφονται με τροφή που περιέχει στρεπτομυκίνη δεν κατορθώνουν να αναπτυχθούν σε τεχνητή τροφή, εκτός εάν περιλαμβάνονται σε αυτή υδρολυμένες πρωτεΐνες (Hagen *et al.* 1963, Hagen 1966). Πρέπει να σημειωθεί ότι ώριμοι καρποί ή καρποί που αποθηκεύονται για μεγάλες περιόδους στο ψυγείο περιέχουν περισσότερα ελεύθερα αμινοξέα, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά, απ' ότι οι ανώριμοι καρποί (Savva-Dimoroulou and Fytizas 1967).

Η ύπαρξη βακτηρίων στον οισοφαγικό θύλακο (Ratner and Stoffolano 1982, 1984) και στον πεπτικό σωλήνα σε διάφορα έντομα της οικογένειας Tephritidae, υποστηρίζει τη σπουδαιότητα της ύπαρξης των συμβιωτικών βακτηρίων για τα έντομα της οικογένειας αυτής, προσφέροντας ουσιώδη θρεπτικά συστατικά είτε αποικοδομώντας διάφορες



πρωτεΐνες του καρπού, είτε βιοσυνθέτοντας χημικές ουσίες απαραίτητες στη θρέψη και βιοχημεία του εντόμου (Boller and Prokopy 1976, Howard et al. 1985, Howard 1987). Τα συμβιωτικά βακτήρια προσφέρουν προστασία από πιθανά παθογόνα και χρησιμοποιούνται ως τροφή και ως αποτοξινωτικοί παράγοντες αποικοδομώντας βλαβερές ουσίες, όπως τους οργανοφωσφορικούς εστέρες (Τζανακάκης 1980, Rossiter *et al.* 1982, Luethy *et al.* 1983). Η μεταβολική αυτή ικανότητα των βακτηρίων ίσως βοηθά τον ξενιστή τους στην αποικοδόμηση φυσικών εστέρων εφοδιάζοντας τον με χρήσιμα θρεπτικά στοιχεία (Boush and Matsumura 1967, Miyazaki *et al.* 1968, Τζανακάκης 1980, Girolami 1982, Τσιρόπουλος 1982).

## 1.2 Μαζική παραγωγή εντόμων

Η μαζική παραγωγή εντόμων σε τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα τα τελευταία χρόνια επιτάχυνε σημαντικά την ανάπτυξη της έρευνας που αφορά τον έλεγχο βλαβερών εντόμων. Μέσω της μαζικής παραγωγής, τα έντομα είναι διαθέσιμα για την εκχύλιση και τον καθορισμό των φερομονών, την απελευθέρωση ακτινοβολούμενων (στείρων) εντόμων, την μαζική παραγωγή φυσικών εχθρών των εντόμων (ιών, παρασιτοειδών και αρπακτικών). Επίσης, η μαζική παραγωγή εντόμων έδωσε τη δυνατότητα της μελέτης της βιολογίας και της βιοχημείας τους. Οι διατροφές που χρησιμοποιούνται στην τεχνητή εκτροφή μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις γενικούς τύπους:

Ο πρώτος τύπος διατροφών χρησιμοποιείται για την έρευνα των θρεπτικών και περιλαμβάνει τις δίαιτες των οποίων η χημική ταυτότητα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή των συστατικών που περιλαμβάνουν (Dougherty 1959). Οι τροφές μπορεί να είναι ξηρά μείγματα, όπως για παράδειγμα των κατσαρίδων ή υδάτινα μείγματα όπως των αφίδων. Επίσης, περιλαμβάνει τροφές που περιέχουν άγαρ, το οποίο δεν έχει καμία θρεπτική αξία για τα έντομα, αλλά απαιτείται για τη διατροφή διαφόρων μασητικών εντόμων που απαιτούν στερεές τροφές με μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό. Το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας που αφορά τη θρέψη έχει πραγματοποιηθεί σε διατροφές που περιέχουν ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω συστατικά: άγαρ, πρωτεΐνη (συνήθως καζεΐνη), αιθέρια έλαια, άμυλο και κυτταρίνη.

Ο δεύτερος τύπος διατροφών περιέχει μια ή περισσότερες ουσίες με προσμίξεις που προέρχονται από φυτά, ζώα, μικροοργανισμούς και προϊόντα μαγιάς. Σε ορισμένες περιπτώσεις η προσθήκη τους έχει ως σκοπό την παροχή ενός θρεπτικού ή ομάδας

θρεπτικών, βιταμινών ή λιπιδίων. Οι περισσότερες τροφές που χρησιμοποιούνται για την εργαστηριακή εκτροφή εντόμων περιλαμβάνονται σε αυτό τον τύπο διατροφών.

Ο τρίτος τύπος περιλαμβάνει τροφές που αποτελούνται κυρίως από ακατέργαστα προϊόντα. Αυτές συντίθενται με σκοπό είτε να μιμηθούν τη φυσική τροφή, είτε συντίθενται με συστατικά μεγάλης θρεπτικής αξίας. Υποτίθεται ότι περιέχουν όλα τα απαραίτητα θρεπτικά, αλλά περιέχουν επίσης θρεπτικά που δεν χρησιμοποιούνται από τα έντομα και μη εύπεπτα αδρανή υλικά. Καθώς η γνώση που αφορά τις θρεπτικές απαιτήσεις των εντόμων αυξάνει, η αποτελεσματικότητα αυτών των διατροφών μπορεί να βελτιωθεί μέσω της καλύτερης επιλογής θρεπτικών πηγών. Οι τροφές που περιλαμβάνονται σε αυτόν το τύπο, έχουν χαμηλό κόστος και μπορεί να χρησιμοποιηθούν για την μαζική εκτροφή εντόμων (Vanderzant 1966).

Πολλά από τα έντομα που παράγονται μαζικά, εκτρέφονται ακόμα και σε φυσικές τροφές. Οι δυσκολίες που αφορούν τις τροφικές απαιτήσεις των εντόμων αυτών και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, δεν είναι πάντα οφειλόμενες στην έλλειψη γνώσεων γύρω από τις τροφικές απαιτήσεις.

Οικιακά έντομα, όπως οι οικιακές μύγες και οι κατσαρίδες παράχθηκαν σε τεχνητά θρεπτικά υποστρώματα για πολλά χρόνια και αποτέλεσαν αντικείμενο για μεγάλο αριθμό ερευνών, που αφορούσαν τα θρεπτικά. Τα έντομα που προσβάλουν δημητριακά και αποθηκευμένους καρπούς (έντομα αποθηκών), είναι σχετικά εύκολο να εκτραφούν μαζικά, εξαιτίας της βιολογίας τους και της ικανότητας τους να χρησιμοποιούν ξηρή τροφή.

Η εκτροφή εντόμων βλαβερών στα φυτά και στα ζώα, έχει μεγάλα ποσοστά επιτυχίας. Η εκτροφή προνυμφών κουνουπιών είναι σχετικά εύκολη, όμως τα ενήλικα θηλυκά χρειάζονται ζεστό αίμα ως τροφή. Έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες τεχνητές τροφές για να διατηρηθούν τα ενήλικα, όμως δεν έχει βρεθεί κατάλληλος αντικαταστάτης του αίματος. Το ίδιο πρόβλημα ισχύει και για άλλα έντομα που τρέφονται με αίμα. Η *Cochliomyia hominivorax*, ένα παράσιτο των θερμόαιμων ζώων, έχει εκτραφεί in vitro σε τροφή που αποτελείται από προϊόντα κρέατος, που έχουν υποστεί κατάλληλη επεξεργασία. Αποτέλεσμα της επιτυχούς εκτροφής ήταν η μαζική παραγωγή και η εξαπόλυση ακτινοβολημένων στείρων αρσενικών εντόμων, που είχε ως συνέπεια την επιτυχή εξολόθρευση του φυσικού πληθυσμού από μεγάλες περιοχές (Baumhover *et al.* 1966). Όμως τα προϊόντα κρέατος κοστίζουν ακριβά και συχνά δεν είναι διαθέσιμα, συνεπώς η αντικατάστασή τους ήταν επιτακτική και επιτεύχθηκε με τη χρήση ενός σκευάσματος που περιείχε αποξηραμένο αυγό κότας,

αποξηραμένο αίμα βοδιού και σκόνη γάλακτος (που χρησιμοποιείται για τη θρέψη των μύσων), σουκρόζη και τυρί (Gingrich *et al.* 1971).

Έχει πραγματοποιηθεί εκτροφή διαφόρων δίπτερων σε τροφές διαφορετικές από τις φυσικές, όπως στην περίπτωση του *Haematobia irritans*, το οποίο στο φυσικό περιβάλλον αναπτύσσεται σε κοπριά ενώ το τεχνητό μείγμα εκτροφής αποτελείται από πολτό αραβόσιτου, αλεύρι σίτου, πλάσμα βοδιού, δισανθρακικό νάτριο και νερό (Harris *et al.* 1967). Μια παρόμοια τροφή χρησιμοποιείται για το *Stomoxys calcitrans*, στην οποία το πλάσμα βοδιού αντικαθίσταται από χονδράλευρο ιχθύων (Christmas 1970).

Τεχνητή τροφή που αφορούσε τα δίπτερα της οικογένειας Tephritidae, περιελάμβανε φρέσκα καρότα, ξηρή σκόνη κολοκυθίου και άλλων λαχανικών και φρούτων, μαγιά ζυθοποιίας και διάφορα συντηρητικά, που εμποδίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων και μυκήτων. Τα λαχανικά και η μαγιά ζυθοποιίας παρέχουν όλα τα απαραίτητα θρεπτικά στις περιπτώσεις των *Dacus dorsalis*, *Dacus cucurbitae* και μύγας Μεσογείου (*Ceratitis capitata*, Wiedemann) (Steiner and Mitchell 1966). Όμως το καρότο και η μαγιά ζυθοποιίας κοστίζουν ακριβά, έτσι αντικαταστάθηκαν επιτυχώς με χονδράλευρο ιχθύων, μαγιά και ψιλάλευρο σίτου, με αποτέλεσμα τη μείωση του κόστους 50% (Tanaka *et al.* 1969). Στην Costa Rica οι Peleg and Rhode (1970) αντικατέστησαν με σπόρους σίτου και τεύτλα, τη σκόνη καρότου και χρησιμοποίησαν μαγιά togula στη θέση της μαγιάς ζυθοποιίας για την διατροφή της μύγας Μεσογείου. Ενώ το *Dacus cucurbitae* εκτράφηκε με επιτυχία στην Ινδία σε λεπτή πάστα από σκόνη ρυζιού και νερό (Pant *et al.* 1959).

Ο δάκος της ελιάς (*Bactrocera oleae*) δεν αναπτύσσεται στις τροφές που χρησιμοποιήθηκαν για άλλα δίπτερα. Τα θρεπτικά υποστρώματα για την επιτυχή εκτροφή του είναι πολύ πιο πολύπλοκα, εκτενή αναφορά σε αυτά θα γίνει στη συνέχεια.

Τα έντομα που τρέφονται από τμήματα φυτών (plant-feeding insects), σε αντίθεση με τα δίπτερα, δεν αναπτύσσονται με την παρουσία μικροοργανισμών και πρέπει να τους παρέχεται φρέσκια τροφή ώστε να αποφεύγεται η απώλεια νερού και ασκορβικού οξέος. Οι απαιτούμενες περιβαλλοντικές συνθήκες για την μαζική τους εκτροφή είναι πολύ δυσκολότερες σε σύγκριση με τις εργαστηριακές. Τα μόνα έντομα που έχουν εκτραφεί μαζικά με κάποια ποσοστά επιτυχίας, είναι τα εξής: *Ostrinia nubilalis*, *Pectinophora gossypiella*, *Anthonomus grandis*, *Trichoplusia ni*, *Manduca sexta* και είδη της οικογένειας Heliothis.

Η εργαστηριακή τροφή των εντόμων έδωσε τη δυνατότητα μελέτης όχι μόνο των θρεπτικών, αλλά και της βιοχημείας των εντόμων, της συμπεριφοράς και της βιολογίας τους, ενώ η μαζική παραγωγή των εντόμων έδωσε τη δυνατότητα περαιτέρω ανάπτυξης των μεθόδων καταπολέμησης.

### 1.2.2 Ποιότητα Εκτρεφόμενων Εντόμων

Οι συνθήκες που επικρατούν στο εργαστήριο κατά την εκτροφή ενός εντόμου, συμπεριλαμβανομένου των τροφών που δίδονται στο έντομο, οι οποίες είναι κατ' ανάγκη διαφορετικές από τις συνθήκες του αγρού έχουν σημαντικές επιπτώσεις στο έντομο.

Στη φύση ο πληθυσμός ενός εντόμου βρίσκεται σε δυναμική ισορροπία με το περιβάλλον του, δηλαδή την τροφή του, τους βιολογικούς (φυσικούς) εχθρούς του (παράσιτα, αρπακτικά), τις κλιματολογικές συνθήκες, το χρόνο και τη μετανάστευση (ανταλλαγή γενετικού υλικού με άλλους πληθυσμούς του είδους). Οι παράγοντες αυτοί επηρεάζουν ζωτικά το έντομο, δηλαδή τη φυσιολογία, τη μορφολογία, τη συμπεριφορά, τη γενετική του και καθορίζουν την εξέλιξη του.

Στο εργαστήριο όμως υπάρχει μια σχετική στατική ισορροπία στο είδος, η οποία απορρέει από τη σταθερότητα της επιδράσεως των εξωτερικών παραγόντων επί ενός πληθυσμού με περιορισμένο γενετικό υλικό. Ο εκτρεφόμενος στο εργαστήριο πληθυσμός είναι απομονωμένος από άλλους πληθυσμούς του είδους, ή στην καλύτερη περίπτωση, έχει περιορισμένη ανταλλαγή γενετικού υλικού με την περιοδική εισαγωγή φυσικών πληθυσμών στο εργαστήριο (Τσιτσιπής 1981).

Για τον περιορισμό μερικών γενετικών προβλημάτων και προβλημάτων ποιότητας των εντόμων, οι γενετιστές συνιστούν ορισμένες αρχές, που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την εγκατάσταση εκτροφής στο εργαστήριο και έχουν σχέση με το μέγεθος και το είδος του φυσικού πληθυσμού, ο οποίος θα αποτελέσει τον ιδρυτικό πληθυσμό της αποικίας (Mackauer 1972, 1976, Wood *et al.* 1980).

Τα προβλήματα που δημιουργούνται από την εργαστηριακή εκτροφή και οι τρόποι με τους οποίους μπορούν να επισημανθούν διαφορές σε βιολογικές παραμέτρους, έχουν αποτελέσει αντικείμενο μελέτης, ιδιαίτερα σε έντομα η ποιότητα των οποίων είναι σημαντική κατά την εφαρμογή μεθόδων καταπολεμήσεως, όπως η τεχνική του στείρου εντόμου (Sterile Insect Technique, SIT). Η τεχνική του στείρου εντόμου περιλαμβάνει ένα συντονισμένο πρόγραμμα μαζικής εκτροφής, στείρωσης και εξαπόλυσης στον αγρό στείρων εντόμων, εάν είναι δυνατό μόνο αρσενικών, σε

πολλαπλάσιους αριθμούς των φυσικών πληθυσμών με σκοπό να υπερισχύσουν συζευκτικά και να μεταφέρουν το στείρο σπέρμα στα θηλυκά του φυσικού πληθυσμού (Boller 1972, Boller and Chambers 1977a, Huettel 1977, Chambers 1977, 1980). Έχει επινοηθεί ολόκληρη σειρά από μεθοδολογίες ελέγχου διαφόρων παραμέτρων ποιότητας σε Δίπτερα της οικογένειας Tephritidae, όπως μύγα Μεσογείου, *Anastrepha suspensa*, *Anastrepha ludens* και πολλά έντομα του γένους *Bactrocera*, τα οποία εκτρέφονται μαζικά για την εφαρμογή της μεθόδου του στείρου εντόμου (Boller and Chambers 1977b). Η επιτυχία ενός προγράμματος εξαπολύσεων στείρων εντόμων εξαρτάται από την ποιότητα των εντόμων, την ικανότητα τους να επιβιώνουν και να διασπείρονται στο φυσικό περιβάλλον και την ικανότητα τους να συζευγνούνται ανταγωνιστικά με τους φυσικούς πληθυσμούς. Στους τρόπους ελέγχου της ποιότητας των εντόμων τεχνητής εκτροφής περιλαμβάνονται δοκιμές που διεξάγονται σε κάθε γενιά των εντόμων, όπως τεστ βάρους νυμφών, τεστ εξόδου ενηλίκων και πτητικής ικανότητας, τεστ διάρκειας επιβίωσης σε συνθήκες στρες, τεστ αναλογίας φύλου και χρόνου εξόδου, επίσης περιλαμβάνονται τεστ που διεξάγονται περιοδικά, όπως το τεστ συζευκτικής συμβατότητας με το φυσικό πληθυσμό και το τεστ απελευθέρωσης-επανασύλληψης για τη μελέτη της διασποράς και της επιβίωσης (USDA, FAO, IAEA 1998).

Τα έντομα τεχνητής εκτροφής του δάκου της ελιάς, δηλαδή έντομα περιορισμένου γενετικού δυναμικού, αναπτύσσονται σε τεχνητές τροφές υπό σταθερές σχετικά συνθήκες θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και φωτισμού, διαφέρουν από τα αντίστοιχα έντομα της φύσεως που προέρχονται από ελαιόκαρπο, σε αρκετές παραμέτρους φυσιολογίας και συμπεριφοράς, όπως π.χ την περιεκτικότητα σε λιπίδια (Vakirtzi-Lemonias *et al.* 1969), τη σεξουαλική ανταγωνιστικότητα (Economopoulos 1972, 1977), την ικανότητα διακρίσεως αποχρώσεων διαφόρων χρωμάτων (Prokopy *et al.* 1975a, 1975b), την ικανότητα πτήσεως (Remund *et al.* 1977), την παραγωγή φερομονών (Haniotakis 1979), τη συχνότητα εμφανίσεως ορισμένων γονιδίων (Bush and Kitto 1979). Οι βιοχημικές και βιολογικές αλλαγές που επιφέρονται στον φυσικό πληθυσμό δάκου της ελιάς που εισάγεται στο εργαστήριο και συντηρείται σε συνθήκες τεχνητής εκτροφής πραγματοποιούνται με γρήγορους ρυθμούς και ολοκληρώνονται μέσα σε τέσσερις με πέντε γενεές. Κατά τη διάρκεια αυτών των πρώτων γενεών το μέγεθος της αποικίας μειώνεται δραστικά, ως αποτέλεσμα της ελαττωμένης ωοαπόθεσης στα τεχνητά υποστρώματα ωοτοκίας και της υψηλής προνυμφικής θνησιμότητας, η οποία οφείλεται στην μειωμένη προσαρμογή του εντόμου στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα και στην προσθήκη συντηρητικών και

αντιβιοτικών στη τροφή των προνυμφών και των ενηλίκων αντίστοιχα. Οι βιολογικές διαφορές που παρατηρούνται ανάμεσα σε εργαστηριακούς και φυσικούς πληθυσμούς είναι προφανώς αποτέλεσμα βαθύτερων γενετικών αλλαγών που συντελούνται κατά τη διαδικασία προσαρμογής των φυσικών πληθυσμών στο νέο περιβάλλον (Zougos *et al.* 1982).

Ο αντικειμενικός σκοπός της έρευνας που σχετίζεται με την εκτροφή εντόμων σήμερα διεθνώς έχει επικεντρωθεί και στην βελτίωση της ποιότητας των εντόμων που παράγονται υπό εργαστηριακές συνθήκες. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό, σε ορισμένες περιπτώσεις καθοριστικό, όταν τα εκτρεφόμενα έντομα πρόκειται να διασπαρούν στη φύση σε προγράμματα καταπολέμησης. Δηλαδή αναμένεται τα έντομα αυτά να εκδηλώσουν στο φυσικό περιβάλλον την τυπική συμπεριφορά του είδους.

### 1.3 Δάκος ελιάς

Ο δάκος της ελιάς, *Bactrocera (Dacus) oleae* (Rossi) Tephritidae, είναι αποκλειστικά μονοφάγο, καρποφάγο είδος. Προσβάλλει τον καρπό της ελιάς και αποτελεί ένα από τους σημαντικότερους εντομολογικούς εχθρούς στις περιοχές καλλιέργειας του φυτού. Τα όρια εξάπλωσης του είδους εκτείνονται στα όρια κατανομή της ελιάς. Η αντιμετώπιση του δάκου της ελιάς και η προστασία της ελαιοπαραγωγής από τις ζημιές του καταστροφικού αυτού δίπτερου, δεν έπαψε, παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί την τελευταία 30ετία, να συγκεντρώνει το ιδιαίτερο ενδιαφέρον των επιστημόνων, ερευνητικών ιδρυμάτων και των αρμόδιων κρατικών υπηρεσιών και να αποτελεί ένα από τα σοβαρά θέματα φυτοπροστασίας.

#### 1.3.1 Αναπτυξιακά στάδια του εντόμου

*Ενήλικο:* Έχει μήκος 5 mm περίπου και χρώμα ανοικτό έως σκοτεινό καστανό. Οι σύνθετοι οφθαλμοί έχουν πρασινοπορφυρές μεταλλικές ανταύγειες. Οι πτέρυγες είναι διαφανείς, ιριδίζουσες, με ένα σκοτεινό στίγμα στην άκρη. Ο ωοθέτης του θηλυκού είναι ευδιάκριτος.

*Αυγό:* Είναι ελλειψοειδές, λευκό, με μήκος περίπου 0.7 mm και ο πόλος στον οποίο βρίσκεται η μικροπύλη είναι μυτερός.

*Προνύμφη:* Υπόλευκη ή υποκίτρινη, μέγιστου μήκους 7-8 mm, με το πρόσθιο μέρος του σώματος στενότερο από το οπίσθιο. Όπως και τα άλλα Tephritidae, δεν έχει κεφαλική κάψα και στο πρόσθιο μέρος του σώματος διακρίνονται τα στοματικά

άγκιστρα και ο υπόλοιπος κεφαλοφαρυγγικός σκελετός. Διακρίνονται τρία προνυμφικά στάδια: L<sub>1</sub>= γναθικά άγκιστρα υποκίτρινα, μεγέθους 1 mm περίπου, L<sub>2</sub>= γναθικά άγκιστρα μαύρα, μεγέθους 2-3 mm και L<sub>3</sub>= γναθικά άγκιστρα μαύρα, μεγέθους 3-4 mm.

*Νύμφη*: Το σχήμα της είναι ελλειψοειδές, έχει χρώμα ανοικτό καφέ και μήκος περίπου 2.5-4 mm, βάρους 7-8 mg περίπου (Τζανακάκης 1980).



**Φωτογραφία 1.** Αναπτυξιακά στάδια του δάκου της ελιάς : ενήλικο θηλυκό, νύμφη, προνύμφη L<sub>3</sub>. Στο κάτω μέρος διακρίνεται αριθμός αυγών (από Α.Π. Οικονομόπουλο)

### 1.3.2 Θρεπτικό υπόστρωμα προνυμφών δάκου τεχνητής εκτροφής

Η πρώτη προσπάθεια για τεχνητή εκτροφή του δάκου της ελιάς έγινε από τον Moore (1959, 1962) αλλά τα αποτελέσματα δεν ήταν ικανοποιητικά. Η τεχνητή εκτροφή προνυμφών δάκου επιτεύχθηκε από τους Hagen *et al.* (1963, Πίνακας 1) με τη χρησιμοποίηση υδρολυμένης σόγιας. Ο Hagen (1966), εξήγησε ότι η παρουσία της υδρολυμένης πρωτεΐνης είναι απαραίτητη για τις προνύμφες του εντόμου εφόσον υπό εργαστηριακές συνθήκες χρησιμοποιούνται αντιβιοτικά στην τροφή του ενήλικου και συντηρητικά στην τροφή της προνύμφης σε χαμηλό pH, που οδηγούν στην θανάτωση του συμβιωτικού βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* (Ενότητα 1.1.3).

**Πίνακας 1.** Τα συστατικά του πρώτου επιτυχούς τεχνητού προνυμφικού υποστρώματος για τον δάκο της ελιάς, στο οποίο κατέληξαν οι Hagen *et al.* (1963).

| Συστατικά          | Ποσότητα |
|--------------------|----------|
| Νερό               | 68.75 ml |
| Άγαρ άγαρ          | 0.5 g    |
| Μαγιά ζυθοποιίας   | 7.5 g    |
| Σόγια υδρολυμένη   | 3.0 g    |
| Αποξηραμένο καρότο | 12.5 g   |
| Χλωριούχος χολίνη  | 0.05 ml  |
| Ελαιόλαδο          | 2.0 ml   |
| Tween-80           | 0.75 ml  |
| Βενζοϊκό νάτριο    | 0.175 g  |
| Butoben            | 0.025 g  |
| HCL 2N             | 3.8 ml   |

Έκτοτε, για να προσφερθούν τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη της προνύμφης έχουν χρησιμοποιηθεί υλικά όπως : καρότο, πίτυρο ρυζιού, προϊόντα σιταριού, ζύμες, υδρολυμένες πρωτεΐνες (σόγια), έλαια, σουκρόζη, χοληστερόλη, χλωροχολίνη, μίγματα βιταμινών και μίγματα αλάτων. Ως αντιμικροβιακοί παράγοντες χρησιμοποιήθηκαν νιπαγίνη (μέθυλο-p-υδροξυβενζοϊκό), butoben (βούτυλο-p-υδροξυβενζοϊκό), σορβικό κάλι, προπιονικό οξύ και φορμαλίνη. Το υδροχλωρικό οξύ χρησιμοποιήθηκε για να διατηρήσει το pH σε τέτοια επίπεδα (περίπου 4), ώστε να μην επιτρέπεται η ανάπτυξη μικροοργανισμών (Tsitsipis 1989). Για την ενοποίηση των συστατικών και δημιουργία ενός καταλλήλου υφής μείγματος, έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορα αδρανή συστατικά σε συνδυασμό με το νερό, όπως άγαρ, σκόνη κυτταρίνης, λεπτό χαρτί, ρόκες καλαμποκιού, χαρτοπολτός ευκαλύπτου. Στον Πίνακα 2 περιγράφονται διάφορα συστατικά προνυμφικών υποστρωμάτων και οι αναλογίες τους, που έχουν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την εκτροφή του δάκου της ελιάς, για τουλάχιστον τρεις γενιές (Tzanakakis 1971).

