

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΑΣ & ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑΣ



**Διαγνωστικοί δείκτες πληθυσμών του μεταξοσκώληκα
Bombyx mori αξιοποιήσιμων στην ελληνική σηροτροφία**

Μάριος Δ. Τζιτζινάκης

Διδακτορική Διατριβή

ΑΘΗΝΑ 2012

Επιβλέπων: Καθηγητής Πασχάλης Χαριζάνης

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΑΣ & ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑΣ

**Διαγνωστικοί δείκτες πληθυσμών του μεταξοσκώληκα
Bombyx mori αξιοποιήσιμων στην ελληνική σηροτροφία**

Μάριος Δ. Τζιτζινάκης

Διδακτορική Διατριβή

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

1. Πασχάλης Χαριζάνης
Καθηγητής Γ.Π.Α. (επιβλέπων και μέλος 3μελούς συμβουλευτικής επιτροπής)
2. Γεώργιος Ροδάκης
Καθηγητής Ε.Κ.Π.Α. (μέλος 3μελούς συμβουλευτικής επιτροπής)
3. Πενελόπη Μπεμπέλη
Καθηγήτρια Γ.Π.Α. (μέλος 3μελούς συμβουλευτικής επιτροπής)
4. Ανδρέας Θρασυβούλου
Καθηγητής Α.Π.Θ.
5. Ιωάννα Κούρτη
Επίκουρη Καθηγήτρια Γ.Π.Α.
6. Σκαρλάτος Ντέντος
Επίκουρος Καθηγητής Ε.Κ.Π.Α.
7. Χρυσούλα Τανανάκη
Λέκτορας Α.Π.Θ.

Στις αγάπες της ζωής μου, την Εύα και την Κατερίνα

Στους γονείς μου

Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η

«Διαγνωστικοί δείκτες πληθυσμών του μεταξοσκώληκα (*Bombyx mori*) αξιοποιήσιμων στην ελληνική σηροτροφία»

Στη χώρα μας η σηροτροφία συνεχίζει να υφίσταται ως αγροτική δραστηριότητα και η μεγαλύτερη δυσκολία που καλείται να αντιμετωπίσει είναι οι χαμηλές τιμές των μεταξωτών προϊόντων που εισάγονται από Ασιατικές χώρες και κυρίως από την Κίνα. Η πραγματικότητα αυτή μπορεί να αντισταθμιστεί από τη βελτίωση της ποιότητας του εγχώριου παραγόμενου προϊόντος με την εκμετάλλευση και αξιοποίηση προσαρμοσμένων και βελτιωμένων πληθυσμών μεταξοσκωλήκων (*Bombyx mori*) και τη χρήση αποδοτικών υβριδίων.

Με γνώμονα τα παραπάνω και στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής, έγινε συγκριτική μελέτη και καταγραφή ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών εμπορικών υβριδίων, τα οποία προορίζονταν για χρήση από τους Έλληνες σηροτρόφους. Τα υβρίδια που μελετήθηκαν ήταν το κινεζικό **Qiufeng X Baiyu**, το τουρκικό **M X N** και το ελληνικό **X1 X K1** και η καταγραφή των στοιχείων αφορούσε σε εκτροφές δύο ετών. Οι αποδόσεις του τουρκικού υβριδίου βρέθηκαν στατιστικά σημαντικά καλύτερες από τις αποδόσεις των άλλων υβριδίων, ενώ το ελληνικό υβρίδιο σε ορισμένες πολύ σημαντικές παραμέτρους, όπως είναι το βάρος κελύφους και το ποσοστό κελύφους, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντικά καλύτερο από το κινεζικό υβρίδιο.

Παράλληλα πραγματοποιήθηκε σειρά πειραμάτων που σχετιζόνταν με τη δημιουργία, μελέτη, καταγραφή και διατήρηση καθαρών σειρών του μεταξοσκώληκα και τη δημιουργία τράπεζας γενετικού υλικού του είδους, με απώτερο στόχο τη μαζική παραγωγή μεταξόσπορου στην Ελλάδα. Μελετήθηκαν και καταγράφηκαν τα χαρακτηριστικά πληθυσμών που προέρχονταν από το γενετικό υλικό του Εργαστηρίου

Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας και του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών και από εμπορικά υβρίδια ύστερα από ελεγχόμενες – κατευθυνόμενες συζεύξεις και συνεχείς εκτροφές για τουλάχιστον 7 γενεές. Υπάρχει σαφής διαχωρισμός μεταξύ των μελετούμενων πληθυσμών, ο οποίος μπορεί να οφείλεται σε μορφολογικές διαφοροποιήσεις, όπως το χρώμα και η μορφή της προνύμφης ή το χρώμα της αιμολέμφου και σε διαφοροποιήσεις ποιοτικών και ποσοτικών παραγωγικών χαρακτηριστικών όπως το χρώμα του κουκουλιού, το ποσοστό του κελύφους και το βάρος χλωρού κουκουλιού.

Η παραγωγή μεταξόσπορου στην Ελλάδα, δραστηριότητα η οποία δοκιμάστηκε πρόσφατα με πολύ καλά αποτελέσματα, μπορεί να επιτευχθεί αξιοποιώντας το γενετικό υλικό που διατηρεί το Εργαστήριο Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών σε συνεργασία με το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών.

Η διατήρηση τράπεζας γενετικού υλικού του μεταξοσκώληκα της μουριάς, προϋποθέτει τη συνεχή εκτροφή των πληθυσμών που την απαρτίζουν, τουλάχιστον μία φορά ανά έτος και την ομομικτική αναπαραγωγή τους με σκοπό τη διατήρηση της καθαρότητας των επιθυμητών χαρακτηριστικών. Η καταγραφή διαγνωστικών δεικτών των διατηρούμενων πληθυσμών (αναφορικά με το φαινότυπο, τη φυσιολογία αποδόσεως και αναπαραγωγής και τα γενετικά – μοριακά χαρακτηριστικά), κάτι το οποίο αποτελεί στόχο της παρούσας διατριβής είναι σημαντικό εργαλείο για τη διαφύλαξη, αξιοποίησης και βελτίωσή τους.

Επιστημονική Περιοχή: Σηροτροφία

Λέξεις κλειδιά: Σηροτροφία, μετάξι, τράπεζα γενετικού υλικού, παραγωγή μεταξόσπορου, καθαρές σειρές

S U M M A R Y

“Diagnostic indexes of populations of the silkworm (*Bombyx mori*), which can be utilized in the Greek Sericulture”

In Greece sericulture continues to exist as an agricultural activity and the major difficulty facing is the low price of silk products imported from Asian countries, mainly from China. This reality can be compensated by improving the quality of domestically produced goods with the exploitation and utilization of adapted and improved silkworm populations (*Bombyx mori*) and the use of fit hybrids.

In light of the above in the context of this thesis, there was a comparative study and record of qualitative and quantitative characteristics of commercial hybrids, which were intended for use by the Greek silkworm rearers. The hybrids studied were the Chinese **Qiufeng X Baiyu**, the Turkish **M x N** and Greek **X1 X K1** and recording of data was related to two years rearing. The yields of the Turkish hybrid were found significantly higher than the yields of the other hybrids, while the Greek hybrid, in some very important parameters such as shell weight and shell percentage, appeared significantly better than the Chinese hybrid.

Furthermore, there was a series of experiments related to the creation, study, record and maintain of inbred lines of silkworm and the establishment of germplasm bank of the species, with the aim of enabling the mass production of silkworm eggs in Greece. The characteristics of the populations originating from the genetic material of the Laboratory of Sericulture & Apiculture and the Sericultural Laboratory of Athens and of commercial hybrids after controlled couplings and continuous rearing for at least 7 generations, were studied and recorded. There is a clear separation between the studied populations, which may be due to morphological differences such as colour and shape of the larva or colour variations in hemolymph and

qualitative and quantitative production characteristics, such as cocoon colour, the percentage of shell and fresh cocoon weight.

Silkworm egg production in Greece, an activity which has tested recently with very good results, can be achieved by utilizing the genetic material that is kept at the Laboratory of Sericulture and Apiculture of the Agricultural University of Athens in collaboration with the Sericultural Laboratory of Athens.

Maintaining germplasm bank of the mulberry silkworm requires continued rearing of the populations that compose it, at least once per year and sibling mating to maintain the purity of the desired characteristics. The recording of diagnostic indexes of preserved population (with regard to phenotype, physiology and breeding efficiency and genetic - molecular characteristics), which is an objective of this study is an important tool for their preservation, development and improvement.

Scientific area: *Sericulture*

Key Words: *Sericulture, Silk, Silkworm, Germplasm resources, Silkworm egg production, pure lines*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.), σε συνεργασία με το Σηροτροφικό Εργαστήριο του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & τροφίμων (ΥΠ.Α.Α.Τ.). Η ολοκλήρωση μιας μελέτης αυτού του είδους απαιτεί χρόνο, κόπο και αφοσίωση, ενώ για την αποπεράτωσή της είναι απαραίτητη η συνεργασία μίας ομάδας ανθρώπων.

Οφείλω λοιπόν να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες σε όλους όσους βοήθησαν στην πραγματοποίηση αυτής της δουλειάς, αλλά και σε όσους, είτε γνωρίζοντάς το είτε άθελά τους, μου ενέπνευσαν την αγάπη για το μετάξι και για τον κλάδο της Σηροτροφίας.

Πρώτα απ' όλα οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στον καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας του Γ.Π.Α. και του Σηροτροφικού Εργαστηρίου του ΥΠ.Α.Α.Τ. κ. Πασχάλη Χαριζάνη, για την ευκαιρία που μου έδωσε να γίνω μέλος της ερευνητικής του ομάδας, αποκομίζοντας γνώσεις και εμπειρία από την παρουσία μου στο εργαστήριό του, αλλά και για την πλήρη εμπιστοσύνη που έδειξε όλα αυτά τα χρόνια της συνεργασίας μας.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ επίσης, νοιώθω ότι αξίζουν οι συνάδελφοι μου γεωπόνοι και πρώην προϊστάμενοι του Τμήματος Μελισσοκομίας – Σηροτροφίας του ΥΠ.Α.Α.Τ., Καίτη Ράμμου και Δημήτρης Θεοχάρης, οι οποίοι, ο καθένας με τον τρόπο του, συνέβαλαν και βοήθησαν αποφασιστικά στην επαφή μου και την τριβή μου με το αντικείμενο της Σηροτροφίας στην πράξη.

Πολύ μεγάλη ήταν η συμβολή και η βοήθεια του σηροτρόφου, μεταξουργού και παραγωγού μεταξόσπορου κ. Χρήστου Μπουγιούκου, ο οποίος είναι ίσως ένας από τους λίγους εναπομείναντες ενεργούς συνδέσμους της εποχής μας με την παλιά χρυσή εποχή του μεταξίου. Η δική του εμπειρία, οι μνήμες του, οι γνώσεις του και η πλήρης αφοσίωσή του, σε ένα αντικείμενο που ο ίδιος λάτρευε και λατρεύει, ήταν για μένα οδηγός όλα αυτά τα χρόνια.

Τον Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Γεώργιο Ροδάκη θέλω ειλικρινά να ευχαριστήσω για τον χρόνο που

αφιέρωσε μελετώντας και διορθώνοντας το κείμενο της διατριβής, τις πολύ χρήσιμες επισημάνσεις του και τις συμβουλές του.

Την Καθηγήτρια του Εργαστηρίου Βελτίωσης Φυτών του Γ.Π.Α. κ. Πηνελόπη Μπεμπέλη, την ευχαριστώ επίσης για την τιμή μου έκανε να αποτελεί μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για την εμπιστοσύνη της και το χρόνο που διέθεσε στη μελέτη και διόρθωση του κειμένου, αλλά και για τη συμβολή της στην παρουσίαση της διατριβής.

Ευχαριστώ επίσης τα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής.

Τον Καθηγητή και Διευθυντή του Εργαστηρίου Μελισσοκομίας & Σηροτροφίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης (Α.Π.Θ.), κ. Ανδρέα Θρασυβούλου, τον ευχαριστώ για τις εύστοχες υποδείξεις του και για τον χρόνο που αφιέρωσε, αλλά πιο πολύ απ' όλα τον ευχαριστώ γιατί ήταν αυτός που σε ανύποπτο χρόνο, σε ένα διάλογό μας που ίσως εκείνος να μη θυμάται, με ώθησε να συνεχίσω τις σπουδές μου εκπονώντας ένα διδακτορικό.

Την κ. Ιωάννα Κούρτη, Επίκουρη Καθηγήτρια του Τμήματος Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας του Γ.Π.Α. την ευχαριστώ για την άμεση και θετική ανταπόκρισή της, στην πρόσκληση για συμμετοχή στην επταμελή εξεταστική επιτροπή, καθώς και για την λεπτομερή ανάγνωση των κειμένων και τις πολύ σημαντικές διορθώσεις και επισημάνσεις της.

Τον Επίκουρο Καθηγητή του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Αθηνών, κ. Σκαρλάτο Ντέντο, ο οποίος έχει αφιερώσει τη ζωή του στη μελέτη του μεταξοσκώληκα, τον ευχαριστώ πραγματικά για το χρόνο που διέθεσε και για όλες τις επισημάνσεις του.

Την Λέκτορα του Εργαστηρίου Μελισσοκομίας & Σηροτροφίας του Α.Π.Θ. κ. Χρυσούλα Τανανάκη, την ευχαριστώ που συμμετείχε πρόθυμα στην επταμελή επιτροπή και για το χρόνο που διέθεσε μελετώντας και αξιολογώντας αυτή τη δουλειά, παρά το γεγονός ότι είχε πολύ πιο σημαντικά και χρήσιμα πράγματα να κάνει (όπως το να φέρει στον κόσμο ένα παιδί).

Ευχαριστώ όλο το προσωπικό του Εργαστηρίου Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας. Το συνάδελφο γεωπόνο κ. Δημήτρη Λαζαράκη και την κ. Μαίρη Κατζουρού για τη βοήθειά τους και την προθυμία τους να

φροντίσουν τις εκτροφές και να ταΐσουν τους μεταξοσκώληκες, όποτε χρειάστηκε. Τη συνάδελφο γεωπόνο Δρ. Μαρία Τσίπη, με την οποία οι δρόμοι μας στο εργαστήριο ήταν σχεδόν παράλληλοι και η οποία με βοήθησε όποτε της το ζήτησα, είτε φροντίζοντας τους μεταξοσκώληκες είτε συμβάλλοντας στις μοριακές αναλύσεις. Τον τελειόφοιτο, εκκολαπτόμενο γεωπόνο, Κώστα Καρακατσιώτη, ο οποίος στο πλαίσιο της πτυχιακής του μελέτης βοήθησε στην πραγματοποίηση μέρους των πειραμάτων. Τη συνάδελφο υπάλληλο του Σηροτροφικού Εργαστηρίου του ΥΠ.Α.Α.Τ., κ. Ελένη Μηλιώτη, όχι μόνο για τη φροντίδα των εκτροφών και την παρουσία της στο εργαστήριο Κυριακές και αργίες, αλλά και για τη συμβολή της στην καταμέτρηση του αριθμού των αυγών ανά κουτί και του ποσοστού εκκολαπτικότητας, των εμπορικών υβριδίων.

Πάνω απ' όλους θέλω να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για την ηθική συμπαράσταση και την αμέτρητη υπομονή που επέδειξαν.

Τους γονείς μου γιατί μου προσέφεραν απλόχερα τα πάντα χωρίς να ζητήσουν ποτέ τίποτα.

Τη σύντροφο, γυναίκα και καλύτερή μου φίλη, Εύα Χρονοπούλου την ευχαριστώ για την υπομονή που έκανε όλες εκείνες τις ώρες που με χρειαζόταν δίπλα της αλλά εγώ έπρεπε να είμαι αλλού, ειδικά τους τελευταίους μήνες.

Τη μικρή μου Κατερίνα, την ευχαριστώ απλά γιατί υπάρχει και γιατί μόνο ένα της χαμόγελο και ένα της φιλί ήταν αρκετά για να πάρω δύναμη και να συνεχίσω την προσπάθεια.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

	σελίδα
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	I
SUMMARY	III
ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	V
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	IX
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο ΕΙΣΑΓΩΓΗ	
1.1. Γενικά	3
1.2. Στοιχεία συστηματικής και βιολογίας του μεταξοσκώληκα ..	5
1.2.1. Συστηματική κατάταξη του μεταξοσκώληκα	5
1.2.2. Ο βιολογικός κύκλος του μεταξοσκώληκα	7
1.2.3. Φυσιολογία αναπαραγωγής του μεταξοσκώληκα	8
1.2.3.1 Μορφολογία του αυγού	8
1.2.3.2. Φυσιολογία του αυγού, διαχείμαση, διάπαυση και βολτινισμός	10
1.3. Ιστορικά στοιχεία για τη σηροτροφία και το μετάξι	12
1.3.1. Γενικά	12
1.3.2. Η προϊστορία του μεταξιού – 5.000 χρόνια ιστορίας	13
1.3.3. Σηροτροφία, ένα πολύτιμο μυστικό	14
1.3.4. Σηροτροφία, εμπόριο και πολιτισμός	16
1.4. Το μετάξι	17
1.4.1. Γενικά	17
1.4.2. Ιδιότητες του μεταξιού	19
1.4.2.1. Χημικές ιδιότητες του μεταξιού	19
1.4.2.2. Φυσικές ιδιότητες του μεταξιού	20
1.4.3 Το μετάξι στο χώρο διεθνούς εμπορίου	22
1.4.3.1. Το μετάξι στον κόσμο	22
1.4.3.2. Το μετάξι στην Ευρώπη και την Ελλάδα	25
1.5. Προώθηση – στήριξη του κλάδου της σηροτροφίας	27
1.5.1. Γενικά	27
1.5.2. Θεσμικά μέτρα στήριξης του κλάδου	28
1.6. Γενετικό υλικό του <i>B. mori</i>	30
1.6.1. Γενικά	30
1.6.2. Η διατήρηση των γενετικών πόρων του <i>B. mori</i>	30
1.6.2.1. Τράπεζες γενετικού υλικού του <i>B. mori</i>	31
1.6.2.1.1. Γενετική ποικιλότητα στο <i>B. mori</i>	33
1.6.2.1.2. Μεταλλάξεις του <i>B. mori</i>	33
1.6.2.1.3. Χάρτες φυλογενετικής σύνδεσης	34

1.6.2.1.4. Ετεροζυγωτία και ομομικτική υποβάθμιση στη διατήρηση των πληθυσμών του μεταξοσκώληκα	35
1.6.2.2. Γενετική Βελτίωση στο <i>B. mori</i>	36
1.6.2.3. Προσδιορισμός της ομομικτικής υποβάθμισης	38
1.6.3. Χρήση μοριακών τεχνικών για καθορισμό της γενετικής ταυτότητας	40
1.6.3.1. Μοριακοί δείκτες	40
1.6.3.2. Η τεχνική PCR	41
1.6.3.3. Η τεχνική RFLP	42
1.6.3.4. Προσδιορισμός της ετεροζυγοτίας με χρήση μοριακών δεικτών	43
1.7. Σκοπός της μελέτης	44