Σημαντικό παράγοντα για την απόδοση (από αυγό σε νύμφη) του προνυμφικού θρεπτικού υποστρώματος αποτελεί η κατάλληλη υφή αυτού, η οποία δεν πρέπει να είναι πολύ υδαρής και ταυτόχρονα αρκετά αφράτη, ώστε να επιτρέπεται η κυκλοφορία του οξυγόνου, η κίνηση των προνυμφών μέσα σε αυτό και η πρόσληψη, από τις προνύμφες, των θρεπτικών συστατικών του προνυμφικού υποστρώματος. Οι



**Πίνακας 2.** Επιτυχή προνυμικά υποστρώματα για το δάκο της ελιάς,, που χρησιμοποιήθηκαν για τουλάχιστον 3 διαδοχικές γενιές (Tzanakakis 1971).

|   | Santas<br>1965 | Tzanakakis and<br>Economopoulos<br>1967 | Tzanakakis et<br>al.<br>1967 | Cavalloro<br>1967 | Orphanidis<br>et al.<br>1969 | Pelekassis<br>and Santas<br>1969 | Rey<br>1969 |      |      |
|---|----------------|---|------------------------------|-------------------|------------------------------|----------------------------------|-------------|------|------|
|   |                | M                                       | P                            | N                 | My                           |                                  |             |      |      |
| Νερό                                    | 70.0           | 66.0                                    | 55.0                         | 55.0              | 66.0                         | 55.0                             | 67.3        | 60.0 | 51.5 |
| Αποξηραμένο<br>καρότο                   | 10.0           |   |                              |                   |                              |                                  | 6.0         |      |      |
| Πίτυρο ρυζιού                           | 2.0            |   |                              |                   |                              |                                  |             |      |      |
| Σιτάλευρο                               | 1.5            |   |                              |                   |                              |                                  |             |      |      |
| Σουκρόζη                                |                | 2.4                                     | 2.0                          | 2.0               | 2.4                          | 2.0                              |             | 1.0  |      |
| D-mannit                                |                |   |                              |                   |                              |                                  |             | 1.0  |      |
| Meso-inosit                             |                |   |                              |                   |                              |                                  |             | 0.25 |      |
| Σόγια υδρολυμένη                        | 3.0            | 3.5                                     | 3.0                          | 3.0               |                              |                                  |             | 3.0  |      |
| Μαγιά υδρολυμένη                        |                |   |                              |                   | 3.5                          | 3.0                              |             |      |      |
| Πρωτεΐνη μερικώς<br>υδρολυμένη          |                |   |                              |                   |                              |                                  | 4.5         |      |      |
| Φυστίκια (ψημένα)                       |                | 6.0                                     | 6.0                          | 6.0               | 6.0                          | 6.0                              | 7.0         | 5.5  |      |
| Ρεβίθια (σπόροι)                        |                |   |                              |                   |                              |                                  |             |      | 20.0 |
| Μαγιά ζυθοποιίας                        | 7.5            | 9.0                                     | 7.5                          | 7.5               | 9.0                          | 7.5                              | 8.0         | 7.5  | 10.0 |
| Χλωριούχος Χολίνη                       | 0.025          |   |                              |                   |                              |                                  | 0.025       | 0.05 |      |
| Χολιστερόλη                             |                |   |                              |                   |                              | 0.1                              |             |      |      |
| Ελαιόλαδο                               |                | 2.4                                     | 2.0                          | 2.0               | 2.4                          | 2.0                              | 2.0         | 2.0  | 2.0  |
| Tween-80                                | 0.5            | 0.8                                     | 0.75                         | 0.75              | 0.8                          | 0.8                              | 0.5         | 1.0  |      |
| Βενζοϊκό Νατριο                         | 0.15           |   |                              |                   |                              |                                  |             | 0.05 |      |
| Butyl p-<br>hydroxybenzoate             | 0.025          |   |                              |                   |                              |                                  |             |      |      |
| Νιπαγίνη (methyl p-<br>hydroxybenzoate) |                | 0.2                                     | 0.2                          | 0.2               | 0.2                          | 0.25                             | 0.1         | 0.15 | 0.1  |
| Σορβικό κάλι                            |                | 0.05                                    | 0.05                         | 0.05              | 0.05                         |                                  | 0.05        | 0.05 | 0.05 |
| Σορβικό οξύ                             |                |   |                              |                   |                              | 0.05                             |             |      |      |
| Άγαρ άγαρ                               | 0.5            | 2.0                                     |                              | 0.5               | 0.2                          |                                  | 1.5         | 0.25 |      |
| Κυτταρίνη<br>χρωματογραφίας             |                |   | 26.0                         | 20.0              |                              |                                  |             |      |      |
| Πετσέτα από χαρτί                       |                |   |                              |                   |                              |                                  |             | 15.0 |      |
| Ρόκα καλαμποκιού                        |                |   |                              |                   |                              |                                  | 20.0        |      |      |
| Χαρτοπολτός<br>(Eucalyptus)             |                |   |                              |                   |                              |                                  |             |      | 11.5 |
| HCL 2N                                  | 4.5            | 3.5                                     | 3.0                          | 3.0               | 3.5                          | 3.3                              | 3.0         | 4.0  | 5.0  |

προνύμφες πρώτου σταδίου τρέφονται στην επιφάνεια της τροφής, ενώ οι προνύμφες δευτέρου και μέχρι τα τέλη του τρίτου βρίσκονται μέσα σε αυτή σε στοές. Κατά την ολοκλήρωση του τρίτου σταδίου ανάπτυξης οι μεγάλες προνύμφες έρχονται στην επιφάνεια της τροφής και εκτινάσσονται εκτός τροφής για να νυμφωθούν.

Ο Manoukas (1977), μελέτησε την επίδραση της μαγιάς ζυθοποιίας, της υδρολυμένης σόγιας, του ελαιολάδου και της ζάχαρης και συμπέρανε ότι όλα τα παραπάνω συστατικά, εκτός από τη ζάχαρη είναι απαραίτητα για την κανονική αύξηση και ανάπτυξη της προνύμφης. Σε διάφορες μαγιές ζυθοποιίας βρέθηκαν διαφορετικά επίπεδα αζώτου σε μη πρωτεϊνικά συστατικά (Manoukas 1974). Σε άλλη μελέτη αντικαταστάθηκε η υδρολυμένη σόγια στο προνυμφικό υπόστρωμα με τρία μίγματα από 18 αμινοξέα το καθένα (Manoukas 1986). Ο ρόλος του καθενός από τα αμινοξέα δεν έχει καθοριστεί, από τη στιγμή που η συμμετοχή της μαγιάς ζυθοποιίας προσφέρει αμινοξέα αν και όχι σε απαραίτητα επίπεδα για την βέλτιστη απόδοση τροφής (Manoukas 1981). Οι Vakirtzi-Lemonias *et al.* (1969) έχουν μελετήσει τα φωσφογλυκερίδια της χολίνης στα ενήλικα έντομα και τα αμινοξέα στις προνύμφες.

Η επίδραση διαφόρων ανόργανων αλάτων στην ανάπτυξη της προνύμφης, όπως το χλωριούχο κάλιο, ο θειικός χαλκός, το χλωριούχο νάτριο, το χλωριούχο ασβέστιο, το θειικό μαγνήσιο, το θειικό μαγγάνιο, ο θειικός ψευδάργυρος και ο θειικός σίδηρος, έχει επίσης εξεταστεί (Manoukas 1982).

Η σύσταση του προνυμφικού υποστρώματος στο οποίο έχουμε καταλήξει σήμερα και εφαρμόζεται με επιτυχία για πολλά χρόνια, με πολύ καλές αποδόσεις (Tsitsipis 1975), παρουσιάζεται στον Πίνακα 3. Σε αυτό το προνυμφικό υπόστρωμα τα θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη της προνύμφης αποτελούν η μαγιά ζυθοποιίας, η υδρολυμένη σόγια, η ζάχαρη και το ελαιόλαδο, για τη διάλυση του οποίου στο νερό προστίθεται Tween-80 (Polyoxyethylene-sorbitan-monooleate). Ως αντιμικροβιακοί παράγοντες χρησιμοποιούνται η νιπαγίνη (μέθυλο-p-υδροξυβενζοϊκό) και το σορβικό κάλιο, ενώ για τη ρύθμιση του pH σε κατάλληλα επίπεδα (περίπου 4) προστίθεται υδροχλωρικό οξύ (HCL). Για την ενοποίηση των προαναφερθέντων συστατικών και τη δημιουργία κατάλληλης υφής του μείγματος, προστίθεται νερό και κυτταρίνη χρωματογραφίας. Επιπλέον, το νερό και η κυτταρίνη μπορούν να επηρεάσουν την διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών και επομένως τη δυνατότητα πρόσληψης αυτών από τις προνύμφες.

**Πίνακας 3.** Η σύνθεση του προνυμφικού υποστρώματος, που χρησιμοποιείται σήμερα για την εκτροφή του δάκου της ελιάς (Tsitsipis 1975)

| Συστατικά                                      | Ποσότητα |
|--|----------|
| Νερό   | 110 ml   |
| Μαγιά ζυθοποιίας                               | 15 g     |
| Σόγια υδρολυμένη                               | 6 g      |
| Σορβικό κάλι                                   | 0.1 g    |
| Νιπαγίνη (p-Hydroxy-benzoic acid methyl ester) | 0.4 g    |
| Ελαιόλαδο                                      | 4 ml     |
| Tween-80 (Polyoxyethylene-sorbitan-monooleate) | 1.5 ml   |
| Ζάχαρη   | 4 g      |
| Κυτταρίνη                                      | 55 g     |
| Υδροχλωρικό οξύ (HCL) 2N                       | 6 ml     |

Η πιο ευρύτατα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τον προσδιορισμό της θρεπτικής κατάστασης ενός σιτηρεσίου, είναι η κατά προσέγγιση ανάλυση αυτού με χημικές μεθόδους. Τα αποτελέσματα μιας τέτοιας ανάλυσης, που πραγματοποιήθηκε στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του εντόμου παρουσιάζονται στον Πίνακα 4 (Μανούκας 1994).

**Πίνακας 4.** Κατά προσέγγιση ανάλυση και το ενεργειακό περιεχόμενο της μαγιάς ζυθοποιίας, σόγιας υδρολυμένης και του βασικού σιτηρεσίου (Μανούκας 1994).

| Συστατικά %           | Μαγιά ζυθοποιίας <sup>1</sup> | Σόγια υδρολυμένη <sup>1</sup> | Βασικό σιτηρέσιο <sup>2</sup> |
|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Νερό                  | 8.9                           | 9.6                           | 59.0                          |
| Λιπίδια               | 2.1                           | 3.7                           | 2.3                           |
| Nx6.25 <sup>3</sup>   | 52.8                          | 57.1                          | 5.7                           |
| Κυτταρίνη             | 3.2                           | 0.8                           | 27.8                          |
| Τέφρα                 | 7.4                           | 8.8                           | 0.8                           |
| NFE <sup>4</sup>      | 25.6                          | 20.0                          | 4.4                           |
| Kcal / g <sup>5</sup> | 3.0                           | 3.5                           | 0.6 <sup>6</sup>              |

<sup>1</sup> Προσδιορίστηκε σύμφωνα με τις μεθόδους του AOAC (1965).

<sup>2</sup> Υπολογίστηκε με βάση το ποσό των περιεχομένων συστατικών του σιτηρεσίου (Πίνακας 3).

<sup>3</sup> Συνολικό άζωτο x6.25 από το οποίο 7.6, 19.9 και 1.2 % είναι μη πρωτεϊνικό άζωτο (κυρίως ελεύθερα αμινοξέα).

<sup>4</sup> Εκχύλισμα ελευθέρου αζώτου που υπολογίστηκε ως διαφορά από 100.

<sup>5</sup> Ενέργεια που καθορίστηκε σε Kcal / g με θερμιδόμετρο.

<sup>6</sup> Υπολογίστηκε με βάση το ότι τα λιπίδια, οι πρωτεΐνες και το NFE περιέχουν 9.4, 4.1 και 3.7 Kcal / g αντίστοιχα. Η κυτταρίνη που προστέθηκε στο υπόστρωμα προνυμφών (26.5 g / 100g υποστρώματος), δεν συμπεριλήφθηκε στους υπολογισμούς για το ενεργειακό περιεχόμενο.

#### 1.4 Σκοπός μελέτης

Η παρούσα εργασία είχε ως αντικείμενο είτε την εύρεση βασικού υλικού υφής χαμηλού σχετικά κόστους και εύκολα διαθέσιμου, για την αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας, είτε την εφαρμογή μεθόδων που θα εξασφαλίσουν σημαντική μείωση της χρησιμοποιούμενης ποσότητας κυτταρίνης. Η κυτταρίνη χρωματογραφίας, όπως έχει ήδη αναφερθεί, λειτουργεί ως βασικό υλικό υφής στη σύνθεση του τεχνητού προνυμφικού υποστρώματος, που χρησιμοποιείται σήμερα για την εκτροφή του δάκου της ελιάς. Πρέπει να σημειωθεί, ότι η κυτταρίνη χρωματογραφίας έχει πολύ υψηλό κόστος, το οποίο την καθιστά ασύμφορη λύση στην περίπτωση μαζικής εκτροφής του εντόμου και σύντομα δεν θα είναι διαθέσιμη, αφού η ανάπτυξη νέων μεθόδων χρωματογραφίας έχουν αντικαταστήσει την χρήση της κυτταρίνης και η παραγωγή της διακόπτεται.

## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στους πειραματικούς χειρισμούς**

Για την διεξαγωγή της παρούσας μελέτης χρησιμοποιήθηκαν αυγά εργαστηριακών εντόμων του δάκου της ελιάς, τα οποία εκτρέφονται για χρονικό διάστημα 3 χρόνων, στο Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Εντομολογίας του τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης. Το στέλεχος αυτό προήλθε από την αποικία που διατηρείται στο εργαστήριο Εντομολογίας του ΕΚΕΦΕ 'Δημόκριτος' για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από 30 χρόνια.

### **2.2 Τεχνητή εκτροφή εντόμων**

#### **2.2.1 Εκτροφή ενηλίκων**

Τα ενήλικα διατηρούντο σε κλωβούς από αλουμίνιο, πλαστικό και ανοξείδωτο δίχτυ, διαστάσεων 40x33x100 cm. Ο αριθμός των ενηλίκων στο κλωβό δεν ξεπερνούσε τα 2.000 άτομα. Τα ενήλικα παρέμεναν σε ειδικούς θαλάμους με σταθερή θερμοκρασία  $25 \pm 0.5^\circ \text{C}$ , σχετική υγρασία  $65 \pm 5\%$  και φωτοπερίοδο 14:10 LD. Στα ενήλικα προσφέρετο νερό και στερεή τροφή με την ακόλουθη σύσταση: ενζυμικά υδρολυμένα πρωτεΐνη 100 g, άχνη ζάχαρη 400 g, ξηρός κρόκος αυγού 30 g και στρεπτομυκίνη 250 mg (Tsitsipis and Kontos 1983).

#### **2.2.2 Συλλογή αυγών**

Στην πάνω πλευρά ('ταβάνι') του κλωβού (από πλεξιγκλάς) έχουν προσαρμοστεί 4 κώνοι ωοαπόθεσης. Οι κώνοι ωοαπόθεσης αποτελούνται από λεπτό τούλι, το οποίο έχει εμποτιστεί σε σερεζίνη, η οποία θερμαίνεται μέχρι να γίνει υγρή στους  $70-90^\circ \text{C}$ . Το ενήλικο θηλυκό δημιουργεί τρύπα με τον ωθέτη στο κώνο σερεζίνης και γεννάει το αυγό του. Η κατάλληλη υγρασία στο εσωτερικό τμήμα του κώνου διατηρείται με υγρούς σπόγγους. Τα υποστρώματα ωοθεσίας (οι κώνοι) τοποθετούνται την 6<sup>η</sup>-7<sup>η</sup> ημέρα μετά την έξοδο των ενηλίκων μέχρι την 15<sup>η</sup>. Η συλλογή των αυγών γίνεται ανά 24 ώρες και πραγματοποιείται με ψεκασμό νερού στο εσωτερικό τμήμα του κώνου, ο οποίος συνδέεται με κατάλληλο σύστημα σωληνώσεων που καταλήγει σε

κοινό σημείο εξόδου στο οποίο προσαρμόζεται πλαστικό δοχείο όπου καταλήγουν τα αυγά και το νερό ψεκασμού. Τα αυγά μετά την συλλογή τους μέσα από διηθητικό χαρτί τοποθετούνται πάνω σε λευκό διηθητικό χαρτί εμβαπτισμένο σε υδατικό διάλυμα προπιονικού οξέος 0.3%, σε τρυβλίο στους  $25 \pm 0.5^\circ \text{C}$  (Manoukas and Mazomenos 1977). Η διαδικασία αυτή διευκολύνει την εκκολαπτικότητα των αυγών και κυρίως την προστασία τους από μολύνσεις.



**Φωτογραφία 2.** Κλωβός ενηλίκων δάκων

### 2.2.3 Εκτροφή προνυμφών

Τα αυγά (συλλογή στην έναρξη της φωτόφασης) παραμένουν για 48 ώρες στο τρυβλίο με το διηθητικό χαρτί, που περιγράφηκε παραπάνω, δηλαδή εκκολάπτονται πάνω στο διηθητικό χαρτί, αφού τα αυγά αρχίζουν την εκκόλαψη τους 48 ώρες μετά τη γέννηση στους  $25^\circ \text{C}$ . Οι προνύμφες που μόλις έχουν εκκολαφθεί, τοποθετούνται στο προνυμφικό υπόστρωμα, η σύνθεση του οποίου αναφέρθηκε στον Πίνακα 3. Οι προνύμφες εκτρέφονται σε πλαστικούς δίσκους χωρητικότητας 1 kg διαμέτρου 240 (40x6) cm και ύψους 1 cm. Η αναλογία αριθμού αυγών και ποσότητας προνυμφικού υποστρώματος ήταν 10 αυγά ανά γραμμάριο τροφής (Tsigopoulos and Manoukas 1977). Στην συνέχεια παρέμεναν σε θαλάμους με σταθερή θερμοκρασία  $25 \pm 0.5^\circ \text{C}$ , σχετική υγρασία  $65 \pm 5\%$  και φωτοπερίοδο 14:10 LD, μέχρι την έξοδο των προνυμφών από την τροφή, 9 μέρες μετά, και την πτώση τους σε ξηρό αδρανές υλικό (πριονίδι), στο οποίο πραγματοποιούν την νύμφωση τους.

## 2.2.4 Συλλογή νυμφών

Στην συνέχεια οι νύμφες διαχωρίζονται από το πριονίδι (κοσκίνισμα) και παραμένουν στις ίδιες συνθήκες με αυτές του ενηλίκου μέχρι την 8<sup>η</sup> ημέρα από τη νύμφωσή τους, οπότε και τοποθετούνται στους κλωβούς για την πραγματοποίηση της εξόδου των ενηλίκων.

## 2.3 Αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς

Το τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του χειρισμού έλεγχου (control) είχε τη σύνθεση που αναφέρεται στον Πίνακα 5 (Tsitsipis 1975).

**Πίνακας 5.** Η σύνθεση που αντιστοιχεί στην παρασκευή 1 kg τεχνητού προνυμφικού υποστρώματος του δάκου της ελιάς (Tsitsipis 1975, βλέπε και Πίνακα 3).

| Συστατικά                                      | Ποσότητα |
|--|----------|
| Νερό   | 550 ml   |
| Μαγιά ζυθοποιίας                               | 75 g     |
| Σόγια υδρολυμένη                               | 30 g     |
| Σορβικό κάλι                                   | 0.5 g    |
| Νιπαγίνη (p-Hydroxy-benzoic acid methyl ester) | 2 g      |
| Ελαιόλαδο                                      | 20 ml    |
| Tween-80 (Polyoxyethylene-sorbitan-monooleate) | 7.5 ml   |
| Ζάχαρη   | 20 g     |
| Κυτταρίνη                                      | 255 g    |
| Υδροχλωρικό οξύ (HCL) 2N                       | 30 ml    |

Η αναλογία νερού και κυτταρίνης (550ml/255g ανά κιλό τροφής) προσδίδει, μετά από επαρκή ανάδευση, στο μείγμα την κατάλληλη υφή (αφράτη και όχι πολύ υδαρή).

Στους υπόλοιπους χειρισμούς, αντικαταστάθηκε η κυτταρίνη με άλλα βασικά υλικά υφής. Η υφή του προνυμφικού υποστρώματος έπρεπε να είναι σταθερή σε όλους τους χειρισμούς και όμοια με αυτή του μάρτυρα. Όμως η κατάλληλη υφή καθορίζεται από την αναλογία του βασικού υλικού υφής και νερού. Επομένως η ποσότητα νερού που προστίθεται στο μείγμα σε κάθε χειρισμό διαφοροποιήθηκε ανάλογα με το βασικό

υλικό υφής που χρησιμοποιήθηκε, έτσι ώστε ο συνδυασμός τους να προσδώσει στο μείγμα την επιθυμητή υφή, δηλαδή παρόμοια με αυτή του μάρτυρα. Ενώ όλα τα υπόλοιπα συστατικά, προστέθηκαν στην ίδια αναλογία με αυτή του μάρτυρα.

Στην τροφή προνυμφών του μάρτυρα και των πειραματικών χειρισμών, προστέθηκαν αυγά σε αναλογία 10 αυγά για κάθε g τροφής.

Τα βασικά υλικά υφής που χρησιμοποιήθηκαν ως πιθανοί αντικαταστάτες της κυτταρίνης και η ποσότητα νερού που απαιτήθηκε, ώστε να επιτευχθεί παρόμοια υφή με τον μάρτυρα για δεδομένη ποσότητα βασικού υλικού υφής (255 g που αντιστοιχεί στο 1 kg τροφής προνυμφών) αναφέρονται παρακάτω:

1) Πίτυρο σιτηρών διαμέτρου τεμαχίων 3-4 mm, το οποίο χρησιμοποιείται για την παρασκευή τροφής προνυμφών για τη μύγα της Μεσογείου (Φωτογραφία 3). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 350 ml/kg τροφής για την απόκτηση υφής του μίγματος παρόμοιας με αυτή του μάρτυρα.

2) Αλεσμένη ρόκα καλαμποκιού (τεμάχια διαμέτρου 2-5 mm) (Φωτογραφία 4). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 676 ml/kg τροφής.

3) Αλεσμένη ρόκα καλαμποκιού (τεμάχια διαμέτρου 1-2 mm) (Φωτογραφία 5). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 450 ml/kg τροφής.

4) Καλαμποκάλευρο (Φωτογραφία 6). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 400 ml/kg τροφής.

5) Περλίτης (Φωτογραφία 7). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 300 ml/kg τροφής.

6) Πυρήνα ελιάς (δηλαδή τα υπολείμματα από την επεξεργασία των ελαιοκάρπων ποικιλίας Κορωνέϊκη) (Φωτογραφία 8). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 223 ml/kg τροφής.

7) Πυρηνόξυλο ελιάς (δηλαδή το υπόλειμμα από την θερμική επεξεργασία του πυρήνα της ελιάς στους 300 ° C, για την παραγωγή πυρηνελαίου) (Φωτογραφία 9). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 223 ml/kg τροφής.

8) Λεπτή άμμος θαλάσσης μετά από ξέπλυμα αυτής 3 φορές με νερό (Φωτογραφία 10). Απαιτούμενη ποσότητα νερού 60 ml/kg τροφής.

Όσον αφορά τους επόμενους χειρισμούς, τα βασικά υλικά υφής εμβαπτίστηκαν για 60' στο υγρό διάλυμα του προνυμφικού υποστρώματος, που περιείχε όλα τα συστατικά (εκτός κυτταρίνης) στις απαιτούμενες αναλογίες (Πίνακας 5), πλην των συντηρητικών της τροφής τα οποία στους πλείστους χειρισμούς προστέθηκαν στο 75% των αναλογούμενων (0.37 g σορβικό κάλι/kg τροφής, 1.5 g νιπαγίνη/kg τροφής) και στους υπόλοιπους χειρισμούς στο 100% των αναλογούμενων (0.5 g σορβικό



κάλλι/kg τροφής, 2 g νιπαγίνη/kg τροφής) (Πίνακας 5). Το υδαρές υλικό αφέθηκε να στραγγίξει για 30', υπολογίστηκε η ποσότητα που απορροφήθηκε και τοποθετήθηκε στο υπόστρωμα ο ανάλογος αριθμός αυγών.

9) Βαμβάκι φαρμακευτικό (Φωτογραφία 11), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 25 ml /g βασικού υλικού υφής.

10) Βαμβάκι φαρμακευτικό, με το ήμισυ της αναλογούμενης ποσότητας νερού στο διάλυμα της τροφής προνυμφών. Η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 25 ml /g βασικού υλικού υφής.

11) Πετσέτα (100% από βαμβάκι) (Φωτογραφία 12), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 20 ml /g βασικού υλικού υφής. Στον χειρισμό αυτό το υλικό αφέθηκε να στραγγίξει για 2' (για την αποφυγή μεγάλης συγκέντρωσης διαλύματος κατά τόπους με ενδεχόμενο αποτέλεσμα τον πνιγμό των προνυμφών).

12) Τριπλό στρώμα εφημερίδας (χαρτί κοινό όχι πολυτελείας) (Φωτογραφία 13), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 5 ml /g βασικού υλικού υφής.

13) Σπογγοπετσέτα vetex (Φωτογραφία 14), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 10 ml /g βασικού υλικού υφής.

14) Απορροφητικό χαρτί (Schleicher & Schuell, 2668 Bogen/Sheets) (Φωτογραφία 15), το οποίο χρησιμοποιείται στα κλουβιά ενηλίκου για παροχή νερού στα ενήλικα άτομα της μύγας της Μεσογείου. Η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε στο χαρτί ήταν 8 ml /g βασικού υλικού υφής.

15) Σπόγγος από πλαστικό οπών διαμέτρου 1-1.5 mm (Φωτογραφία 16), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 30 ml /g βασικού υλικού υφής.

16) Σπόγγος από πλαστικό οπών διαμέτρου 0.5 mm (Φωτογραφία 17), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 25 ml /g βασικού υλικού υφής.

17) Σπόγγος από πλαστικό και σύρμα οπών διαμέτρου 2-2.5 mm (Φωτογραφία 18), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 20 ml /g βασικού υλικού υφής.

18) Υδαρές διάλυμα τροφής, τεχνητή τροφή προνυμφών δάκου ελιάς απουσία κυτταρίνης ή άλλου βασικού υλικού υφής, ύψος διαλύματος 2 mm.



**Φωτογραφία 3.** Πίτυρο σιτηρών



**Φωτογραφία 7.** Περλίτης



**Φωτογραφία 4.** Ροκά καλαμποκιού  
(τεμαχίων διαμέτρου 2-5 mm)



**Φωτογραφία 8.** Πυρήνα ελιάς



**Φωτογραφία 5.** Ροκά καλαμποκιού  
(τεμαχίων διαμέτρου 1-2 mm)



**Φωτογραφία 9.** Πυρηνόξυλο ελιάς



**Φωτογραφία 6.** Καλαμποκόλευρο



**Φωτογραφία 10.** Αμμος θαλάσσης



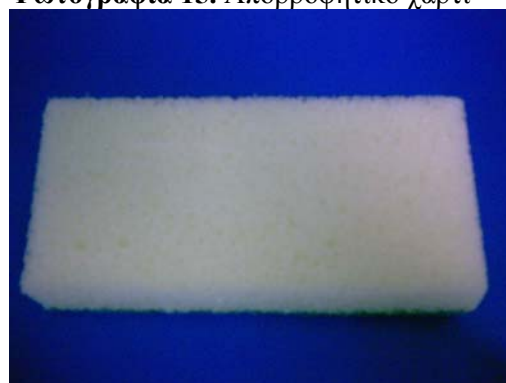
**Φωτογραφία 11.** Υδρόφιλο βαμβάκι



**Φωτογραφία 15.** Απορροφητικό χαρτί



**Φωτογραφία 12.** Πετσέτα (100% βαμβάκι)



**Φωτογραφία 16.** Σπόγγος πλαστικός (οπών διαμέτρου 1-1.5 mm)



**Φωτογραφία 13.** Τριπλό στρώμα εφημερίδας



**Φωτογραφία 17.** Σπόγγος πλαστικός (οπών διαμέτρου 0.5 mm)



**Φωτογραφία 14.** Σπογγοπετσέτα vetex



**Φωτογραφία 18.** Σπόγγος από πλαστικό και σύρμα (οπών διαμέτρου 2-2.5 mm)

## **2.4 Εναλλακτικές μέθοδοι αξιοποίησης υποστρώματος εκτροφής προνυμφών**

Εφαρμόστηκαν εναλλακτικές μέθοδοι, στις οποίες γίνεται εκτενής αναφορά στη συνέχεια (2.4.1, 2.4.2), με σκοπό την σημαντική μείωση του κόστους παραγωγής των εντόμων καθώς και τη μείωση της χρησιμοποιούμενης ποσότητας κυτταρίνης στην τεχνητή τροφή προνυμφών του δάκου της ελιάς.

### **2.4.1 Μέθοδος Επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών (Recycling)**

Σύμφωνα με τη μέθοδο επαναχρησιμοποίησης τροφής (Recycling), τροφή προνυμφών που έχει χρησιμοποιηθεί, μία τουλάχιστον φορά ως τροφή προνυμφών (used), επαναχρησιμοποιείται είτε ως έχει, είτε μετά την προσθήκη σε αυτήν διαφόρων θρεπτικών συστατικών ή συντηρητικών της τεχνητής τροφής προνυμφών του εντόμου (Πίνακας 5). Η μέθοδος επαναχρησιμοποίησης της τροφής (Recycling) εφαρμόζεται σε περιπτώσεις μαζικής παραγωγής εντόμων, κυρίως για την μείωση του κόστους παραγωγής των εντόμων.

Βάση αυτής της μεθόδου αυγά του δάκου της ελιάς τοποθετήθηκαν στην ενδεικνυόμενη αναλογία (10 αυγά/g τροφής) σε φρέσκια τροφή προνυμφών ή τροφή που είχε χρησιμοποιηθεί μία φορά χωρίς την προσθήκη συστατικών ή μετά από προσθήκες. Πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω χειρισμοί:

- 1) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών ως έχει, χωρίς την προσθήκη νερού.
- 2) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού στην απαιτούμενη αναλογία (550 ml/ kg τροφής) για την απόκτηση υφής της φρέσκιας τροφής.
- 3) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού και όλων των θρεπτικών (α), δηλαδή όλων των θρεπτικών της φρέσκιας τροφής προνυμφών (μαγιά ζυθοποιίας, σόγια υδρολυμένη, ζάχαρη, ελαιόλαδο, tween-80), στις αναλογίες φρέσκιας τροφής.
- 4) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού και των παραπάνω θρεπτικών εκτός ελαιολάδου και tween-80 (β), στις αναλογίες φρέσκιας τροφής .
- 5) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, των θρεπτικών (α) και των συντηρητικών της τροφής (νιπαγίνη, σορβικό κάλι), στις αναλογίες φρέσκιας τροφής.

- 6) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, θρεπτικών (β) και συντηρητικών της τροφής, στις αναλογίες φρέσκιας τροφής.
- 7) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, θρεπτικών (α), συντηρητικών και HCL, στις αναλογίες φρέσκιας τροφής.
- 8) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, θρεπτικών (β), συντηρητικών και HCL, στις αναλογίες φρέσκιας τροφής.
- 9) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, θρεπτικών (α) και HCL, στις αναλογίες φρέσκιας τροφής.
- 10) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, θρεπτικών (β) και HCL, στις αναλογίες φρέσκιας τροφής
- 11) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, θρεπτικών (α) και το ήμισυ των συντηρητικών φρέσκιας τροφής.
- 12) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού, συντηρητικών και το ήμισυ των θρεπτικών (α) φρέσκιας τροφής.
- 13) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών με την προσθήκη νερού και το ήμισυ τόσο των θρεπτικών (α) όσο και των συντηρητικών της φρέσκιας τροφής.
- 14) Χρησιμοποιημένη σπογγοπετσέτα vetex. Πριν τη χρήση πραγματοποιήθηκε καθαρισμός αυτής με τη χρήση νερού. Η ποσότητα διαλύματος φρέσκιας τροφής που απορροφήθηκε ήταν 10 ml /g βασικού υλικού υφής.
- 15) Χρησιμοποιημένη σπογγοπετσέτα vetex. Πριν τη χρήση πραγματοποιήθηκε καθαρισμός αυτής με τη χρήση νερού και σαπουνιού. Η ποσότητα διαλύματος φρέσκιας τροφής που απορροφήθηκε ήταν 10 ml /g βασικού υλικού υφής.

Όλα τα υλικά που είχαν χρησιμοποιηθεί ήδη μια φορά, διατηρήθηκαν στο ψυγείο (0-1 °C), πριν την επαναχρησιμοποίησή τους.

#### **2.4.2 Μέθοδος Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης της εκτροφής προνυμφών (Starter-Finisher)**

Σύμφωνα με τη μέθοδο Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης, Starter-Finisher, τα αυγά του εντόμου τοποθετούνται σε υψηλές πυκνότητες, πολλαπλάσιες των standard (10 αυγά/g) στην τροφή εκκίνησης (Starter), στην οποία παραμένουν για

ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, συνήθως μέχρι την ολοκλήρωση του 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> σταδίου των προνυμφών. Στη συνέχεια οι προνύμφες μεταφέρονται στην τροφή περάτωσης (Finisher), όπου η αναλογία προνυμφών/τροφής είναι η standard (10 προνύμφες/g τροφής), και παραμένουν σε αυτή μέχρι την ολοκλήρωση του προνυμφικού σταδίου. Βασίζεται στο γεγονός ότι η προνύμφη κατά το αρχικό στάδιο (μικρό μέγεθος), δεν έχει μεγάλες απαιτήσεις σε ζωτικό χώρο και ποσότητα τροφής.

Αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται σε περιπτώσεις μαζικής παραγωγής εντόμων, κυρίως για την εξοικονόμηση χώρου και για τη μείωση του κόστους παραγωγής των εντόμων.

Ως τροφή εκκίνησης (Starter), χρησιμοποιήθηκε η τροφή προνυμφών του εντόμου που χρησιμοποιείται σήμερα (Πίνακας 5). Στην τροφή εκκίνησης τοποθετήθηκε δεκαπλάσιος αριθμός αυγών ανά g τροφής (100 αυγά / g τροφής).

Οι προνύμφες παρέμειναν στο Starter σε υψηλές πυκνότητες, για χρονικό διάστημα 3 ή 5 ή 7 ημερών, και στην συνέχεια, οι προνύμφες 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> ή 3<sup>ου</sup> σταδίου, αντίστοιχα, μεταφέρθηκαν στην τροφή περάτωσης (Finisher) είτε μαζί με την τροφή εκκίνησης, είτε χωρίς αυτήν (2<sup>ο</sup> στάδιο, με λαβίδα).

Ως τροφή περάτωσης (Finisher), χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υποστρώματα:

- 1) Η τροφή προνυμφών του εντόμου που χρησιμοποιείται σήμερα (Πίνακας 5).
- 2) Η τροφή προνυμφών του εντόμου με πίτυρο σιτηρών (διαμέτρου 3-4 mm) στη θέση της κυτταρίνης και την ποσότητα νερού που απαιτείται για την δημιουργία της ανάλογης υφής με τον χειρισμό ελέγχου (350 ml/kg τροφής). Όλα τα υπόλοιπα υλικά τοποθετήθηκαν στην αναλογία μάρτυρα.

Όσον αφορά τους επόμενους χειρισμούς, τα βασικά υλικά υφής εμβαπτίστηκαν για 60'' στο υγρό διάλυμα του προνυμφικού υποστρώματος, που περιείχε όλα τα συστατικά (εκτός κυτταρίνης) στις αναλογίες μάρτυρα, πλην των συντηρητικών της τροφής τα οποία στους πλείστους χειρισμούς προστέθηκαν στο 75% των αναλογούμενων και στους υπόλοιπους χειρισμούς στο 100% των αναλογούμενων. Το υδαρές υλικό αφέθηκε να στραγγίξει για 30'':

- 3) Υδροφιλο βαμβάκι (φαρμακευτικό), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 25 ml /g βασικού υλικού υφής.
- 4) Πετσέτα (100% από βαμβάκι), η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 20 ml /g βασικού υλικού υφής. Στον χειρισμό αυτό το υλικό αφέθηκε να στραγγίξει για 2'.
- 5) Σπογγοπετσέτα vetex, η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 10 ml /g βασικού υλικού υφής.

6) Απορροφητικό χαρτί (Schleicher & Schuell, 2668 Bogen / Sheets), το οποίο χρησιμοποιείται για παροχή νερού στα ενήλικα άτομα της μύγας της Μεσογείου. Η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορρόφησε το χαρτί ήταν 8 ml /g βασικού υλικού υφής.

7) Τριπλό στρώμα εφημερίδας, η ποσότητα διαλύματος τροφής που απορροφήθηκε ήταν 5 ml /g βασικού υλικού υφής.

8) Διάλυμα τροφής, τεχνητή τροφή προνυμφών δάκου ελιάς απουσία κυτταρίνης ή άλλου βασικού υλικού υφής, ύψους 2 mm.

### 2.4.3 Συνδυασμός των Μεθόδων Starter-Finisher και Recycling

Ο συνδυασμός των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling, περιλαμβάνει την παραμονή των προνυμφών στο Starter σε υψηλές πυκνότητες για κάποιο χρονικό διάστημα και την μεταφορά αυτών στο Finisher, όπου η αναλογία αυγών (προνυμφών) και τροφής είναι η ενδεικνυόμενη (10 αυγά/g τροφής), όμως σε αυτή την περίπτωση, ως Finisher, έχουμε υλικά που έχουν χρησιμοποιηθεί τουλάχιστον μια φορά ως τροφή προνυμφών του δάκου της ελιάς.

Ως Starter σε όλα τα πειράματα, χρησιμοποιήθηκε η τροφή προνυμφών του εντόμου που χρησιμοποιείται σήμερα (Πίνακας 5). Σε αυτή τοποθετήθηκε δεκαπλάσιος αριθμός αυγών ανά g τροφής (100 αυγά / g τροφής).

Οι προνύμφες παρέμειναν στο Starter σε υψηλές πυκνότητες για χρονικό διάστημα 3 ή 5 ημερών, και στην συνέχεια οι προνύμφες 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> σταδίου αντίστοιχα, μεταφέρθηκαν στο Finisher (μαζί με το Starter). Ως Finisher, χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υποστρώματα:

- 1) Φρέσκια τροφή προνυμφών του εντόμου που χρησιμοποιείται σήμερα (Πίνακας 5).
- 2) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών μια φορά ως χειρισμός ελέγχου, δηλαδή χρήση αυτής ως τροφή προνυμφών για χρονικό διάστημα 9 ημερών (διάρκεια προνυμφικού σταδίου του εντόμου στους 25 °C) με την προσθήκη νερού στην απαιτούμενη αναλογία (550 ml/ kg τροφής), για την απόκτηση της κατάλληλης υφής.
- 3) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών μια φορά ως χειρισμός ελέγχου, δηλαδή χρήση αυτής ως τροφή προνυμφών για χρονικό διάστημα 9 ημερών, με την προσθήκη νερού, θρεπτικών (μαγιά ζυθοποιίας, σόγια υδρολυμένη, ζάχαρη, λάδι, tween-80), συντηρητικών και HCL, στις αναλογίες μάρτυρα.
- 4) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών μια φορά ως Finisher, η μεταφορά του Starter σε αυτό πραγματοποιήθηκε την 5<sup>η</sup> ημέρα, δηλαδή χρήση αυτής ως τροφή

προνυμφών για χρονικό διάστημα 4 ημερών. Η τροφή επαναχρησιμοποιήθηκε με την προσθήκη νερού στην απαιτούμενη αναλογία (550 ml/ kg τροφής).

5) Χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών δυο φορές, μια ως χειρισμός ελέγχου, δηλαδή χρήση αυτής για χρονικό διάστημα 9 ημερών και μια ως Finisher, η μεταφορά του Starter σε αυτό πραγματοποιήθηκε την 5<sup>η</sup> ημέρα, δηλαδή χρήση αυτής για χρονικό διάστημα 4 ημερών, επομένως η συνολική χρήση της τροφής ήταν 13 ημέρες. Η τροφή επαναχρησιμοποιήθηκε με την προσθήκη νερού στην απαιτούμενη αναλογία (550 ml/ kg τροφής).

Σε όλα τα πειράματα (2.3, 2.4) η τροφή προνυμφών του χειρισμού ελέγχου και των πειραματικών χειρισμών, τοποθετήθηκε σε πλαστικά τρυβλία ή πιάτα διαμέτρου 15-20 cm χωρητικότητας 100 ή 250 g και παρέμεναν στις συνθήκες που ενδείκνυνται για την εκτροφή των προνυμφών (2.2.3).



### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο πλείστο των χειρισμών που διεξήχθησαν στην παρούσα εργασία, πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις. Οι παρατηρήσεις τροφής (έλεγχος τροφής προνυμφών στο στερεοσκόπιο) διεξαγόταν ανά διήμερα από την ημέρα τοποθέτησης των αυγών στην τροφή. Όλοι οι πίνακες αποτελεσμάτων παρατίθενται στο τέλος της εργασίας, πριν τη βιβλιογραφία.

#### 3.1 Αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς

Χρησιμοποιήθηκαν διάφορα υλικά στη θέση της κυτταρίνης ως βασικά υλικά υφής στην τροφή προνυμφών του εντόμου. Η χρήση των υλικών που είχε ως αποτέλεσμα μηδενική απόδοση της τροφής από αυγό σε νύμφη, παρουσιάζονται στον πίνακα 6 μαζί με τους αντίστοιχους χειρισμούς ελέγχου (μάρτυρες).

Σε όλους τους χειρισμούς των πειραμάτων του Πίνακα 6, οι προνύμφες παρέμειναν ζωντανές μέχρι και τη δεύτερη μέρα (προνύμφες 1<sup>ου</sup> σταδίου, μήκους 1-2 mm) μετά την τοποθέτησή τους στην τροφή. Η πυκνότητα προνυμφών που παρατηρήθηκε (στερεοσκόπιο) πάνω στην τροφή ήταν μικρότερη κατά 50% περίπου σε σχέση με αυτή του μάρτυρα, ενώ την τέταρτη μέρα ήταν όλες νεκρές. Εξαιρέση αποτελεί ο χειρισμός με το διάλυμα της τροφής προνυμφών (χωρίς βασικό υλικό υφής), όπου οι προνύμφες ήταν νεκρές τη 2<sup>η</sup> μέρα από την τοποθέτησή τους στην τροφή (πνίγηκαν). Επίσης, εξαιρέση αποτελεί ο χειρισμός με το πίτυρο σιτηρών, όπου υπήρχαν μέσα στην τροφή ζωντανές προνύμφες, σε πυκνότητα ανάλογη με του μάρτυρα, οι οποίες έφτασαν μέχρι και το 2<sup>ο</sup> στάδιο ανάπτυξης (προνύμφες μήκους 2-3 mm) και στην συνέχεια πέθαιναν χωρίς να μπορούν να ολοκληρώσουν την ανάπτυξη τους και να νυμφωθούν. Το χρονικό διάστημα στο οποίο οι προνύμφες 2<sup>ου</sup> σταδίου παρέμειναν ζωντανές ήταν 10 ημέρες μετά την τοποθέτηση των αυγών στην τροφή. Σε αντίστοιχο χρονικό διάστημα στον μάρτυρα οι προνύμφες είχαν ήδη αναπτυχθεί μέχρι το 3<sup>ο</sup> στάδιο (μήκους 3-4 mm) και οι περισσότερες είχαν νυμφωθεί.

Πραγματοποιήθηκε επίσης χρήση διαφόρων υλικών αντί κυτταρίνης με μη μηδενικά αποτελέσματα όσον αφορά στην απόδοση των υποστρωμάτων. Στον Πίνακα 7, παρατίθενται τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν με θετικές αποδόσεις και τους αντίστοιχους χειρισμούς ελέγχου (μάρτυρες).

Στο 1<sup>ο</sup> χρονικό πείραμα (Πίνακας 7), με τη χρήση της ρόκας καλαμποκιού και του βαμβακιού, αντί κυτταρίνης, οι προνύμφες επιβίωσαν μέχρι το 2<sup>ο</sup> στάδιο και αρκετές

ολοκλήρωσαν την ανάπτυξη τους και νυμφώθηκαν, με καθυστέρηση όμως 3 και 5 ημερών αντίστοιχα, σε σχέση με το μάρτυρα. Στο χειρισμό με τη ρόκα καλαμποκιού, όπου η υφή της τροφής ήταν παρόμοια με αυτή του μάρτυρα, οι προνύμφες εισχώρησαν στη τροφή και αναπτύχθηκαν μέσα σε αυτή μέχρι την ολοκλήρωση του 3<sup>ου</sup> σταδίου, οπότε μετακινήθηκαν στην επιφάνεια και εκτινάχθηκαν από την τροφή για να νυμφωθούν στο υπόστρωμα νύμφωσης (συμπεριφορά αντίστοιχη με αυτή που παρατηρείται στον μάρτυρα). Στο χειρισμό με το βαμβάκι οι προνύμφες δεν εισχώρησαν στο βαμβάκι αλλά κινήθηκαν, αναπτύχθηκαν και νυμφώθηκαν στην επιφάνεια αυτού. Πρέπει να σημειωθεί, ότι η απόδοση της τροφής προνυμφών του μάρτυρα στο συγκεκριμένο πείραμα, ήταν χαμηλή (συνήθως κυμαίνεται 20-35%), εν' τούτοις υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά του μάρτυρα με τους υπόλοιπους χειρισμούς του πειράματος.

Στο 2<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα (πίνακας 7), με τη χρήση βαμβακιού, βαμβακιού (+75% συντηρητικά), πετσέτας (+75% συντηρητικά), σπογγοπετσέτας (+75% συντηρητικά) και απορροφητικού χαρτιού (+75% συντηρητικά), αντί κυτταρίνης, οι προνύμφες επιβίωσαν, ολοκλήρωσαν την ανάπτυξη τους και νυμφώθηκαν με καθυστέρηση 4-5 ημερών, σε σχέση με το μάρτυρα. Στους χειρισμούς με το βαμβάκι (+75% συντηρητικά) και την πετσέτα (+75% συντηρητικά), η πυκνότητα των προνυμφών 1<sup>ου</sup> σταδίου, όπως παρατηρήθηκε με τη βοήθεια στερεοσκοπίου, τη 2<sup>η</sup> μέρα μετά από την τοποθέτηση των αυγών στην τροφή ήταν ανάλογη με αυτή του μάρτυρα, ενώ ο αριθμός των προνυμφών που αναπτύχθηκαν μέχρι το 2<sup>ο</sup> στάδιο (4<sup>η</sup>, 6<sup>η</sup> και 8<sup>η</sup> μέρα), ήταν σημαντικά μειωμένος σε σχέση με τον μάρτυρα. Στους χειρισμούς με το βαμβάκι (2<sup>ος</sup> χειρισμός, 2<sup>ο</sup> πείραμα), όπου προστέθηκε 100% των συντηρητικών των αντιστοιχών της standard τροφής, την σπογγοπετσέτα (+75% συντηρητικά) και το απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικά), η πυκνότητα των προνυμφών καθ' όλη την διάρκεια των αναπτυξιακών σταδίων, ήταν ανάλογη με αυτή του μάρτυρα. Στους χειρισμούς με το βαμβάκι και την πετσέτα, οι προνύμφες δεν εισχώρησαν στο υπόστρωμα αλλά κινήθηκαν, αναπτύχθηκαν και νυμφώθηκαν στην επιφάνεια αυτού. Στο χειρισμό με την σπογγοπετσέτα, το πλείστο των προνυμφών στο 2<sup>ο</sup> στάδιο της ανάπτυξης τους κινήθηκαν στην κάτω επιφάνεια αυτής, όπου τελικά νυμφώθηκαν. Στο χειρισμό με το απορροφητικό χαρτί οι προνύμφες κινήθηκαν στην επιφάνεια, ενώ επεξεργάστηκαν το χαρτί με τα στοματικά τους μόρια, με αποτέλεσμα να δημιουργήσουν την 5<sup>η</sup>-6<sup>η</sup> μέρα, από την τοποθέτηση τους στην τροφή, ένα δικτύωμα ύψους μέχρι 2 cm από τις ίνες του χαρτιού (κυτταρίνη), παρόμοιο με το μικκύλιο μύκητα. Το δικτύωμα αυτό από τις ίνες του χαρτιού, κάλυπτε το 90% της επιφάνειας του υποστρώματος, σε αυτό οι προνύμφες κινήθηκαν, αναπτύχθηκαν και

νυμφώθηκαν, όμως οι νύμφες που προέκυψαν είχαν σημαντικά μειωμένο βάρος σε σύγκριση με τον μάρτυρα.

Στο 3<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα (Πίνακας 7), στους χειρισμούς με την σπογγοπετσέτα (+75% συντηρητικά) και το απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικά), η συμπεριφορά των προνυμφών ήταν όμοια με αυτή που περιγράφηκε παραπάνω (2<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα), με τη διαφορά ότι η απόδοση του χειρισμού με το χαρτί (από αυγό σε νύμφη) ήταν σημαντικά αυξημένη (μεγαλύτερη από αυτή του μάρτυρα). Και οι 2 χειρισμοί έδωσαν νύμφες μειωμένου βάρους σε σύγκριση με τον μάρτυρα, από τον οποίο διαφέρουν σημαντικά.

Στο 4<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα του ίδιου πίνακα, στους χειρισμούς με τη σπογγοπετσέτα (+75% συντηρητικά) και το απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικά), οι προνύμφες είχαν την ίδια συμπεριφορά με αυτή που παρατηρήθηκε στα πειράματα που προηγήθηκαν και περιγράφονται παραπάνω (2<sup>ο</sup> και 3<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα). Στον χειρισμό με την σπογγοπετσέτα, όπου προστέθηκε 100% των συντηρητικών των αντιστοίχων της standard τροφής, ο αριθμός των προνυμφών που επιβίωσαν μετά την 4<sup>η</sup> μέρα, από την τοποθέτηση των αυγών στην τροφή, ήταν σημαντικά μειωμένος σε σύγκριση με τον χειρισμό της σπογγοπετσέτας με το 75% των συντηρητικών της τροφής, ενώ λίγες κατάφεραν να ολοκληρώσουν την ανάπτυξη τους και να νυμφωθούν. Όσον αφορά το χειρισμό με τον πλαστικό σπόγγο με οπές διαμέτρου 0.5 mm, την 2<sup>η</sup> μέρα από την τοποθέτηση των αυγών στην τροφή, ελάχιστες προνύμφες επιβίωσαν, ενώ την 4<sup>η</sup> μέρα 3 προνύμφες κατάφεραν να επιβιώσουν και τελικά να νυμφωθούν, με καθυστέρηση 4 ημερών σε σχέση με τον μάρτυρα. Οι προνύμφες αυτές κινήθηκαν στην επιφάνεια του σπόγγου, χωρίς να εισχωρήσουν εντός αυτού. Σε όλους τους χειρισμούς που αφορούν τη χρήση σπογγοπετσέτας και απορροφητικού χαρτιού αντί κυτταρίνης, οι νύμφες που προέκυψαν είχαν σημαντικά μειωμένο βάρος σε σύγκριση με τον μάρτυρα, από τον οποίο διαφέρουν σημαντικά.

## **3.2 Εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων τεχνητής εκτροφής προνυμφών**

### **3.2.1 Εφαρμογή μεθόδου Επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών (Recycling)**

Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την εφαρμογή της μεθόδου επαναχρησιμοποίησης της τροφής (Recycling). Έγινε επαναχρησιμοποίηση

τροφής προνυμφών του δάκου της ελιάς είτε ως έχει, είτε μετά την προσθήκη διαφόρων συστατικών της standard τροφής προνυμφών του εντόμου.

Πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της μεθόδου Recycling με επαναχρησιμοποίηση τροφής προνυμφών είτε ως έχει, είτε μετά την προσθήκη σε αυτήν νερού ή νερού και θρεπτικών της τεχνητής τροφής προνυμφών (Πίνακας 8).

Παρατηρούμε ότι όλοι οι χειρισμοί του πειράματος έδωσαν σχετικά καλές αποδόσεις σε νύμφες κανονικού βάρους, με μικρότερη απόδοση να δίνεται από το χειρισμό με την επαναχρησιμοποίηση τροφής ως έχει, δηλαδή χωρίς την προσθήκη νερού ή θρεπτικών. Οι αποδόσεις των χειρισμών αυτών είναι μειωμένες σε σχέση με τον μάρτυρα, από τον οποίο διαφέρουν σημαντικά.

Ακολούθησε εφαρμογή της ίδιας μεθόδου με επαναχρησιμοποίηση τροφής προνυμφών ως έχει, είτε μετά την προσθήκη σε αυτήν νερού, είτε νερού και θρεπτικών ή και συντηρητικών της τροφής προνυμφών ( Πίνακας 9).

Παρατηρούμε ότι χειρισμοί του πειράματος με τη χρησιμοποιημένη τροφή ως έχει, είτε με την προσθήκη μόνο νερού ή νερού και θρεπτικών, έδωσαν πολύ μικρές αποδόσεις, παρά το ότι οι χειρισμοί αυτοί αποτελούν χρονική επανάληψη αυτών του προηγούμενου πειράματος (Πίνακας 8). Οι αποδόσεις των δυο χρονικών επαναλήψεων διαφέρουν σημαντικά, με σημαντική μείωση των αποδόσεων στη 2<sup>η</sup> χρονική επανάληψη (Πίνακας 9). Ανάπτυξη μυκήτων παρατηρήθηκε σε όλους τους χειρισμούς, στους οποίους πραγματοποιήθηκε προσθήκη θρεπτικών. Η προσθήκη των συντηρητικών στους δυο τελευταίους χειρισμούς αύξησε την απόδοση, πλην όμως δεν απέτρεψε την ανάπτυξη μυκήτων, απλώς την καθυστέρησε.

Από τα αποτελέσματα των δυο προηγούμενων πειραμάτων (Πίνακες 8,9), διαπιστώνουμε ότι, ο χειρισμός επαναχρησιμοποίησης της τροφής με την προσθήκη μόνο νερού, είχε αντιφατικά αποτελέσματα, όσον αφορά την απόδοση της τροφής. Για να μπορέσουμε να καταλήξουμε σε ένα πιο ξεκάθαρο συμπέρασμα, πραγματοποιήθηκε 3<sup>η</sup> χρονική επανάληψη του συγκεκριμένου χειρισμού, με μεγαλύτερο αριθμό επαναλήψεων (5), τα αποτελέσματα του οποίου παρουσιάζονται στον Πίνακα 10.

Διαπιστώνουμε (Πίνακας 10) ότι ο χειρισμός επαναχρησιμοποίησης της τροφής με την προσθήκη μόνο νερού, έδωσε πολύ καλή απόδοση, πλησιάζοντας πολύ αυτή του μάρτυρα, από τον οποίο δεν διαφέρει σημαντικά. Στους χειρισμούς δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη μυκήτων και οι νύμφες που προέκυψαν είχαν κανονικό βάρος.

Κατόπιν πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της μεθόδου Recycling με τη επαναχρησιμοποίηση τροφής προνυμφών μετά την προσθήκη σε αυτήν νερού, θρεπτικών, συντηρητικών και υδροχλωρικού οξέος (HCL) (Πίνακας 11).

Όσον αφορά τα αποτελέσματα του 1<sup>ου</sup> χρονικά πειράματος (Πίνακας 11), παρατηρούμε ότι οι αποδόσεις των χειρισμών είναι μικρές σε σχέση με τον μάρτυρα, με τους δυο τελευταίους χειρισμούς (ιδιαίτερα ο τελευταίος χειρισμός) να έχουν τις υψηλότερες αποδόσεις. Στους χειρισμούς διαπιστώθηκε καθυστέρηση στην ανάπτυξη μυκήτων.