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο ΥΛΙΚΑ & ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Γενικά	49
2.2. Πειραματική διαδικασία	50
2.2.1. Έλεγχος μελέτη και καταγραφή ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών εμπορικών υβριδίων	50
2.2.1.1. Δειγματοληψία - ποιοτικός έλεγχος των κουτιών μεταξόσπορου που προορίζονται για εμπορική χρήση	51
2.2.1.1.1. Καταμέτρηση αριθμού κουτιών μεταξόσπορου - δειγματοληψία	51
2.2.1.1.2. Αριθμός αυγών ανά κουτί - έλεγχος για ξένα σώματα, ελαττωματικά ή αγονιμοποίητα αυγά	52
2.2.1.1.3 Έλεγχος για την πιπερίτιδα	53
2.2.1.1.4 Επώαση - έλεγχος για το ποσοστό εκκολαπτικότητας	54
2.2.1.1.5 Έκδοση πιστοποιητικού καταλληλότητας μεταξόσπορου	59
2.2.1.2. Εκτροφές των εμπορικών υβριδίων	60
2.2.1.2.1 Απολύμανση χώρων και εργαλείων	60
2.2.1.2.2. Εκτροφή πρώτων ηλικιών (1η - 3η ηλικία)	62
2.2.1.2.3. Εκτροφή 4ης και 5ης ηλικίας	64
2.2.1.2.4. Αραίωση των προνυμφών	66
2.2.1.2.5. Αφαίρεση στρωμών	67
2.2.1.2.6. Εξιώσεις ηλικιών	68
2.2.1.2.7. Κλάδωμα, πλοκή κουκουλιών, διάρκεια προνύμφης	69
2.2.1.2.8. Συλλογή κουκουλιών - ξεκλάδωμα	70
2.2.1.2.9. Ποσοστό επιβίωσης προνυμφών	71

2.2.1.2.10. Ποσοστό κλαδώματος, βάρος κλώνων κουκουλιών, ποσοστό κελύφους	71
2.2.2. Δημιουργία, διατήρηση, μελέτη και καταγραφή καθαρών σειρών μεταξοσκωλήκων	73
2.2.2.1. Πρωτογενές γενετικό υλικό	73
2.2.2.2. Προφύλαξη από μεταδοτικές ασθένειες	74
2.2.2.3. Επιλογή, διατήρηση πληθυσμών και καταγραφή επιθυμητών χαρακτηριστικών	74
2.2.2.4. Εκτροφή των υπό μελέτη πληθυσμών	75
2.2.2.4.1. Ιδιαιτερότητες εκτροφής	75
2.2.2.4.2. Έλεγχος συνθηκών εκτροφής	76
2.2.2.4.3. Φροντίδες εκτροφής	75
2.2.2.4.4. Κλάδωμα – πλοκή κουκουλιών	77
2.2.2.4.5. Συλλογή κουκουλιών – ξεκλάδωμα	78
2.2.2.5. Καταγραφή χαρακτηριστικών προνυμφών	78
2.2.2.5.1. Διάρκεια προνύμφης	78
2.2.2.5.2. Αριθμός εκδύσεων	78
2.2.2.5.3. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των προνυμφών	78
2.2.2.5.4. Χρώμα αιμολέμφου	79
2.2.2.5.5. Ποσοστό επιβίωσης προνυμφών	79
2.2.2.5.6. Ποσοστό κλαδώματος	80
2.2.2.6. Καταγραφή χαρακτηριστικών κουκουλιών – νυμφών	80
2.2.2.6.1. Χρώμα κουκουλιών	80
2.2.2.6.2. Βάρος, μήκος, πλάτος, σχήμα κουκουλιών	81
2.2.2.6.3. Βάρος, μήκος, πλάτος, φύλο νυμφών	81
2.2.2.6.4. Βάρος κελύφους	82
2.2.2.7. Μέτρηση χαρακτηριστικών γονιμότητας των καθαρών σειρών	82
2.2.2.7.1. Ελεγχόμενες συζεύξεις	82
2.2.2.7.2. Πλύσιμο και αποκόλληση των αυγών	84
2.2.2.7.3. Μέτρηση αριθμού αυγών	85
2.2.2.7.4. Μέτρηση των διαστάσεων των αυγών	85
2.2.2.7.5. Μέτρηση του βάρους των αυγών	86
2.2.2.8. Φύλαξη, διατήρηση και διαχείριση αυγών	87
2.2.2.9. Μελέτη πολυμορφισμών του mtDNA των καθαρών σειρών, μέθοδος PCR – RFLPs	88
2.2.2.9.1. Απομόνωση ολικού DNA	89

2.2.2.9.2. Ενίσχυση τμημάτων του mtDNA με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)	91
2.2.2.9.2.1. Ενίσχυση γονιδιακού τμήματος 16srDNA	92
2.2.2.9.2.2. Ενίσχυση γονιδιακού τμήματος COI – barcode	92
2.2.2.9.3. Πέψεις με ένζυμα περιορισμού	93
2.2.2.9.4. Ηλεκτροφορητικός διαχωρισμός των θραυσμάτων DNA	93
2.3. Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων	94
2.3.1. Στατιστική επεξεργασία μορφομετρικών – παραγωγικών χαρακτήρων	94
2.3.1.1. Ανάλυση Διασποράς	94
2.3.1.2. Ανάλυση παλινδρόμησης	95
2.3.1.3. Ανάλυση βασικών συνιστωσών	95
2.3.2.1 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων από την ανάλυση του DNA	95

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Γενικά	99
3.2. Μελέτη εμπορικών υβριδίων	99
3.2.1. Καταγραφή χαρακτηριστικών του παραληφθέντος φορτίου	99
3.2.2. Αποτελέσματα εκτροφής των εμπορικών υβριδίων	100
3.2.2.1. Χαρακτηριστικά εκτροφής	100
3.2.2.2. Ποιοτικά παραγωγικά χαρακτηριστικά	103
3.3. Μελέτη – διαχείριση καθαρών σειρών	107
3.3.1. Χαρακτηριστικά προνυμφών	107
3.3.1.1. Διάρκεια προνύμφης	107
3.3.1.2. Ποσοστό επιβίωσης προνυμφών	108
3.3.1.3. Ποσοστό κλαδώματος	108
3.3.1.4. Αριθμός εκδύσεων	108
3.3.1.5. Χρώμα αιμολέμφου	108
3.3.1.6. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των προνυμφών	109
3.3.2. Χαρακτηριστικά κουκουλιών	111
3.3.2.1. Χρώμα κουκουλιών	111
3.3.2.2. Βάρος και διαστάσεις κουκουλιών	112
3.3.2.3. Σχήμα κουκουλιών	116
3.3.3. Βάρος –ποσοστό κελύφους	123
3.3.4. Χαρακτηριστικά νυμφών	126

3.3.4.1.	Βάρος – διαστάσεις νυμφών	126
3.3.5.	Χαρακτηριστικά γονιότητας	129
3.3.5.1.	Αριθμός αυγών ανά ωοτοκία	129
3.3.5.2.	Διαστάσεις αυγών	130
3.3.6.	Ανάλυση βασικών συνιστωσών	133
3.3.7.	Μελέτη πολυμορφισμών του mtDNA	134
3.3.7.1.	Γενικά	134
3.3.7.2.	16srDNA	134
3.3.7.3.	COI	136
3.3.7.4.	Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων ανάλυσης DNA	139

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

4.1.	Εμπορικά υβρίδια	145
4.1.1.	Παραλαβή φορτίου	147
4.1.2.	Εκτροφή εμπορικών υβριδίων	149
4.2.	Καθαρές σειρές	154
4.2.1.	Χαρακτηριστικά προνυμφών	155
4.2.2.	Χαρακτηριστικά κουκουλιών	156
4.2.3.	Χαρακτηριστικά νυμφών	160
4.2.4.	Χαρακτηριστικά γονιότητας	161
4.2.5.	Ομαδοποίηση – διαχωρισμών πληθυσμών	161
4.2.6.	Μελέτη πολυμορφισμών DNA	163

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.1.	Συμπεράσματα	169
------	--------------------	-----

Βιβλιογραφία	175
--------------------	-----

Παραρτήματα	195
-------------------	-----

Παράρτημα I (Χαρακτηριστικά πληθυσμών)	197
--	-----

Παράρτημα II (Θεωρητικά υπομνήματα)	205
1. Διαδικασία προμήθειας μεταξόσπορου	205
2. Ύδρευση – λειτουργία Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών	206
3. Διαδικασία δειγματοληψίας	207
4. Επώαση αυγών – εκκόλαψη προνυμφών	209
5. Πρωτόκολλο ποιοτικού ελέγχου – πιστοποιητικό καταλληλότητας μεταξόσπορου	210
6. Απολύμανση χώρων και εργαλείων	213
7. Dalco – 100	214
8. Πρώτες ηλικίες	215
9. Ανάγκες σε θερμοκρασία και σχετική υγρασία στις πρώτες ηλικίες	216
10. Διατροφή στις πρώτες ηλικίες	217
11. Διατροφή στην 4 ^η και 5 ^η ηλικία	218
12. Πυκνότητα εκτροφής – αραίωση	219
13. Καθαρισμός – αλλαγή στρωμών	220
14. Εξίσωση ηλικιών – ομοιόμορφες εκτροφές	221
15. Ωρίμανση προνυμφών – κλάδωμα	222
16. Βάρος κουκουλιού – βάρος κελύφους	223
17. Διατήρηση και αξιοποίηση του γενετικού υλικού του B. mori	224
18. Αριθμός εκδύσεων	225
19. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά προνυμφών	226
20. Χρώμα αιμολέμφου	227
21. Χρώμα κουκουλιών	228
22. Γονιμοποίηση αυγών	229
Παράρτημα III (Ευρετήριο Εικόνων)	230
Παράρτημα IV (Ευρετήριο Πινάκων)	233
Παράρτημα V (Ευρετήριο Διαγραμμάτων)	235

Κεφάλαιο 1^ο

Εισαγωγή

1. Εισαγωγή

1.1. Γενικά

Η σηροτροφία είναι ένας κλάδος της γεωργίας ο οποίος στη διάρκεια της μακραίωνης ιστορίας του έχει γνωρίσει την ακμή αλλά και την παρακμή (Χαριζάνης & Τζιτζινάκης, 2011 α, β). Ο μεταξοσκώληκας της μουριάς *Bombyx mori* L. αναγνωρίζεται αναμφίβολα ως το καλύτερο μεταξοπαραγωγό είδος, ενώ το μετάξι του, λόγω της ωραιότητας, της λαμπρότητας και της αντοχής του, έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον των υφαντουργών και της βιομηχανίας της υψηλής ραπτικής, για τη δημιουργία υφασμάτων κομψοτεχνημάτων (Tzitzinakis *et al.*, 2008; Subramanya & Bishop, 2011).

Η ποσότητα και η ποιότητα του παραγόμενου μεταξιού δεν εξαρτάται μόνο από το είδος του οργανισμού που το παράγει, εν προκειμένω του *B. mori*, αλλά σε μεγάλο βαθμό σχετίζεται με τη φυλή ή το γενετικό στέλεχος που χρησιμοποιείται (Tazima, 1984). Πολύ σημαντικές είναι επίσης οι επιδράσεις των πραγματοποιούμενων διασταυρώσεων και του φαινομένου της υβριδικής υπεροχής ή ετέρωσης, το οποίο μπορεί να επιφέρει θεαματικά αποτελέσματα στην αύξηση της παραγωγικότητας και της προσαρμοστικότητας (Subramanya & Bishop, 2011).

Ο εκσυγχρονισμός και η βελτίωση συγκεκριμένων τεχνικών παραμέτρων σε επίπεδο εκτροφής των μεταξοσκωλήκων και καλλιέργειας της μουριάς, παίζουν αναμφισβήτητα σημαντικότερο ρόλο στην οικονομικά βιώσιμη εφαρμογή της σηροτροφίας (Aruga, 1994). Εντούτοις, βασική παράμετρος για την επίτευξη οικονομικά αποδοτικής εκμετάλλευσης του μεταξοσκώληκα της μουριάς, είναι η ορθολογική διαχείριση των γενετικών αποθεμάτων του είδους, η διαφύλαξή τους και ει δυνατόν, η βελτίωσή τους.

Το παρόν κεφάλαιο αποτελεί θεωρητικό υπόβαθρο της παρούσας Διατριβής. Καταρχάς, κρίθηκε σκόπιμο να γίνει γνωριμία με το ζωικό οργανισμό ο οποίος αποτελεί τη βάση της σηροτροφίας, που είναι το Λεπιδόπτερο *B. mori*, μέσω αναφοράς στη συστηματική κατάταξη και την προέλευση του είδους.

Παράλληλα, παρατίθενται στοιχεία βιολογίας του οργανισμού τα οποία αφορούν στο βιολογικό του κύκλο και στη φυσιολογία αναπαραγωγής, παράμετροι οι οποίες είναι καθοριστικές, τόσο κατά την επιχειρηματική εκτροφή όσο και κατά τη γενετική βελτίωσή του, ή την αναπαραγωγή του για εμπορικούς ή ερευνητικούς σκοπούς.

Επιπλέον γίνεται ανασκόπηση της ιστορίας της σηροτροφίας, η απαρχή της οποίας χάνεται στα βάθη των αιώνων, σε συνάρτηση με την ανάπτυξη των εμπορικών σχέσεων μεταξύ αρχαίων πολιτισμών της εποχής του «**δρόμου του μεταξιού**», προσέγγιση η οποία αναδεικνύει τη μεγάλη σημασία και διαχρονικότητα του κλάδου.

Ουσιαστική κρίθηκε επίσης, για την ανάδειξη της σημασίας του προϊόντος, η αναφορά στις ιδιότητες του μεταξιού ως φυσικό αγαθό ζωικής προέλευσης και ως υλικό ύφανσης, καθώς επίσης και στη θετική επίδραση που μπορεί να έχει η χρήση του στην υγεία, λόγω των ιδιαιτεροτήτων που το χαρακτηρίζουν.

Εξίσου σημαντική θεωρήθηκε η αποτύπωση της σημερινής κατάστασης της παγκόσμιας αγοράς του μεταξιού και των διεθνών εμπορικών ισοζυγίων που αφορούν στον τομέα. Επίσης, έγινε προσέγγιση της κατάστασης του κλάδου όπως αυτός διαμορφώνεται σε ευρωπαϊκό και εθνικό επίπεδο, τόσο από την άποψη της παραγωγής όσο και από τη σκοπιά της νομικής και διοικητικής υποστήριξης, έχοντας ως ζητούμενο την αύξηση του οικογενειακού γεωργικού εισοδήματος, μέσω της προσφοράς μιας εναλλακτικής διεξόδου απασχόλησης.

Τέλος γίνεται εκτενής αναφορά στην ανάγκη ορθολογικής διαχείρισης και αξιοποίησης των υπάρχοντων γενετικών πόρων του μεταξοσκώληκα, στις πρόσφατες επιστημονικές εξελίξεις που άπτονται του αντικειμένου και στις μεθόδους που μπορούν να εφαρμοστούν σε σχέση με τον προσδιορισμό της ετεροζυγωτίας εντός των διατηρούμενων πληθυσμών.

1.2. Στοιχεία συστηματικής και βιολογίας του μεταξοσκώληκα

1.2.1. Συστηματική κατάταξη του μεταξοσκώληκα

Βάση της σηροτροφικής βιομηχανίας είναι ο βόμβυκας της μουριάς (*Bombyx mori* L.) ή απλώς μεταξοσκώληκας. Η σπουδαιότητα και η επίδραση του εντόμου αυτού, στην ιστορική εξέλιξη της ανθρωπότητας είναι αδιαμφισβήτητη. Η εξημέρωση και εκμετάλλευση του έχει τις ρίζες της τουλάχιστον 5.000 χρόνια πριν, ενώ η αξία του προϊόντος συνεχίζει να είναι υψηλή ακόμα και στη σύγχρονη οικονομία (Xu *et al.*, 2002).

Ο εξημερωμένος ή «οικιακός» μεταξοσκώληκας της μουριάς του είδους *B. mori* αποτελεί μέλος της οικογένειας των Βομβυκιδών (*Bombycidae*). Η συστηματική του κατάταξη φαίνεται στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1: Συστηματική κατάταξη του μεταξοσκώληκα της μουριάς

Βασίλειο:	Ζώα (Animalia)
Φύλο:	Αρθρόποδα (Arthropoda)
Κλάση:	Εξάποδα ή Έντομα (Insecta)
Τάξη:	Λεπιδόπτερα (Lepidoptera)
Οικογένεια:	Βομβυκίδες (Bombycidae)
Γένος:	Bombyx
Είδος: <i>Bombyx mori</i> L.	

(Πελεκάσης, 1992; Aruga, 1994; Αποστολοπούλου και συν., 1996)

Ως πρόγονος του είδους αναφέρεται ένα λεπιδόπτερο του ίδιου γένους που απαντά κυρίως στην Ιαπωνία, την Κίνα, αλλά και σε άλλες χώρες. Το *Bombyx (Theophila) mandarina* Butler (**Εικ. 1.1**), όπως είναι η επιστημονική του ονομασία, τρέφεται όπως και ο κοινός μεταξοσκώληκας με φύλλα μουριάς και γι' αυτό το λόγο συγκαταλέγεται μεταξύ των εχθρών της (Aruga, 1994).

Είναι γενικά αποδεκτό ότι το είδος *B. mandarina* είναι ο άγριος πρόγονος του *B. mori*. Ορατές μεταλλάξεις έχουν μεταφερθεί από το άγριο *B. mandarina* στον εξημερωμένο απόγονό του μέσω του φαινομένου του εσοδικού υβριδισμού, όπως η μετάλλαξη του «**άγριου διάφανου μεταξοσκώληκα (wild translucent silkworm)**» (Nakamura

et al., 1999). Υπάρχουν σε άγρια μορφή σε μορεώνες, το ***B. mandarina*** παραμένει μια σημαντική και συνάμα πολύτιμη πηγή γενετικών σημαντών και μεταλλάξεων που βρίσκονται ακόμα υπό το καθεστώς της φυσικής επιλογής (Goldsmith *et al.*, 2005).



Εικόνα 1.1: Ο άγριος πρόγονος του μετασοκώληκα ***Bombyx (Theophila) mandarina***

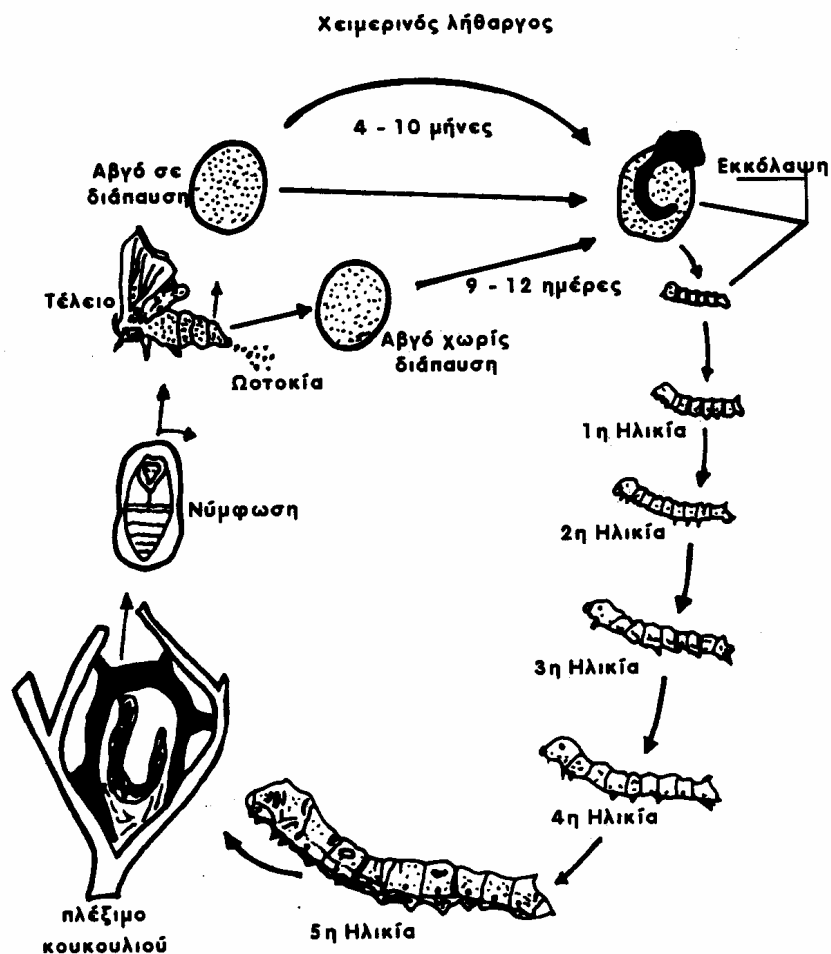
Πηγή: <http://www.bombyx-mandarina.blogspot.com>

Αρχαιολογικά ευρήματα καταδεικνύουν ότι το είδος ***B. mori*** εξημερώθηκε στην Κίνα τουλάχιστον 5.000 χρόνια πριν. Ο απλοειδής αριθμός χρωμοσωμάτων (***n***), κινεζικών πληθυσμών του ***B. mandarina*** είναι ***n=28***, όπως και του αντίστοιχου εξημερωμένου απογόνου του. Εντούτοις, ο αντίστοιχος αριθμός χρωμοσωμάτων ιαπωνικών και κορεατικών πληθυσμών του άγριου είδους, είναι ***n=27*** (Nakamura *et al.*, 2001; Meng & Xu, 2000). Η προέλευση αυτών των κυτταρογενετικών διαφοροποιήσεων βρίσκεται υπό διερεύνηση, λαμβάνοντας σοβαρά υπόψη την επίδραση του φαινομένου της χρωμοσωμικής συγχώνευσης (Maekawa *et al.*, 1988; Shimada *et al.*, 1995; Nakamura *et al.*, 1999). Σύμφωνα με παλιότερη μελέτη σχετικά με τη ριβοσομική γονιδιακή δομή (Maekawa *et al.*, 1988), μια γεωγραφική κατόπτευση των δύο προαναφερθέντων καρυστυπικών σχημάτων του ***B. mandarina***, υποδηλώνει ότι ο διαχωρισμός μεταξύ των δύο πληθυσμών συνέβη σε περιοχές βόρεια του κορεατικού ισθμού (Nakamura *et al.*, 1999). Με τη βοήθεια μοριακών αναλύσεων σε επίπεδο νουκλεοτιδικών διαφορών του μιτοχονδριακού γονιδίου **NAD5**, φαίνεται ότι ο διαχωρισμός έλαβε χώρα πολύ νωρίτερα από την εποχή που χρονολογείται η εξημέρωση του είδους (Yukuhiro *et al.*, 2002). Η ίδια διαπίστωση ενισχύεται και από

φυλογενετικές αναλύσεις (Yamauchi *et al.*, 2000; Goldsmith *et al.*, 2005).

1.2.2. Ο βιολογικός κύκλος του μετασοκώληκα

Ο μετασοκώληκας ανήκει στα ολομετάβολα είδη των εντόμων και κατά τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου διέρχεται από τα αναπτυξιακά στάδια: **α)** του **ωού (αυγού)** εντός του οποίου αναπτύσσεται το **έμβρυο**, **β)** της **προνύμφης**, **γ)** της **νύμφης ή χρυσαλίδας** και **δ)** του **ενηλίκου (πεταλούδα)** (Εικ. 1.2).



Εικόνα 1.2: Ο βιολογικός κύκλος του μετασοκώληκα (Δούλιας, 1995).

Μετά την απόθεση των γονιμοποιημένων αυγών, το έμβρυο αναπτύσσεται καταναλώνοντας τα θρεπτικά συστατικά της λεκίθου, μέχρι τη στιγμή της εκκόλαψης. Μετά την εκκόλαψη η νεαρή προνύμφη

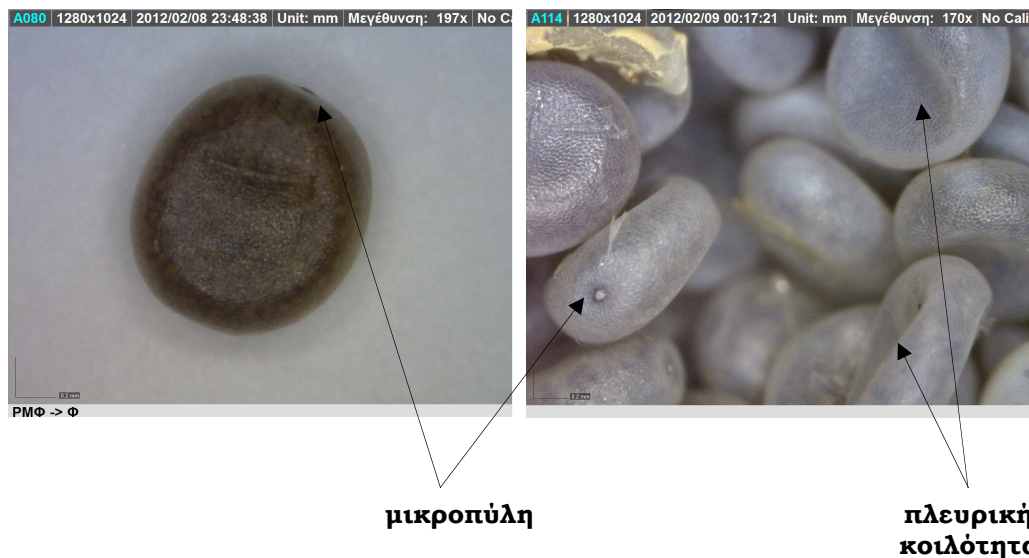
προσλαμβάνει τα απαραίτητα για την ανάπτυξη της θρεπτικά συστατικά από τα φύλλα της μουριάς. Το στάδιο της προνύμφης διαρκεί περίπου 25 – 30 ημέρες κατά τη διάρκεια των οποίων πραγματοποιούνται, κατά κανόνα 4 εκδύσεις, οι οποίες μεσολαβούν των 5 ηλικιών από τις οποίες διέρχεται. Όταν η προνύμφη ωριμάζει παράγει νήμα με το οποίο πλέκει το κουκούλι μέσα στο οποίο μεταμορφώνεται σε χρυσαλίδα. Ο σχηματισμός του κουκουλιού διαρκεί 48 – 72 ώρες, ενώ η μεταμόρφωση σε χρυσαλίδα διαρκεί 2-3 ημέρες. Κατά το στάδιο της χρυσαλίδας, τα κυρίαρχα όργανα της προνύμφης αντικαθίστανται από αυτά του ενηλικού ατόμου, δηλαδή τα αναπαραγωγικά όργανα, καθώς η αναπαραγωγή είναι η βασική λειτουργία των ενηλικών. Δέκα ημέρες μετά το σχηματισμό της χρυσαλίδας εξέρχεται από το κουκούλι η ώριμη πεταλούδα. Οι πεταλούδες του μεταξοσκώληκα ζουν χωρίς να τρέφονται επιτελώντας μόνο τη αναπαραγωγική διαδικασία της σύζευξης και της απόθεσης των αυγών και στη συνέχεια ολοκληρώνουν το βιολογικό τους κύκλο (Lim *et al.*, 1990; Aruga, 1994; Δούλιας, 1995,).

1.2.3. Φυσιολογία αναπαραγωγής του μεταξοσκώληκα

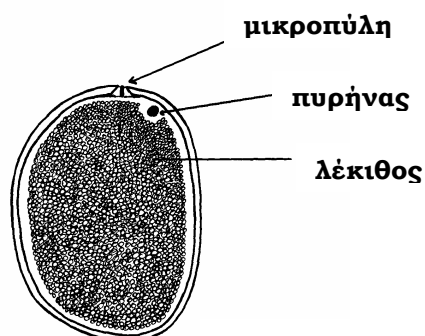
1.2.3.1 Μορφολογία του αυγού

Τα αυγά του μεταξοσκώληκα είναι πολύ μικρά, με διαστάσεις της τάξης του **1mm** και βάρος που κυμαίνεται από **0,5 – 0,6 mg**. Το σχήμα τους διαφέρει ανάλογα με τη φυλή, αλλά κατά κανόνα είναι ελαφρώς ελλειψοειδές, ενώ ο ένας πόλος τους είναι λίγο στενότερος. Εκεί βρίσκεται η μικροπύλη από όπου επιτρέπεται η διείσδυση του σπερματοζωαρίου. Πλευρικά παρατηρούνται εκατέρωθεν δύο ελαφρές κοιλότητες (**Εικ. 1.3, 1.4**). Το χρώμα τους είναι γαλακτούχο έως μετρίως κιτρινωπό. Το κέλυφος το οποίο επενδύει εξωτερικά τα αυγά είναι σκληρό και ελαστικό με ακανόνιστο ανάγλυφο, ονομάζεται χόριο και είναι κερατινοειδούς φύσεως. Εκτός από τη μικροπύλη η οποία αποτελεί την βασική δίοδο επικοινωνίας του εσωτερικού του αυγού με το εξωτερικό περιβάλλον, στην επιφάνεια του χορίου υπάρχουν πάρα πολλοί μικροί δίαυλοι (5.000 – 10.000), κωνικού σχήματος με τη μικρή βάση στραμμένη προς το εσωτερικό, οι οποίοι χρησιμεύουν ως

αεραγωγοί μέσω των οποίων εξασφαλίζεται η ανταλλαγή των αερίων του αυγού και η αναπνοή του εμβρύου. Η λέκιθος και ο πυρήνας περιβάλλονται από τη λεκιθική μεμβράνη, η οποία βρίσκεται εσωτερικά του χορίου (Otsuki, 1997).



Εικόνα 1.3: Αυγά μεταξοσκώληκα σε μεγέθυνση X 200



Εικόνα 1.4: Σχηματική απεικόνιση του αυγού του μεταξοσκώληκα (πηγή: Otsuki, 1997, τροπ.)

Τα μη γονιμοποιημένα αυγά διατηρούν το κιτρινωπό τους χρώμα και σύντομα αποξηραίνονται. Το χρώμα των γονιμοποιημένων αυγών γίνεται πιο έντονο και μετατρέπεται διαδοχικά σε ροζ, βαθύ κόκκινο και τέλος αποκτά χρώμα γκρι ή καφέ. Η μετατροπή του χρώματος των αυγών είναι η πιο ασφαλής, εμφανής και συγχρόνως απλή ένδειξη της γονιμοποίησής τους (**Εικ. 1.5**).

(Aruga, 1994; Δούλιας, 1995; Otsuki, 1997).



Εικόνα 1.5: Γονιμοποιημένα αυγά αμέσως μετά την απόθεση και μετά την αλλαγή του χρώματος

Το αυγό γονιμοποιείται τη στιγμή της εναπόθεσής του, οπότε ένα από τα σπερματοζωάρια που έχουν αποθηκευτεί στη σπερματοθήκη του θηλυκού κατά τη σύζευξη, διεισδύει σε αυτό μέσω της μικροπύλης. Εντούτοις, υπάρχουν περιπτώσεις όπου μπορεί να σχηματισθεί έμβρυο εντός του αυγού, χωρίς να ακολουθηθεί η φυσιολογική διαδικασία (**παρθενογένεση** και **μερογονία**).

Κατά την παρθενογένεση και σε εξαιρετικά σπάνιες περιπτώσεις, σχηματίζεται εντός μη γονιμοποιημένων αυγών, απλοειδές έμβρυο το οποίο αναπτύσσεται και εκκολάπτεται. Η πιθανότητα εμφάνισης του φαινομένου της παρθενογένεσης αυξάνεται αν τα αυγά υποστούν χειρισμούς όπως η εμφάνισή τους σε υδροχλωρικό οξύ ή σε ζεστό νερό.

Κατά τη μερογονία δεν λαμβάνει μέρος στο σχηματισμό του εμβρύου ο πυρήνας του αυγού, αλλά μόνο ο πυρήνας του σπερματοζωαρίου και το κυτταρόπλασμα του αυγού. Το φαινόμενο της μερογονίας έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση απογόνων με τα κληρονομικά χαρακτηριστικά του πατέρα, ακόμα και αν αυτά είναι υπολειπόμενα σε σχέση με τα χαρακτηριστικά της μητέρας.

(Aruga, 1994).

1.2.3.2. Φυσιολογία του αυγού, διαχείμαση, διάπαυση, βολτινισμός

Υπάρχουν κατηγορίες εντόμων που χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση του φαινομένου της διάπαυσης, το οποίο ουσιαστικά αποτελεί ένα σύνολο διαφοροποιήσεων σε επίπεδο συμπεριφοράς και φυσιολογίας, χάρη στις οποίες ενδυναμώνεται η ικανότητα επιβίωσης κατά τη διάρκεια περιόδων όπου επικρατούν δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες (Denlinger, 1985, 2002; Dedos *et al.*, 2002). Η διάπαυση η

οποία επάγεται από περιβαλλοντικές διακυμάνσεις που γίνονται αντιληπτές από το νευρο-ενδοκρινικό σύστημα των εντόμων, έχει ως αποτέλεσμα τη μετάβαση του οργανισμού σε μια κατάσταση αναπτυξιακού ληθάργου (Dedos *et al.*, 2002; Otsuki, 1997).

Στο μεταξοσκώληκα της μουριάς είναι συνήθης η εμφάνιση του φαινομένου της διάπαυσης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εμβρύου. Το φαινόμενο αυτό εκδηλώνεται με τη διακοπή της ανάπτυξης του εμβρύου κατά την περίοδο του χειμώνα και συνέχισή της την άνοιξη, έτσι ώστε να ξεπεραστούν οι δυσμενείς κλιματολογικές συνθήκες και η αδυναμία εύρεσης τροφής. Για σταθερές συνθήκες περιβάλλοντος, η εμφάνιση και η διάρκεια της διάπαυσης εξαρτάται από την κληρονομικότητα. Διαρκεί περίπου 9 – 10 μήνες κατά τη διάρκεια των οποίων ο μεταβολισμός του εμβρύου είναι πολύ χαμηλός, δε γίνονται κυτταροδιαιρέσεις σε κανένα ιστό και η μόνη δραστηριότητα που παρατηρείται είναι κάποιες αναπνευστικές ανταλλαγές αερίων (Aruga, 1994; Δούλιας, 1995).

Όταν τα γονιμοποιημένα αυγά διαχειμάζουν αφού έχουν διέλθει από τη φάση της διάπαυσης και εκκολάπτονται την επόμενη σηροτροφική περίοδο δίνοντας μία μόνο γενεά το χρόνο, οι μεταξοσκώληκες που τα παρήγαγαν ονομάζονται **μουόγγοι**. Όταν τα αυγά δε διέρχονται από τη φάση της διάπαυσης και εκκολάπτονται αμέσως, αλλά τα ενήλικα της επόμενης γενεάς δίνουν αυγά με διάπαυση, έχουμε δύο γενεές το χρόνο και οι μεταξοσκώληκες αυτής της κατηγορίας ονομάζονται **δίγγοι**. Μεταξοσκώληκες που παρουσιάζουν περισσότερες από δύο γενεές το χρόνο ονομάζονται **πολύγγοι**. Η ιδιότητα του μεταξοσκώληκα να εμφανίζεται ως μονόγονος, δίγονος ή πολύγονος είναι ένα φυσιολογικό φαινόμενο που συνδέεται άμεσα με τη διάπαυση και ονομάζεται **βολτινισμός**. Η μορφή εμφάνισης του βολτινισμού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες του περιβάλλοντος, ενώ η ευαισθησία σε αυτές ποικίλει ανάλογα με τη φυλή του μεταξοσκώληκα (Aruga, 1994; Δούλιας, 1995).

Η εκδήλωση του φαινομένου της διάπαυσης στα αυγά του μεταξοσκώληκα καθορίζεται από την ορμόνη της διάπαυσης η οποία

εκκρίνεται στα υποοισοφαγικά γάγγλια και μεταφέρεται μέσω της αιμολέμφου στις ωθήκες του θηλυκού ενηλικού, όπου δρα οδηγώντας το έμβρυο που θα παραχθεί, να εισέλθει σε διάπαυση, σε καθορισμένο στάδιο της ανάπτυξής του (Wang, 1989, Otsuki, 1997).

Τα υποοισοφαγικά γάγγλια, σε κάθε φυλή και ανεξαρτήτως βολτινισμού, μπορούν να εκκρίνουν την ορμόνη της διάπαυσης, αλλά ο ρυθμός της έκκρισης ελέγχεται από τον εγκέφαλο. Οι βασικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν το βολτινισμό είναι η θερμοκρασία, ο φωτισμός και η υγρασία (Wang, 1989, Otsuki, 1997).