Για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων του 1<sup>ου</sup> πειράματος πραγματοποιήθηκε χρονική επανάληψη των δυο τελευταίων χειρισμών αυτού (Πίνακας 11, 2<sup>ο</sup> πείραμα). Όσον αφορά τα αποτελέσματα του 2<sup>ου</sup> πειράματος, παρατηρούμε ότι οι χειρισμοί έδωσαν σχετικά καλές αποδόσεις, μειωμένες όμως σε σχέση με τον μάρτυρα από τον οποίο διαφέρουν σημαντικά. Παράλληλα η ανάπτυξη μυκήτων στο 2<sup>ο</sup> πείραμα είτε καθυστέρησε (2<sup>ος</sup> χειρισμός), είτε ήταν μηδενική (3<sup>ος</sup> χειρισμός).

Σε όλους τους παραπάνω χειρισμούς είτε περιείχαν HCL, είτε όχι, το pH της τροφής ήταν το επιθυμητό (περίπου 4).

Στη συνέχεια έγινε εφαρμογή της μεθόδου Recycling με επαναχρησιμοποίηση τροφής προνυμφών μετά από προσθήκη σε αυτήν νερού, θρεπτικών και υδροχλωρικού οξέος (HCL) ή και συντηρητικών της τεχνητής τροφής προνυμφών (Πίνακας 12). Σε όλους τους χειρισμούς του πειράματος προστέθηκε μαγιά ζυθοποιίας νέας παραλαβής από την ίδια πηγή προέλευσης (Schwechat Co. Austria, 2002) με την παλαιά μαγιά (Schwechat Co. Austria, 1992).

Η χρήση μαγιάς ζυθοποιίας από νέα παραλαβή δείχνει να επηρέασε αρνητικά την απόδοση του μάρτυρα, ενώ είναι πιθανό να επηρέασε και τους υπόλοιπους χειρισμούς του πειράματος. Όλοι οι χειρισμοί διαφέρουν σημαντικά από τον μάρτυρα, χωρίς να υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ αυτών. Διαπιστώνουμε ότι στους παραπάνω χειρισμούς παρατηρήθηκε σημαντική ανάπτυξη μυκήτων, ενώ είτε περιείχαν HCL, είτε όχι, το pH των χειρισμών ήταν το επιθυμητό (περίπου 4).

Ακολούθησε εφαρμογή της μεθόδου Recycling με τη επαναχρησιμοποίηση τροφής προνυμφών μετά την προσθήκη σε αυτήν είτε νερού και κάποιων θρεπτικών, είτε νερού και όλων των θρεπτικών και των συντηρητικών. Τα θρεπτικά και τα συντηρητικά προστέθηκαν είτε στην standard αναλογία που αντιστοιχούσε στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής (+100% συντηρητικών), είτε στο ήμισυ αυτής (+50% συντηρητικών). Πραγματοποιήθηκαν όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί θρεπτικών και συντηρητικών στις δυο παραπάνω αναλογίες (Πίνακας 13, 4 τελευταίοι χειρισμοί).

Τα συντηρητικά της τροφής και συγκεκριμένα η νιπαγίνη στην αναλογία που προστίθεται στην standard τροφή προνυμφών είναι ως γνωστόν οριακά μη εμφανώς τοξική. Η ήδη χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών είναι πιθανόν να περιέχει κάποιες εναπομένουσες ποσότητες νιπαγίνης, συνεπώς η επαναπροσθήκη αυτής στους χειρισμούς επαναχρησιμοποίησης της τροφής, πιθανόν να την καθιστά τοξική. Η προσθήκη των θρεπτικών και των συντηρητικών, στο 100% και 50% των αναλογίων που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής, έγινε για τη διαλεύκανση της παραπάνω υπόθεσης.

Στο προηγούμενο πείραμα (Πίνακας 12) παρατηρήθηκε ότι η χρήση μαγιάς ζυθοποιίας από νέα παραλαβή, πιθανόν να επηρέασε την απόδοση των χειρισμών. Σε πείραμα του Πίνακας 13 έχουμε δυο μάρτυρες, στον ένα χρησιμοποιήθηκε μαγιά ζυθοποιίας παλαιάς παραλαβής, ενώ στο δεύτερο χρησιμοποιήθηκε μαγιά ζυθοποιίας νέας παραλαβής, για να διαπιστώσουμε εάν η συγκεκριμένη μαγιά επηρεάζει αρνητικά την απόδοση της τροφής.

Διαπιστώθηκε, όσον αφορά τους δυο μάρτυρες, ότι η προσθήκη μαγιάς ζυθοποιίας από νέα παραλαβή δεν επέδρασε αρνητικά στην απόδοση αυτού, αντίθετα ο συγκεκριμένος χειρισμός (2<sup>ος</sup> χειρισμός) έχει υψηλότερη απόδοση σε σχέση με τον άλλο μάρτυρα (1<sup>ος</sup> χειρισμός). Όλοι οι υπόλοιποι χειρισμοί έχουν ιδιαίτερα μικρές αποδόσεις, σε σύγκριση με τους δυο μάρτυρες.

Σε όλους τους χειρισμούς παρατηρήθηκε ανάπτυξη μυκήτων, με εξαίρεση τους μάρτυρες και τον χειρισμό, με προσθήκη νερού, όλων των θρεπτικών και των συντηρητικών (4<sup>ος</sup> χειρισμός).

Οι 4 τελευταίοι χειρισμοί, αποτελούν όλους τους πιθανούς συνδυασμούς προσθήκης των θρεπτικών και των συντηρητικών, στο 100% και 50% των αναλογίων που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής, για την εξακρίβωση της ενδεχόμενης αρνητικής επίδρασης της προσθήκης νιπαγίνης (λόγω τοξικότητας). Οι μικρές αποδόσεις όλων των παραπάνω χειρισμών δεν ενισχύουν την υπόθεση μας.

Τα αποτελέσματα του Πίνακας 14, αφορούν την επαναχρησιμοποίηση του βασικού υλικού υφής και συγκεκριμένα της σπογγοπετσέτας vetex, η οποία είχε χρησιμοποιηθεί στη θέση της κυτταρίνης με σχετικά καλά αποτελέσματα, όσον αφορά την απόδοση της τροφής και το βάρος των νυμφών (Πίνακας 7). Η διεξαγωγή του πειράματος αυτού έγινε, με σκοπό να διερευνηθεί η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του συγκεκριμένου υλικού. Πριν την επαναχρησιμοποίηση της σπογγοπετσέτας, πραγματοποιήθηκε καθαρισμός αυτής είτε με τη χρήση μόνο νερού, είτε με τη χρήση νερού και σαπουνιού. Από τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται στον πίνακα 7, διαπιστώνεται ότι καλά αποτελέσματα, όσον αφορά την απόδοση της

τροφής, έδωσε και η χρήση απορροφητικού χαρτιού, όμως στην προσπάθεια καθαρισμού αυτού με νερό για επαναχρησιμοποίηση, διαλύθηκε.

Στο πείραμα του Πίνακα 14 έχουμε δυο μάρτυρες, στον ένα προστέθηκε μαγιά ζυθοποιίας από την νέα παραλαβή και στον άλλο η παλαιά μαγιά, για να επιβεβαιώσουμε τα αποτελέσματα του προηγούμενου πειράματος.

Από τα αποτελέσματα που λάβαμε διαπιστώσαμε όσον αφορά τους δυο μάρτυρες, ότι η προσθήκη μαγιάς ζυθοποιίας από νέα παραλαβή επέδρασε αυξητικά στην απόδοση, ο συγκεκριμένος χειρισμός έχει υψηλότερη απόδοση σε σχέση με την παλαιά μαγιά. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με αυτά του πειράματος που προηγήθηκε (Πίνακας 13). Όλοι οι υπόλοιποι χειρισμοί έχουν μικρές αποδόσεις σε σύγκριση με τους δυο μάρτυρες, με μηδενική απόδοση στην περίπτωση του χειρισμού επαναχρησιμοποίησης της σπογγοπετσέτας ο καθαρισμός της οποίας έγινε με τη χρήση μόνο νερού (Πίνακας 14, 4<sup>ος</sup> χειρισμός). Όμως η απόδοση του χειρισμού της σπογγοπετσέτας ο καθαρισμός της οποίας έγινε με τη χρήση μόνο νερού ήταν μικρή αλλά ανάλογη με αυτή της σπογγοπετσέτας που χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά.

Στους χειρισμούς με τη χρήση σπογγοπετσέτας (+75% συντηρητικά), αντί κυτταρίνης (Πίνακας 14), οι προνύμφες επιβίωσαν, ολοκλήρωσαν την ανάπτυξη τους και νυμφώθηκαν με καθυστέρηση 4-5 ημερών, σε σχέση με τους δυο μάρτυρες, ενώ το πλείστο των προνυμφών στο 2<sup>ο</sup> στάδιο της ανάπτυξης τους κινήθηκαν στην κάτω επιφάνεια της σπογγοπετσέτας, όπου τελικά ορισμένες νυμφώθηκαν. Δηλαδή καμία προνύμφη δεν 'πήδηξε' έξω από την τροφή για νύμφωση.

Στους χειρισμούς με την επαναχρησιμοποίηση της σπογγοπετσέτας, παρατηρούμε ότι είχαμε ανάπτυξη μυκήτων, η οποία ήταν ιδιαίτερα εκτεταμένη στο χειρισμό επαναχρησιμοποίησης μετά από καθαρισμό μόνο με νερό (4<sup>ος</sup> χειρισμός).

### **3.2.2 Μέθοδος Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης της εκτροφής προνυμφών (Starter-Finisher)**

Έγινε εφαρμογή της μεθόδου Starter-Finisher, με τη χρήση αποκλειστικά standard τροφής προνυμφών, με διαφορετικό χρονικό διάστημα (σε ημέρες) παραμονής των προνυμφών στο Starter και στο Finisher (Πίνακας 15). Το συνολικό διάστημα παραμονής των προνυμφών στην standard τροφή είναι σταθερό (9 μέρες) στις συγκεκριμένες συνθήκες (25 °C, RH 65±5%, 14:10 LD).

Από τα αποτελέσματα του πειράματος (Πίνακας 15), παρατηρούμε ότι οι χειρισμοί με διάρκεια παραμονής στο Starter 3 και 5 ημέρες, δεν διαφέρουν σημαντικά από τον μάρτυρα όσον αφορά την απόδοση της τροφής, το βάρος των νυμφών και την έξοδο

των ενηλίκων. Αντίθετα, ο τελευταίος χειρισμός με διάρκεια παραμονής στο Starter 7 μέρες είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση στην απόδοση της τροφής.

Κατόπιν πραγματοποιήθηκαν 2 διαδοχικά πειράματα με την εφαρμογή της μεθόδου Starter-Finisher με τη χρήση ως Starter, standard τροφής προνυμφών και ως Finisher, είτε standard τροφής, είτε τροφής με πίτυρο σιτηρών, αντί κυτταρίνης (Πίνακας 16). Η επιλογή του πτύρου έγινε με βάση το γεγονός ότι από προηγούμενα πειράματα (Πίνακας 6) διαπιστώθηκε ότι μεγάλος αριθμός προνυμφών αναπτυσσόταν μέχρι το 2<sup>ο</sup> στάδιο, χωρίς όμως να μπορεί να ολοκληρώσει την ανάπτυξη του, επομένως θα μπορούσε η τοποθέτηση αναπτυγμένων προνυμφών στη τροφή με το πίτυρο να έχει ως αποτέλεσμα την ολοκλήρωση της προνυμφικής τους ανάπτυξης και τελικά τη νύμφωση τους. Στο 2<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα πραγματοποιήθηκε χειρισμός στον οποίο οι προνύμφες παρέμειναν στο σε μεγάλη πυκνότητα Starter καθ' όλη τη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου.

Στο 1<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα (Πίνακας 16), οι αποδόσεις της τροφής όλων των χειρισμών ήταν ιδιαίτερα μικρές, συμπεριλαμβανομένης και αυτής του μάρτυρα, έτσι πραγματοποιήθηκε χρονική επανάληψη των χειρισμών (2<sup>ο</sup> πείραμα).

Όσον αφορά τα αποτελέσματα του 2<sup>ου</sup> πειράματος του ίδιου πίνακα παρατηρούμε μειωμένες αποδόσεις όλων των χειρισμών σε σύγκριση με αυτή του μάρτυρα, από τον οποίο διαφέρουν σημαντικά.

Πρέπει να σημειωθεί ότι η χρήση πτύρου, αντί κυτταρίνης, στο Finisher, και των δυο πειραμάτων, είχε ως αποτέλεσμα κάποιες προνύμφες να ολοκληρώσουν την ανάπτυξη τους και να νυμφωθούν. Ενώ η χρήση του πτύρου ως ενιαίας τροφής (σε όλο το προνυμφικό στάδιο του εντόμου), είχε ως αποτέλεσμα μηδενικές αποδόσεις.

Ακολούθησε εφαρμογή της μεθόδου Starter-Finisher με χρήση ως Starter, standard τροφής προνυμφών και ως Finisher, είτε standard τροφής, είτε τροφής με διάφορα υλικά, αντί κυτταρίνης, τα αποτελέσματα του πειράματος παρατίθενται στον Πίνακα 17. Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν στην τροφή προνυμφών στο Finisher ήταν βαμβάκι (φαρμακευτικό), πετσέτα (100% από βαμβάκι), διάλυμα τροφής προνυμφών (χωρίς βασικό υλικό υφής), σπογγοπετσέτα vetex και απορροφητικό χαρτί. Η χρήση όλων των προαναφερθέντων υλικών ως βασικών υλικών υφής, σε ενιαία τροφή προνυμφών είχε ως αποτέλεσμα μη μηδενικές αποδόσεις αυτών (Πίνακας 7), εξαίρεση αποτελεί ο χειρισμός με το υγρό διάλυμα τροφής προνυμφών (μηδενική απόδοση) (Πίνακας 6). Η δοκιμή των παραπάνω υλικών, ως βασικών υλικών υφής του Finisher, έγινε με σκοπό είτε την αύξηση της απόδοσης των υποστρωμάτων, είτε απλώς την αντικατάσταση της κυτταρίνης.



Όσον αφορά στους χειρισμούς με το βαμβάκι και την πετσέτα (100% από βαμβάκι), αντί κυτταρίνης, στο Finisher οι προνύμφες δεν εισχώρησαν στο υπόστρωμα αλλά κινήθηκαν, αναπτύχθηκαν και νυμφώθηκαν στην επιφάνεια. Στο χειρισμό με το διάλυμα τροφής προνυμφών ως Finisher, οι προνύμφες την πρώτη ή την δεύτερη μέρα από την μεταφορά τους ήταν νεκρές (πνίγηκαν). Στο χειρισμό με την σπογγοπετσέτα vetex, το πλείστο των προνυμφών κινήθηκαν στην κάτω επιφάνεια της σπογγοπετσέτας, όπου αναπτύχθηκαν και ορισμένες νυμφώθηκαν. Στο χειρισμό με το απορροφητικό χαρτί αντί κυτταρίνης στο Finisher, οι προνύμφες κινήθηκαν στην επιφάνεια αυτού και επεξεργάστηκαν το χαρτί με τα στοματικά τους μόρια, με αποτέλεσμα να δημιουργήσουν, όπως προαναφέρθηκε, την 2<sup>η</sup>-3<sup>η</sup> μέρα από την τοποθέτησή τους στο Finisher πλέγματα από τις ίνες του χαρτιού ύψους μέχρι 1 cm, σε έκταση 30% της επιφάνειας του υποστρώματος παρόμοια με το μικκύλιο μύκητα. Στα πλέγματα αυτά από τις ίνες του χαρτιού οι προνύμφες κινήθηκαν, ολοκλήρωσαν την ανάπτυξη τους και νυμφώθηκαν.

Παρατηρούμε ότι οι δυο χειρισμοί με τη χρήση του βαμβακιού, ως βασικού υλικού υφής του Finisher, είχαν σχετικά χαμηλές αποδόσεις, όμως σε σύγκριση με τον μάρτυρα διαφέρουν μη σημαντικά. Οι χειρισμοί με την πετσέτα, την σπογγοπετσέτα και το απορροφητικό χαρτί ως υλικό υφής του Finisher, είχαν υψηλές αποδόσεις, υψηλότερες από τον μάρτυρα, με το απορροφητικό χαρτί να έχει εντυπωσιακά υψηλή απόδοση.

Στη συνέχεια, για να επιβεβαιώσουμε τα ενδιαφέροντα αποτελέσματα του 6<sup>ου</sup> χειρισμού του προηγούμενου πειράματος (Πίνακας 17) με τη σπογγοπετσέτα vetex (+75% συντηρητικά), πραγματοποιήθηκε επανάληψη αυτού σε επόμενο πείραμα με αυξημένο αριθμό επαναλήψεων (5) (Πίνακας 18). Όμως σε αυτό το πείραμα οι προνύμφες μεταφέρθηκαν στο Finisher μαζί με την τροφή του Starter, δηλαδή χωρίς τη χρήση λαβίδας.

Όσον αφορά την απόδοση, τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τον χειρισμό με την σπογγοπετσέτα vetex είναι σημαντικά μικρότερα από τον μάρτυρα και από τον αντίστοιχο χειρισμό του προηγούμενου πειράματος (Πίνακας 17). Εν' τούτοις η απόδοση που προέκυψε στο συγκεκριμένο χειρισμό δεν είναι αμελητέα και οι νύμφες που προέκυψαν είχαν βάρος ανάλογο με αυτό του μάρτυρα, χωρίς να παρατηρηθεί ανάπτυξη μυκήτων παρόλο που αφορούσαν μεγαλύτερη κλίμακα εφαρμογής (Πίνακας 18).

### 3.2.3 Εφαρμογή συνδυασμού των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling

Πραγματοποιήθηκε εφαρμογή συνδυασμού των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling (Πίνακες 19, 20). Ο συνδυασμός αυτός, περιελάμβανε την παραμονή των προνυμφών στο Starter, σε υψηλές πυκνότητες για χρονικό διάστημα 5 ημερών, δηλαδή μέχρι το 2<sup>ο</sup> στάδιο ανάπτυξης της προνύμφης και μεταφορά αυτών στη συνέχεια στο Finisher, σε μειωμένες πυκνότητες, μέχρι την ολοκλήρωση του προνυμφικού σταδίου, δηλαδή για χρονικό διάστημα μόνο 4 ημερών. Ως Finisher είχαμε τροφή που είχε χρησιμοποιηθεί τουλάχιστον μια φορά ως τροφή προνυμφών του δάκου της ελιάς.

Έγινε εφαρμογή της παραπάνω μεθόδου, δηλαδή χρήση ως Starter φρέσκιας standard τροφής και ως Finisher είτε φρέσκιας standard τροφής, είτε standard τροφής που είχε ήδη χρησιμοποιηθεί μια φορά, μετά από προσθήκη διάφορων συστατικών της τροφής (μόνο νερού ή νερού, θρεπτικών, συντηρητικών και HCL) (Πίνακας 19).

Παρατηρούμε ότι οι τρεις πρώτοι χειρισμοί του πειράματος (Πίνακας 19) έδωσαν υψηλές αποδόσεις, από αυγό σε νύμφη, με νύμφες κανονικού βάρους. Ο τελευταίος χειρισμός, στον οποίο προστέθηκαν στην χρησιμοποιημένη τροφή του Finisher όλα τα συστατικά της standard τροφής (πλην κυτταρίνης), έδωσε σημαντικά μειωμένη απόδοση σε σχέση με τους υπόλοιπους χειρισμούς.

Για να διαπιστώσουμε εάν η τροφή προνυμφών μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί περισσότερες από μια φορές, έγινε εφαρμογή της μεθόδου με Starter (φρέσκια standard τροφή προνυμφών) και Finisher είτε φρέσκια τροφή προνυμφών, είτε τροφή που έχει ήδη χρησιμοποιηθεί μια ή δυο φορές και προσθήκη μόνο νερού (Πίνακας 20).

Διαπιστώνουμε ότι όλοι οι χειρισμοί του 1<sup>ου</sup> χρονικά πειράματος έδωσαν σχετικά καλές αποδόσεις σε νύμφες κανονικού βάρους. Όμως οι αποδόσεις των χειρισμών αυτών είναι μειωμένες, κατά το ήμισυ ή τα 2/3 περίπου, σε σύγκριση με τον μάρτυρα, από τον οποίο διαφέρουν σημαντικά.

Από τα αποτελέσματα του 2<sup>ου</sup> χρονικά πειράματος διαπιστώνουμε ότι η απόδοση του τελευταίου χειρισμού, δηλαδή επαναχρησιμοποίηση της τροφής ως τροφής περάτωσης είναι ανάλογη με αυτή του μάρτυρα, με νύμφες κανονικού βάρους.

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

### 4.1 Αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς

. Καθοριστικό σημείο για την επιτυχή εκτροφή των εντόμων σε εργαστηριακές συνθήκες είναι η δημιουργία κατάλληλου τεχνητού προνυμφικού υποστρώματος. Ο δάκος της ελιάς παρουσιάζει αρκετές δυσκολίες όσον αφορά την επιτυχή εργαστηριακή ή μαζική εκτροφή, αυτό παρατηρείται στα περισσότερα μονοφάγα έντομα και ο δάκος της ελιάς δεν αποτελεί εξαίρεση (Vanderzant 1966).

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω, μπορούμε να κατανοήσουμε γιατί η κατάλληλη τεχνητή τροφή προνυμφών του δάκου επιτεύχθηκε μετά από πολλές προσπάθειες και πολλά χρόνια έρευνας (Ενότητα 1.3.2).

Η κυτταρίνη χρωματογραφίας μετέχει στη σύνθεση του τεχνητού προνυμφικού υποστρώματος, ως βασικό υλικό υφής στην εκτροφή του δάκου της ελιάς και συντελεί, μαζί με το νερό στη δημιουργία της κατάλληλης υφής του υποστρώματος ώστε να επιτρέπεται η κυκλοφορία του οξυγόνου, η κίνηση των προνυμφών μέσα σε αυτό και η πρόσληψη των απαιτούμενων θρεπτικών του υποστρώματος από τις προνύμφες. Η κυτταρίνη χρωματογραφίας έχει πολύ υψηλό κόστος το οποίο την καθιστά ασύμφορη στην περίπτωση μαζικής εκτροφής του εντόμου και σύντομα δεν θα είναι διαθέσιμη αφού νέες μέθοδοι χρωματογραφίας έχουν αντικαταστήσει την κυτταρίνη και η παραγωγή της διακόπτεται.

Επομένως είναι επιτακτική η εύρεση υλικού που θα είναι ικανό να αντικαταστήσει επιτυχώς την κυτταρίνη χρωματογραφίας. Όμως λαμβάνοντας υπόψη όσα αναφέρθηκαν παραπάνω η εύρεση ενός τέτοιου υλικού δεν είναι εύκολη υπόθεση, παρά το γεγονός ότι η κυτταρίνη δεν χρησιμοποιείται άμεσα από το έντομο.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν διάφορα υλικά χαμηλού κόστος και διαθέσιμα ως πιθανοί αντικαταστάτες της κυτταρίνης χρωματογραφίας. Πολλά από τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είχαν σαν αποτέλεσμα τη μηδενική απόδοση των υποστρωμάτων (Πίνακας 6). Σε όλους τους αυτούς χειρισμούς, οι προνύμφες παρέμειναν ζωντανές μέχρι και τη δεύτερη μέρα (προνύμφες 1<sup>ου</sup> σταδίου, μήκους 1-2 mm) μετά την τοποθέτηση τους στην τροφή, ενώ την τέταρτη μέρα ήταν όλες νεκρές. Εξαίρεση αποτελεί ο χειρισμός με το διάλυμα της τροφής προνυμφών (χωρίς βασικό υλικό υφής), όπου οι προνύμφες ήταν νεκρές τη 2<sup>η</sup> μέρα από την τοποθέτηση τους

στην τροφή (λόγω πνιγμού). Επίσης, εξαίρεση αποτελεί ο χειρισμός με το πίτυρο σιτηρών, όπου υπήρχε μέσα στην τροφή μεγάλος αριθμός προνυμφών 2<sup>ου</sup> σταδίου για μεγάλο χρονικό διάστημα (10 μέρες), χωρίς όμως να μπορούν να ολοκληρώσουν την προνυμφική τους ανάπτυξη και να νυμφωθούν.

Κάποια υλικά τα οποία χρησιμοποιήθηκαν, αντί κυτταρίνης, έδωσαν μικρές ή πολύ μικρές αποδόσεις σε σύγκριση με τον μάρτυρα (Πίνακας 7). Εξαίρεση αποτελούν οι χειρισμοί με το απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικά) και την σπογγοπετσέτα vetex (+75% συντηρητικά), αντί κυτταρίνης, που έδωσαν ικανοποιητικές αποδόσεις σε όλες τις χρονικές επαναλήψεις των χειρισμών, όμως οι νύμφες που προέκυψαν είχαν μειωμένο βάρος, σε σύγκριση με αυτές του μάρτυρα.

Από όλα τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν στη θέση της κυτταρίνης στην τροφή προνυμφών ο περλίτης, το πίτυρο σιτηρών, η πυρήνα ελιάς, το πυρηνόξυλο ελιάς, η αλεσμένη ρόκα καλαμποκιού τεμαχίων διαμέτρου 1-2 mm, και η αλεσμένη ρόκα καλαμποκιού τεμαχίων διαμέτρου 2-5 mm, προσέδωσαν στο μίγμα υφή περίπου ταυτόσημη με αυτή του μάρτυρα (κυτταρίνη), δηλαδή αφράτη και όχι πολύ υδαρής. Το καλαμποκαλεύρο και η άμμος θαλάσσης, αντί κυτταρίνης στην τροφή προνυμφών, προσέδωσαν στο μίγμα λασπώδη υφή. Τα βασικά υλικά υφής, τα οποία απορρόφησαν διάλυμα της τροφής προνυμφών, δημιούργησαν υφή που απέχει πολύ από αυτή του μάρτυρα. Τα υλικά αυτά είναι το απορροφητικό χαρτί, η εφημερίδα, το βαμβάκι, η πετσέτα (από βαμβάκι), η σπογγοπετσέτα vetex, ο πλαστικός σπόγγος με οπές διαμέτρου 1-1.5 mm, ο πλαστικός σπόγγος με οπές διαμέτρου 0.5 mm, ο σπόγγος από πλαστικό και σύρμα. Στους χειρισμούς στους οποίους το μίγμα είχε παρόμοια υφή με αυτή του μάρτυρα οι προνύμφες κινήθηκαν και αναπτύχθηκαν μέσα στη τροφή, ενώ στους υπόλοιπους οι προνύμφες κινήθηκαν, ορισμένες αναπτύχθηκαν και τελικά νυμφώθηκαν στην επιφάνεια αυτού. Εξαίρεση αποτελεί ο χειρισμός με το απορροφητικό χαρτί, ως βασικό υλικό υφής όπου οι προνύμφες κινήθηκαν στην επιφάνεια αυτού, όμως παράλληλα επεξεργάστηκαν το χαρτί με τα στοματικά τους μόρια και δημιούργησαν ένα δικτύωμα από τις ίνες του χαρτιού (κυτταρίνη) ύψους 2 cm, παρόμοιο με το μικκύλιο μύκητα. Το δικτύωμα αυτό από τις ίνες του χαρτιού, κάλυπτε το 90% της επιφάνειας του υποστρώματος, σε αυτό οι προνύμφες κινήθηκαν, αναπτύχθηκαν και νυμφώθηκαν.