1.3. Ιστορικά στοιχεία για τη σηροτροφία και το μετάξι

1.3.1. Γενικά

Η λέξη σηροτροφία έχει τις ρίζες της στην κινεζική λέξη «**Σε**» και την κορεατική «**Σιρ**» που σημαίνουν μετάξι. Από αυτές τις λέξεις προέρχεται το ελληνικό «**σηρ**» και «**σηρικών**» (μεταξωτό) και το λατινικό «**sericum**». Έτσι λοιπόν, σε απόλυτη μετάφραση σηροτροφία σημαίνει «**εκτροφή του μεταξιού**». Στην πραγματικότητα, όταν χρησιμοποιούμε τον όρο σηροτροφία (ή sericulture διεθνώς) εννοούμε τον κλάδο της γεωπονίας και της γεωργίας που προσβλέπει στην εκτροφή του μεταξοσκώληκα της μουριάς (***B. mori***) για παραγωγή κουκουλιών και κατ' επέκταση μεταξιού, με σκοπό την αύξηση του οικογενειακού αγροτικού εισοδήματος (Σηροτροφικό Εργαστήριο, 1947).

Σύμφωνα με την επικρατούσα άποψη, κοιτίδα της σηροτροφίας είναι η Κίνα. Εντούτοις, όπως αναφέρεται από τους Παπαναούμ (1950) και Ganga (2003), σε βιβλίο της δυναστείας του Μωάμεθ εμφανίζεται κάποιος βασιλιάς της Ινδίας το 3.870 π.Χ. να στέλνει μεταξωτά υφάσματα ως δώρο στο βασιλιά της Περσίας, ενώ κατά τον Ινδό Ιστορικό ***M. Mulkerji***, πρώτη πατρίδα του βόμβυκα της μουριάς είναι οι ορεινές εκτάσεις των Ινδιών στα Ιμαλάια, όπου περί το 4.000 π.Χ. άρχισε η εκτροφή του. Κατά μία περσική παράδοση, το πρώτο ζεύγος μεταξοσκωλήκων αναπτύχθηκε στο σώμα του Ιώβ, μαζί με άλλους

σκώληκες, οι οποίοι έβριθαν πάνω σε αυτό (Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 1947; Παπαναούμ, 1950).

1.3.2. Η προϊστορία του μεταξιού – 5.000 χρόνια ιστορίας

Η αρχαιότερη γνωστή απτή απόδειξη ύπαρξης μεταξιού εντοπίστηκε στην περιοχή «**Xia**» της «**Shanxi**», η οποία βρίσκεται εντός των εκτάσεων όπου ζούσαν πληθυσμοί του νεολιθικού πολιτισμού των **Γιανγκσάο (Yangshao)**, τα όρια του οποίου εκτείνονταν κατά μήκος του κεντρικού τμήματος του Κίτρινου Ποταμού. Το στοιχείο που βρέθηκε ήταν ένα μετάξινο κουκούλι κομμένο στη μέση με αιχμηρό εργαλείο και χρονολογείται μεταξύ 4.000 και 3.000 π.Χ., ενώ κατέστη δυνατή και η ταυτοποίηση του εντόμου από το οποίο προέρχεται το εύρημα, το οποίο δεν ήταν άλλο από τον μεταξοσκώληκα του είδους **B. mori**. Θραύσματα πρωτόγονου αργαλειού που χρονολογούνται γύρω στο 4.000 π.Χ. βρέθηκαν επίσης στην περιοχή «**Yuyao**» της «**Zhejiang**» στις εκτάσεις όπου αναπτύχθηκε ο νεολιθικός πολιτισμός των **Χεμούντου (Hemudu)**, ενώ θρύμματα μεταξιού, που χρονολογούνται από το 2.700 π.Χ., έχουν βρεθεί στην περιοχή «**Qianshayang**» στη «**Huzhou**» της «**Zhejiang**», όπου αναπτύχθηκε ο πολιτισμός των **Λιανγκζού (Liangzhu)** και σε βασιλικό τάφο της δυναστείας των Σανγκ (**Shang**) (http://en.wikipedia.org/wiki/History_of_silk).

Αναφορές στο μετάξι γίνονται και στην Παλαιά Διαθήκη, γεγονός το οποίο καταδεικνύει ότι η ύπαρξή του ήταν γνωστή στις Δυτικές περιοχές της ασιατικής ηπείρου, κατά την περίοδο που είναι γνωστή ως Βιβλική Εποχή (Encyclopedia Encarta; Hill, 2009)

Σε κινεζικά χρονογραφήματα αναφέρεται ότι ο Αυτοκράτορας Φου-Χη, ο οποίος έζησε κατά την 4^η χιλιετηρίδα π.Χ. χρησιμοποίησε σε μουσικό όργανο δικής του εφευρέσεως, χορδές από μετάξι (Μανιατάκης, 1900; Παπαναούμ, 1950). Επιπλέον, στα βιβλία του Κομφούκιου αναφέρεται ως πρώτη που εξέθρεψε μεταξοσκώληκες η αυτοκράτειρα της Κίνας Σι-Λινγκ-Τσι (Si-Ling-Chi) ή κατ' άλλους Λούι-Τσέου σύζυγος ή κόρη του αυτοκράτορα Χοάνγκ – Τι, περί το έτος 2697 π.Χ. ή σύμφωνα

με άλλη εκδοχή το 2658 π.Χ. (Παπαναούμ,1950; Μανιατάκης, 1900; Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 1947).

1.3.3. Σηροτροφία, ένα πολύτιμο μυστικό

Η εκτροφή του μεταξοσκώληκα και η παραγωγή του μεταξιού αποτέλεσε εφτασφράγιστο μυστικό της Κίνας για πολλούς αιώνες και σε πολλά μέρη του κόσμου θεωρείτο ακόμη και προϊόν φυτικής προέλευσης (Παπαναούμ, 1950; Χαριζάνης & Τζιτζινάκης 2011 α). Λέγεται ότι κατ' αρχάς ήταν μυστικό, μόνο της αυτοκρατορικής οικογένειας της Κίνας, συν τω χρόνω όμως άρχισε να εκτρέφει μεταξοσκώληκες και η αριστοκρατία της χώρας (Παπαναούμ, 1950). Για μεγάλο χρονικό διάστημα, η παραγωγή μεταξιού ήταν αποκλειστικότητα των ευγενεστέρων κυριών του κινεζικού κράτους, ενώ ο αυτοκράτορας και η αυτοκράτειρα προστάτευαν το έργο αυτό και το περιέβαλλαν με μυστηριώδεις θρησκευτικές ιεροτελεσιές, προκειμένου να φαίνεται ως κάτι ιδιαίτερος σπουδαίο στα μάτια του λαού. Ωστόσο, γύρω στο 2.200 π.Χ. η τέχνη της παραγωγής του μεταξιού είχε γίνει γνωστή στην ευρύτερη κοινωνία της Κίνας και σε πολλά μέρη του κινεζικού κράτους φυτεύονταν μουριές και εκτρέφονταν μεταξοσκώληκες (Εικ. 1.6) (Μανιατάκης, 1900).



Εικόνα 1.6: Η εκτροφή του μεταξοσκώληκα στην αρχαία Κίνα
Πηγή: <http://www.silk-road.com/artl/silkhistory.shtml>

Οι αυτοκράτορες της Κίνας αγωνίστηκαν σθεναρά να διαφυλάξουν μυστική τη γνώση γύρω από τη σηροτροφία, προκειμένου να

διατηρήσουν το κινεζικό μονοπώλιο στην παγκόσμια αγορά του μεταξιού. Για το λόγο αυτό ουδέποτε εξήγαγαν μεταξοσκώληκες ή μεταξόσπορο, ενώ προβλεπόταν θανατική ποινή για όποιον αποκάλυπτε το μυστικό σε ξένους. Παρά το γεγονός ότι το μετάξι ως υλικό εξαπλώθηκε γρήγορα σε όλη την Ευρασία, η παραγωγή του, με εξαίρεση την Ιαπωνία, παρέμεινε προνόμιο των Κινέζων για περίπου τρεις χιλιετίες. Επειδή το εκ της εξαγωγής μεταξωτών υφασμάτων, ανταλλασσόμενο με ίσο βάρος χρυσού έσοδο ήταν σεβαστό, αυστηρότατα μέτρα είχαν ληφθεί ώστε η εκτροφή μεταξοσκωλήκων να παραμείνει μυστικό των Κινέζων (Παπαναούμ, 1950).

Παρόλα αυτά, ένα μυστικό το οποίο το κατέχουν εκατομμύρια άνθρωποι δεν μπορεί να παραμείνει για πάντα ασφαλές. Έτσι φαίνεται πως εξαιτίας κάποιου πολέμου μεταξύ Κίνας και Ιαπωνίας και μέσω των αιχμαλώτων, έγινε γνωστή η τέχνη της σηροτροφίας στη χώρα του ανατέλλοντος ηλίου, όπου αναπτύχθηκε σε μεγάλο βαθμό και συνέχισε να εξασκείται από τότε επιμελώς (Μανιατάκης, 1900). Επιπλέον η τέχνη της σηροτροφίας αποκαλύφθηκε στην Κορέα γύρω στο 200 π.Χ., γύρω στο πρώτο μισό του 1^{ου} μ.Χ. αιώνα έφτασε στο Κοτάν (Khotan) και το 140 μ.Χ. πέρασε στην Ινδία (Hill, 2009).

Την εποχή του Βυζαντίου και συγκεκριμένα το 551 μ.Χ., δύο μοναχοί του Τάγματος του Αγίου Βασιλείου εισήγαγαν, σύμφωνα με την παράδοση, μεταξόσπορο και σπόρους μουριάς, από την Ασία στο Βυζάντιο, κρυφά μέσα στα κούφια τους μπαστούνια. Ασφαλώς δε θα μπορούσαν να φανταστούν ότι από το σπόρο αυτό θα ξεπετιόταν μια ολόκληρη επιστήμη η σηροτροφία, και πως ο ίδιος αυτός σπόρος θα αποτελούσε για τις επερχόμενες γενιές πηγή πλούτου και πολιτισμού (Μανιατάκης 1900; Εγκυκλοπαίδεια Χάρη Πάτση; Χαριζάνης & Τζίτζινάκης, 2011α, β).

Πράγματι, η σηροτροφία και η παραγωγή του μεταξιού διαδόθηκε από την Κωνσταντινούπολη σε ολόκληρη την Ελλάδα και ιδιαιτέρως στην Πελοπόννησο, απ' όπου πέρασε στη Νότια Ιταλία, Ισπανία, Πορτογαλία αλλά και στη Ρωσία, για να συνεχισθεί η διάδοσή της σε όλες σχεδόν τις

χώρες της Ευρώπης. Και απ' όπου και αν περνούσε έφερνε μαζί της πλούτο και πολιτισμό (Εγκυκλοπαίδεια Χάρη Πάτση; Σταμπολής, 1959).

1.3.4. Σηροτροφία, εμπόριο και πολιτισμός

Οι Κινέζοι εμπορεύονταν σε άλλους λαούς ακατέργαστη μέταξα και υφάσματα. Η πρώτη γνωστή σε μας απόδειξη εξαγωγής – εμπορίας μεταξιού από την Κίνα σε άλλη χώρα, είναι η ανακάλυψη μεταξιού στα μαλλιά μίας Αιγυπτιακής μούμιας της 21^{ης} Δυναστείας του 1070 π.Χ. (Lubec *et al.*, 1993).

Η μοναδική «μαγεία» του μεταξιού έχει αφήσει τα ίχνη της σε όλη την ιστορική διαδρομή και παρουσία του μέσα από το πέρασμα των αιώνων. Με την ανάπτυξη της βιομηχανίας και της εμπορίας του μεταξιού είναι άρρηκτα και ποικιλοτρόπως συνυφασμένες, κοινωνικές και θρησκευτικές παραδόσεις ολόκληρων πολιτισμών. Είναι το μοναδικό κλωστοϋφαντουργικό προϊόν το οποίο κατά την εποχή του ανταλλακτικού εμπορίου και του **«δρόμου του μεταξιού»** άξιζε το βάρος του σε χρυσό (Παπαναούμ, 1950; Ganga, 2003). Το εμπόριο της μέταξας καθιέρωσε τις πρώτες σχέσεις μεταξύ Ανατολής και Δύσης, ενώ τα πρώτα μεταξωτά υφάσματα φαίνεται ότι έφθασαν στην Ευρώπη κατά τον 3^ο ή 2^ο π.Χ. αιώνα και μάλλον από την Περσία ή δια μέσω αυτής, καθώς οι αρχαίοι Έλληνες την μέταξα την αποκαλούσαν «μηδικήν». Πιστεύεται ότι από τον 2^ο αιώνα π.Χ. οι Κινέζοι εγκαθίδρυσαν ένα εμπορικό δίκτυο με σκοπό την εξαγωγή μεταξιού στη Δύση (Μανιατάκης, 1900; Παπαναούμ, 1950).

Το εμπόριο του μεταξιού έφτασε μέχρι την Ινδία, τη Μέση Ανατολή, την Ευρώπη και τη Βόρεια Αφρική και ήταν τόσο εκτεταμένο ώστε οι βασικές εμπορικές οδοί μεταξύ Ασίας και Ευρώπης (Εικ. 1.7) έμειναν γνωστές μέχρι τις μέρες μας ως **«δρόμος του μεταξιού (Silk Road)»**.



Εικόνα 1.7: Οι κύριοι δρόμοι του μεταξιού μεταξύ 500π.Χ. και 500 μ.Χ.
Πηγή: http://en.wikipedia.org/wiki/History_of_silk

Το μετάξι, ως ύφασμα, ήταν γνωστό στους αρχαίους Έλληνες από τον 4ο π.Χ. αιώνα, χάρη στις εκστρατείες του Μεγάλου Αλεξάνδρου. Μεταξωτά υφάσματα φαίνεται ότι χρησιμοποιούνταν από το Πέρση Βασιλιά Δαρείο τον 3^ο και την αυλή του, όταν ο Μέγας Αλέξανδρος κατέκτησε την Περσική Αυτοκρατορία (Encyclopedia Encarta).

Την αρχαία εποχή το κινεζικό μετάξι ήταν το πλέον προσοδοφόρο και περιζήτητο εμπορεύσιμο είδος πολυτελείας σε όλη την Ευρασία και πολλοί πολιτισμοί της εποχής όπως οι αρχαίοι Πέρσες επωφελήθηκαν οικονομικά από το εμπόριό του (Garrthwaite, 2005).

1.4. Το μετάξι

1.4.1. Γενικά

Το μετάξι είναι μία, ζωικής προέλευσης, πρωτεϊνικής φύσης ινώδης ουσία, κάποιες μορφές της οποίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τον άνθρωπο για ύφανση (Sutherland *et al.*, 2010). Εκκρίνεται από ειδικούς αδένες που ονομάζονται μεταξογόνοι και μπορεί να εξυπηρετήσει ποικίλες φυσιολογικές διεργασίες, ανάλογα με ζωικό οργανισμό που το παράγει, όπως την εγκατάσταση βενθικών υδρόβιων οργανισμών στον πυθμένα της θάλασσας (π.χ. Μύδια), την παγίδευση θηραμάτων (π.χ. Αράχνες), την απόκρυψη («καμουφλάζ») και προστασία (π.χ. Λεπιδόπτερα) κ.ά. (Ganga, 2003). Τα ζώα που παράγουν μετάξι, στην πλειονότητά τους ανήκουν στις κλάσεις των Εντόμων και των Αραχνιδών (Foelix, 1996).

Παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση και την αναπαραγωγή πολλών ειδών εντόμων. Κατά κανόνα παράγεται από προνύμφες ολομετάβολων ειδών, κατά το στάδιο της μεταμόρφωσης από προνύμφη σε χρυσαλλίδα και από χρυσαλλίδα σε ενήλικο. Δεν αποκλείεται όμως και η παραγωγή μεταξιού στο στάδιο του ενηλίκου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι τα Εμβιόπτερα, τα οποία είναι ημιμετάβολα είδη που ζουν στο έδαφος ή κάτω από πέτρες, μέσα σε μετάξινες στοές που μπορούν να δημιουργήσουν, σε όλα τα αναπτυξιακά στάδια (Borror *et al.*, 1986). Η παραγωγή μεταξιού είναι επίσης συνήθης στα Υμενόπτερα (μέλισσες, σφήκες, μυρμήγκια) όπου πολλές φορές χρησιμοποιείται στην κατασκευή της φωλιάς (Ganga, 2003).

Οι πρωτεΐνες του μεταξιού συντίθενται στους μεταξογόνους αδένες και ημικρυσταλλώνονται καθώς μορφοποιούνται σε ίνες. Η κρυσταλλική σύσταση προσφέρει ασυνήθιστες μηχανικές ιδιότητες και σταθερότητα στο μετάξι (Sutherland *et al.*, 2005).

Τα γνωστά ζωικά είδη που παράγουν μετάξι είναι περίπου 400 – 500, εκ των οποίων πολύ λίγα είναι οικονομικά αξιοποιήσιμα από τον άνθρωπο (Ganga, 2003). Διαφορετικά είδη μεταξιού ενδέχεται να επιδεικνύουν ποικιλομορφία στη χημική σύσταση, στις φυσικές – μηχανικές ιδιότητες και στα ποιοτικά γνωρίσματα (Shi *et al.*, 2008; Sutherland *et al.*, 2010). Ο πλέον γνωστός τύπος μεταξιού παραλαμβάνεται από κουκούλια της προνύμφης του βόμβυκα της μουριάς ***B. mori*** (Sutherland *et al.*, 2010). Έτσι, όταν αναφέρουμε τη λέξη μετάξι χωρίς περαιτέρω προσδιορισμούς και επεξηγήσεις, νοείται ότι γίνεται αναφορά στο εν λόγω προϊόν ή «**mulberry silk**» όπως καλείται διεθνώς (Ganga, 2003).

Έρευνες έχουν γίνει σχετικά με άλλου τύπου μετάξια τα οποία διαφέρουν σε μοριακό επίπεδο. Διάφοροι τύποι μεταξιού προερχόμενοι από κάμπιες άλλων ειδών, οι οποίοι χαρακτηρίζονται συνήθως ως «**άγρια μετάξια (wild silks)**», είναι γνωστά και έχουν χρησιμοποιηθεί από την αρχαιότητα. Εντούτοις, η κλίμακα της παραγωγής τους ήταν πάντα πολύ χαμηλότερη από αυτή του «**καλλιεργούμενου**» μεταξιού (Bhanoo, 2011).

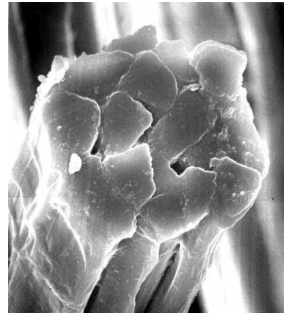
1.4.2. Ιδιότητες του μεταξιού

Το μετάξι αποτελεί μία υφαντική ίνα με εξαιρετικές ιδιότητες. Το πολύτιμο αυτό νήμα, το μοναδικό φυσικό συνεχές νήμα του οποίου το μήκος μπορεί να φτάσει μέχρι και τα 1.500 μέτρα χωρίς διακοπή, είναι ένα αγροτικό προϊόν υψηλής αξίας, λόγω της υπερέχουσας ποιότητάς του. Ήταν είναι και θα είναι σε όλες τις εποχές ένα κόσμημα, ενώ συχνά γίνεται αναφορά σε αυτό διεθνώς, με τον όρο «**η βασίλισσα των υφασμάτων**» (**Queen of textiles**) (Ganga, 2003). Οι πιο ελκυστικές από τις ιδιότητες του μεταξιού, των οποίων όμοιες δεν υφίστανται σε καμία άλλη φυσική ή τεχνητή ίνα, είναι η λάμψη και η υφή, οι οποίες οφείλονται στη συμφυή μοριακή δομή της μετάξινης ίνας (Currie, 1997; Xiang 2010).

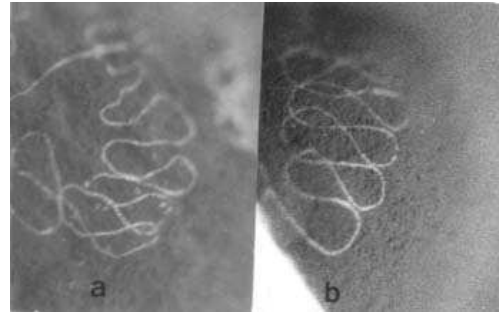
Είναι μια από τις πλέον, αν όχι η πιο πολύτιμη κλωστοϋφαντουργική ίνα. Κάθε είδος υφαντικής ίνας διαθέτει κάποια ιδιαίτερα γνωρίσματα αναφορικά με την άνεση, την ευκολία στη χρήση και τη φροντίδα, την αντοχή στο τσαλάκωμα και τη φθορά κλπ. Σε κάποια από αυτά τα τεχνικά χαρακτηριστικά, κάποιες άλλες ίνες μπορεί να αποδεικνύονται ανώτερες του μεταξιού, αλλά το μετάξι διαθέτει κάτι διαφορετικό. Σύμφωνα με τον Currie (1997), το μετάξι διαθέτει μεγαλοπρέπεια, λάμψη, στιλπνότητα και υφή τέτοια, που μόνο ως «**μαγική**» μπορεί να χαρακτηριστεί.

1.4.2.1. Χημικές ιδιότητες του μεταξιού

Οι κύριες συνιστώσες του μεταξιού που παράγεται από το μεταξοσκώληκα είναι οι πρωτεΐνες σερικίνη και φιβροΐνη. Το κλάσμα της φιβροΐνης αποτελεί το δομικού χαρακτήρα κεντρικό τμήμα της ίνας, ενώ το κλάσμα της σερικίνης παίζει το ρόλο του συνδετικού κολλώδους υλικού το οποίο περιβάλλει τη φιβροΐνη (**Εικ. 1.8**) (Sutherland *et al.*, 2010). Επίσης σε πολύ μικρό ποσοστό βρίσκονται στο μετάξι παράγοντες όπως λιπίδια, κηροί, χρωστικές ή μέταλλα (Lee, 1999; Aruga, 1994).



(α)

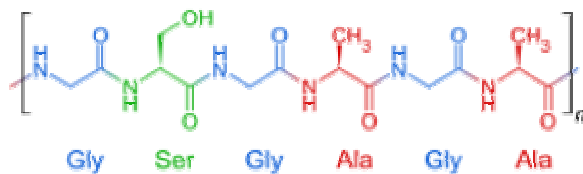


(β)

Εικόνα 1.8: (α) Εγκάρσια διατομή της ίνας του μεταξιού σε μεγέθυνση X 1.700
(β) Η οκτώσχημη πορεία της ίνας κατά την πλοκή του κουκουλιού

Πηγή: “Silk reeling & testing manual” Lee Y.W, 1999

Η φιβροΐνη αποτελείται από στοιβάδες αντιπαράλληλων β-πτυχωτών επιφανειών, η πρωτοταγής δομή των οποίων συνίσταται από την επαναλαμβανόμενη αλληλουχία των αμινοξέων **(Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala)*n*** (Εικ. 1.9). Δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται μεταξύ των αλυσίδων και πλευρικές αλυσίδες σχηματίζονται πάνω και κάτω από το δίκτυο των υδρογονικών δεσμών (Sutherland *et al.*, 2010; Xiang 2010).



Εικόνα 1.9: Η πρωτοταγής δομή της φιβροΐνης

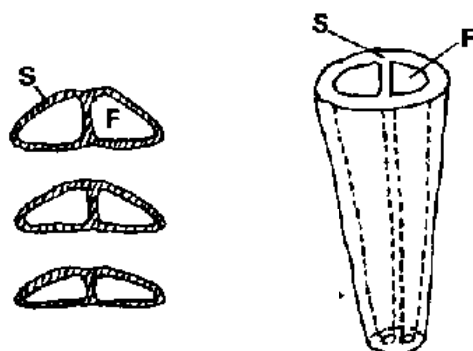
Το μετάξι είναι ανθεκτικό στα περισσότερα ανόργανα οξέα εκτός από το θεικό οξύ στο οποίο διαλύεται, ενώ κατά τη χρήση του μπορεί να κιτρινίσει με την εφίδρωση (Σταμπολής, 1959).

1.4.2.2. Φυσικές ιδιότητες του μεταξιού

Η γλυκίνη (Gly) είναι μικρού μοριακού βάρους και μεγέθους αμινοξυ. Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με την σε υψηλή αναλογία συμμετοχή της στη σύσταση της φιβροΐνης επιτρέπει τη στενή επιστοίβαση των β-επιφανειών, κάνοντας τις ίνες ισχυρές και ανθεκτικές στη θραύση. Επιπλέον, η υψηλή αντοχή εφελκισμού που παρατηρείται οφείλεται στο μεγάλο πλήθος διάσπαρτων δεσμών υδρογόνου. Το χαρακτηριστικό αυτό προσδίδει την ιδιότητα στο υλικό, όταν του ασκείται

τάση αυτή να καταμερίζεται στους πολυάριθμους υδρογονικούς δεσμούς, καθιστώντας τη θραύση τους δύσκολη. Ο συνδυασμός σταθερότητας και ανθεκτικότητας το καθιστούν ένα υλικό με εφαρμογές σε ποικίλους τομείς πέραν της κατασκευής υφασμάτων, όπως στην ιατρική για κατασκευή χειρουργικών ραμμάτων (Holander, 1994; Moy et al., 1991), την κατασκευή βιοϊατρικών υλικών με εφαρμογή σε κλινικές επιδιορθώσεις και in vitro χρήση τους ως στηρικτικό υπόστρωμα σε ιστοκαλλιέργειες (Minoura et al., 1995), ή σε στρατιωτικές εφαρμογές στην κατασκευή υλικών θωράκισης (Beard, 1992; BBC News, 1999)

Οι ίνες του μεταξιού αποτελούν περίπου το 30% του όγκου του κουκουλιού του μεταξοσκώληκα, ενώ το υπόλοιπο 70% είναι αέρας (Aruga, 1994). Εκκρίνονται ταυτόχρονα από δύο μεταξογόνους αδένες, σχηματίζοντας ένα ζεύγος στοιχειωδών ινών οι οποίες προσκολλώνται μεταξύ τους με τη βοήθεια της σερικίνης. Έχουν τριγωνική διατομή με αποστρογγυλεμένες γωνίες και πλάτος 5-10 μm (**εικ. 1.10**)



Εικόνα 1.10: Τριγωνική διατομή της μετάξινης ίνας

S: σερικίνη, **F:** φιβροΐνη

Πηγή: “Silk reeling & testing manual”. Lee Y.W., 1999

Η λαμπερή εμφάνιση του μεταξιού οφείλεται στην τριγωνική-πρισμοειδή δομή της μετάξινης ίνας, χάρη στην οποία τα μεταξωτά υφάσματα διαθλούν το προσπίπτον φως σε διάφορες κατευθύνσεις, δημιουργώντας με τον τρόπο ποικίλους ιριδισμούς και χρωματικούς τόνους, ανάλογα με τη γωνία θέασης του υλικού. Όπως έχει ήδη αναφερθεί το πρωτεϊνικό κλάσμα της φιβροΐνης συντίθεται κυρίως από επαναλαμβανόμενες αλυσίδες αμινοξέων με δομή β-πτυχωτής επιφάνειας. Η επίπεδη επιφάνεια των ινιδίων αντανακλά το φως σε

πολλές γωνίες προσδίδοντας στο μετάξι φυσική λάμψη (Karlan et al., 1991; Xiang, 2010; Sutherland *et al.*, 2010).

Το μετάξι είναι ελαστικό, μονωτικό και ευέλικτο, θεωρείται η πιο φίνα και μαλακή από τις φυσικές υφαντικές ίνες. Είναι υγροσκοπικό και δυσθερμαγωγό, συγκρατώντας υγρασία μέχρι και 11% σε κανονικές συνθήκες, ενώ όταν η σχετική υγρασία φτάνει στο 100%, αυξάνεται η απορροφητική του ικανότητα μέχρι και 35%, καθώς το νερό απορροφάται από όλη τη μάζα της ίνας, με ταυτόχρονη διόγκωση της. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην εμφανίζεται εύκολα υγρασία, στο μεταξωτό ύφασμα. Επιπλέον, οι υγροσκοπικές του ιδιότητες το καθιστούν ικανό να απορροφά τον ιδρώτα από το δέρμα και να επιτρέπει στη συνέχεια την εξάτμισή του ανάμεσα από τις ίνες του (Karlan et al., 1991; Ganga, 2003; Xiang, 2010; Χαριζάνης & Τζιτζινάκης, 2011α).

Οι ιδιότητες και ο τρόπος ύφανσης του μεταξιού κάνουν σχεδόν αδύνατη τη συγκράτηση των αλλεργιογόνων ουσιών και των ακάρεων της σκόνης και την ανάπτυξη μυκήτων, κάνοντάς το τέλειο υλικό για χρήση από άτομα με ευαίσθησιες στους παραπάνω παράγοντες. Παράλληλα, τα μεταξωτά υφάσματα διατηρούν σχεδόν σταθερή τη θερμοκρασία του σώματος, με αποτέλεσμα να είναι ζεστά το χειμώνα και δροσερά το καλοκαίρι (Karlan et al., 1991; Xiang, 2010)

1.4.3 Το μετάξι στο χώρο διεθνούς εμπορίου

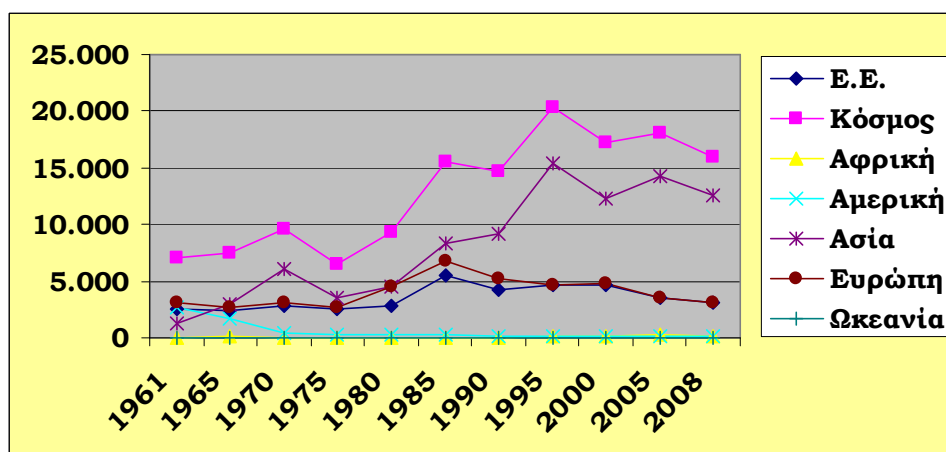
1.4.3.1. Το μετάξι στον κόσμο

Το ποσοστό που κατείχε το μετάξι στο σύνολο της παγκόσμιας παραγωγής υφαντουργικών ινών, ήταν ανέκαθεν μικρό. Προπολεμικά αντιπροσώπευε το 0,5 % της όλης παραγωγής, ενώ κατά τη διάρκεια του 2^{ου} Παγκοσμίου πολέμου κατέβηκε και μέχρι του 0,16 – 0,18 %, ποσοστό το οποίο κατέχει και σήμερα, από την άποψη του όγκου. Από την άποψη της οικονομικής αξίας, η εικόνα είναι σαφώς διαφορετική, λόγω της υψηλής τιμής που απολαμβάνει το ποιοτικό προϊόν, στις διεθνείς αγορές (Currie, 1997).

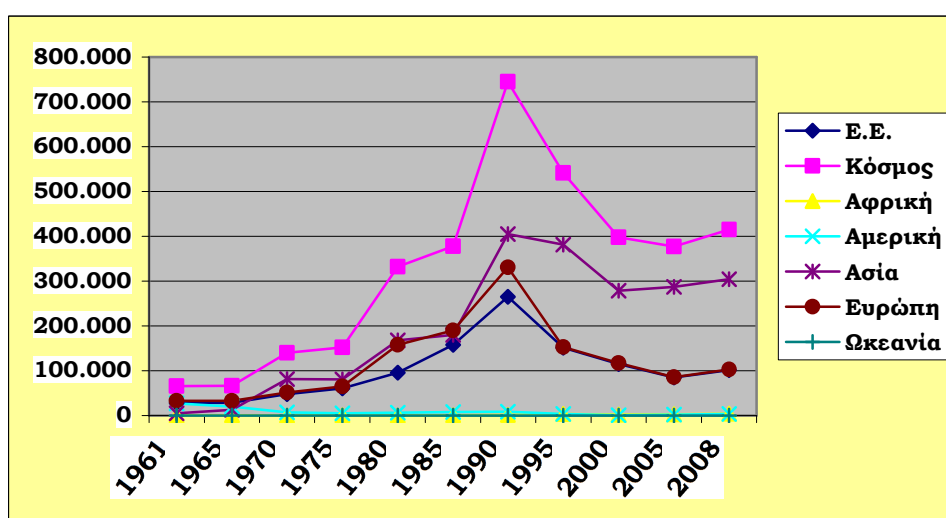
Από το 1961 μέχρι και το 2008 οι εισαγωγές ακατέργαστης μέταξας παγκοσμίως είχαν σχεδόν διπλασιαστεί αυξανόμενες από 7.000

σε περίπου 15.000 τόνους, με υπερπολλαπλάσια αύξηση της αξίας των παγκόσμιων εισαγωγών από περίπου 65,5 εκατομμύρια δολάρια σε 424,3 εκατομμύρια δολάρια (Τζιτζινάκης & Περδικάρης, 2008) (**Διαγρ. 1.1, 1.2** <http://faostat.fao.org/>).

Αντίστοιχη είναι και η τάση αύξησης που παρατηρείται για την ευρωπαϊκή αγορά ακατέργαστης μέταξας. Έτσι οι εισαγωγές στην Ευρώπη από περίπου **3.000** τόνους που ήταν το 1961, έχουν αυξηθεί σε περίπου **5.000** τόνους (1/3 των παγκόσμιων εισαγωγών), ενώ οι αντίστοιχοι αριθμοί για την αξία των εισαγωγών από περίπου 3 εκατομμύρια δολάρια που ήταν το 1961 ανήλθαν το 2008 σε περίπου 162 εκατομμύρια δολάρια (<http://faostat.fao.org/>).



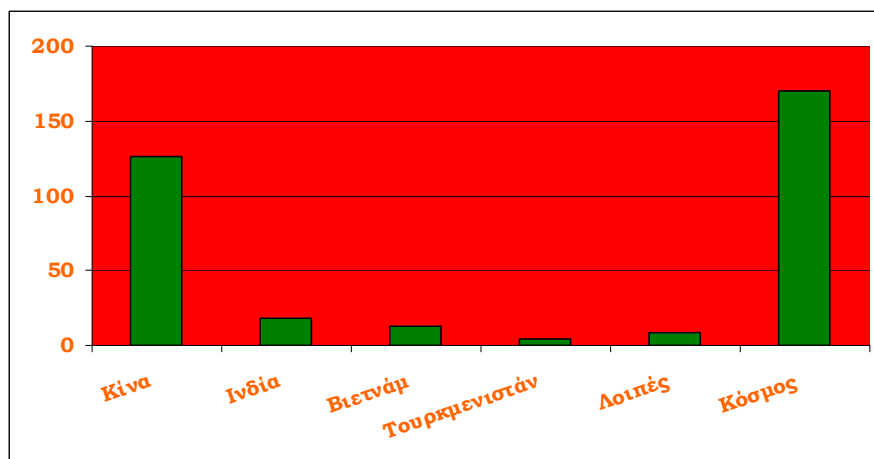
Διάγραμμα 1.1: Εισαγωγές ακατέργαστης μέταξας 1961- 2008 (τόννοι)
 Πηγή δεδομένων: <http://faostat.fao.org/>



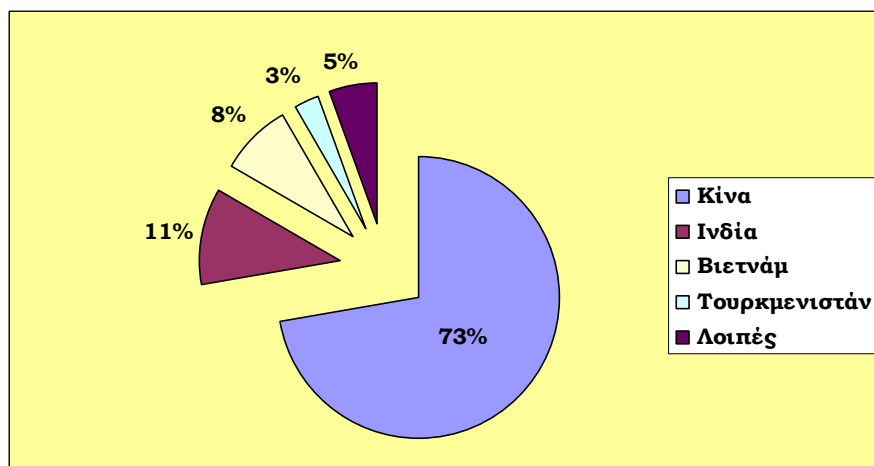
Διάγραμμα 1.2: Αξία εισαγωγών ακατέργαστης μέταξας 1961- 2008 σε χιλιάδες δολάρια.
 Πηγή δεδομένων <http://faostat.fao.org>

Σήμερα υπάρχουν πάνω από 30 μεταξοπαραγωγές χώρες στον κόσμο. Η παγκόσμια παραγωγή ακατέργαστης μέταξας σύμφωνα με στοιχεία του FAO, ανήλθε το 2008 σε περίπου 155.000 τόνους. Το μεγαλύτερο μέρος της παγκόσμιας παραγωγής προέρχεται από την Κίνα πλησιάζοντας τους 112.000 τόνους, με εξαγωγές που φτάνουν τους 11.000 τόνους, με δεύτερη παραγωγό χώρα την Ινδία η οποία με ύψος παραγωγής 17.500 τόνους απορροφά σε μεγάλο ποσοστό στη δική της βιομηχανία, το μετάξι που παράγει. Άλλες χώρες με σημαντική παραγωγή είναι το Βιετνάμ με 13.000 τόνους, το Τουρκμενιστάν με 4.500 τόνους και ακολουθούν άλλα κράτη με μικρότερη δυναμικότητα (**Διαγρ. 1.3, 1.4**) (Ganga, 2003).