Στους χειρισμούς, όπου το διάλυμα τροφής απορροφήθηκε σε συγκεκριμένα μέσα (π.χ. σπόγγος), οι προνύμφες πιθανόν να λαμβάνουν αυξημένη ποσότητα από το διάλυμα της τροφής προνυμφών επομένως και συντηρητικών (σορβικό κάλι, νιπαγίνη). Το διάλυμα της τροφής προνυμφών, που απορροφήθηκε, περιείχε είτε 100%, είτε το 75% των συντηρητικών που αντιστοιχούν στην τροφή προνυμφών. Οι

χειρισμοί με μειωμένη προσθήκη συντηρητικών (+75%) πραγματοποιήθηκε για την αποφυγή ενδεχόμενης πρόσληψης από τις προνύμφες αυξημένων ποσοτήτων συντηρητικών, συγκεκριμένα νιπαγίνης, που θα μπορούσαν να είναι τοξικές. Από τα αποτελέσματα των χειρισμών που διαφέρουν μόνο στην αναλογία των συντηρητικών (75% ή 100%), παρατηρούμε ότι η μειωμένη κατά  $\frac{1}{4}$  προσθήκη συντηρητικών είτε αυξάνει σημαντικά την απόδοση των υποστρωμάτων (απορροφητικό χαρτί, σπογγοπετσέτα), είτε μειώνει την απόδοση αυτών (βαμβάκι) (Πίνακες 6,7). Από τα παραπάνω αποτελέσματα δεν μπορούμε να καταλήξουμε σε ένα ασφαλές συμπέρασμα, όσον αφορά την ενδεικνυόμενη αναλογία των συντηρητικών στους χειρισμούς που περιλαμβάνουν απορρόφηση διαλύματος θρεπτικών σε διάφορα μέσα για την δημιουργία τεχνητού προνυμφικού υποστρώματος.

Οι ικανοποιητικές αποδόσεις που προέκυψαν από όλες τις χρονικές επαναλήψεις των χειρισμών με το απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικά) και την σπογγοπετσέτα vetex (+75% συντηρητικά), αντί κυτταρίνης, δείχνουν ότι θα μπορούσε ο αντικαταστάτης της κυτταρίνης να είναι και υλικό που προσδίδει διαφορετική υφή στο υπόστρωμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι το απορροφητικό χαρτί που χρησιμοποιήθηκε στους χειρισμούς αποτελείται από κυτταρίνη, έχει ιδιαίτερα υψηλό κόστος και οι νύμφες που προέκυψαν είχαν σημαντικά μειωμένο βάρος. Τα αποτελέσματα των χειρισμών με την σπογγοπετσέτα vetex (+75% συντηρητικά) είναι ενθαρρυντικά, όμως απαιτείται περαιτέρω έρευνα γιατί οι αποδόσεις των χειρισμών με τη σπογγοπετσέτα είναι μεν ικανοποιητικές αλλά εξακολουθούν να είναι αρκετά χαμηλότερες από αυτές του μάρτυρα, ενώ οι νύμφες είχαν μειωμένο βάρος, χωρίς όμως να παρακωλύεται η έξοδος αρτιμελών ενηλίκων από τα νυμφικά περιβλήματα.

Σε ανάλογα πειράματα που προηγήθηκαν στα πλαίσια εργαστηριακής άσκησης (Κονσολάκη, 3<sup>ο</sup> rotation, 2003) λάβαμε μηδενικές αποδόσεις, χωρίς όμως να παρατηρηθεί ανάπτυξη μυκήτων, από τη χρήση στη θέση της κυτταρίνης των παρακάτω υλικών: πίτυρο σιτηρών διαφόρου μεγέθους τεμαχίων (3-4mm, 2-2.5mm, 0.5-1mm), πριονίδι καστανιάς, πριονίδι ελιάς, πετσέτα από χαρτί. Το πίτυρο σιτηρών και το πριονίδι καστανιάς προσέδωσαν στο μίγμα παρόμοια υφή με αυτή του μάρτυρα (κυτταρίνη), το πριονίδι ελιάς προσέδωσε στο μίγμα λασπώδη υφή, ενώ η πετσέτα από χαρτί, στην οποία απορροφήθηκε το υγρό διάλυμα της τροφής προνυμφών, προσέδωσε στο μίγμα υφή εντελώς διαφορετική από αυτή του μάρτυρα. Πρέπει να σημειωθεί ότι σε όλα τα πειράματα που αφορούσαν τη χρήση πιτύρου σιτηρών η συμπεριφορά των προνυμφών ήταν όμοια με αυτή που διαπιστώθηκε στα πειράματα της παρούσας εργασίας (Κονσολάκη, 3<sup>ο</sup> rotation, 2003).

Όπως αναμενόταν, είναι αρκετά δύσκολη η εύρεση του κατάλληλου βασικού υλικού υφής (πολύ χαμηλού κόστους και εύκολα διαθέσιμου), το οποίο θα αντικαταστήσει επιτυχώς την κυτταρίνη χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα για την εργαστηριακή και μαζική εκτροφή του εντόμου. Απαιτείται λοιπόν περαιτέρω έρευνα για την επιτυχή αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς.

Παραμένει όμως το ερώτημα, γιατί η προνύμφη του εντόμου δεν αναπτύσσεται σε υποστρώματα με υφή ταυτόσημη με αυτή του μάρτυρα, δηλαδή με κυτταρίνη ως βασικό υλικό υφής, εφόσον η κυτταρίνη δεν του προσφέρει θρεπτικά και δεν χρησιμοποιείται άμεσα από το έντομο. Ίσως η κυτταρίνη να δημιουργεί μια τέτοια δομή μίγματος, να διεγείρει την προνύμφη να τραφεί (φαγοδιεγερτικό) και επομένως να αναπτυχθεί και να νυμφωθεί. Στην άποψη αυτή συνηγορεί το γεγονός ότι από τη χρήση απορροφητικού χαρτιού (από κυτταρίνη) είχαμε καλές αποδόσεις σε σύγκριση με τον μάρτυρα, με τις προνύμφες να δημιουργούν με τα στοματικά τους μόρια ένα δικτύωμα από τις ίνες του χαρτιού για να κινηθούν, να αναπτυχθούν και να νυμφωθούν. Θα μπορούσαμε επίσης να υποθέσουμε ότι το πλείστο των υλικών που χρησιμοποιήσαμε στη θέση της κυτταρίνης περιέχουν κάποιες ουσίες που αποτρέπουν την προνύμφη του συγκεκριμένου εντόμου να τραφεί (φαγοαποτρεπτικά). Ίσως μετά από εκατοντάδες γενιές εκτροφής σε υπόστρωμα κυτταρίνης το έντομο να έχει επιλεγεί και να απαιτούνται αρκετές γενιές για να προσαρμοστεί σε διαφορετικό υπόστρωμα. Εν' τούτοις, στις πρώτες γενεές εκτροφής του εντόμου με την τροφή προνυμφών που χρησιμοποιείται σήμερα (μάρτυρας), οι αποδόσεις από αυγό σε νύμφη, που λήφθηκαν κυμάνθηκαν στο 19%-45% (Tsitsipis 1975). Όλα τα παραπάνω αποτελούν υποθέσεις χωρίς να είμαστε σε θέση να δώσουμε μια απάντηση με βεβαιότητα.

#### **4.2 Εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων αξιοποίησης υποστρώματος εκτροφής προνυμφών**

Δεδομένου ότι η αποτελεσματική αντικατάσταση του βασικού υλικού υφής της τεχνητής τροφής προνυμφών, δηλαδή της κυτταρίνης χρωματογραφίας φαίνεται δύσκολη υπόθεση, προχωρήσαμε στην εφαρμογή εναλλακτικών μεθόδων με στόχο τη μείωση της απαιτούμενης ποσότητας κυτταρίνης αλλά και τη μείωση του κόστους τεχνητής εκτροφής. Πιθανή μείωση της ποσότητας κυτταρίνης που χρησιμοποιείται σήμερα θα οδηγήσει τόσο σε μείωση του κόστους παραγωγής του εντόμου, όσο και

στην εξασφάλιση περαιτέρω χρόνου μέχρι την εύρεση του υλικού που θα αντικαταστήσει επιτυχώς την κυτταρίνη στην τροφή προνυμφών.

#### **4.2.1 Μέθοδος Επαναχρησιμοποίησης της Τροφής Προνυμφών (Recycling)**

Στις αναλογίες αυγών ανά g τροφής που χρησιμοποιούνται για παραγωγή εντόμων καλής ποιότητας, ένα μεγάλο μέρος των θρεπτικών της τροφής δεν καταναλίσκεται από τις προνύμφες του δάκου της ελιάς. Συνεπώς, θα μπορούσε να επαναχρησιμοποιηθεί η τροφή για την παραγωγή περισσότερων από μία γενεών του εντόμου (Tzanakakis 1969). Η μέθοδος επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών (Recycling) εφαρμόζεται σε περιπτώσεις μαζικής παραγωγής εντόμων, κυρίως για την δραστική μείωση του κόστους παραγωγής.

Σύμφωνα με τη μέθοδο επαναχρησιμοποίησης τροφής (Recycling), τροφή προνυμφών που έχει χρησιμοποιηθεί μία φορά τουλάχιστον ως τροφή προνυμφών, επαναχρησιμοποιείται είτε ως έχει, είτε μετά από προσθήκη διαφόρων συστατικών της τροφής προνυμφών του εντόμου.

Στην παρούσα έρευνα η επαναχρησιμοποίηση της τροφής προνυμφών του δάκου της ελιάς ως έχει (χωρίς καμία προσθήκη) δεν έδωσε καλές αποδόσεις (Πίνακες 8,9). Πρέπει να σημειωθεί ότι το προνυμφικό υπόστρωμα ήταν ήδη αρκετά αφυδατωμένο (στεγνό).

Οι χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης της τροφής με την προσθήκη μόνο νερού (Πίνακες 8,9,10), το οποίο προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόση όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας, έδωσαν στο πλείστο των χρονικών επαναλήψεων του χειρισμού, ικανοποιητικές αποδόσεις σε σύγκριση με τον μάρτυρα, επιπροσθέτως δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη μυκήτων και το βάρος των νυμφών που προέκυψαν ήταν παρόμοιο του μάρτυρα.

Η προσθήκη στην ήδη χρησιμοποιημένη τροφή εκτός του νερού και όλων ή μέρους των θρεπτικών σε ίδιες αναλογίες % με αυτών της φρέσκιας (μαγιά ζυθοποιίας, σόγια υδρολυμένη, ζάχαρη, ελαιόλαδο, tween-80) (Πίνακες 8, 9,13) διαφαίνεται στις περισσότερες περιπτώσεις να ευνοεί την ανάπτυξη μυκήτων και οδηγεί σε μειωμένες αποδόσεις της τροφής σε σύγκριση με τον μάρτυρα.

Για την αποτροπή της ανάπτυξης μυκήτων πραγματοποιήθηκαν οι παραπάνω χειρισμοί με τη επιπλέον προσθήκη συντηρητικών (σορβικό κάλι, νιπαγίνη). Η επιπλέον προσθήκη των συντηρητικών (Πίνακες 9,11,13) καθυστέρησε, χωρίς όμως να αναστείλει την ανάπτυξη μυκήτων και παράλληλα δεν επέδρασε θετικά στην απόδοση των τροφών. Τα συντηρητικά της τροφής και συγκεκριμένα η νιπαγίνη στην

αναλογία που προστίθεται στην τροφή προνυμφών είναι οριακά μη εμφανώς τοξική. Η χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών είναι πιθανόν να περιέχει κάποιες εναπομένουσες ποσότητες νιπαγίνης, συνεπώς η προσθήκη αυτής στους χειρισμούς επαναχρησιμοποίησης της τροφής, πιθανόν να αυξάνει την ποσότητα σε τοξικά επίπεδα. Οι χειρισμοί με όλους τους πιθανούς συνδυασμούς προσθήκης των θρεπτικών και των συντηρητικών, στο 100% και 50% των αναλογούμενων, πραγματοποιήθηκαν για την εξακρίβωση και της ενδεχόμενης αρνητικής επίδρασης της προσθήκης νιπαγίνης. Οι μικρές αποδόσεις όλων των παραπάνω χειρισμών δεν ενισχύουν την υπόθεση μας.

Η επιπλέον προσθήκη στην χρησιμοποιημένη τροφή του υδροχλωρικού οξέος (HCL) έγινε με βάση την υπόθεση ότι το pH της τροφής στους χειρισμούς επαναχρησιμοποίησης της τροφής πιθανόν να κυμαίνεται σε μη επιθυμητά επίπεδα με αποτέλεσμα να ενισχύεται η ανάπτυξη μυκήτων. Οι χειρισμοί με την επιπλέον προσθήκη HCL στην χρησιμοποιημένη τροφή δείχνουν ότι το HCL δεν καθυστέρησε ή ανέστειλε την ανάπτυξη μυκήτων ούτε επέδρασε θετικά στην απόδοση των τροφών (Πίνακες 11, 12). Από μετρήσεις του pH της τροφής κατά τη διάρκεια των συγκεκριμένων χειρισμών διαπιστώσαμε ότι είτε είχε προστεθεί HCL, είτε όχι το pH κυμάνθηκε σε επιθυμητά επίπεδα (περίπου 4).

Από όλα τα αποτελέσματα που αφορούν την επαναχρησιμοποίηση της τροφής μπορούμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα ότι είναι δυνατή η επαναχρησιμοποίηση της τροφής προνυμφών του δάκου της ελιάς. Τα καλύτερα αποτελέσματα όσον αφορά την απόδοση, το βάρος των νυμφών και την ανάπτυξη μυκήτων, προήλθαν από την επαναχρησιμοποίηση της τροφής μετά από προσθήκη μόνο νερού. Η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών εξασφαλίζει μείωση της απαιτούμενης ποσότητας κυτταρίνης καθώς και σημαντική μείωση του κόστους παραγωγής. Επιπροσθέτως, η προσθήκη μόνο νερού στο υπόστρωμα προκειμένου να επαναχρησιμοποιηθεί μειώνει σημαντικά το κόστος παραγωγής των εντόμων.

Πραγματοποιήθηκε επίσης Recycling, που αφορούσε την επαναχρησιμοποίηση των βασικών υλικών υφής που είχαν αντικαταστήσει την κυτταρίνη με σχετικά καλά αποτελέσματα (Πίνακας 7), δηλαδή την σπογγοπετσέτα (+75% συντηρητικών) και το απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικών). Η προσπάθεια επαναχρησιμοποίησης των υλικών αυτών δεν είχε ιδιαίτερη επιτυχία (Πίνακας 14). Το απορροφητικό χαρτί στη προσπάθεια καθαρισμού του με νερό για επαναχρησιμοποίηση διαλύθηκε. Όσον αφορά την σπογγοπετσέτα πραγματοποιήθηκε καθαρισμός αυτής είτε με νερό, είτε με νερό και σαπούνι για επαναχρησιμοποίηση, όμως η απόδοση των χειρισμών ήταν είτε μηδενική είτε ανάλογη με αυτή της σπογγοπετσέτας που χρησιμοποιήθηκε πρώτη



φορά, όμως παρατηρήθηκε ανάπτυξη μυκήτων τους χειρισμούς επαναχρησιμοποίησης του υλικού υφής. Η μη δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης του απορροφητικού χαρτιού και η αμφίβολη δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης της σπογγοπετσέτας αυξάνει σημαντικά το κόστος παραγωγής των εντόμων σε περίπτωση χρήσης των συγκεκριμένων υλικών υφής.

Σε προγενέστερα πειράματα που αφορούσαν την επαναχρησιμοποίηση της τροφής προνυμφών του δάκου της ελιάς με προσθήκη μικρών ποσοτήτων νερού, κάποιων θρεπτικών (μαγιά ζυθοποιίας, σόγια υδρολυμένη) και συντηρητικών διαπιστώθηκε ότι η απόδοση της επαναχρησιμοποιημένης τροφής κυμάνθηκε σε σχετικά ικανοποιητικά ποσοστά (17.3%), ενώ τα προστεθέντα θρεπτικά αύξησαν την απόδοση (19.3%), επίσης παρατηρήθηκε παράταση του προνυμφικού σταδίου και οι νύμφες που προέκυψαν είχαν ελαφρά μικρότερο βάρος σε σχέση με τον μάρτυρα (Tzanakakis 1969). Σε ανάλογους χειρισμούς (επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, μαγιάς ζυθοποιίας, σόγιας υδρολυμένη, ζάχαρης και συντηρητικών) που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία η απόδοση κυμάνθηκε σε χαμηλότερα επίπεδα (3.73-11.20 %) (Πίνακας 9, 7<sup>ος</sup> χειρισμός και Πίνακας 11, 4<sup>ος</sup> χειρισμός 1<sup>ου</sup> πειράματος και 2<sup>ος</sup> χειρισμός 2<sup>ου</sup> πειράματος).

Σε παρόμοια πειράματα επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών στην μύγα της Μεσογείου, συγγενικό έντομο του δάκου της ελιάς, διαπιστώνεται ότι η προσθήκη στην χρησιμοποιημένη τροφή προνυμφών μόνο νερού και φρέσκιας τροφής έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα όσον αφορά την ποσότητα και την ποιότητα των παραγόμενων εντόμων. Καλύτερα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν με την επιπλέον προσθήκη μικρών ποσοτήτων θρεπτικών (ζάχαρη, μαγιά ζυθοποιίας). Η επιπλέον προσθήκη των συντηρητικών της τροφής (κιτρικό οξύ, βενζοϊκό νάτριο) επέδρασε αρνητικά στην ποσότητα και ποιότητα των παραγόμενων εντόμων (Economopoulos *et al.* 1987).

Η χρήση μαγιάς ζυθοποιίας νέας παραλαβής στο προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς επηρέασε την απόδοση της τροφής είτε αρνητικά (Πίνακας 15), είτε θετικά (Πίνακες 13,14). Η ίδια μαγιά ζυθοποιίας χρησιμοποιήθηκε και στη τροφή προνυμφών της μύγας της Μεσογείου με θετική επίδραση στην απόδοση της τροφής. Πρέπει να σημειωθεί ότι η μαγιά ζυθοποιίας αποτελεί ένα από τα βασικότερα συστατικά για την τροφή προνυμφών της μύγας Μεσογείου. Αποτελέσματα που προέκυψαν από προγενέστερες μελέτες αναφέρουν, ότι η χρήση μαγιάς ζυθοποιίας παραλαβής από διαφορετική πηγή (χαμηλότερου κόστους) στην τροφή προνυμφών της μύγας Μεσογείου βελτίωσε την απόδοση της τροφής, το βάρος των νυμφών, την

έξοδο των ενηλίκων και την πτητική ικανότητα των εντόμων κατά 5-10 % (Economopoulos *et al.* 1990).

Η μαγιά ζυθοποιίας αποτελεί επίσης ένα από τα βασικότερα θρεπτικά συστατικά της τροφής προνυμφών του δάκου της ελιάς, καθώς και άλλων εντόμων που εκτρέφονται σε εργαστηριακές συνθήκες. Η χημική σύνθεση της μαγιάς ζυθοποιίας διαφέρει ευρύτατα από παρτίδα σε παρτίδα. Πρωτεϊνική ανάλυση σε διάφορες ομάδες μαγιάς ζυθοποιίας έδωσε επίπεδο ποικιλότητας 11-44 % δείχνοντας την ευρύτατη διακύμανση της πρωτεϊνικής σύνθεσης της μαγιάς ζυθοποιίας από παρτίδα σε παρτίδα (Manoukas 1975). Επομένως, είναι αναμενόμενο η χρήση μαγιάς ζυθοποιίας από διαφορετική παρτίδα να επηρεάσει (θετικά ή αρνητικά) την απόδοση των τεχνητών προνυμφικών υποστρωμάτων. Η διακύμανση της επίδρασης (θετική, αρνητική) της ίδιας μαγιάς ζυθοποιίας στην απόδοση της τροφής σε διαφορετικές γενιές του εντόμου μπορεί ίσως να αποδοθεί και σε μη ταχεία προσαρμογή του εντόμου στην μαγιά νέας παραλαβής.

#### **4.2.2 Μέθοδος Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης της Εκτροφής Προνυμφών (Starter-Finisher)**

Σύμφωνα με τη μέθοδο Τροφής Εκκίνησης και Τροφής Περάτωσης της εκτροφής προνυμφών (Starter-Finisher), τα αυγά του εντόμου τοποθετούνται σε υψηλές πυκνότητες, πολλαπλάσιες των ενδεικνυόμενων στην τροφή εκκίνησης (Starter), στην οποία παραμένουν για ένα συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, συνήθως μέχρι την ολοκλήρωση του 1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> σταδίου των προνυμφών. Στη συνέχεια οι προνύμφες μεταφέρονται στην τροφή περάτωσης (Finisher), στην οποία η αναλογία προνυμφών/τροφής είναι η ενδεικνυόμενη, όπου και ολοκληρώνουν την προνυμφική τους ανάπτυξη. Αυτή η μέθοδος εφαρμόζεται σε περιπτώσεις μαζικής παραγωγής εντόμων, κυρίως για την εξοικονόμηση χώρου και για τη μείωση του κόστους παραγωγής των εντόμων.

Η μέθοδος Starter-Finisher εφαρμόζεται στη μαζική παραγωγή της μύγας Μεσογείου. Τα αυγά του εντόμου τοποθετούνται σε υψηλές αναλογίες, εικοσαπλάσιες των ενδεικνυόμενων (500 αυγά ανά g τροφής) στην τροφή εκκίνησης, η οποία περιέχει διπλάσια ποσότητα κιτρικού οξέος (ενός εκ των συντηρητικών της τροφής προνυμφών), στην οποία παραμένουν για δύο μέρες και στην συνέχεια μεταφέρονται στην τροφή περάτωσης στην ενδεικνυόμενη αναλογία (25 προνύμφες ανά g τροφής) μέχρι την ολοκλήρωση του προνυμφικού σταδίου (Economopoulos *et al.* 1987).

Πραγματοποιήθηκε εφαρμογή της μεθόδου Starter-Finisher στο δάκο της ελιάς με διαφορετικά χρονικά διαστήματα (σε ημέρες) παραμονής των προνυμφών στο Starter, δηλαδή σε υψηλές πυκνότητες (100 προνύμφες ανά g τροφής) και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στο Finisher, σε ενδεικνυόμενες πυκνότητες (10 προνύμφες ανά g τροφής), όπου και ολοκλήρωσαν την προνυμφική ανάπτυξη τους (Πίνακας 15). Διαπιστώθηκε ότι οι χειρισμοί με διάρκεια παραμονής στο Starter 3 και 5 ημέρες, 1<sup>ου</sup> και 2<sup>ου</sup> σταδίου προνύμφες αντίστοιχα, δεν διαφέρουν από τον μάρτυρα όσον αφορά την απόδοση της τροφής, το βάρος των νυμφών και την έξοδο των ενηλίκων. Αντίθετα, ο χειρισμός με διάρκεια παραμονής στο Starter 7 μέρες, 3<sup>ου</sup> σταδίου προνύμφες, είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση της απόδοσης σε νύμφες.

Επομένως, είναι δυνατή η εφαρμογή της μεθόδου Starter-Finisher στη μαζική παραγωγή του δάκου της ελιάς με παραμονή των προνυμφών στη τροφή εκκίνησης, δηλαδή σε υψηλή πυκνότητα προνυμφών/τροφής, δεκαπλάσια της ενδεικνυόμενης, μέχρι το 1<sup>ο</sup> ή το 2<sup>ο</sup> προνυμφικό στάδιο ανάπτυξης και στη συνέχεια τη μεταφορά στην ενδεικνυόμενη πυκνότητα στη τροφή περάτωσης, μέχρι την ολοκλήρωση της προνυμφικής ανάπτυξης.

Η παραμονή των προνυμφών καθ' όλη τη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου σε υψηλές πυκνότητες στο Starter (δεκαπλάσιες των ενδεικνυόμενων) (Πίνακας 16, τελευταίος χειρισμός), είχε ως αποτέλεσμα την παραγωγή μειωμένου αριθμού εντόμων κανονικού βάρους, ενώ είναι πιθανό να υπήρξε κανιβαλισμός μεταξύ προνυμφών. Το φαινόμενο του κανιβαλισμού προνυμφών δεν είναι σπάνιο, όταν έντομα που εκτρέφονται σε συνθήκες εργαστηρίου τοποθετούνται σε υψηλές πυκνότητες στα προνυμφικά υποστρώματα, γεγονός που σημαίνει έλλειψη ζωτικού χώρου προνύμφης ή και τροφής. Ο κανιβαλισμός προνυμφών έχει καταγραφεί σε πολλά έντομα (Diptera, Hymenoptera, Coleoptera) είτε στη φύση, είτε σε συνθήκες εργαστηρίου (Savidou and Bell 1994, Campos and Lounibos 2000, Schmickl and Crailsheim 2001).

Πραγματοποιήθηκε και εφαρμογή μεθόδου Starter-Finisher, κατά την οποία ως Starter χρησιμοποιήθηκε standard τροφή προνυμφών του εντόμου και ως Finisher τροφή προνυμφών η οποία είχε διαφορετικά βασικά υλικά υφής στη θέση της κυτταρίνης. Τα βασικά υλικά υφής που χρησιμοποιήθηκαν στη θέση της κυτταρίνης στην τροφή περάτωσης ήταν πίτυρο σιτηρών, βαμβάκι φαρμακευτικό, πετσέτα από βαμβάκι, σπογγοπετσέτα vetex, απορροφητικό χαρτί και υδαρές διάλυμα της τροφής προνυμφών. Όλα τα παραπάνω υλικά χρησιμοποιήθηκαν στη θέση της κυτταρίνης με ποικίλα αποτελέσματα, όσον αφορά την απόδοση της τροφής, η οποία ήταν είτε μηδενική (πίτυρο σιτηρών, διάλυμα τροφής προνυμφών, Πίνακας 6), είτε μη

μηδενική αλλά σημαντικά μειωμένη (βαμβάκι και πετσέτα από βαμβάκι, Πίνακας 7), είτε ικανοποιητική σε σύγκριση με το μάρτυρα (σπογγοπετσέτα και απορροφητικό χαρτί, Πίνακας 7). Η επιλογή των παραπάνω υλικών, αντί κυτταρίνης στο Finisher, έγινε με βάση το σκεπτικό ότι η τοποθέτηση ήδη αναπτυγμένων προνυμφών (1<sup>ου</sup> ή 2<sup>ου</sup> σταδίου) σε αυτά στα υποστρώματα θα επέτρεπε περαιτέρω και ίσως αύξανε την απόδοση σε νύμφες.

Διαπιστώθηκε ότι στο χειρισμό με χρήση του διαλύματος της τροφής προνυμφών (απουσία κυτταρίνης) ως τροφής περάτωσης η τοποθέτηση σε αυτό ανεπτυγμένων προνυμφών (2<sup>ου</sup> σταδίου) είχε το ίδιο αποτέλεσμα με τη χρήση του υποστρώματος ως ενιαίας τροφής, δηλαδή τον πνιγμό των προνυμφών (Πίνακες 6, 17). Η τοποθέτηση ανεπτυγμένων προνυμφών (2<sup>ου</sup> σταδίου) σε Finisher με βασικό υλικό υφής το βαμβάκι είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της απόδοσης του υποστρώματος (Πίνακας 17) σε σύγκριση με τη χρήση αυτού ως ενιαίας τροφής (Πίνακας 7). Διαπιστώθηκε ότι η τοποθέτηση ανεπτυγμένων προνυμφών (1<sup>ου</sup> σταδίου) σε Finisher με βασικό υλικό υφής το πίτυρο σιτηρών ώθησε την ολοκλήρωση της ανάπτυξης των προνυμφών και τη νύμφωση τους, με σημαντικά μειωμένη όμως απόδοση σε σχέση με τον μάρτυρα, σε αντίθεση με τη χρήση του υποστρώματος ως ενιαίας τροφής όπου οι προνύμφες αναπτύχθηκαν μέχρι το 2<sup>ο</sup> στάδιο και στη συνέχεια πέθαιναν χωρίς να μπορούν να ολοκληρώσουν την ανάπτυξη τους και να νυμφωθούν (Πίνακας 16). Σημαντική αύξηση της απόδοσης, με ιδιαίτερα ικανοποιητικά αποτελέσματα σε σύγκριση με τον μάρτυρα, παρατηρήθηκαν από τη τοποθέτηση ανεπτυγμένων προνυμφών (2<sup>ου</sup> σταδίου) σε τροφή περάτωσης με βασικό υλικό υφής πετσέτα από βαμβάκι, σπογγοπετσέτα vetex, απορροφητικό χαρτί (Πίνακας 17), σε σύγκριση με τη χρήση των υποστρωμάτων αυτών ως ενιαίας τροφής (Πίνακας 7).

Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι είναι δυνατή η εφαρμογή της μεθόδου Starter-Finisher, όταν ως τροφή εκκίνησης χρησιμοποιείται η standard τροφή προνυμφών και ως Finisher τροφή προνυμφών με αντικατάσταση της κυτταρίνης από πετσέτα, βαμβάκι, σπογγοπετσέτα, ή απορροφητικό χαρτί. Η εφαρμογή του παραπάνω συνδυασμού θα μπορούσε να μειώσει σημαντικά την χρησιμοποιούμενη ποσότητα κυτταρίνης (υποδεκαπλασιασμός).

#### **4.2.3 Συνδυασμός των Μεθόδων Starter-Finisher και Recycling**

Πραγματοποιήθηκε εφαρμογή συνδυασμού των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling με ίδιο στόχο, δηλαδή τη μείωση της απαιτούμενης ποσότητας κυτταρίνης και του κόστους παραγωγής εντόμων. Ο συνδυασμός των μεθόδων περιελάμβανε την

παραμονή των προνυμφών στη τροφή εκκίνησης (Starter) σε υψηλές πυκνότητες (δεκαπλάσιες των ενδεικνυόμενων) μέχρι το 2<sup>ο</sup> στάδιο ανάπτυξης των προνυμφών (για διάστημα 5 ημερών) και στη συνέχεια μεταφορά αυτών σε Finisher, σε μειωμένη πυκνότητα, μέχρι την ολοκλήρωση του προνυμφικού σταδίου (χρονικό διάστημα 4 ημερών). Ως Finisher χρησιμοποιήθηκε τροφή που είχε χρησιμοποιηθεί τουλάχιστον μια φορά ως τροφή προνυμφών του δάκου της ελιάς.

Στα παρόντα πειράματα την τροφή Finisher αποτελούσε χρησιμοποιημένη τροφή ως ενιαία τροφή προνυμφών (χρήση αυτής για 9 μέρες) είτε με προσθήκη μόνο νερού για να αποκτήσει τη υφή της φρέσκιας, είτε με την προσθήκη όλων των συστατικών της τροφής πλην κυτταρίνης (θρεπτικά, συντηρητικά, HCL). Παρατηρήθηκε ότι η προσθήκη όλων των συστατικών της τροφής επέδρασε αρνητικά στην απόδοση των χειρισμών (Πίνακας 19), σε σχέση με τον χειρισμό με τη προσθήκη μόνο νερού ο οποίος, σε όλες τις χρονικές επαναλήψεις αυτού, είχε ως αποτέλεσμα υψηλές αποδόσεις, ίδιες ή χαμηλότερες του μάρτυρα (Πίνακες 19, 20). Για να διαπιστώσουμε αν το χρονικό διάστημα χρήσης της τροφής ως τροφής προνυμφών σχετίζεται με την απόδοση όταν επαναχρησιμοποιηθεί ως τροφή περάτωσης, χρησιμοποιήθηκε τροφή που είχε χρησιμοποιηθεί άπαξ ως ενιαία τροφή προνυμφών (για 9 μέρες), είτε ως ενιαία τροφή προνυμφών και ως τροφή περάτωσης (δηλαδή ήδη επαναχρησιμοποιημένη για 13 μέρες), είτε είχε χρησιμοποιηθεί μόνο ως τροφή περάτωσης (4 μέρες). Σε όλες τις περιπτώσεις προστέθηκε μόνο νερό στην απαιτούμενη ποσότητα για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας. Οι αποδόσεις όλων των παραπάνω χειρισμών κυμάνθηκαν σε υψηλά επίπεδα, πλην του τελευταίου χειρισμού.

Από όλα τα παραπάνω διαπιστώνουμε ότι τα αποτελέσματα του συνδυασμού των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling, δηλαδή της χρήση τροφής περάτωσης που έχει χρησιμοποιηθεί τουλάχιστον μία φορά ως τροφή προνυμφών, συμφωνούν απόλυτα με τα αποτελέσματα από την επαναχρησιμοποίηση της τροφής (Ενότητα 4.2.1), δηλαδή ότι είναι δυνατή η επαναχρησιμοποίηση της τροφής προνυμφών του δάκου της ελιάς είτε ως ενιαίας τροφής, είτε ως τροφής περάτωσης σε σύστημα Starter-Finisher, ενώ τα καλύτερα αποτελέσματα, όσον αφορά την απόδοση της τροφής, προέκυψαν από επαναχρησιμοποίηση της τροφής μετά από προσθήκη μόνο νερού.

Η δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών ως τροφής περάτωσης, με προσθήκη μόνο νερού εξασφαλίζει μείωση της απαιτούμενης ποσότητας κυτταρίνης και μείωση του κόστους παραγωγής.

Παρόμοια αποτελέσματα προκύπτουν από ανάλογα πειράματα συνδυασμού των μεθόδων Starter-Finisher και Recycling που έχουν πραγματοποιηθεί στην μύγα Μεσογείου. Η μέθοδος Starter-Finisher εφαρμόζεται στην εκτροφή της μύγας Μεσογείου, όπως αναφέρεται παραπάνω (Ενότητα 4.2.2). Έγινε προσπάθεια επαναχρησιμοποίησης της τροφής περάτωσης (Finisher) ως Finisher ενώ ως τροφή εκκίνησης (Starter) χρησιμοποιήθηκε φρέσκια τροφή. Πριν την επαναχρησιμοποίηση, η τροφή περάτωσης υποβλήθηκε σε υψηλή θερμοκρασία σε κλίβανο για τη θανάτωση εναπομεινάντων νυμφών, στη συνέχεια προστέθηκε νερό (40% περίπου της τελικής τροφής) για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας. Τα αποτελέσματα από τον παραπάνω χειρισμό ήταν μειωμένα σε σχέση με τον μάρτυρα (φρέσκια τροφή εκκίνησης και περάτωσης) όσον αφορά την απόδοση της τροφής, το βάρος των νυμφών και την έξοδο των ενηλίκων. Η προσθήκη μικρών ποσοτήτων θρεπτικών στην χρησιμοποιημένη τροφή περάτωσης έδωσε αντιφατικά αποτελέσματα. Τα ενήλικα που προέκυψαν από τους παραπάνω χειρισμούς επαναχρησιμοποίησης της τροφής περάτωσης επιβίωσαν περισσότερο από αυτά του μάρτυρα (Bruzzone *et al.* 1990).

### 4.3 Γενικό συμπέρασμα

Στην προσπάθεια αντικατάστασης της κυτταρίνης χρωματογραφίας στην τεχνητή τροφή προνυμφών του δάκου της ελιάς, έγινε χρήση διαφόρων υλικών που προσέδωσαν στο μίγμα υφή παρόμοια με αυτή του μαρτυρά (κυτταρίνη), όπως ο περλίτης, το πίτυρο σιτηρών, ο πυρήνας ελιάς, το πυρηνόξυλο ελιάς, η αλεσμένη ρόκα καλαμποκιού. Τα υλικά αυτά είχαν ως αποτέλεσμα μηδενική ή πολύ χαμηλή απόδοση από αυγό σε νύμφη σε σύγκριση με τον μάρτυρα (κυτταρίνη). Επίσης πραγματοποιήθηκε χρήση υλικών που προσδίδουν στο μίγμα υφή που απέχει πολύ από αυτή του μάρτυρα, όπως διάφοροι σπόγγοι, εφημερίδα, βαμβάκι, πετσέτα από βαμβάκι, με ανάλογα αποτελέσματα, δηλαδή μηδενική ή χαμηλή απόδοση σε σχέση με τον μάρτυρα, με εξαίρεση την σπογγοπετσέτα (+75% συντηρητικά) και το απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικά). Η χρήση αυτών των υλικών, αντί κυτταρίνης, έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα όσον αφορά στην απόδοση, όταν στο υπόστρωμα εκτροφής τοποθετήθηκαν αναπτυγμένες προνύμφες, δηλαδή χρησιμοποιήθηκε ως τροφή περάτωσης (Finisher) σε σύστημα Starter-Finisher. Όμως, οι νύμφες που προέκυψαν από τη χρήση των υλικών αυτών είχαν, στις περισσότερες περιπτώσεις, μειωμένο βάρος. Επίσης, πρέπει να σημειωθεί το πολύ υψηλό κόστος

του απορροφητικού χαρτιού καθώς και η αδυναμία επαναχρησιμοποίησης των υλικών αυτών.

Ιδιαίτερα θετικά αποτελέσματα στη μείωση του κόστους παραγωγής των εντόμων και στη μείωση της απαιτούμενης ποσότητας κυτταρίνης, είχαμε από την επαναχρησιμοποίηση της τεχνητής τροφής προνυμφών (Recycling) είτε ως ενιαίας τροφής, είτε ως τροφής περάτωσης σε σύστημα Starter-Finisher, μετά από προσθήκη μόνο νερού.

Στα πειράματα επαναχρησιμοποίησης της τροφής είτε ως ενιαίας τροφής, είτε ως τροφής περάτωσης σε σύστημα Starter-Finisher, διαπιστώθηκε ότι η προσθήκη διαφόρων συστατικών της τροφής, δηλαδή θρεπτικών, συντηρητικών και HCL στην χρησιμοποιημένη τροφή, στις περισσότερες περιπτώσεις ευνοεί την ανάπτυξη μυκήτων, ενώ παράλληλα έχει ως αποτέλεσμα σημαντικά μειωμένες αποδόσεις σε σχέση με τον μάρτυρα.

Από τα πειραματικά δεδομένα της παρούσας εργασίας προέκυψαν αρκετά ενθαρρυντικά αποτελέσματα, όμως απαιτούνται περαιτέρω πειραματικές εφαρμογές για την εύρεση του υλικού που θα αντικαταστήσει επιτυχώς την κυτταρίνη χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα του δάκου της ελιάς.

## Περίληψη

Στη σύνθεση του τεχνητού προνυμφικού υποστρώματος για την εκτροφή του δάκου της ελιάς χρησιμοποιείται κυτταρίνη χρωματογραφίας ως βασικό υλικό υφής, για την ενοποίηση των υπολοίπων συστατικών της τροφής και την δημιουργία της κατάλληλης υφής για την επιβίωση, δραστηριότητα και ανάπτυξη της προνύμφης. Σκοποί της παρούσας εργασίας ήταν η εύρεση υλικού, χαμηλού κόστους και εύκολα προσβάσιμου, για την αντικατάσταση της κυτταρίνης χρωματογραφίας, καθώς επίσης η ανάπτυξη μεθοδολογιών επαναχρησιμοποίησης, ή συστήματος τροφής εκκίνησης-τροφής περάτωσης οι οποίες θα ελάττωναν τόσο την χρήση κυτταρίνης όσο και τροφής γενικότερα, μειώνοντας έτσι το κόστος εκτροφής.

Χρησιμοποιήθηκαν διάφορα υλικά ως πιθανοί αντικαταστάτες της κυτταρίνης χρωματογραφίας. Τα αποτελέσματα ήταν μηδενικές ή χαμηλές αποδόσεις ως επι το πλείστον σε σύγκριση με την standard τροφή, όσον αφορά την απόδοση από αυγό σε νύμφη. Εντούτοις, ενθαρρυντικά αποτελέσματα είχαμε από τη χρήση της σπογγοπετσέτας vetex (+75% συντηρητικά) και του απορροφητικού χαρτιού (+75% συντηρητικά) αντί κυτταρίνης. Πρέπει όμως να σημειώσουμε το υψηλό κόστος του απορροφητικού χαρτιού που χρησιμοποιήθηκε.

Ερευνήθηκαν εναλλακτικοί χειρισμοί, για τη μείωση της χρησιμοποιούμενης κυτταρίνης και του κόστους εκτροφής. Οι εναλλακτικοί χειρισμοί αφορούσαν τη μέθοδο Τροφή Εκκίνησης - Τροφή Περάτωσης (Starter-Finisher) και τη μέθοδο Επαναχρησιμοποίησης της τεχνητής τροφής προνυμφών (Recycling). Τα αποτελέσματα της μεθόδου Starter-Finisher με Starter την standard τροφή και Finisher τροφή με σπογγοπετσέτα vetex (+75% συντηρητικά) ή απορροφητικό χαρτί (+75% συντηρητικά) αντί κυτταρίνης, ήταν ιδιαίτερα ικανοποιητικά σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Ιδιαίτερα θετικά αποτελέσματα είχαμε και από την εφαρμογή της μεθόδου επαναχρησιμοποίησης της τροφής προνυμφών (Recycling) που αφορούσε στην επαναχρησιμοποίηση της τροφής προνυμφών είτε ως ενιαίας τροφής (καθ' όλη τη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου), είτε ως τροφής περάτωσης, μετά από προσθήκη νερού για την εξασφάλιση κατάλληλης υφής του υποστρώματος.

Παρά τα ενθαρρυντικά του παρόντος πειραματισμού, απαιτείται περαιτέρω έρευνα για την ολοκλήρωση της ανάπτυξης αποτελεσματικού εναλλακτικού μίγματος εκτροφής προνύμφης χαμηλού κόστους. Δηλαδή την πλήρη αντικατάσταση της κυτταρίνης ή την επίτευξη σταθερών αποδόσεων σε συστήματα επαναχρησιμοποίησης τροφής ή συνδυασμού τροφής εκκίνησης-τροφής περάτωσης.



## **Abstract**

As of this moment, a major component in the artificial larval medium of olive fly is chromatography cellulose powder. A material of very high cost and difficult to find in the market today. Cellulose secures proper texture for larval survival, feeding activity and growth. The present study attempted to replace cellulose by material(s) of relatively low cost and easily available.

A variety of materials were used as possible substitutes of cellulose powder, with zero or poor results compared to control treatment regarding the yield from egg to pupa.

Nevertheless, encouraging results were achieved when cellulose was replaced by sponge towel vetex (+75% the preservatives of standard medium), and filter paper (+75% preservatives). The high cost of filter paper should be noted.

Alternative treatments were investigated as well, to ensure substantial reduction of cellulose and rearing cost. These included the methodologies of Starter-Finisher and Recycling. The results obtained when the Starter-Finisher methodology was applied, with the standard diet as Starter, and vetex (+75% preservatives) or filter paper (+75% preservatives) as Finishers, were satisfactory, although of lower medium productivity compared to control. Particularly positive results were obtained with Recycling, i.e. complete reuse of larval medium for larval rearing, or reuse of larval medium as finisher. In both cases best results were obtained when water was added and thorough mixing was applied to ensure proper medium texture.

Further research is needed in order to develop an effective low cost medium without cellulose powder as basic texture material. Also further research is needed to standardize larval medium Recycling and Starter-Finisher methodologies for the olive fruit fly mass rearing.

## **ΠΙΝΑΚΕΣ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

**Πίνακας 6.** Αντικατάσταση κυτταρίνης χρωματογραφίας στην τεχνητή τροφή προνυμφών του δάκου της ελιάς από άλλο βασικό υλικό υφής. Στις κολώνες που αφορούν κάθε πείραμα οι μέσοι όροι  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Σε κάθε πείραμα πραγματοποιήθηκε παράλληλα ο αντίστοιχος χειρισμός έλεγχου (μάρτυρας). Η σειρά παράθεσης των αποτελεσμάτων αντιστοιχεί στη χρονική σειρά διεξαγωγής των πειραμάτων. Περιλαμβάνονται μόνο πειράματα με χειρισμούς που έδωσαν μηδενική απόδοση. Τα διαδοχικά πειράματα χωρίζονται με οριζόντια γραμμή bold.

| <b>Βασικό υλικό τροφής<sup>1</sup></b>                               | <b>Ανάπτυξη<br/>μυκήτων<sup>2</sup></b> | <b>Απόδοση %<br/>(από αυγό σε<br/>νύμφη)</b> | <b>Μέσο βάρος<br/>νυμφών<br/>(mg)</b> | <b>Έξοδος %<br/>ενηλίκων<sup>3</sup></b> |
|--|---|--|---------------------------------------|--|
| Μάρτυρας   | -                                       | 5.685 $\pm$ 0.5                              | 7.86 $\pm$ 1.01                       | 84                                       |
| Περλίτης   | -                                       | 0  |                                       |  |
| Άμμος θαλάσσης   | -                                       | 0  |                                       |  |
| Μάρτυρας   | -                                       | 25.8   | 7.69 $\pm$ 1.21                       | 75                                       |
| Καλαμποκάλευρο   | -                                       | 0  |                                       |  |
| Μάρτυρας   | -                                       | 36.16 $\pm$ 1.74                             | 7.17 $\pm$ 0.82                       | 86                                       |
| Πίτυρο σιτηρών   | -                                       | 0  |                                       |  |
| Μάρτυρας   | -                                       | 49.63 $\pm$ 6.24                             | 7.68 $\pm$ 0.75                       | 79                                       |
| Πυρήνα ελιάς   | -                                       | 0  |                                       |  |
| Πυρηνόξυλο ελιάς   | -                                       | 0  |                                       |  |
| Μάρτυρας   | -                                       | 25.07 $\pm$ 1.14                             | 7.48 $\pm$ 0.98                       | 94                                       |
| Καλαμπόκι (αλεσμένη ρόκα),<br>τεμάχια διαμέτρου 1-2 mm               | 3 <sup>n</sup> ++                       | 0  |                                       |  |
| Μάρτυρας   | -                                       | 16.31 $\pm$ 1.53                             | 7.02 $\pm$ 0.69                       | 88                                       |
| Διάλυμα τροφής προνυμφών<br>(75% συντηρητικά) <sup>4</sup>           | -                                       | 0  |                                       |  |
| Μάρτυρας   | -                                       | 41.5 $\pm$ 4.39                              | 7.15 $\pm$ 0.28                       | 93                                       |
| Απορροφητικό χαρτί   | -                                       | 0  |                                       |  |
| Σπόγγος πλαστικός με οπές 1-1.5 mm<br>(75% συντηρητικά) <sup>4</sup> | 3 <sup>n</sup> +++                      | 0  |                                       |  |
| Σπόγγος από πλαστικό και σύρμα<br>(75% συντηρητικά) <sup>4</sup>     | 5 <sup>n</sup> +++                      | 0  |                                       |  |
| Μάρτυρας   | -                                       | 25.57 $\pm$ 1.12                             | 6.83 $\pm$ 0.57                       | 74                                       |
| Εφημερίδα  | -                                       | 0  |                                       |  |
| Εφημερίδα (75% συντηρητικά) <sup>4</sup>                             | -                                       | 0  |                                       |  |

<sup>1</sup> Σε όλα τα πειράματα μάρτυρας ήταν η standard τροφή εργαστηρίου με κυτταρίνη. Στις τρεις επαναλήψεις κάθε χειρισμού (στο καλαμποκάλευρο 2 επαναλήψεις και 1 μόνο επανάληψη στον αντίστοιχο μάρτυρα) χρησιμοποιήθηκαν από 9 έως 300 g τροφής ανάλογα με το ειδικό βάρος του βασικού υλικού υφής, π.χ 300 g στην περίπτωση της άμμου ενώ 9 g στην περίπτωση του απορροφητικού χαρτιού. Ιδιαίτερη προσοχή δόθηκε να έχουν τελικά όλες οι τροφές ίδια ή περίπου ίδια υφή με αυτή του μάρτυρα, σε κάποιες περιπτώσεις αυτό ήταν αδύνατο (χρησιμοποίηση μόνο διαλύματος τροφής χωρίς βασικό υλικό και βασικό υλικό χαρτί, σπόγγοι, εφημερίδα). Σε όλους τους χειρισμούς τοποθετήθηκαν 10 αυγά ηλικίας 48h ανά g τροφής.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>n</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Στους συγκεκριμένους χειρισμούς τα συντηρητικά της τροφής προνυμφών (σορβικό κάλι, νιαγίνη) προστέθηκαν στο 75% των αντιστοιχών της standard τροφής.

**Πίνακας 7.** Αντικατάσταση κυτταρίνης χρωματογραφίας στην τεχνητή τροφή προνυμφών του δάκου της ελιάς από άλλο βασικό υλικό υφής. Σε κάθε πείραμα πραγματοποιήθηκε παράλληλα ο αντίστοιχος χειρισμός ελέγχου (μάρτυρας). Τρεις ή 5 επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Στις κολώνες κάθε πειράματος μέσοι όροι που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο P= 0.05 (Tukey test). Η σειρά παράθεσης των αποτελεσμάτων αντιστοιχεί στη χρονική σειρά διεξαγωγής των πειραμάτων. Περιλαμβάνονται μόνο πειράματα με χειρισμούς που δεν έδωσαν μηδενική απόδοση. Τα διαδοχικά πειράματα χωρίζονται με οριζόντια γραμμή bold.

| <b>Βασικό υλικό τροφής<sup>1</sup></b>                             | <b>Ανάπτυξη<br/>μυκήτων<sup>2</sup></b> | <b>Απόδοση (%)<br/>(από αυγό σε<br/>νύμφη)</b> | <b>Βάρος νυμφών<br/>(mg)</b> | <b>Έξοδος (%)<br/>ενηλίκων<sup>3</sup></b> |
|--|---|--|------------------------------|--|
| Μάρτυρας   | -                                       | 5.685 ± 0.5 a                                  | 7.86 ± 1.01 a                | 84   |
| Καλαμπόκι (αλεσμένη ρόκα)<br>τεμάχια διαμέτρου 2-5 mm              | -                                       | 1.33 ± 0.19 b                                  | 5.56 ± 1.69 b                | 82.5                                       |
| Βαμβάκι (φαρμακευτικό) <sup>4</sup>                                | -                                       | 0.53 ± 0.11 b                                  | 6.84 ± 1.24 c                | 50   |
| Μάρτυρας   | -                                       | 16.31 ± 1.53 a                                 | 7.02 ± 0.69 abc              | 88   |
| Βαμβάκι (φαρμακευτικό)   | -                                       | 13.4 ± 2.32 a                                  | 7.55 ± 1.00 abc              | 69   |
| Βαμβάκι (φαρμακευτικό)<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>           | -                                       | 3.05 ± 0.25 b                                  | 7.86 ± 0.91 abc              | 65.57                                      |
| Πετσέτα (από βαμβάκι)<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>            | -                                       | 1.87 ± 1.65 b                                  | 6.74 ± 0.49 ac               | 73.34                                      |
| Σπογγοπετσέτα vetex<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>              | 3 <sup>n</sup> +                        | 12 ± 8.26 ac                                   | 7.82 ± 0.76 ab               | 76.39                                      |
| Απορροφητικό χαρτί<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>               | -                                       | 22.91 ± 39.69 c                                | 4.62 ± 0.76 d                | 49.09                                      |
| Μάρτυρας   | -                                       | 34.25 ± 10.33 a                                | 6.66 ± 0.65 a                | 79   |
| Σπογγοπετσέτα vetex<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>              | 7 <sup>n</sup> +                        | 12.75 ± 4.48 a                                 | 5.54 ± 0.62 b                | 73   |
| Απορροφητικό χαρτί<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>               | 3 <sup>n</sup> +                        | 47.81 ± 34.43 a                                | 5.43 ± 0.47 b                | 79   |
| Μάρτυρας   | -                                       | 41.5 ± 4.39 a                                  | 7.15 ± 0.28 a                | 93   |
| Σπογγοπετσέτα vetex<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>              | -                                       | 8.6 ± 11.12 a                                  | 4.84 ± 0.45 b                | 61.63                                      |
| Σπογγοπετσέτα vetex  | -                                       | 1.4 ± 2.58 b                                   | 3.91 ± 1.29 bc               | 57.14                                      |
| Απορροφητικό χαρτί<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup>               | 5 <sup>n</sup> +                        | 27.5 ± 34.73 a                                 | 3.72 ± 0.87 c                | 57   |
| Σπόγγος πλαστικός με οπές 0.5 mm<br>(75% συντηρητικά) <sup>5</sup> | -                                       | 0.4 ± 0.0 b                                    | 6.5 ± 0.7 a                  | 66.66                                      |

<sup>1</sup> Σε όλα τα πειράματα μάρτυρας ήταν η standard τροφή εργαστηρίου με κυτταρίνη. Στις επαναλήψεις κάθε χειρισμού χρησιμοποιήθηκαν από 9 έως 150 g τροφής ανάλογα με το ειδικό βάρος του βασικού υλικού υφής, π.χ 150 g στην περίπτωση του καλαμποκιού ενώ 9 g στην περίπτωση του απορροφητικού χαρτιού. Σε όλους τους χειρισμούς αντικατάστασης της κυτταρίνης (εκτός από το καλαμπόκι) η απόκτηση απόλυτα ίδιας υφής, των τροφών με τον μάρτυρα, ήταν αδύνατη. Σε όλους τους χειρισμούς τοποθετήθηκαν 10 αυγά ηλικίας 48h ανά g τροφής.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>n</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Στο διάλυμα τροφής προνυμφών, που απορροφήθηκε από το βαμβάκι, προστέθηκε το ήμισυ του νερού που αντιστοιχεί στην standard τροφή.

<sup>5</sup> Στους συγκεκριμένους χειρισμούς τα συντηρητικά της τροφής προνυμφών (σορβικό κάλι, νιπαγίνη) προστέθηκαν στο 75% των αντιστοίχων της standard τροφής.

**Πίνακας 8.** Επαναχρησιμοποίηση τεχνητής τροφής προνύμφης δάκου ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις 100 g τροφής σε κάθε χειρισμό. Δέκα αυγά ανά γραμμάριο τροφής. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P= 0.05$  (Tukey test).

| Χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης τροφής <sup>1</sup>               | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg)  | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|---|-------------------------------|---------------------------------|--------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)  | -                             | 41.87 $\pm$ 3.80 a              | 7.34 $\pm$ 0.78 a  | 78                               |
| Επαναχρησιμοποίηση χωρίς προσθήκη νερού                         | -                             | 8.53 $\pm$ 1.05 b               | 6.45 $\pm$ 0.87 b  | 75                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού <sup>4</sup>               | -                             | 18.60 $\pm$ 2.67 c              | 7.22 $\pm$ 1.25 a  | 71                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού και θρεπτικών <sup>5</sup> | -                             | 17.57 $\pm$ 3.19 c              | 7.03 $\pm$ 0.97 ab | 83                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού και θρεπτικών <sup>6</sup> | -                             | 15.20 $\pm$ 1.25 bc             | 6.88 $\pm$ 1.00 ab | 73                               |

<sup>1</sup> Η τροφή έχει χρησιμοποιηθεί άπαξ για εκτροφή δάκου.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόσο όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας.

<sup>5</sup> Μαζί με το νερό προστέθηκαν σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη, ελαιόλαδο, tween-80 σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής. Δηλαδή τα θρεπτικά που προστέθηκαν είχαν την ίδια αναλογία % με αυτών της φρέσκιας τροφής.