Στην πλειοψηφία των παραγωγών χωρών γίνεται ταυτόχρονα σημαντική χρήση, αλλά και εισαγωγές ακατέργαστης μέταξας. Η κυριότερη εξαγωγική χώρα είναι η Κίνα η οποία εξάγει περίπου το 90 % της ποσότητας μεταξιού που διακινείται σχεδόν σε όλο τον κόσμο, σε Ευρώπη, Ιαπωνία, Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής κ.ά (Currie, 1997).



Διάγραμμα 1.3: Παγκόσμια παραγωγή ακατέργαστης μέταξας (2008)
Πηγή δεδομένων: <http://faostat.fao.org>



Διάγραμμα 1.4: Μερίδιο στην παγκόσμια παραγωγή ακατέργαστης μέταξας (2008)

Πηγή δεδομένων: <http://faostat.fao.org>

Τα τελευταία χρόνια η Σηροτροφία τείνει να εξαφανίζεται από τις βιομηχανικά ανεπτυγμένες ή αναπτυσσόμενες χώρες, λόγω της αύξησης του εργατικού κόστους, δεδομένου ότι η παραγωγή μέταξας με τον παραδοσιακό τρόπο είναι υψηλής χειρωνακτικής απασχόλησης. Έτσι έχει σχεδόν εγκαταλειφθεί στην Ευρώπη, από χώρες που παλιότερα παρήγαγαν μετάξι (Γαλλία, Ισπανία, Ιταλία), ενώ ακολουθούν η Ιαπωνία και η Κορέα. Το ίδιο συνέβη σε μεγάλο βαθμό και στη χώρα μας, από τη στιγμή που άρχισε να ανεβαίνει το βιοτικό επίπεδο (Currie, 1997; Ganga, 2003; Tzitzinakis *et al.*, 2008).

Παρόμοια εξέλιξη φαίνεται ότι παρατηρείται ακόμα και στην Κίνα, όπου οι κατά παράδοση παραγωγικές περιοχές της χώρας που ήταν συνήθως τα παράλια, μετατρέπονται με ταχείς ρυθμούς σε βιομηχανικές. Έτσι οι περιοχές παραγωγής μεταξιού στην Κίνα συρρικνώνονται μετατοπιζόμενες προς το εσωτερικό της χώρας, χωρίς να αποκλείεται στο μέλλον να έχουμε αισθητή μείωση της παραγωγής και κατ' επέκταση αύξηση της ζήτησης και της τιμής του προϊόντος στη διεθνή αγορά, (Currie, 1997; Ganga, 2003).

1.4.3.2. Το μετάξι στην Ευρώπη και την Ελλάδα

Στη χώρα μας η σηροτροφία συνεχίζει να υφίσταται ως αγροτική δραστηριότητα. Τα τελευταία χρόνια έχουν παρατηρηθεί ανοδικές τάσεις

στην παραγωγή κουκουλιών και υπάρχει έντονο ενδιαφέρον σε νέες περιοχές όπως οι Σέρρες, η Καβάλα, η Βοιωτία και η Εύβοια, στις οποίες έχουν γίνει σημαντικές επενδύσεις, χάριν κυρίως στις Κοινοτικές ενισχύσεις. Εντούτοις, αυτό που παρατηρείται σήμερα σε σχέση με την παραγωγή μεταξιού στην Ελλάδα είναι μία στασιμότητα, σχεδόν σε μηδενικά επίπεδα, αφού τα κουκούλια που παράγονται δεν αξιοποιούνται (Tzitzinakis *et al.*, 2008; Τζιτζινάκης & Περδικάρης 2008).

Η εμπορευματοποίηση των κουκουλιών, η αξιοποίηση τους και η παραγωγή ελληνικού μεταξιού πρέπει να είναι πλέον οι κύριοι στόχοι, καθώς ένα προϊόν χωρίς εμπορική αξία είναι καταδικασμένο να εξαφανιστεί. Είναι ζητούμενο για ένα από τα αρχαιότερα νήματα και οπωσδήποτε το πιο γοητευτικό, να αρχίσει να χρησιμοποιεί νέες τεχνικές εμπορίας και προώθησης για να υπενθυμίσει και να διδάξει τον κόσμο όλα όσα έχει να του προσφέρει (Currie, 1997).

Η μεγαλύτερη δυσκολία που καλείται να αντιμετωπίσει η ευρωπαϊκή και ελληνική σηροτροφία είναι οι χαμηλές τιμές των μεταξωτών προϊόντων και του μετάξινου νήματος που εισάγονται από τις ασιατικές χώρες και κυρίως την Κίνα, εξαιτίας του χαμηλού κόστους εργασίας που παρέχεται στις χώρες αυτές. Η πραγματικότητα αυτή μπορεί να αντισταθμιστεί με τη βελτίωση της ποιότητας των ευρωπαϊκής προέλευσης μεταξωτών προϊόντων, όπως επιβάλουν οι ανάγκες της βιομηχανίας του υφάσματος και της υψηλής ραπτικής. Σε αυτή την κατεύθυνση μπορεί να φανεί πολύ χρήσιμη η εκμετάλλευση και αξιοποίηση προσαρμοσμένων και βελτιωμένων πληθυσμών μεταξοσκωλήκων και η χρήση υβριδίων αποδοτικών, όχι μόνο ποσοτικά αλλά κυρίως ποιοτικά (Tzitzinakis *et al.*, 2008; Νομαρχία Λέσβου, 2001; Νομαρχία Έβρου 2004, 2005; Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 2005, 2006α, 2006β, 2006γ, 2006δ) .

Πρόσφατα παρουσιάστηκε ενδιαφέρον και διαφάνηκε η διάθεση αναβίωσης της παραγωγής ελληνικού μεταξόπορου για εμπορικούς σκοπούς, δραστηριότητα η οποία είχε εγκαταλειφθεί για πολλά χρόνια. Η ανάγκη παραγωγής ντόπιου πολλαπλασιαστικού υλικού προέκυψε ύστερα από τα έντονα προβλήματα που εντοπίστηκαν, σε σχέση με την

προσαρμοστικότητα των εισαγόμενων υβριδίων, σε συνδυασμό με τις διοικητικές δυσκολίες κατά την διαδικασία εισαγωγής. Το ελληνικό υβρίδιο **X1 x K1** που διατέθηκε προς χρήση σε Έλληνες σηροτρόφους από το 2004 μέχρι και το 2006, είχε νωρίτερα δοκιμαστεί και είχε επιδείξει αξιοσημείωτα χαρακτηριστικά και προσαρμοστικότητα στις ελληνικές συνθήκες εκτροφής. Επιπλέον, κατά τις σηροτροφικές περιόδους που έγινε χρήση του υβριδίου από παραγωγούς, οι τελευταίοι στην πλειονότητά τους, έμειναν πολύ ικανοποιημένοι από το ύψος της παραγωγής, την ανθεκτικότητα σε ασθένειες και την προσαρμογή του στις κλιματικές συνθήκες της Ελλάδας (Νομαρχία Λέσβου 2001; Νομαρχία Έβρου 2004, 2005; Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 2005, 2006α, 2006β, 2006γ, 2006δ Tzitzinakis *et al.*, 2008).

1.5. Προώθηση–στήριξη του κλάδου της σηροτροφίας

1.5.1. Γενικά

Υπάρχουν εκείνοι που υποστηρίζουν ότι το μετάξι δε χρειάζεται προώθηση, ότι είναι καλά γνωστό για την υπόστασή του και ότι δεν είναι πράγματι σε σύγκρουση με άλλες ίνες, τεχνητές και συνθετικές. Αλλά στο δικό του ειδικό τμήμα της αγοράς, το μετάξι αντιμετωπίζει αρκετό ανταγωνισμό, αν όχι από τις συνθετικές ίνες, από άλλα πολυτελή προϊόντα. Ο πραγματικός ανταγωνισμός για το μετάξι προέρχεται από αρώματα, κοσμήματα, δερμάτινα είδη, γούνες κλπ., προϊόντα τα οποία όλα απευθύνονται και ανταγωνίζονται μεταξύ τους, με στόχο το ίδιο καταναλωτικό κοινό. Αν ο χρυσός, τα διαμάντια, τα δερμάτινα, οι γούνες, κάνουν αισθητή την παρουσία τους, δεν υπάρχει λόγος να απουσιάζει το μετάξι από αυτό τον αγώνα (Currie, 1997; Ganga, 2003).

Πέρα όμως από την προσέγγισή του ως είδος πολυτελείας, το μεταξωτό ύφασμα μπορεί να χαρακτηριστεί ως ένα προϊόν το οποίο προστατεύει την υγεία του χρήστη του από παράγοντες όπως τα ακάρεα, οι μύκητες και η υγρασία, χάρη στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και ιδιότητές του που ήδη αναφέρθηκαν, ενώ ταυτόχρονα χαρίζει ευεξία (Kaplan *et al.*, 1991; Ganga, 2003).

Η Ελλάδα διαθέτει πολλές από τις συνθήκες που μπορούν να οδηγήσουν σε μια εκ νέου άνθηση της σηροτροφίας, κάτι που και στο παρελθόν έχει συμβεί, αφού αποτέλεσε μια από τις ισχυρότερες δυνάμεις του κλάδου παγκοσμίως, έχοντας υπάρξει αυτάρκης στην παραγωγή μεταξιού και μεταξόσπορου, αλλά και ικανή να εξάγει σημαντικές ποσότητες. Σύμφωνα με στοιχεία του F.A.O., φαίνεται ότι μέχρι και τις αρχές της δεκαετίας του '80 πραγματοποιούνταν εξαγωγές ακατέργαστης μέταξας (<http://faostat.fao.org/>).

Λαμβάνοντας υπόψη δεδομένα που προέρχονται από τη εποχή της ακμής της σηροτροφίας στην Ελλάδα, φαίνεται σαφώς ότι υπάρχουν όλες οι προϋποθέσεις ώστε στη χώρα μας να γίνει δυνατή η παραγωγή αξιόλογων ποσοτήτων μεταξιού, με πολύ υψηλά επίπεδα ποιότητας του παραγόμενου προϊόντος (Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 1965), το οποίο θα έχει τη δυνατότητα εκμεταλλευόμενο την ποιοτική του υπεροχή να ανταγωνιστεί δυναμικά τα οικονομικότερα προϊόντα μεταξιού, που εισάγονται στη χώρα μας και στην Ευρωπαϊκή Ένωση από ασιατικές κυρίως, ανταγωνιστικές χώρες.

1.5.2. Θεσμικά μέτρα στήριξης του κλάδου

Θα ήταν χρήσιμο να γίνει αναφορά στα θεσμικά μέτρα που έχουν βοηθήσει τη σηροτροφία να διατηρηθεί ως αγροτική δραστηριότητα στην Ελλάδα και να παρουσιάζει σημεία ανάκαμψης τα τελευταία χρόνια.

Με δεδομένη την ελλειμματικότητα της η Ευρωπαϊκή Ένωση φαίνεται αποφασισμένη να συνεχίσει να προωθεί με ισχυρά οικονομικά κίνητρα την ανάπτυξη της σηροτροφίας και της παραγωγής προϊόντων μεταξιού στους κόλπους της. Έτσι, έχει θεσπίσει τη χορήγηση ενίσχυσης ύψους **133,26 Ευρώ** ανά κουτί εκτρεφόμενου μετραξόσπορου των 20.000 αυγών, με την προϋπόθεση ότι θα παραχθούν 20 κιλά χλωρά κουκούλια ανά κουτί. Το συγκεκριμένο μέτρο ισχύει, με διάφορες τροποποιήσεις από το 1972 (**Καν. ΕΟΚ 845/1972**) και φαίνεται ότι θα συνεχίσει να ισχύει και στο μέλλον, καθώς πρόσφατα ενσωματώθηκε στον Κοινοτικό Κανονισμό σχετικά με την «**Κοινή Οργάνωση Αγοράς**» (**Καν. Ε.Κ. 1234/2007**).

Δεν είναι τυχαίο ότι στο σκεπτικό του εν λόγω κανονισμού αναφέρεται ότι: **«Η εκτροφή μεταξοσκωλήκων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην οικονομία ορισμένων περιοχών της Κοινότητας. Η δραστηριότητα αυτή αποτελεί πηγή συμπληρωματικών εισοδημάτων για τους γεωργούς των περιοχών αυτών. Επομένως θα πρέπει να υιοθετηθούν μέτρα τα οποία να συμβάλλουν στην εξασφάλιση δικαίου εισοδήματος στους εκτροφείς μεταξοσκωλήκων»**

Επιπλέον, πολλοί σηροτρόφοι έχουν κάνει χρήση του μέτρου περί **«Δάσωσης Γεωργικών Εκτάσεων»** του 4^{ου} Άξονα του Επιχειρησιακού Προγράμματος Αγροτικής Ανάπτυξης και Ανασυγκρότησης της Υπαιθρου 2000 – 2006, λαμβάνοντας:

- ενίσχυση για την κάλυψη των δαπανών δάσωσης
- ετήσια προμοδότηση για την κάλυψη των δαπανών συντήρησης των εκτάσεων που δασώθηκαν, για τα πέντε πρώτα χρόνια μετά την φύτευση.
- ετήσια προμοδότηση η οποία αντισταθμίζει την απώλεια εισοδήματος από τη δάσωση των γεωργικών εκτάσεων, για χρονικό διάστημα έως 20 χρόνια.

Το συγκεκριμένο μέτρο εφαρμόζεται και κατά την τρέχουσα προγραμματική περίοδο στο πλαίσιο του Προγράμματος Αγροτικής Ανάπτυξης 2007 – 2013.

Κάθε χρόνο το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων μεριμνά για την προμήθεια του απαραίτητου για της εκτροφές μεταξόσπορου, τον οποίο ελέγχει για την ποιότητά του.

Με την έκδοση του Κοινοτικού Κανονισμού 223/2008 (**Καν. Ε.Κ. 223/2008**), είναι πλέον δυνατή στη χώρα μας η δημιουργία **«Οργανώσεων Παραγωγών Σηροτρόφων»**, αφού σύμφωνα με τους όρους που τίθενται, οι εν λόγω ομάδες μπορούν να αποτελούνται από 50 μέλη με την προϋπόθεση ότι εκτρέφουν τουλάχιστον 2.500 κουτιά, αντί των 500 μελών που ίσχυε στον παλιότερο Κανονισμό.

Πέρα όμως από τα όποια μέτρα έχουν ληφθεί και όποια συνεχίσουν να ισχύουν και στο μέλλον για τη στήριξη του τομέα, το όλο ζήτημα της επιχειρηματικής σηροτροφίας πρέπει να αξιολογείται με

γνώμονα την εξασφάλιση ενός ικανοποιητικού εισοδήματος για τους παραγωγούς, ανεξάρτητα από τη λήψη ενισχύσεων ή επιδοτήσεων.

1.6. Γενετικό υλικό του *B. mori*

1.6.1. Γενικά

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο Μεταξοσκώληκας της μουριάς (*B. mori*) αποτελεί τη βάση της σηροτροφικής βιομηχανίας. Έχει μεγάλη οικονομική αξία και ιδιαίτερη σημασία ως παραγωγικό είδος. Η διάκριση και συγκέντρωση γενετικών πληροφοριών από διάφορους πληθυσμούς του είδους, είναι θεμελιώδεις για την πρακτική αξιοποίηση και διατήρησή τους (Xu et al., 2011).

Εκτός από τη χρήση του ως παραγωγικό και αγροτικού ενδιαφέροντος έντομο, χρησιμοποιείται επίσης για την παραγωγή ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών (Tamura et al., 2000; Tomita et al., 2003), ενώ είναι πολύτιμο εργαλείο βασικής έρευνας στη μικροβιολογία, τη φυσιολογία και τη γενετική. Η εκτροφή του είναι εύκολη και ακίνδυνη, μπορεί να δώσει πολλές γενεές ανά έτος και είναι δυνατόν να παράγει μεγάλο αριθμό μεταλλάξεων. Έτσι, μετά τη δροσόφιλα, είναι ο οργανισμός που χρησιμοποιείται περισσότερο στις μελέτες της γενετικής των εντόμων. Επιπροσθέτως είναι ιδανικός οργανισμός πρότυπο, για τη μελέτη των Λεπιδόπτερων (Wills et al., 1995; Xu et al., 2011).

Σήμερα, πληθώρα γενετικών στελεχών του είδους διατηρούνται σε Ευρώπη και Ασία. Στα στελέχη αυτά εμπεριέχεται ένα ευρύ φάσμα ανεξάρτητων μεταξύ τους μεταλλάξεων. Επιπλέον, τα παραπάνω στελέχη θεωρούνται σημαντικοί ερευνητικοί και βιομηχανικοί πόροι, καθώς και «**βιο – εργοστάσια (bio-factories)**» χρήσιμα για την μαζική παραγωγή καθαρών πρωτεϊνών, την ανάλυση γονιδιωμάτων, την ανάπτυξη δοκιμών ελέγχου και ανίχνευσης γενετικά τροποποιημένων οργανισμών κλπ. (Ahn et al., 2002; Ryu et al., 2003).

1.6.2. Η διατήρηση των γενετικών πόρων του *B. mori*

Η βιώσιμη ανάπτυξη της σηροτροφίας, η σταδιακή ποσοτική αύξηση της παραγωγικότητας και η βελτίωση της ποιότητας του προϊόντος, προϋποθέτουν συνεχή αξιοποίηση, εξέλιξη και βελτίωση των

εκτρεφομένων πληθυσμών μεταξοσκωλήκων, μέσα από προγραμματισμένη και αποτελεσματική εκμετάλλευση της υπάρχουσας γενετικής ποικιλότητας του είδους (Chen, 2002).

Η βελτίωση της αγροτικής παραγωγής γενικά, έχει παρουσιάσει μεγάλη πρόοδο μετά τη θεσμοθέτηση της Διεθνούς Επιτροπής για τα Φυτικά Γενετικά Αποθέματα (**International Board for Plant Genetic Resources - IBPGR**) το 1974 και την εφαρμογή προγραμμάτων συγκέντρωσης ποικίλων γενετικών αποθεμάτων από άγριους πληθυσμούς, καλλιεργούμενες ποικιλίες, ή γεωγραφικά απομονωμένους πληθυσμούς. Αναφορικά με τη σηροτροφία, δεν παρατηρείται παρόμοια ανταλλαγή πληροφοριών και συνεργασία μεταξύ των χωρών στις οποίες ασκείται, είτε ερευνητικά είτε σε επίπεδο παραγωγής, καθώς το γενετικό υλικό του μεταξοσκώληκα θεωρείται αποκλειστική περιουσία του κράτους που το διαθέτει και υπάρχουν αυστηροί κανόνες και μυστικότητα κατά τη διακίνησή του (Chen, 2002). Εντούτοις, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται μια τάση μεταστροφής της κατάστασης, με αύξηση της ποσότητας της γνώσης και της πληροφορίας που διακινείται και διαχέεται και της συνεργασίας μεταξύ χωρών ειδικά μεταξύ Κίνας και Ιαπωνίας (Thangavelu, 2002).