<sup>6</sup> Όπως παραπάνω, χωρίς προσθήκη λαδιού και tween-80.

**Πίνακας 9.** Επαναχρησιμοποίηση τεχνητής τροφής προνύμφης δάκου ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις 100 g τροφής σε κάθε χειρισμό. Δέκα αυγά ανά γραμμάριο τροφής. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P= 0.05$  (Tukey test).

| Χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης τροφής <sup>1</sup>                             | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg)  | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|---|-------------------------------|---------------------------------|--------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)  | -                             | 35.20 $\pm$ 5.32 a              | 7.55 $\pm$ 0.88 a  | 77                               |
| Επαναχρησιμοποίηση χωρίς προσθήκη νερού                                       | -                             | 0.90 $\pm$ 0.20 b               | 5.66 $\pm$ 0.92 b  | 66.66                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού <sup>4</sup>                             | -                             | 0.93 $\pm$ 0.23 b               | 6.07 $\pm$ 1.18 bc | 71.43                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού και θρεπτικών <sup>5</sup>               | 3 <sup>n</sup> +++            | 0                               |                    |                                  |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού και θρεπτικών <sup>6</sup>               | 5 <sup>n</sup> ++             | 1.86 $\pm$ 0.35 b               | 7.08 $\pm$ 1.28 a  | 76.78                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών και συντηρητικών <sup>7</sup> | 7 <sup>n</sup> +              | 8.60 $\pm$ 1.18 c               | 7.12 $\pm$ 1.15 a  | 75                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών και συντηρητικών <sup>8</sup> | 7 <sup>n</sup> +              | 3.73 $\pm$ 1.36 cb              | 6.96 $\pm$ 1.06 ac | 78                               |

<sup>1</sup> Η τροφή έχει χρησιμοποιηθεί άπαξ για εκτροφή δάκου.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>n</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόσο όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας.

<sup>5</sup> Μαζί με το νερό προστέθηκαν σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη, ελαιόλαδο, tween-80 σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής. Δηλαδή τα θρεπτικά που προστέθηκαν είχαν την ίδια αναλογία % με αυτών της φρέσκιας τροφής.

<sup>6</sup> Όπως παραπάνω, χωρίς προσθήκη λαδιού και tween-80.

<sup>7</sup> Χειρισμός <sup>5</sup> με επιπλέον τα συντηρητικά της τροφής, δηλαδή σορβικό κάλι και νιπαγίνη, σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>8</sup> Χειρισμός <sup>6</sup> με επιπλέον τα συντηρητικά.

**Πίνακας 10.** Επαναχρησιμοποίηση τεχνητής τροφής προνύμφης δάκου ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Πέντε επαναλήψεις 100 g τροφής σε κάθε χειρισμό. Δέκα αυγά ανά γραμμάριο τροφής. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P=0.05$ .

| Χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης τροφής <sup>1</sup> | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|---|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)                          | -                             | 25.57 $\pm$ 1.12 a              | 6.83 $\pm$ 0.57 a | 77                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού <sup>4</sup> | -                             | 21.52 $\pm$ 2.62 a              | 6.72 $\pm$ 0.52 a | 75                               |

<sup>1</sup> Η τροφή έχει χρησιμοποιηθεί άπαξ για εκτροφή δάκου.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόσο όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας.

**Πίνακας 11.** Επαναχρησιμοποίηση τεχνητής τροφής προνύμφης δάκου ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις 100 g τροφής σε κάθε χειρισμό. Δέκα αυγά ανά γραμμάριο τροφής. Η σειρά παράθεσης των αποτελεσμάτων αντιστοιχεί στη χρονική σειρά διεξαγωγής των πειραμάτων. Στις κολώνες, σε κάθε πείραμα μέσοι όροι ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P= 0.05$  (Tukey test). Τα διαδοχικά πειράματα χωρίζονται με οριζόντια γραμμή bold.

| Χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης τροφής <sup>1</sup>   | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|---|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)  | -                             | 28.23 $\pm$ 3.16 a              | 7.28 $\pm$ 0.98 a | 75                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών και συντηρητικών <sup>4</sup>                   | 3 <sup>n</sup> +++            | 0.76 $\pm$ 0.15 b               | 7.45 $\pm$ 1.17 a | 69.56                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών, συντηρητικών και HCL <sup>5</sup>              | 3 <sup>n</sup> +++            | 0.93 $\pm$ 0.06 b               | 7.21 $\pm$ 1.28 a | 82.14                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών και συντηρητικών <sup>6</sup>                   | 6 <sup>n</sup> ++             | 5.90 $\pm$ 0.82 c               | 7.16 $\pm$ 0.88 a | 83                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών, συντηρητικών και HCL <sup>7</sup>              | 6 <sup>n</sup> ++             | 16.20 $\pm$ 1.40 d              | 6.98 $\pm$ 1.06 a | 79                               |
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)  | -                             | 35.27 $\pm$ 5.00 a              | 7.67 $\pm$ 0.18 a | 83                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών και συντηρητικών (περίπτωση <sup>6</sup> )      | 5 <sup>n</sup> ++             | 11.20 $\pm$ 2.43 b              | 7.58 $\pm$ 0.38 a | 73                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών, συντηρητικών και HCL (περίπτωση <sup>7</sup> ) | -                             | 8.18 $\pm$ 1.02 b               | 7.59 $\pm$ 0.48 a | 70                               |

<sup>1</sup> Η τροφή έχει χρησιμοποιηθεί άπαξ για εκτροφή δάκου.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόση όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας. Μαζί με το νερό προστέθηκαν τα θρεπτικά σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη, ελαιόλαδο, tween-80 και τα συντηρητικά της τροφής, δηλαδή σορβικό κάλι και νιπαγίνη, σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>5</sup> Προστέθηκε και υδροχλωρικό οξύ (HCL) τροφής στην αναλογία που αντιστοιχούσε στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>6</sup> Μαζί με το νερό προστέθηκαν μόνο τα θρεπτικά σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη, σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>7</sup> Περίπτωση<sup>6</sup> με HCL.



**Πίνακας 12.** Επαναχρησιμοποίηση τεχνητής τροφής προνύμφης δάκου ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις 100 g τροφής σε κάθε χειρισμό. Δέκα αυγά ανά γραμμάριο τροφής. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P=0.05$  (Tukey test).

| Χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης τροφής <sup>1</sup>                                  | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>3</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>4</sup> |
|--|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)   | -                             | 11.86 $\pm$ 0.60 a              | 7.28 $\pm$ 0.98 a | 73                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών και HCL <sup>5</sup>               | 3 <sup>n</sup> ++             | 7.06 $\pm$ 0.78 b               | 7.45 $\pm$ 1.17 a | 81                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών, HCL και συντηρητικών <sup>6</sup> | 3 <sup>n</sup> ++             | 5.93 $\pm$ 1.14 b               | 7.21 $\pm$ 1.28 a | 76                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών και HCL <sup>7</sup>               | 4 <sup>n</sup> ++             | 5.23 $\pm$ 1.08 b               | 7.16 $\pm$ 0.88 a | 74                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού, θρεπτικών, HCL και συντηρητικών <sup>8</sup> | 4 <sup>n</sup> ++             | 5.46 $\pm$ 0.96 b               | 6.98 $\pm$ 1.06 a | 85                               |

<sup>1</sup> Η τροφή έχει χρησιμοποιηθεί άπαξ για εκτροφή δάκου.

<sup>2</sup> Σε όλους του χειρισμούς προστέθηκε μαγιά ζυθοποιίας από νέα παραλαβή.

<sup>3</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>n</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>4</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>5</sup> Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόσο όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας. Μαζί με το νερό προστέθηκαν σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη, ελαιόλαδο, tween-80 σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής. Δηλαδή τα θρεπτικά που προστέθηκαν είχαν την ίδια αναλογία % με αυτών της φρέσκιας τροφής. Επίσης προστέθηκε το υδροχλωρικό οξύ (HCL) στην αναλογία που αντιστοιχούσε στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>6</sup> Όπως παραπάνω με προσθήκη των συντηρητικών της τροφής, δηλαδή σορβικό κάλι και νιπαγίνη, σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>7</sup> Μαζί με το νερό προστέθηκαν μόνο σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη, σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>8</sup> Όπως παραπάνω με προσθήκη συντηρητικών.

**Πίνακας 13.** Επαναχρησιμοποίηση τεχνητής τροφής προνύμφης δάκου ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις 100 g τροφής σε κάθε χειρισμό. Δέκα αυγά ανά γραμμάριο τροφής. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P= 0.05$  (Tukey test).

| Χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης τροφής <sup>1</sup>                                | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|--|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή με παλιά μαγιά)  | -                             | 23.40 $\pm$ 1.90 a              | 7.04 $\pm$ 0.57 a | 86                               |
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή με μαγιά νέας παραλαβής)                                 | -                             | 28.00 $\pm$ 0.20 b              | 7.12 $\pm$ 0.98 a | 55                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού και θρεπτικών <sup>4</sup>                  | 2 <sup>n</sup> +++            | 0.30 $\pm$ 0.10 c               | 7.65 $\pm$ 1.12 a | 66.66                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού θρεπτικών και συντηρητικών <sup>5</sup>     | -                             | 4.75 $\pm$ 0.45 def             | 7.35 $\pm$ 0.67 a | 60                               |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού θρεπτικών και ½ συντηρητικών <sup>9</sup>   | 5 <sup>n</sup> +              | 4.90 $\pm$ 0.10 de              | 7.49 $\pm$ 1.04 a | 70.41                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού ½ θρεπτικών και συντηρητικών <sup>6</sup>   | 5 <sup>n</sup> +              | 3.80 $\pm$ 0.30 def             | 7.50 $\pm$ 0.88 a | 67.10                            |
| Επαναχρησιμοποίηση με προσθήκη νερού ½ θρεπτικών και ½ συντηρητικών <sup>7</sup> | 4 <sup>n</sup> ++             | 2.73 $\pm$ 0.25 df              | 7.55 $\pm$ 1.07 a | 69.09                            |

<sup>1</sup> Το βασικό υλικό υφής έχει χρησιμοποιηθεί άπαξ για εκτροφή δάκου.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόσο όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας. Μαζί με το νερό προστέθηκαν σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής. Δηλαδή τα θρεπτικά που προστέθηκαν είχαν την ίδια αναλογία % με αυτών της φρέσκιας τροφής.

<sup>5</sup> Όπως παραπάνω, με την προσθήκη επιπλέον, ελαιολάδου και tween-80. Προστέθηκαν επίσης τα συντηρητικά της τροφής, δηλαδή σορβικό κάλι και νιπαγίνη, σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής.

<sup>6</sup> Περίπτωση <sup>5</sup> αλλά τα θρεπτικά στο ½..

<sup>7</sup> Περίπτωση <sup>5</sup> αλλά τόσο τα θρεπτικά όσο και τα συντηρητικά στο ½..

**Πίνακας 14.** Επαναχρησιμοποίηση βασικού υλικού υφής της τροφής προνύμφης δάκου ελιάς, δηλαδή σπογγοπετσέτας vetex. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Πέντε επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Δέκα αυγά ανά γραμμάριο τροφής. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι ακολουθούμενοι από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P=0.05$  (Tukey test).

| Χειρισμοί επαναχρησιμοποίησης τροφής <sup>1</sup>  | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|--|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή με παλιά μαγιά)  | -                             | 36.5 $\pm$ 31.82 a              | 6.97 $\pm$ 0.47 a | 90                               |
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή με μαγιά νέας παραλαβής)   | -                             | 41.5 $\pm$ 4.39 a               | 7.15 $\pm$ 0.28 a | 93                               |
| Μάρτυρας, σπογγοπετσέτα (75% συντηρητικά) <sup>4</sup>                                       | -                             | 8.6 $\pm$ 11.12 b               | 4.84 $\pm$ 0.45 b | 61.63                            |
| Επαναχρησιμοποίηση σπογγοπετσέτας (75% συντηρητικά) <sup>4</sup> (νερό) <sup>5</sup>         | 3 <sup>η</sup> +++            | 0                               |                   |                                  |
| Επαναχρησιμοποίηση σπογγοπετσέτας (75% συντηρητικά) <sup>4</sup> (νερό-σαπουνι) <sup>6</sup> | 7 <sup>η</sup> +              | 7.9 $\pm$ 11.06 b               | 6.74 $\pm$ 1.41 a | 66.97                            |

<sup>1</sup> Σε όλα τα πειράματα μάρτυρας ήταν η standard τροφή εργαστηρίου με κυτταρίνη. Στις επαναλήψεις κάθε χειρισμού χρησιμοποιήθηκαν 100 g τροφής στους μάρτυρες και 22 g τροφής στους χειρισμούς με τη σπογγοπετσέτα. Τοποθετήθηκαν 10 αυγά ηλικίας 48h ανά g τροφής σε όλους τους χειρισμούς.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Στους συγκεκριμένους χειρισμούς τα συντηρητικά της τροφής προνυμφών (σορβικό κάλι, νιπαγίνη) προστέθηκαν στο 75% των αντιστοίχων της standard τροφής.

<sup>5</sup> Πριν την επαναχρησιμοποίηση της σπογγοπετσέτας πραγματοποιήθηκε καθαρισμός αυτής με τη χρήση νερού.

<sup>6</sup> Πριν την επαναχρησιμοποίηση της σπογγοπετσέτας πραγματοποιήθηκε καθαρισμός αυτής με τη χρήση νερού και σαπουνιού.

**Πίνακας 15.** Χρησιμοποίηση μεθοδολογίας τροφής εκκίνησης (Starter, μεγάλη πυκνότητα προνυμφών ανά g τροφής, 100 προνύμφες ανά g τροφής) και τροφής περάτωσης (Finisher, μειωμένη πυκνότητα αναπτυγμένων προνυμφών, θεωρητική αναλογία 10 προνύμφες ανά g τροφής) στην τεχνητή τροφή του δάκου της ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P=0.05$  (Tukey test).

| Βασικό υλικό τροφής / διάρκεια σταδίων εκκίνησης-περάτωσης εκτροφής <sup>1</sup> | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|--|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας, κυτταρίνη (ενιαία τροφή)   | -                             | 29.87 $\pm$ 2.28 a              | 7.58 $\pm$ 0.76 a | 81                               |
| Μάρτυρας, κυτταρίνη (Starter 3 ημ.- Finisher 6 ημ.)                              | -                             | 25.6 $\pm$ 1.71 a               | 7.48 $\pm$ 0.87 a | 77                               |
| Μάρτυρας, κυτταρίνη (Starter 5 ημ.- Finisher 4 ημ.)                              | -                             | 27 $\pm$ 2.2 a                  | 7.60 $\pm$ 0.88 a | 75                               |
| Μάρτυρας, κυτταρίνη (Starter 7 ημ.- Finisher 2 ημ.)                              | -                             | 13.83 $\pm$ 1.14 b              | 7.54 $\pm$ 1.02 a | 75                               |

<sup>1</sup> Σε όλες τις επαναλήψεις χρησιμοποιήθηκαν 100 g standard τροφής ανά επανάληψη.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

**Πίνακας 16.** Χρησιμοποίηση μεθοδολογίας τροφής εκκίνησης (Starter, μεγάλη πυκνότητα προνυμφών ανά g τροφής, 100 προνύμφες ανά g τροφής) και τροφής περάτωσης (Finisher, μειωμένη πυκνότητα αναπτυγμένων προνυμφών, 10 προνύμφες ανά g τροφής) στην τεχνητή τροφή του δάκου της ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Δύο ή 3 επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Η σειρά παράθεσης των αποτελεσμάτων αντιστοιχεί στη χρονική σειρά διεξαγωγής των πειραμάτων. Στις κολώνες κάθε πειράματος μέσοι όροι που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P=0.05$  (Tukey test).

| Βασικό υλικό τροφής /<br>διάρκεια σταδίων εκκίνησης-<br>περάτωσης εκτροφής <sup>1</sup> | Ανάπτυξη<br>μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%)<br>(από αυγό σε<br>νύμφη) | Βάρος<br>νυμφών<br>(mg) | Έξοδος (%)<br>ενηλίκων <sup>3</sup> |
|---|----------------------------------|---------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| Μάρτυρας, κυτταρίνη<br>(ενιαία τροφή)   | -                                | 0.83 $\pm$ 0.06 a                     | 6.93 $\pm$ 1.81 a       | 76                                  |
| Μάρτυρας, πίτυρο σιτηρών<br>(ενιαία τροφή)  | 3 <sup>n</sup> +++               | 0                                     |                         |                                     |
| Starter (κυτταρίνη) 3 ημ.-<br>Finisher (κυτταρίνη) 6 ημ.                                | -                                | 2.52 $\pm$ 0.23 b                     | 7.01 $\pm$ 1.72 a       | 79                                  |
| Starter (κυτταρίνη) 3 ημ.-<br>Finisher (πίτυρο) 6 ημ.                                   | -                                | 0.06 $\pm$ 0.03 c                     | 5.57 $\pm$ 0.87 b       | 100                                 |
| Starter (κυτταρίνη) 6 ημ.-<br>Finisher (κυτταρίνη) 3 ημ.                                | -                                | 1.08 $\pm$ 0.06 a                     | 7.22 $\pm$ 1.99 a       | 85.18                               |
| Starter (κυτταρίνη) 6 ημ.-<br>Finisher (πίτυρο) 3 ημ.                                   | -                                | 0.30 $\pm$ 0.08 c                     | 4.01 $\pm$ 1.25 b       | 66.7                                |
| Μάρτυρας, κυτταρίνη<br>(ενιαία τροφή)   | -                                | 36.16 $\pm$ 1.74 a                    | 7.17 $\pm$ 0.82 a       | 86                                  |
| Μάρτυρας, πίτυρο σιτηρών<br>(ενιαία τροφή)  | -                                | 0                                     |                         |                                     |
| Starter (κυτταρίνη) 3 ημ.-<br>Finisher (κυτταρίνη) 6 ημ.                                | -                                | 9.53 $\pm$ 1.63 b                     | 7.25 $\pm$ 0.95 a       | 80                                  |
| Starter (κυτταρίνη) 3 ημ.-<br>Finisher (πίτυρο) 6 ημ.                                   | -                                | 2.75 $\pm$ 0.65 c                     | 4.71 $\pm$ 0.97 b       | 73                                  |
| Starter (κυτταρίνη) 6 ημ.-<br>Finisher (κυτταρίνη) 3 ημ.                                | -                                | 5.49 $\pm$ 0.76 cd                    | 6.99 $\pm$ 0.77 a       | 75                                  |
| Starter (κυτταρίνη) 6 ημ.-<br>Finisher (πίτυρο) 3 ημ.                                   | -                                | 4.71 $\pm$ 0.62 cd                    | 4.72 $\pm$ 0.87 b       | 79                                  |
| Starter (κυτταρίνη) 9 ημ.-<br>Finisher (κυτταρίνη) 0 ημ.                                | -                                | 6.18 $\pm$ 1.33 d                     | 6.96 $\pm$ 0.78 a       | 87                                  |

<sup>1</sup> Σε κάθε επανάληψη χρησιμοποιήθηκαν 100 g τροφής στον μάρτυρα, 25 g τροφής στο Starter και 250 g τροφής στο Finisher.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>n</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες .

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

**Πίνακας 17.** Χρησιμοποίηση μεθοδολογίας τροφής εκκίνησης (Starter, μεγάλη πυκνότητα προνυμφών ανά g τροφής) και τροφής περάτωσης (Finisher, μειωμένη πυκνότητα αναπτυγμένων προνυμφών) στην τεχνητή τροφή του δάκου της ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Δύο έως 4 επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P=0.05$  (Tukey test).

| Βασικό υλικό τροφής / διάρκεια σταδίων εκκίνησης-περάτωσης εκτροφής <sup>1</sup> | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg)  | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|--|-------------------------------|---------------------------------|--------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας, κυτταρίνη (ενιαία τροφή)   | -                             | 16.31 $\pm$ 1.53 ab             | 7.02 $\pm$ 0.69 a  | 88                               |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.- Finisher (βαμβάκι <sup>4</sup> ) 4 ημ.                | -                             | 4.16 $\pm$ 4.19 a               | 8.24 $\pm$ 1.25 b  | 40                               |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.- Finisher (βαμβάκι) 4 ημ.                              | -                             | 2.5 $\pm$ 5 a                   | 8.2 $\pm$ 0.87 ab  | 66.66                            |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.- Finisher (πετσέτα <sup>4</sup> ) 4 ημ.                | 3η +                          | 20.83 $\pm$ 13.44 a             | 7.35 $\pm$ 0.43 ab | 84                               |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.- Finisher (διάλυμα τροφής <sup>4</sup> ) 4 ημ.         | -                             | 0                               |                    |                                  |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.- Finisher (σπογγοπετσέτα <sup>4</sup> ) 4 ημ.          | -                             | 42.22 $\pm$ 21.43 bc            | 6.89 $\pm$ 0.75 a  | 73.69                            |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.- Finisher (απορροφητικό χαρτί <sup>4</sup> ) 4 ημ.     | -                             | 64.44 $\pm$ 32.38 c             | 5.43 $\pm$ 0.85 c  | 77.59                            |

<sup>1</sup> Σε όλες τις επαναλήψεις χρησιμοποιήθηκαν από 100 (μάρτυρας) έως 9 g (απορροφητικό χαρτί) τροφής ανά επανάληψη, ανάλογα με το ειδικό βάρος του βασικού υλικού υφής. Τοποθετήθηκαν 10 και 100 αυγά ηλικίας 48h ανά γραμμάριο τροφής στο χειρισμό του μάρτυρα και στα Starter, αντίστοιχα.. Τριάντα προνύμφες (2<sup>ου</sup> σταδίου) από το Starter (υψηλή πυκνότητα προνυμφών) μεταφέρθηκαν (με λαβίδα) σε κάθε επανάληψη του Finisher.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Στους συγκεκριμένους χειρισμούς τα συντηρητικά της τροφής προνυμφών (σορβικό κάλι, νιπαγίνη) προστέθηκαν στο 75% των αντιστοίχων της standard τροφής.

**Πίνακας 18.** Χρησιμοποίηση μεθοδολογίας τροφής εκκίνησης (Starter, μεγάλη πυκνότητα προνυμφών ανά g τροφής, 100 προνύμφες ανά g τροφής) και τροφής περάτωσης (Finisher, μειωμένη πυκνότητα αναπτυγμένων προνυμφών, 10 προνύμφες ανά g τροφής) στην τεχνητή τροφή του δάκου της ελιάς. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Πέντε επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο  $P= 0.05$  (Tukey test).

| Βασικό υλικό τροφής / διάρκεια σταδίων εκκίνησης-περάτωσης εκτροφής <sup>1</sup> | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|--|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας, κυτταρίνη (ενιαία τροφή)   | -                             | 32.6 $\pm$ 1.95 a               | 6.97 $\pm$ 0.40 a | 78                               |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.-<br>Finisher (κυτταρίνη) 4 ημ.                         | -                             | 24.7 $\pm$ 0.87 b               | 6.96 $\pm$ 0.66 a | 77                               |
| Starter (κυτταρίνη) 5 ημ.-<br>Finisher (σπογγοπετσέτα <sup>4</sup> ) 4 ημ.       | -                             | 14.33 $\pm$ 0.61 c              | 6.4 $\pm$ 0.78 a  | 73                               |

<sup>1</sup> Σε όλες τις επαναλήψεις χρησιμοποιήθηκαν από 10 g τροφής στα starter, 100 g τροφής στο μάρτυρα και στο Finisher με standard τροφή και 50 g τροφής στην σπογγοπετσέτα.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών ή λιγότερων (αν δεν υπήρχαν 100) και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Στους συγκεκριμένους χειρισμούς τα συντηρητικά της τροφής προνυμφών (σορβικό κάλι, νιπαγίνη) προστέθηκαν στο 75% των αντιστοίχων της standard τροφής.

**Πίνακας 19.** Χρησιμοποίηση τροφής εκκίνησης (Starter, μεγάλη πυκνότητα προνυμφών ανά g τροφής) για χρονικό διάστημα 5 ημερών (προνύμφες 2<sup>ου</sup> σταδίου) και τροφής περάτωσης (Finisher, μειωμένη πυκνότητα αναπτυγμένων προνυμφών) για χρονικό διάστημα 4 ημερών. Ως τροφή περάτωσης, είχαμε χρησιμοποιημένη τροφή (μια φορά) ως τροφή προνυμφών. Μέσος όρος + τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο P= 0.05 (Tukey test).

| Βασικό υλικό τροφής / διάρκεια σταδίων εκκίνησης-περάτωσης εκτροφής <sup>1</sup>                                    | Ανάπτυξη μυκήτων <sup>2</sup> | Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη) | Βάρος νυμφών (mg) | Έξοδος (%) ενηλίκων <sup>3</sup> |
|---|-------------------------------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)  | -                             | 35.96 ± 2.53 a                  | 8.08 ± 1.33 a     | 89                               |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (φρέσκια τροφή).   | -                             | 32.4 ± 7.97 a                   | 7.47 ± 0.75 ab    | 83                               |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (χρησιμοποιημένη τροφή με προσθήκη νερού) <sup>4</sup>                               | -                             | 36.4 ± 5.44 a                   | 6.27 ± 0.84 b     | 75                               |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (χρησιμοποιημένη τροφή με προσθήκη νερού, θρεπτικών, συντηρητικών, HCL) <sup>5</sup> | -                             | 8.2 ± 1.44 b                    | 7.27 ± 0.87 ab    | 83                               |

<sup>1</sup> Σε όλες τις επαναλήψεις χρησιμοποιήθηκαν από 100 g τροφής ανά επανάληψη. Τοποθετήθηκαν 10 και 100 αυγά ηλικίας 48h ανά γραμμάριο τροφής στο χειρισμό του μάρτυρα και στο Starter, αντίστοιχα. Στο Finisher μεταφέρθηκαν οι προνύμφες, σε αναλογία 10 προνύμφες ανά g τροφής.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Επαναχρησιμοποίηση τροφής προνυμφών (δηλαδή είχε ήδη χρησιμοποιηθεί μια φορά για χρονικό διάστημα 9 ημερών). Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόση όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας.

<sup>5</sup> Εκτός του νερού, προστέθηκαν τα θρεπτικά της τροφής, δηλαδή σόγια, μαγιά ζυθοποιίας, ζάχαρη, ελαιόλαδο, tween-80, τα συντηρητικά, δηλαδή σορβικό κάλι και νιπαγίνη και το HCL, όλα σε αναλογίες που αντιστοιχούσαν στην ποσότητα της χρησιμοποιημένης τροφής. Δηλαδή τα συστατικά που προστέθηκαν είχαν την ίδια αναλογία % με αυτών της φρέσκιας τροφής.