Στις μέρες μας εμφανίζονται πολύ συχνά και σε παγκόσμια κλίμακα επιβλαβείς, από οικολογικής άποψης συνθήκες, εξαιτίας των οποίων παρεμποδίζεται η επιπρόσθετη εισαγωγή και αξιοποίηση φυσικών πόρων, ως ενδεχόμενο υλικό για τον εμπλουτισμό της παγκόσμιας φυσικής γενετικής δεξαμενής και κατ' επέκταση της παγκόσμιας γενετικής ποικιλότητας. Το γεγονός αυτό καθιστά πολύ σημαντικές τις προσπάθειες για διατήρηση των διαθέσιμων σήμερα φυσικών πόρων, χωρίς περαιτέρω απώλειες. Υπ' αυτό το πρίσμα, ο μεταξοσκώληκας (***B. mori***), αποτελεί έναν από τους πλέον σημαντικούς φυσικούς γενετικούς πόρους, με μεγάλη οικονομική αξία όπως έχει ήδη αναφερθεί.

1.6.2.1. Τράπεζες γενετικού υλικού του *B. mori*

Η ύπαρξη γενετικών τραπεζών του μεταξοσκώληκα είναι θεμελιώδους σημασίας, καθώς αποτελούν αποθέματα βιοποικιλότητας

και πηγές αλληλομόρφων τα οποία μπορούν εύκολα να ανακτηθούν με σκοπό την ενίσχυση, από γενετικής άποψης, διαδεδομένων φυλών. (Jingade *et al.*, 2011).

Λαμβάνοντας υπόψη τη μεγάλη οικονομική σημασία του είδους, χώρες με παράδοση και πρωτεύοντα ρόλο στην παγκόσμια παραγωγή μεταξιού όπως η Κίνα, η Ιαπωνία, η Ρωσία, η Κορέα κ. ά. έχουν συλλέξει, επιλέξει και διατηρούν έναν αριθμό πληθυσμών κατάλληλων και προσαρμοσμένων σε ένα ευρύ φάσμα αγρο-κλιματικών συνθηκών . Η διαδικασία της διαφύλαξης και διατήρησης των γενετικών πόρων αυτών των στελεχών, καθιστά αναγκαία τη φυσική απόκτηση και κατοχή τους. Εξίσου σημαντική είναι η εξασφάλιση της διατήρησης των πρωτότυπων γενετικών χαρακτηριστικών, έτσι ώστε τα σπάνια ενδημικά γενετικά στελέχη να διαφυλάσσονται από την εξαφάνιση (Jingade *et al.*, 2011).

Τα διαθέσιμα γενετικά στελέχη του είδους **B. mori** τα οποία ξεπερνούν τα 4.000 (Nagaraju 2002; Kumaresan *et al.*, 2004a, 2004b; Jingade *et al.*, 2011) έχουν διατηρηθεί σε συνθήκες **ex situ**, ακολουθώντας μια μακροχρόνια διαδικασία διαδοχικών ομοζυγωτικών συζεύξεων και επιλογή. Συνεπώς, αυτά τα στελέχη έχουν πιθανότητα υποστεί πληθώρα εξελικτικών διαφοροποιήσεων, μέσω των επιτελούμενων μεταλλάξεων, οι οποίες μπορεί να είναι αποτέλεσμα είτε φυσικής, είτε μη φυσικής επιλογής. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται ευρεία γενετική ποικιλομορφία μεταξύ των γενετικών στελεχών. Όμως η εν λόγω ποικιλότητα καθίσταται περισσότερο ομοζυγωτή όταν αφορά το ίδιο γενετικό στέλεχος. Αυτή η επαναλαμβανόμενη ομομικτική διαδικασία σε κάθε γεωγραφικό γενετικό στέλεχος, έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια πολύτιμων γονιδίων μέσω του ομομικτικού υποβιβασμού. Γίνεται λοιπόν επιτακτική η ανάγκη περιορισμού του φαινομένου αυτού που μπορεί να χαρακτηριστεί ως γενετική διάβρωση, και που οφείλεται, όπως θα αναφερθεί παρακάτω, στην υπερβολική ομομιξία που συντελείται με σκοπό τη διατήρηση των γενετικών πόρων (Jingade *et al.*, 2011).

Όλα τα ενδεδειγμένα μέτρα πρέπει να ληφθούν για τη διατήρηση της αυθεντικότητας των φυλών του είδους, καθώς οι τράπεζες γενετικού

υλικού αποτελούν δεξαμενές γονιδίων οι οποίες περιλαμβάνουν τοπικές απομονωμένες φυλές, γενετικά αποθέματα, και στελέχη που έχουν συλλεχθεί από γηγενείς και εξωτικές περιοχές (Jingade *et al.*, 2011).

1.6.2.1.1. Γενετική ποικιλότητα στο *B. mori*

Ως γενετική ποικιλότητα ορίζεται η γενετική ποικιλομορφία που παρατηρείται εντός των ειδών, τόσο μεταξύ γεωγραφικά απομονωμένων πληθυσμών, όσο και μεταξύ ατόμων εντός του ίδιου πληθυσμού. Ο ρυθμός εξελικτικής διαφοροποίησης σε έναν πληθυσμό είναι ανάλογος με το μέγεθος της γενετικής ποικιλότητας που παρατηρείται σε αυτόν (Fisher, 1930). Μειώνοντας τη γενετική ποικιλότητα αυξάνεται ο κίνδυνος εξαφάνισης ενός πληθυσμού, λόγω της μείωσης της δυνατότητας προσαρμογής (Jingade *et al.*, 2011). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η κατάρρευση της ευρωπαϊκής σηροτροφίας τον 19^ο αιώνα εξαιτίας της έξαρσης επιζωοτίας πιπερίτιδας, τα καταστροφικά αποτελέσματα της οποίας ενισχύθηκαν από την έλλειψη ποικιλότητας εντός των εκτροφόμενων πληθυσμών και την αδυναμία προσαρμογής τους στις δυσμενείς συνθήκες και στο παθογόνο πρωτόζωο *Nosema bombycis* (Νικολόπουλος, 1954)

Για το λόγο αυτό έχουν πρόσφατα εφαρμοστεί βιοχημικές και μοριακές τεχνικές και οι αντίστοιχοι δείκτες για τον προσδιορισμό του βαθμού της γενετικής ποικιλότητας εντός διαφόρων τύπων και πληθυσμών μεταξοσκωλήκων σε Κίνα, Ινδία και σε άλλες χώρες (Jingade *et al.*, 2011).

1.6.2.1.2. Μεταλλάξεις του *B. mori*

Ένα πλεονέκτημα το οποίο χαρακτηρίζει και διακρίνει το είδος *B. mori*, ως αντικείμενο επιστημονικής μελέτης και εργασίας, σε σχέση με άλλα Λεπιδόπτερα, είναι η μεγάλη διαθεσιμότητα και ποικιλομορφία εμφάνισης γενετικών μεταλλάξεων και αμιγών γενετικών σειρών. Σύμφωνα με τους Goldsmith και συν. (2005), περισσότερες από 400 μεταλλάξεις έχουν περιγραφεί. Οι μεγαλύτερες συλλογές πληθυσμών διατηρούνται σε εξειδικευμένα κέντρα της Κίνας (Fujii, 1998; Sorita,

1991; Lu *et al.*, 2001) και της Κορέας (Abe *et al.*, 2001). Οι περισσότερες από τις εντοπιζόμενες μεταλλάξεις είναι αυτενεργές και παρατηρούνται – ανακαλύπτονται τυχαία σε μαζικές εκτροφές επιχειρηματικής κλίμακας (Goldsmith *et al.*, 2005).

Έχουν εντοπιστεί χρήσιμα γονίδια τα οποία είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση ανθεκτικότητας σε ασθένειες (Qin & Yi, 1996; Ogoyi *et al.*, 2003), ή την ανθεκτικότητα σε υψηλά επίπεδα τοξικών παραγόντων (π.χ. φθορίου) που μπορεί να εμφανιστούν σε μορεόφυλλα ως επακόλουθο ρύπανσης από βιομηχανικές δραστηριότητες (Lin *et al.*, 1997). Επιπλέον παρόλο που ο μεταξοσκώληκας είναι ουσιαστικά μονοφάγο είδος τρεφόμενο με φύλλα της μουριάς ***Morus alba***, ή συγγενικών ειδών (π.χ. ***M. Nigra***), έχουν εντοπιστεί υπολειπόμενα γονίδια τα οποία συσχετίζονται με την εμφάνιση πολυφαγικών μεταλλάξεων σε ορισμένες γεωγραφικές σειρές, ιδιότητα η οποία μπορεί να αξιοποιηθεί, καθώς παρέχει τη δυνατότητα επιλογής πληθυσμών ικανών να τραφούν και με άλλα φυτικά είδη ή τεχνητή τροφή με σκόνη από αποξηραμένα – λυοφιλιωμένα φύλλα μουριάς, εμπλουτισμένη με απαραίτητα θρεπτικά συστατικά (Tazima, 1994; Cappelozza *et al.*, 2005).

1.6.2.1.3. Χάρτες φυλογενετικής σύνδεσης

Οι Nagaraju (2000) και Nagaraju & Goldsmith (2002) έχουν περιγράψει με λεπτομέρεια τους δείκτες και τις χρησιμοποιούμενες στρατηγικές για την δημιουργία χαρτών φυλογενετικής σύνδεσης (Nagaraju, 2000; Nagaraju & Goldsmith, 2002). Αρχικά οι προτεινόμενοι χάρτες ήταν χαμηλής ή μέσης πυκνότητας και συστάθηκαν με την εφαρμογή τυχαίων δεικτών, με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) και τη μέθοδο RAPDs (169 δείκτες) (Promboon *et al.*, 1995), ή με τη μέθοδο RFLPs (61 δείκτες) (Shi *et al.*, 1995). Αργότερα κατέστη δυνατό να συσταθούν πιο πλήρεις χάρτες αποτελούμενοι από περισσότερους δείκτες, με τη χρήση RAPDs (1018 δείκτες) (Yashukochi, 1998) και με τη χρήση AFLPs (356 δείκτες) (Tan *et al.*, 2001).

Τα προϊόντα των μεθόδων RAPDs και AFLPs, μπορούν να πολλαπλασιαστούν με τη μέθοδο PCR έτσι ώστε να διευκολυνθεί η πραγματοποίηση ταχείας και σε μεγάλη κλίμακα αποτύπωσης γονοτύπων (Goldsmith *et al.*, 2005).

1.6.2.1.4. Ετεροζυγωτία και ομομικτική υποβάθμιση στη διατήρηση των πληθυσμών του *B. mori*

Ετεροζυγωτία είναι η κατάσταση κατά την οποία εμφανίζονται διαφορετικοί αλληλόμορφοι σχετιζόμενοι με ένα συγκεκριμένο γενετικό τόπο. Η ποικιλότητα των αλληλομόρφων προσδιορίζει την ικανότητα ενός πληθυσμού να προσαρμόζεται και να ανταποκρίνεται σε μακροχρόνια φυσική επιλογή, η οποία λαμβάνει χώρα σε βάθος πολλών γενεών και σε τελική ανάλυση καθορίζει τη δυνατότητα επιβίωσης του συγκεκριμένου πληθυσμού ή ακόμα και του υπό μελέτη είδους (Jingade *et al.*, 2011).

Ομομιξία είναι η διαδικασία κατά την οποία συζεύγνυνται δύο άτομα τα οποία έχουν μεταξύ τους στενή συγγενική σχέση. Ο συντελεστής ομομιξίας ενός ατόμου έχει να κάνει με το πόσο κοντινή είναι η σχέση μεταξύ των γεννητόρων. Μέσω του φαινομένου της ομομιξίας τείνουν να μειώνονται τα επίπεδα των χαρακτήρων που σχετίζονται με την προσαρμοστικότητα και συνεπώς ένας πληθυσμός μπορεί να οδηγηθεί στην απώλεια της γενικής ευρωστίας και γονιμότητας (Jingade *et al.*, 2011). Η μειωμένη ικανότητα προσαρμογής των πληθυσμών, η οποία οφείλεται στην αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης επιβλαβών υπολειπόμενων γονιδίων καλείται **«ομομικτική υποβάθμιση»**. Η ομομικτική υποβάθμιση συνήθως μειώνει τις αναπαραγωγικές αποδόσεις και τη βιωσιμότητα (Falconer, 1989) και έχει τεκμηριωθεί σε πολλούς πληθυσμούς (Wright, 1977; Charlesworth & Charlesworth, 1987; Ralls *et al.*, 1988; Falconer, 1989).

Η ταχέως συντελούμενη αντικατάσταση των παραδοσιακά εκτρεφόμενων τοπικών πληθυσμών, με υψηλών αποδόσεων φυλές και υβρίδια, απειλεί την επιβίωση και διατήρηση των παλαιών φυλών, οι οποίες είχαν προκύψει είτε ακούσια είτε ηθελημένα, ύστερα από μακροχρόνια επιλογή (Thangavelu, 1998).

Στο μεταξοσκώληκα της μουριάς εικάζεται ότι η δεξαμενή των διαθέσιμων γονιδίων έχει υποστεί εντονότατη επιλογή, σε κάθε γενεά, κατά την μακράιωνη πορεία, από την άγρια κατάσταση έως την εξημέρωσή του. Πρόσφατα, οι Xia και συν. (2009), συνέταξαν ένα γενετικό χάρτη χρησιμοποιώντας γονιδιακές πληροφορίες, από 40 γενετικά στελέχη, τόσο του εξημερωμένου **B. mori** όσο και του άγριου του **B. mandarina** και μελέτησαν τα αποτελέσματα της εξημέρωσης του είδους εντοπίζοντας σημαντικές γενετικές διαφορές μεταξύ των δύο ειδών του γένους **Bombyx**. Ο βαθμός της ετεροζυγωτίας στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς ήταν δύο φορές χαμηλότερος από εκείνον που παρατηρείται στους άγριους πληθυσμούς, γεγονός το οποίο αποδίδεται στην ομομιξία που λαμβάνει χώρα στα εξημερωμένα άτομα (Xia *et al.*, 2009).

Η πλέον εντατική μορφή ομομιξίας που εφαρμόζεται στο μεταξοσκώληκα είναι η «πλήρως ομομικτική σύζευξη» (**full-sibmating**) η οποία συμβαίνει μεταξύ ατόμων που έχουν τους ίδιους γεννήτορες και προέρχονται από την ίδια ωστοκία, είναι δηλαδή αδέρφια. Λιγότερο έντονες μορφές ομομιξίας συμβαίνουν μεταξύ «εξαδέλφων», πρώτων ή δευτέρων, ή μεταξύ ατόμων που παρουσιάζουν μικρότερου βαθμού και τύπου συγγένεια.

1.6.2.2. Γενετική Βελτίωση στο *B. mori*

Σε χώρες όπου ασκείται η σηροτροφία, αρκετές καθαρές φυλές διατηρούνται σε εξειδικευμένα κέντρα διατήρησης του γενετικού υλικού εφαρμόζοντας συγκεκριμένα πρωτοκολλά και προγράμματα επιλογής και ομομικτικών συζεύξεων. Στις περιπτώσεις αυτές επιδιώκονται οι ομομικτικές συζεύξεις μεταξύ ατόμων με κοινή καταγωγή και κοινούς γεννήτορες έτσι ώστε σε βάθος χρόνου και από γενεά σε γενεά να διατηρηθούν τα πρωτότυπα χαρακτηριστικά των φυλών. Οι ομοζυγωτές φυλές οι οποίες διατηρούνται είναι σημαντική πηγή υλικού για εκτροφή νέων γενετικών σειρών μέσω του υβριδισμού τους (Subramanya & Bishop, 2009).

Οι αρχές της γενετικής και οι νέες τεχνικές βελτίωσης που εφαρμόζονται στη σύγχρονη γενετική επιστήμη, αξιοποιούνται με σκοπό την επίτευξη ετερομιξίας και την εκμετάλλευση του φαινομένου της ετέρωσης στο μετασοκώληκα. Ένα υψηλό επίπεδο ετέρωσης, αναφορικά με ποικίλα ποιοτικά χαρακτηριστικά, βρέθηκε να λαμβάνει χώρα κατά τις διασταυρώσεις αμιγών γενετικών σειρών και γεωγραφικά επικρατούντων πληθυσμών του είδους (Harada, 1957; Harada, 1961; Krishnaswami *et al.*, 1964; Hirobe, 1968; Yokoyama, 1979; Gamo & Hirabayashi, 1983; Nagaraju, 1990).

Στους μετασοκώληκες, κατά τη διαδικασία της επιλογής των γεννητόρων με σκοπό την εκμετάλλευση των θετικών αποτελεσμάτων του φαινομένου της ετέρωσης, είναι σημαντικό να εξακριβωθεί το επίπεδο της γονικής γενετικής ετεροζυγωτίας (Jolly *et al.*, 1989; Chatterjee *et al.*, 1993; Mukerjee *et al.*, 1999; Kumaresan *et al.*, 2003a, 2003b). Η επίδραση της γονικής ομοζυγωτίας στην εκδήλωση του φαινομένου της ετέρωσης είναι σημαντική και ευδιάκριτη (Nagaraju & Goldsmith, 2002). Η υβριδική υπεροχή εκδηλώνεται όταν κατά τη διασταύρωση δύο ομομικτικών σειρών (ή μίας ομομικτικής και μίας ετερομικτικής) από άτομα με ομοζυγωτία ως προς ανεπιθύμητα υπολειπόμενα γονίδια, παράγονται απόγονοι οι οποίοι παρουσιάζουν ετεροζυγωτία, ως προς τους γονιδιακούς αυτούς τόπους (Falconer, 1981).

Σε γενικές γραμμές, η διαδικασία της γενετικής βελτίωσης των μετασοκωλήκων αποσκοπεί στη, με σχεδιασμένο και προγραμματισμένο τρόπο, επιλογή των γεννητόρων και τη σύζευξή τους, με ζητούμενο την επίτευξη καθορισμένων στόχων. Η γενετική βελτίωση των φυλών του μετασοκώληκα επιτυγχάνεται με συμβατικές μεθόδους διασταύρωσης μεταξύ των επιλεγέντων γεννητόρων, συνδυασμένες με την επιλογή επιθυμητών χαρακτηριστικών. Η βελτίωση των γενετικών στελεχών του είδους έχει επιτευχθεί σε μεγάλο βάθος χρόνου με επιλογές καθαρών σειρών. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης μετασοκωλήκων υβριδίων **F₁ γενεάς**, για επιχειρηματική εκμετάλλευση, τονίστηκαν από τον Toyama (1906) πολύ νωρίς, στις αρχές του περασμένου αιώνα, όπως αναφέρουν οι Jingade και συν. (2011).