**Πίνακας 20.** Χρησιμοποίηση τροφής εκκίνησης (Starter, μεγάλη πυκνότητα προνυμφών ανά g τροφής) για χρονικό διάστημα 5 ημερών (προνύμφες 2<sup>ου</sup> σταδίου) και τροφής περάτωσης (Finisher, μειωμένη πυκνότητα αναπτυγμένων προνυμφών) για χρονικό διάστημα 4 ημερών. Ως τροφή περάτωσης είχαμε ήδη χρησιμοποιημένη τροφή. Μέσος όρος  $\pm$  τυπική απόκλιση. Τρεις επαναλήψεις σε κάθε χειρισμό του 1<sup>ου</sup> πειράματος και 5 στο 2<sup>ο</sup> χρονικά πείραμα. Στις κολώνες του πειράματος μέσοι όροι που ακολουθούνται από διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο P= 0.05 (Tukey test). Τα διαδοχικά πειράματα χωρίζονται με οριζόντια γραμμή bold.

| <b>Βασικό υλικό τροφής / διάρκεια σταδίων εκκίνησης-περάτωσης εκτροφής<sup>1</sup></b> | <b>Ανάπτυξη μυκήτων<sup>2</sup></b> | <b>Απόδοση (%) (από αυγό σε νύμφη)</b> | <b>Βάρος νυμφών (mg)</b> | <b>Έξοδος (%) ενηλίκων<sup>3</sup></b> |
|--|-------------------------------------|--|--------------------------|--|
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)   | -                                   | 37.73 $\pm$ 0.90 a                     | 7.05 $\pm$ 0.45 ab       | 85                                     |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (φρέσκια τροφή)   | -                                   | 17.97 $\pm$ 0.57 b                     | 7.64 $\pm$ 1.13 a        | 76                                     |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (χρησιμοποιημένη τροφή με προσθήκη νερού) <sup>4</sup>  | -                                   | 16.17 $\pm$ 0.47 b                     | 6.84 $\pm$ 0.78 ab       | 74                                     |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (χρησιμοποιημένη τροφή με προσθήκη νερού) <sup>5</sup>  | -                                   | 11.97 $\pm$ 0.47 c                     | 7.37 $\pm$ 0.36 a        | 77                                     |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (χρησιμοποιημένη τροφή με προσθήκη νερού) <sup>6</sup>  | -                                   | 17.4 $\pm$ 1.15 b                      | 6.37 $\pm$ 0.77 b        | 75                                     |
| Μάρτυρας (φρέσκια τροφή)   | -                                   | 32.6 $\pm$ 1.95 a                      | 6.97 $\pm$ 0.40 a        | 76                                     |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (φρέσκια τροφή)   | -                                   | 24.7 $\pm$ 0.87 b                      | 6.96 $\pm$ 0.66 a        | 77                                     |
| Starter (κυτταρίνη) - Finisher (χρησιμοποιημένη τροφή με προσθήκη νερού) <sup>4</sup>  | -                                   | 22.4 $\pm$ 1.88 b                      | 6.81 $\pm$ 0.50 a        | 74                                     |

<sup>1</sup> Σε όλες τις επαναλήψεις χρησιμοποιήθηκαν από 100 g τροφής ανά επανάληψη. Τοποθετήθηκαν 10 και 100 αυγά ηλικίας 48h ανά γραμμάριο τροφής στο χειρισμό του μάρτυρα και στο Starter, αντίστοιχα. Στο Finisher μεταφέρθηκαν οι προνύμφες, σε αναλογία 10 προνύμφες ανά g τροφής.

<sup>2</sup> Σε όλους τους χειρισμούς έγινε παρατήρηση για ανάπτυξη μυκήτων, σημειώθηκε η ημέρα έναρξης μόλυνσης και η έκταση μόλυνσης την 9<sup>η</sup> ημέρα μετά από την τοποθέτηση αυγών στην τροφή:

- μηδενική ανάπτυξη μυκήτων
- + μικρής έκτασης σκόρπια μικκύλια
- ++ μεγάλης έκτασης μικκύλια
- +++ πλήρης κάλυψη του υποστρώματος τροφής από μύκητες

<sup>3</sup> Ποσοστό % ενηλίκων σε καλή κατάσταση (αρτιμελή) που εξήλθαν από τα νυμφικά περιβλήματα. Από το σύνολο των επαναλήψεων λαμβάνετο δείγμα 100 νυμφών και εμελετάτο η έξοδος των ενηλίκων.

<sup>4</sup> Τροφή προνυμφών ήδη χρησιμοποιημένη μια φορά ως standard, δηλαδή χρήση αυτής για χρονικό διάστημα 9 ημερών. Το νερό προστέθηκε με σύγχρονη ανάδευση σε ποσότητα τόσο όση χρειαζόταν για να αποκτήσει η τροφή την υφή της φρέσκιας.

<sup>5</sup> Τροφή προνυμφών ήδη χρησιμοποιημένη μια φορά ως Finisher, δηλαδή χρήση τροφής προνυμφών για χρονικό διάστημα 4 ημερών μόνο.

<sup>6</sup> Τροφή προνυμφών ήδη χρησιμοποιημένη δυο φορές, μια ως χειρισμός ελέγχου, δηλαδή χρήση αυτής για διάστημα 9 ημερών και μια ως Finisher για διάστημα 4 ημερών.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Baumhover A.H., C.N. Husman and A.G. Gaham 1966. Screwworms. In: Insect Colonization and Mass Production. Ed. C. N. Smith. 533-454. New York: Academic. 618 pp.

Beck S.D., J.H. Lilly and J.F. Sttauffer 1949. Nutrition of the European corn borer, *Pyrausta nubilalis* (Hubn). I. Development of a satisfactory purified diet for larval growth. Ann. Entomol. Soc. Am. 42:483-496.

Boller E. 1972. Behavioral aspects of mass-rearing of insects. Entomophaga 17:9-25.

Boller E.F. and R.J. Prokopy 1976. Bionomics and Management of *Rhagoletis*. Ann. Rev. Ins. Phys.: 223-246.

Boller E. and D.L. Chambers 1977a. Quality control. An Idea Book for Fruit Fly Workers. Int. Org. Biol. Contr./ West Pal. Reg. Sect.Bull. 1977/5.

Boller E. and D.L. Chambers 1977b. Concepts and approaches. In: Quality control. An Idea Book for Fruit Fly Workers. IOBC/ W.P.R.S., Bull. 1977/5, p. 4-13.

Bottger G.T. 1942. Development of synthetic food media for use in nutrition studies of the European corn borer. J. Ag. Res. 65:493-500.

Boush G.M and F. Matsumura 1967. Insecticidal degadation by *Pseudomonas melophthora*. The bacterial symbiote of the apple maggot. J. Econ. Entomol. 60: 918-920.

Bush G.L and G.B. Kitto 1979. Research on the genetic structure of wild and laboratory strains of olive fly. Report to the Government of Greece, UNDP and FAO, Program GRE69/525, pp. 26.

Bruzzone N.D., A.P. Economopoulos and Hua-Song Wang 1990. Mass rearing *Ceratitis capitata*: reuse of the finisher larval diet. Entomol. Exp. Appl. 56:103-106.

Campos R.E. and L.P. Lounibos 2000. Life tables of *Toxorhynchites rutilus* (Diptera: Culicidae) in nature in southern Florida. J. Med Entomol. 37(3): 385-392.

Cavalloro R. 1967. Orientamenti sull' allevamento permanente di *Dacus oleae* Gmelin (Dipetra : Trypetidae) in laboratorio. Redia L: 337-344.

Chambers D.L. 1977. Quality control in mass rearing. Annu. Rev. Entomol. 22:289-308.

Chambers D.L. 1980. Review: SIRM with special reference to quality control. Proc. Symp. " Fruit Fly Problems", Kyoto and Naha, p. 1-5.

Chippendale G.M. and S.D. Beck 1964. Nutrition of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hubn). V. Ascorbic acid as the corn leaf factor. Entomol. Exp. Appl. 7:241-248.

Christenson L.D. and R.H. Foote. 1960. Biology of fruit flies. Ann. Rev. Entomol. 5: 171-192.

- Christmas P.E. 1970. Laboratory rearing of the biting fly, *Stomoxus calcitrans*. N. Z. Entomol. 4. No. 4:45-49.
- Dadd R.H. 1970. Arthropod Nutrition. In: Chemical Zoology. ed. M. Florkin. B. T. Scheer. 5:35-95. New York: Academic. 478 pp.
- Dougherty E.C. 1959. Axenic culture of invertebrate metazoa: A goal. Ann. NY Acad. Sci. 77:27-54.
- Economopoulos A.P. 1972. Sexual competitiveness of  $\gamma$ -ray sterilized males of *Dacus oleae*. Mating frequency of artificially reared and wild females. Env. Entomol. 1:490-497.
- Economopoulos A.P. 1977. Gamma-ray sterilization of *Dacus oleae* (Gmelin). Effect of nitrogen on the competitiveness of irradiated males. Z. Ang. Entomol. 83:86-95.
- Economopoulos A.P., N.D. Bruzzone, S. Judt, V. Wornoayporn, M.N. El-Agal, A.A. Al-Taweel, Hau-Song Wang 1987. Recent Developments in Medfly Mass Rearing. FAO/IAEA Entomology Unit, IAEA Seibersdorf Laboratory, Vienna, 16-20 November 1987.
- Economopoulos A.P., A.A. Al-Taweel and N.D. Bruzzone 1990. Larval diet with a starter phase for mass-rearing *Ceratitis capitata*: substitution and refinement in the use of yeast and sugars. Entomol. Exp. Appl. 55:239-246.
- Ercolani G.L. 1978. *Pseudomonas savastanoi* and other bacteria colonizing the surface of the olive leaves in the field. J. Gen. Microb. 109: 245-257.
- Fletcher B.S. 1987. The Biology of Dacine Fruit Flies. Ann. Rev. Entomol. 32:115-144.
- Fraenkel G. and M. Blewett 1943. The basic food requirements of several insects. J. Exp. Biol. 20:28-34.
- Fytizas E. and M.E. Tzanakakis 1966a. Some effects of streptomycin, when added to the adult food, on the adults of *Dacus oleae*: Fecundity as affected by mating, adult diet and artificial rearing. Ann. Entomol. Soc. Am. 69 725-729.
- Fytizas E. and M.E. Tzanakakis 1966b. Development des larves de *Dacus oleae* dans des olives lorsque leur parent ant reçu la streptomycine, incorporee a leur nurriture. Annales des Epiphyties 17: 53-69.
- Gingrich R.E., A.J. Graham and B.G. Hightower 1971. Media containing liquefied nutrients for mass-rearing larvae of the screwworm. J. Econ. Entomol. 64:678-683.
- Girolami V. 1982. Fruit fly symbiosis and adult survival: General aspects. In: Fruit Flies of Economic Importance. CEC/IOBC Symposium Athens/ Nov. 1982. (Ed. R. Cavalloro): 74-77.
- Haniotakis G.E. 1979. Pheromone studies of the olive fruit fly, *Dacus oleae*. Final report to NATO, Res. Grant No. 1352, pp. 69.
- Hagen K.S. 1966. Dependence of the olive fly *Dacus oleae* larvae on symbiosis with *Pseudomonas savastanoi* for the utilization of olive. Nature (London) 209:423-424.

- Hagen K.S., L. Santas and A. Tsekouras 1963. A technique of culturing the olive fly, *Dacus oleae* Gmel., on synthetic media under xenic conditions. In: Radiation and Radioisotopes Applied to Insects of Agricultural Importance. Proceedings Symposium. Athens 22-26 April 1963. International Atomic Energy Agency. Vienna. STI/PUB/74:333-356.
- Harris R.L., E.D. Frazar and P.D. Gossman 1967. Artificial media for rearing larvae of horn flies. *J. Econ. Entomol.* 60:891-892.
- Hellmuth J. 1956. Untersuchungen zur Bakteriensymbiose der Trypetiden. *Z. Morphol. Okol. Tiere.* 4.
- Huettel M.D. 1977. Measuring overall performance. In: Quality control. An Idea Book for Fruit Fly Workers. Eds. E. Boller and D.L. Chambers, IOBC/ W.P.R.S., Bull. 1977/5, p. 14-16.
- Hobson R.P. 1935. On a fat-soluble growth factor required by blowfly larvae. II. Identity of the growth factor with cholesterol. *Biochem. J.* 29:2023-2026.
- Hoskins W.M. and R. Graig 1935. Recent progress in insect physiology. *Physiol. Rev.* 15:525-596.
- Howard D.J. 1987. The symbionts of *Rhagoletis*. In Fruit flies their biology, natural enemies and control Vol.3A. (Eds. Robinson A.S. Hooper G.) Elsevier.
- Howard D.J., G.L. Bush and J.A. Breznak 1985. The evolutionary significance of bacteria associated with *Rhagoletis*. *Evolution* 39: 405-417.
- Κονσολάκη Μ. 2003. Αντικατάσταση κυτταρίνης χρωματογραφίας στο τεχνητό προνυμφικό υπόστρωμα, που χρησιμοποιείται για την εκτροφή του δάκου της ελιάς (*Bactrocera oleae*, Tephritidae). Επιβλέπων Καθηγητής Α.Π. Οικονομόπουλος, Πανεπιστήμιο Κρήτης-Τμήμα Βιολογίας Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Εντομολογίας. Προχωρημένη εργαστηριακή άσκηση στα πλαίσια μεταπτυχιακού τίτλου ειδίκευσης.
- Levinson Z.H. and E.D. Bergmann 1957. Steroid utilization and fatty acid synthesis by the larva of the housefly *Musca vicina* Macq. *Biochem. J.* 65:254-260.
- Luethy P., D. Studer, F. Jaquet and C. Yamvrias 1983. Morphology and in vitro cultivation of the bacterial symbiote of *Dacus oleae*. *Mitt. Schweiz. Entomol. Gesellschaft* 56:67-72.
- Mackauer M. 1972. Genetic aspects of insect production. *Entomophaga* 17:27-48.
- Mackauer M. 1976. Genetic problems in the production of biological control agents. *Ann. Rev. Entomol.* 21:369-385.
- Manoukas A.G. 1974. Protein hydrolysate-free larval diets for rearing of the olive fruit fly, *Dacus oleae*. *Proc. Symp. Sterility Principle for control.* International Atomic Energy Agency. SM-186: 219-228.
- Manoukas A.G. 1975. Protein hydrolysate-free diets for rearing of the olive fruit fly, *Dacus oleae* (Gmelin) and the nutrition role of brewer's yeast. In: *Sterility Principle for Insect control*, FAO/IAEA, Vienna, p. 219-228.

- Manoukas A.G. 1977. Biological characteristics of *Dacus oleae* larvae (Diptera. Tephritidae) reared in a basal diet with variable levels of ingredients. *Ann. Zool. Ecol. Anim.* 9(1): 141-148.
- Manoukas A.G. 1981. Effects of excess levels of individual amino acids upon survival, growth and pupal yield of *Dacus oleae*. *Z. Ang. Entomol.* 91:309-315.
- Manoukas A.G. 1982. Effects of excess levels of inorganic salts upon survival, growth and pupal yield of *Dacus oleae* larvae. *Z. Ang. Entomol.* 93:208-213.
- Manoukas A.G. 1986. Biological aspects of the olive fruit fly grown in different larval diets. In: *Fruit flies of economic importance* (Ed. R. Cavalloro). A. Balkema. Rotterdam. The Netherlands: 81-87.
- Μανούκας Α.Γ. 1994. Έλεγχος σιτηρεσίων στην εντομολογική έρευνα με παραδείγματα από το δάκο της ελιάς. Ινστιτούτο Βιολογίας, ΕΚΕΦΕ 'Δημόκριτος', Αθήνα. Δ' Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Βόλος 14-17 Οκτωβρίου 1994.
- Manoukas A.G. and B. Mazomenos 1977. Effect of antimicrobials upon eggs and larvae of *Dacus oleae* (Diptera. Tephritidae) and use of propionates as larval diet preservatives. *Ann. Zool. Anim.* 9(2): 277-285.
- Manousis T. and D.J. Ellar 1988. *Dacus oleae* microbial symbiots. *Microbiol. Sci.* 5:149-152.
- Mazzini M. and G. Vita 1981. Identificazione submicroscopica del meccanismo di trasmissione del batterio simbiote in *Dacus oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae). *Redia* 64: 277-301.
- Miyazaki S., G.M. Boush and R.J. Baerwald 1968. Amino acid synthesis by *Pseudomonas melophthora*, the bacterial symbiote of *Rhagoletis pomonella*. *J. Insect Physiol.* 14: 513-518.
- Moore I. 1959. A method for artificially culturing the olive fly (*Dacus oleae* Gmel.) under aseptic conditions. *Ktavim* 9: 295-296.
- Moore I. 1962. Further investigations on the artificial breeding of the olive fly (*Dacus oleae* Gmel.) under aseptic conditions. *Entomophaga* 7: 53-57.
- Mulkern G.B. and D.R. Toczek 1970. Bioassays of plant extracts for growth promoting substances for *Melanoplus femurrubrum*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63:272-284.
- Mulkern G.B. and D.R. Toczek 1972. Effect of plant extracts on survival and development of *Melanoplus differentialis* and *M. sanquinipes*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 65:662-671.
- Narasaki T. and K. Katakura 1954. Fundamental studies on the utilization of olive fruits. II. Identification of the amino acids in the protein hydrolyzate of ripe olive fresh by paper chromatography. *Technical Bulletin of the Kagawa Agriculture College* 6: 194-198.
- Neville P.F. and T.D. Luckey 1971. Bioflavonoids as a new growth factor for the cricket *Acheta domesticus*. *J. Nutr.* 101: 1217-1223.

Orphanidis P.S., N. Petsikou and P.G. Patsakos 1969. Elements sommaires concernant un élevage expérimental du *Dacus oleae* sur substrat artificiel. 8<sup>th</sup> FAO ad hoc Conference on the Control of Olive Pests and Diseases, Athens 8-12 May 1969.

Pant N.C., S. Ghai and S.S. Chawla 1959. A simple unfortified rice medium for mass-rearing of the melon fruit fly. *Dacus curcurbitea* Coquillett under laboratory conditions. *Curr. Sci. (India)* 28:288-289.

Peleg B.A. and R.H. Rhode 1970. New larval medium and improved pupal recovery method for the Mediterranean fruit fly in Costa Rica. *J. Econ. Entomol.* 63:1319-1321.

Pelekassis C.E.D. and L.A. Santas 1969. On a new improved larval artificial medium of *Dacus oleae* (Gmel.). Athens. 8-12 May 1969.

Petri L. 1910. Untersuchung über die Darmbakterien der Olivenfliege. *Zentralblatt fuer Bakteriologie. Parasitenkunde. Infektionskrankheiten und Hygiene* 26: 357-367.

Prokory R.J., A.P. Economopoulos and M.W. MacFadden 1975a. Attraction of wild and laboratory-cultured *Dacus oleae* flies to small rectangles of different hues, shades and tints. *Ent. Exp. & Appl.* 18: 141-152.

Prokory R.J., G.E. Haniotakis and A.P. Economopoulos 1975b. Comparative behavior of lab-cultured and wild-type *Dacus oleae* flies in the field. In: *Controlling Fruit Flies by Sterile Insect Technique*, IAEA, Vienna, STI/PUB/392, p. 101-108.

Ratner S.S. and J.G. Stoffolano 1982. Development of the oesophageal bulb of the apple maggot *Rhagoletis pomonella* (Diptera : Tephritidae): morphological histological and histochemical study. *Ann. of the Entom. Soc. Of America* 75(5): 555-562.

Ratner S.S. and J.G. Stoffolano 1984. Ultrastructural changes of the oesophageal bulb of the adult female apple maggot *Rhagoletis pomonella*. *J. Insect Morphol. Embryol.* 13(3): 191-208.

Remund V., E.F. Boller, A.P. Economopoulos and J.A. Tsitsipis 1977. Flight performance of *Dacus oleae* reared on olives and artificial diet. *Z. Ang. Entomol.* 82: 330-339.

Rey J.M. 1969. Development of a larval diet for the rearing of *Dacus oleae* (Gmel.). *Ibid.*

Rossiter M.C., D.J. Howard and G.L. Bush 1982. Symbiotic bacteria of *Rhagoletis pomonella*. In: *Fruit Flies of Economic Importance CEC/IOBC Symposium Athens/ Nov. 1982.* (Ed. R. Cavalloro): 77-84.

Santas L.A. 1965. On a new synthetic nutritive substrate for rearing larvae of *Dacus oleae* (Gmel.). *Bull. Ag. Bank Greece.* 144: 8-15.

Savva-Dimopoulou C. and E. Fytizas 1967. Accumulation des anides libres dans le mesocarpe de l'olive après conservation à basse température. *Canadian Journal of Biochemistry* 45: 1965-1971.

- Savvidou N. and C.H. Bell 1994. The effect of larval density, photoperiod and food change on the development of *Gnatocerus cornutus* (F.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research* 30: 17-21.
- Schmickl T. and K. Crailsheim 2001. Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages. *J. Comp. Physiol.* 187(7): 541-547.
- Schultz J., P. St. Lawrence and D. Newmeyer 1946. A chemically defined medium for the growth of *Drosophila melanogaster*. *Anat. Rec.* 96: 540.
- Stammer H.J. 1929. Die Bakteriensymbiote der Trypetiden (Diptera). *Z. Morphol. Okol. Tiere* 15:481- 523.
- Steiner L.F. and S. Mitchell 1966. Tephritid fruit flies. In: *Insect Colonization and Mass Production*. ed. C. N. Smith. 38:555-583. New York: Academic. 618 pp.
- Tanaka N., L.F. Steiner, K. Ohinata and R. Okamoto 1969. Low cost larval rearing medium for mass production of oriental and Mediterranean fruit flies. *J. Econ. Entomol.* 62: 967-968.
- Τσιρόπουλος Γ.Ι. 1982. Η διατροφή των ενηλίκων εντόμων της οικογένειας Tephritidae (Diptera). Διατριβή για Υψηγασία.
- Tsiropoulos G.I. 1983. Microflora associated with wild and laboratory reared olive fruit flies. *Dacus oleae* (Gmel.). *Z. Ang. Entom.* 96: 337-340.
- Tsiropoulos G.J. 1992. Feeding and Dietary Requirements of the Tephritid Fruit Flies. In: *Advances in Insect Rearing for Research and Pest Management*. Westview Press Inc. 7: 93-118.
- Tsiropoulos G.J. and A.G. Manoukas 1977. Adult quality of *Dacus oleae* (Gmel.) affected by larval crowding and pupal irradiation. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 70:916.
- Tsitsipis. J.A. 1975. Mass rearing of olive fruit fly, *Dacus oleae* (Gmelin), at "Democritus". In: *Controlling Fruit Flies by the Sterile-insect Technique*. International Atomic Energy Agency IAEA-PL-582/9, SIT/PUB/392:93-100.
- Τσιτσιπής Ι. 1981. Η επίδραση των παραγόντων του περιβάλλοντος θερμοκρασία, υγρασία, φως, στο δάκο της ελιάς, *Dacus oleae* (Gmelin), και η βελτίωση της τεχνητής εκτροφής του. Διατριβή επί υψηγασία. Σελ. 68-69.
- Tsitsipis. J.A. 1989. Nutrition requirements. In: *Fruit Flies. Their Biology. Natural Enemies and Control*. Vol. 3A. (Eds. A.S. Robinson and G. Hooper). Elsevier. Amsterdam: 103-119.
- Tsitsipis J.A. and A. Kontos 1983. Improved solid adult diet for the olive fruit fly *Dacus oleae*. *Entomologia Hellenica* 1: 24-29.
- Tzanakakis M.E. 1969. Experiments with the olive fruit fly at the 'Democritus' nuclear research center, Greece. 8<sup>th</sup> FAO Conference on the Control of Olive Pests and Diseases. Athens, 8-12 May 1969.

Tzanakakis M.E. 1971. Rearing methods for the olive fruit fly. *Dacus oleae* (Gmelin). Ann. Sch. Agric. and Forestry Univ. Thessaloniki 14: 309-317.

Τζανακάκης Μ.Ε. 1980. Μαθήματα Εφαρμοσμένης Εντομολογίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Τζανακάκης Μ.Ε. 1995. Εντομολογία. University Studio Press.

Tzanakakis M.E. and A.P. Economopoulos 1967. Two efficient larval diets for continuous rearing of the olive fruit fly. *Dacus oleae* (Gmel.) (Diptera: Tephritidae). J. Econ. Entomol. 60: 660-663.

Tzanakakis M.E. and A.S. Stavrinidis 1973. Inhibition of development of larvae of the olive fruit fly, *Dacus oleae* (Diptera: Tephritidae), in olives treated with streptomycin. Entomol. Exp. Appl. 16: 39-47.

Tzanakakis M.E., J.A. Tsitsipis, A.P. Economopoulos and E. Fytizas 1967. Recent studies with *Dacus oleae* (Gmel.) at the 'Democritus' Nucl. Res. Center. Greece. 7<sup>th</sup> FAO Conference on the Control of Olive Pests and Diseases. Palermo, 2-10 May 1967.

Tzanakakis M.E., A.P. Economopoulos and J.A. Tsitsipis 1970. Rearing and nutrition of the olive fruit fly. I. Improved larval diet and simple containers. J. Econ. Entomol. 63:317-318.

USDA, FAO, IAEA 1998. Product quality control, irradiation and shipping procedures for mass-reared Tephritid fruit flies for sterile insect release programs. IAEA (Insect and Pest Control Section), Vienna, Austria.

Vakirtzi-Lemonias C., C. Karachalios and M.E. Tzanakakis 1969. Lipids of the adult olive fruit fly. Total lipids and major lipid fractions. Ann. Entomol. Soc. Amer. 62: 1290-1293.

Vanderzant E.S. 1966. Defined diets for phytophagous insects. In: Insect Colonization and Mass Production. ed. C. N. Smith. 18:273-303. New York: Academic. 618 pp.

Wood R.J., L.C. Marchini, E. Bush-Peterson and D.J. Harris 1980. Genetic studies of Tephritid flies in relation to their control. Proc. Symp. "Fruit Fly Problems", Kyoto and Naha, p. 47-54.

Yamvrias C., C.G. Panagopoulos and P.G. Psallidas 1970. Preliminary study of the internal bacterial flora of the olive fruit fly (*Dacus oleae*, Gmelin). Ann. Ins. Phyt. Benaki 9: 201-206.

Zouros E., M. Loukas, A.P. Economopoulos and B. Mazomenos 1982. Selection at the alcohol dehydrogenase locus of the olive fruit fly *Dacus oleae* under artificial rearing. Heredity 43(2): 169-185.



## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Εφαρμοσμένης Εντομολογίας του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Περιβαλλοντική Βιολογία-Διαχείριση Χερσαίων και Θαλάσσιων Βιολογικών Πόρων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα Καθηγητή Πανεπιστημίου Κρήτης Α.Π. Οικονομόπουλο για την αμέριστη συμπαράσταση και την βοήθεια του σε όλη την διάρκεια της διεξαγωγής της μελέτης.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή Πανεπιστημίου Κρήτης Ε. Ζούρο για την αξιολόγηση της διατριβής ως δεύτερο μέλος της εξεταστικής επιτροπής.

Ευχαριστώ επίσης τον Αναπληρωτή Ερευνητή του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε Ηρακλείου Ν. Ροδιτάκη για τη βοήθεια που μου προσέφερε στη μέχρι τώρα πορεία μου.

Αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω τα μέλη του Εργαστηρίου Εφαρμοσμένης Εντομολογίας και ιδιαίτερα τον Χρόνη Ρεμπουλάκη για τις πολύτιμες συμβουλές, την απλόχερη βοήθεια που μου παρείχαν και το φιλικό περιβάλλον που διαμόρφωσαν κάνοντας κάθε προσπάθεια πιο εύκολη. Ευχαριστώ τέλος τους φίλους μου Γιώργο Σπανάκη, Μαρία Ροδιτάκη, Ελευθερία Φανουράκη, Μαρία Ματθαιολαμπάκη και την οικογένεια μου για την ηθική συμπαράσταση και την υπομονή που κατέδειξαν όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Τέλος, σημειώνω ότι οι μεταπτυχιακές μου σπουδές ενισχύθηκαν οικονομικά από τα προγράμματα ευρείας κλίμακας ‘Controlling Mediterranean Fruit Fly & Improving citrus fruit quality’ και ‘Female Specific Attraction for Medfly’.