Η ανάπτυξη καθαρών σειρών μπορεί να επιτευχθεί με τη διασταύρωση μεταξύ δύο γενετικών στελεχών τα οποία επιδεικνύουν επιθυμητά χαρακτηριστικά, η οποία ακολουθείται από διαδοχικές ομομικτικές συζεύξεις για **επτά (7)** ή περισσότερες γενεές και επιλογή των απογόνων με βάση τα χαρακτηριστικά τους. Τα διατηρούμενα γενετικά στελέχη λειτουργούν ως γονιδιακή τράπεζα, η οποία ουσιαστικά αποτελεί το καθαρό ομομικτικό απόθεμα, μέσω του οποίου εκφράζονται ένα ή περισσότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά (Jingade *et al.*, 2011).

Μία καθαρή πατρογονική σειρά, η οποία κατ' ουσίαν είναι μέρος του καθαρού ομομικτικού αποθέματος, μπορεί να διασταυρωθεί με άλλες καθαρές σειρές προκειμένου να παραχθεί ένα νέο υβρίδιο, αξιοποιώντας κατ' αυτόν τον τρόπο το φαινόμενο της ετέρωσης, παράγοντας άτομα με αξιόλογους και αξιοποιήσιμους, σε επιχειρηματική κλίμακα, ποσοτικούς και ποιοτικούς χαρακτήρες. Υποψήφιοι γεννήτορες οι οποίοι είναι συμπληρωματικοί ως προς κάποια ζητούμενα χαρακτηριστικά, επιλέγονται και πραγματοποιείται διασταύρωση μεταξύ τους (Jingade *et al.*, 2011).

1.6.2.3. Προσδιορισμός της ομομικτικής υποβάθμισης

Σύμφωνα με το νόμο των **Hardy** και **Weinberg**, σε μεγάλους πληθυσμούς, τα άτομα των οποίων συζεύγνυνται τυχαία, όλοι οι γονότυποι έχουν ίσες πιθανότητες εμφάνισης, κάτι που σημαίνει ότι δεν λαμβάνει χώρα καμία επιλογή. Επομένως, οι συχνότητες εμφάνισης των αλληλομόρφων και των γονοτύπων στον πληθυσμό παραμένουν σταθερές, εφόσον άλλοι παράγοντες, όπως η μη τυχαία σύζευξη, η εμφάνιση μεταλλάξεων, η επιλογή, η μείωση του μεγέθους του πληθυσμού, κ.ά δεν επιδρούν (Hardy 1908).

Η ομομικτική υποβάθμιση, ο βαθμός της οποίας έχει βρεθεί ότι αποτελεί γραμμική συνάρτηση του συντελεστή ομομιξίας (Lynch & Walsh, 1998), έχει μετρηθεί σε επίπεδο πληθυσμού, συγκρίνοντας τους μέσους φαινότυπους των ατόμων που είναι προϊόντα ομομικτικής σύζευξης με αυτά που προέρχονται από ετερομικτικές συζεύξεις και

προσδιορίζεται από τη διαφορά στη μέση προσαρμοστικότητα μεταξύ των προϊόντων ομομιξίας και ετερομιξίας, εντός της ίδιας οικογένειας.

Οι σχετικές επιπτώσεις είναι ορατές στην τιμή του συντελεστή ομομιξίας (**F**) όταν αυτός καταγράφεται σε διαδοχικές γενεές. Έχει παρατηρηθεί ότι όταν λαμβάνει χώρα πλήρως ομομικτική σύζευξη μεταξύ αδελφών, ο συντελεστής ομομιξίας αυξάνεται διαδοχικά από **F=0,25** στην 1^η ομομικτική γενεά σε **F=0,37** στη 2^η και συνεχίζει να αυξάνεται σε **F=0,50** στην 3^η και σε **F=0,59** στην 4^η, φτάνοντας μέχρι **F=0,67** στην 5^η ομομικτική γενεά. Πρακτικά αυτό που πρέπει να αναμένεται με την ομομιξία είναι η απομόνωση ομοζυγωτών σειρών με μειωμένη ευρωστία. Η μείωση της ευρωστίας δε βρίσκεται σε πλήρη συσχέτιση με τον αριθμό της γενεάς, αλλά σε γενικές γραμμές ακολουθεί τη μείωση της ετεροζυγωτίας. Η εμφάνιση των αποτελεσμάτων της ομομιξίας μπορεί να επισπευσθεί με την επιλογή. Έτσι, εάν το ομομικτικό χαρακτηριστικό που μας ενδιαφέρει αναφέρεται σε βασικούς και σαφείς χαρακτήρες, είναι π.χ. αποστρογγυλωμένο κουκούλι και μεγάλο μήκος προνύμφης, η εύκολη επιλογή ατόμων με αυτά τα χαρακτηριστικά θα δώσει τη δυνατότητα ταχύτερης και καλύτερης επίτευξης υψηλού βαθμού ομοζυγωτίας, κάτι το οποίο επιτυγχάνεται δυσκολότερα στην περίπτωση που τα ζητούμενα χαρακτηριστικά είναι λιγότερο σαφή ή δυσκολότερα εντοπίσιμα (Jingade *et al.*, 2011).

Γενικά, οι βελτιωτές στοχεύουν στη διατήρηση των αρχέτυπων χαρακτήρων των φυλών μέσω της επιλογής, λαμβάνοντας ταυτόχρονα μέριμνα για την αποφυγή εμφάνισης ανεπιθύμητων καταστάσεων εξαιτίας της ομομικτικής υποβάθμισης. Παρά το γεγονός ότι έχουν γίνει αρκετές εργασίες και μελέτες όσον αφορά ποσοτικούς χαρακτήρες όπως είναι η παραγωγικότητα και το επίπεδο διαφόρων βιοχημικών παραμέτρων (Chatterjee *et al.*, 1993; Natcheva *et al.*, 2001; Nagaraju 2002) δεν έχει επαρκώς μελετηθεί η επίδραση της ομομιξίας στους χαρακτήρες αυτούς. Οι Subramanya & Bishop (2009) έχουν αναπτύξει δύο στατιστικά μοντέλα με βάση τα οποία μπορούν να εκτιμηθούν οι συνέπειες της ομομιξίας σε ποσοτικούς χαρακτήρες.

1.6.3. Χρήση μοριακών τεχνικών για καθορισμό της γενετικής ταυτότητας

Τα διάφορα γενετικά στελέχη του είδους επιδεικνύουν έντονη ποικιλότητα στο επίπεδο παραγωγής, καθώς και σε άλλες φαινοτυπικές παραμέτρους. Γενικά, τα γενετικά στελέχη του μεταξοσκώληκα μπορεί να παρουσιάζουν διαφορετικούς φαινοτυπικούς χαρακτήρες όπως διαφοροποίηση στο χρώμα των αυγών, στη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου, στο χρώμα και τους σχηματισμούς στο σώμα των προνυμφών, το χρώμα και το σχήμα του κουκουλιού, το χρώμα της αιμολέμφου κλπ. Εντούτοις οι μορφολογικοί χαρακτήρες από μόνοι τους δεν είναι αρκετοί για τον καθορισμό της γενετικής ταυτότητας των πληθυσμών. Φαίνεται ότι είναι αναγκαίος ο χαρακτηρισμός και η ταυτοποίηση των πληθυσμών σε μοριακό επίπεδο προκειμένου να επιτευχθεί ορθή ανάλυση της γενετικής ποικιλότητας του γενετικού υλικού (Velu *et al.*, 2008). Η μελέτη και αξιοποίηση μοριακών δεικτών, βοηθάει στον προσδιορισμό της γενετικής ποικιλότητας με μεγαλύτερη ακρίβεια απ' ό,τι οι μορφολογικοί χαρακτήρες (Jingade *et al.*, 2011) .

1.6.3.1. Μοριακοί δείκτες

Οι μοριακοί δείκτες είναι τμήματα DNA, χωρίς άμεση επίδραση στο φαινότυπο, τα οποία έχουν την ιδιότητα να παρουσιάζουν διαφορές, μεταξύ των υπό μελέτη ατόμων. Οι διαφορές αυτές εντοπίζονται, μελετώνται και συσχετίζονται προκειμένου να διερευνηθεί η ποικιλομορφία, η κληρονομικότητα διαφόρων χαρακτηριστικών και η φυλογενετική σχέση διαφόρων πληθυσμών (Fanourakis *et al.*, 2004). Παρουσιάζουν πολλά πλεονεκτήματα σε σχέση με τους μορφομετρικούς και τους βιοχημικούς δείκτες, διότι είναι σταθεροί και ανεξάρτητοι από περιβαλλοντικές επιδράσεις (Bernatsky & Tanksley, 1989; Gepts, 1993).

Με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης PCR, ένας αριθμός τεχνικών και μοριακών δεικτών έχουν μελετηθεί, αναπτυχθεί και καθιερωθεί προς αυτή την κατεύθυνση, όπως SSR (Tautz, 1989), RAPDs (Williams *et al.*, 1990), ISSR (Zietkiewicz *et al.*, 1994), AFLP (Vos *et al.*, 1995). Επιπλέον υπάρχει η τεχνική RFLP η οποία μπορεί να

εφαρμοστεί χωρίς τη χρήση PCR (Botstein *et al.*, 1980) ή σε συνδυασμό με την PCR (Harizanis & Bouga, 2003; Bouga *et al.*, 2005). Οι δείκτες που προκύπτουν με τις προαναφερθείσες τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για τη μελέτη της γενετικής ποικιλότητας των πληθυσμών σε πολλά είδη φυτών και ζώων (Velu *et al.*, 2008; Zietkiewicz *et al.*, 1994; Tsumura *et al.*, 1996; Dayanadhan *et al.*, 1997; Gabierelsen & Brochman, 1998; Wolfe *et al.*, 1998; Knox & Palmer, 1999, Bouga *et al.*, 2005; Harizanis & Bouga, 2003).

Στην ίδια κατεύθυνση οι Chatterjee & Pradeep (2003), οι Dalirsefat *και συν.* (2009), οι Li *και συν.* (2005), Lu *και συν.* (2002), Nagaraju *και συν.* (2001), Prasad *και συν.* (2005), Reddy *και συν.* (1999a, b) και οι Xia *και συν.* (1998), έκαναν χρήση μοριακών δεικτών βασιζόμενοι στις τεχνικές AFLP, RFLP, ISSR και SSR, για το προσδιορισμό της γενετικής απόστασης μεταξύ γενετικών στελεχών του ***B. mori*** τα οποία διέφεραν σε ορισμένους μορφολογικούς χαρακτήρες.

1.6.3.2. Η τεχνική Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης PCR

Πριν την επινοήση της μεθόδου της Αλυσιδωτής Αντίδρασης Πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction ή **PCR**), οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνταν για την αντιγραφή και αναπαραγωγή τμημάτων DNA ήταν χρονοβόρες και απαιτητικές σε τεχνικά μέσα. Με την επινοήση της μεθόδου και της συσκευής **PCR** είναι δυνατόν να ολοκληρωθούν πολλοί κύκλοι αναπαραγωγής και να δημιουργηθούν πολλά αντίγραφα του γονιδιακού τμήματος που επιδιώκεται να μελετηθεί.

Ανάλογα με το αντικείμενο μελέτης και την επιδίωξη του κάθε ερευνητή επιλέγεται το κατάλληλο τμήμα DNA. Γνωρίζοντας την αλληλουχία των βάσεων στα δύο άκρα του γονιδιακού τμήματος που πρόκειται να πολλαπλασιαστεί, γίνεται χρήση των κατάλληλων συμπληρωματικών αλληλουχιών βάσεων που θα συνδεθούν με τα άκρα του προς μελέτη τμήματος. Οι αλληλουχίες βάσεων, που χρησιμοποιούνται ονομάζονται εκκινητές (primers).

Αρχικά γίνεται αποδιάταξη των κλώνων του DNA σε θερμοκρασία περίπου **94 – 95 °C**, ώστε να δημιουργηθούν μονόκλωνες αλυσίδες, στις

οποίες εν συνεχεία συνδέονται οι εκκινητές. Η σύνδεση των εκκινητών με τα αντίστοιχα συμπληρωματικά άκρα των απλών αλυσίδων του DNA γίνεται σε θερμοκρασία **40 – 60 °C**. Στη συνέχεια πραγματοποιείται η σύνθεση των τμημάτων του DNA που ενδιαφέρουν τον ερευνητή με τη δράση της **Taq DNA** πολυμεράσης η οποία καταλύει την επέκταση των εκκινητών, σύμφωνα με την αλληλουχία που καθορίζεται από κάθε μία από τις αλυσίδες του DNA, στους **72 °C**. Η εν λόγω διαδικασία επαναλαμβάνεται για 35 περίπου φορές. Τέλος πραγματοποιείται μια τελική επιμήκυνση των αλυσίδων στους **72 °C**.

1.6.3.3. Τεχνική RFLP

Οι πρώτοι μοριακοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι «Πολυμορφισμοί Περιορισμένου Μήκους Θραυσμάτων (Restriction Fragment Length Polymorphisms **RFLPs**) (Botstein *et al.*, 1980). Οι δείκτες αυτοί είναι τμήματα του DNA τα οποία τέμνονται σε συγκεκριμένα σημεία της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων που τα απαρτίζουν, με τη βοήθεια ενζύμων που ονομάζονται «**περιοριστικά ένζυμα**» ή «**περιοριστικές ενδονουκλεάσες**». Έχει βρεθεί ότι τα βακτήρια έχουν αναπτύξει έναν αμυντικό μηχανισμό, με τη βοήθεια του οποίου αποφεύγεται η είσοδος και η ενσωμάτωση σε αυτά, γενετικού υλικού άλλων οργανισμών. Κατά το μηχανισμό αυτό παράγονται από το βακτηριακό κύτταρο ένζυμα, τα οποία έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν και να διακόπτουν συγκεκριμένες αλληλουχίες βάσεων. Τα ένζυμα αυτά είναι οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες ή περιοριστικά ένζυμα που αναφέρθηκαν παραπάνω. Οποιοδήποτε ξένο γενετικό υλικό βρεθεί στην περιοχή δράσης των περιοριστικών ενδονουκλεασών ακρηστεύεται, καθώς διακόπτεται η συνέχειά του. Το μήκος των αλληλουχιών που αναγνωρίζονται μέσω αυτού του μηχανισμού δεν ξεπερνά τα 12 νουκλεοτίδια, αλλά συνήθως είναι 5 – 6.

Η πρώτη περιοριστική ενδονουκλεάση που μελετήθηκε και χρησιμοποιήθηκε από τον άνθρωπο, απομονώθηκε από το ευρέως διαδεδομένο βακτήριο **Escherichia coli** και ήταν το **EcoRI**. Το ένζυμο

αυτό αναγνωρίζει τη αλληλουχία **GAATTC** και στη συνέχεια την τέμνει μεταξύ **G** και **A** σύμφωνα με το σχήμα:



Το περιοριστικό ένζυμο **EcoRI** χρησιμοποιήθηκε πολύ στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA. Σήμερα έχουν μελετηθεί πάνω από 3.000 τέτοια ένζυμα, ενώ πάνω από 600 διατίθενται στο εμπόριο (Roberts *et al*, 2007). Με τη βοήθεια των περιοριστικών ενζύμων αναπτύχθηκε η τεχνική **RFLPs**, κατά την οποία γίνεται χρήση των προαναφερθεισών ιδιοτήτων προκειμένου να εντοπιστούν μικροδιαφορές στην αλληλουχία βάσεων συγκεκριμένων γονιδίων.

1.6.3.4. Προσδιορισμός της ετεροζυγωτίας με χρήση μοριακών δεικτών

Είναι γνωστό στους γενετιστές από τις αρχές του περασμένου αιώνα (1910 – 1920) ότι επεμβάσεις στην ετεροζυγωτία σε επίπεδο γονιδίων (με τη χρήση καθαρών σειρών) μπορούν να επιδράσουν στην προσαρμοστικότητα και στην παραγωγικότητα (Shull, 1952).

Για μεγάλο διάστημα η χρήση αλλοενζύμων ήταν ο πλέον αξιόπιστος και κατάλληλος τρόπος προσδιορισμού του βαθμού ετεροζυγωτίας. Η κατάσταση αυτή έχει μεταβληθεί με την ανάπτυξη των μεθόδων και τη χρήση μοριακών δεικτών που βασίζονται στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης, όπως το μικροδορυφορικό DNA, τα RFLPs κ.ά. (Mitton, 1994). Ο βαθμός ετεροζυγωτίας μπορεί να υποεκτιμηθεί εξαιτίας έλλειψης διακριτότητας (αλληλόμορφοι με παρόμοια κινητικότητα μπορεί να φαίνονται ως ίδιοι) σωματική ανευπλοειδία ή ανενεργών αλληλομόρφων. Οι περισσότεροι μοριακοί δείκτες παρουσιάζουν παρόμοιες ατέλειες με τα αλλοένζυμα, εντούτοις οι δείκτες που βασίζονται στην εφαρμογή της **PCR**, σε αντίθεση με τα αλλοένζυμα, μπορούν να έχουν επιτυχή αποτελέσματα και σε πολύ μικρούς οργανισμούς όπως προνύμφες δίθυρων μαλακίων και σε πολλά πολυμορφικά γονίδια (Jingade *et al.*, 2011).

1.7. Σκοπός της μελέτης

Στην Ελλάδα υπάρχουν οι συνθήκες που θα μπορούσαν να οδηγήσουν στην αναβίωση και ανάπτυξη της σηροτροφίας. Ως παραγωγικός τομέας, η εκτροφή μεταξοσκωλήκων, μπορεί να δώσει διέξοδο στον αγροτικό πληθυσμό για τη στήριξη του οικογενειακού εισοδήματος. Αποτελεί γεωργική απασχόληση που δεν απαιτεί υψηλό κόστος εγκατάστασης γιατί μπορεί να αξιοποιήσει τις ήδη υπάρχουσες υποδομές (αποθήκες, στάβλους κ.α.) ή μικρού κόστους ελαφρές κατασκευές, καθώς και το εργατικό δυναμικό της αγροτικής οικογένειας.

Σήμερα διαφαίνεται ότι υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες για μία εκ νέου άνθηση της σηροτροφίας και των συναφών δραστηριοτήτων στη χώρα μας. Η αναμφισβήτητη δύσκολη οικονομική συγκυρία, μπορεί να αποδειχτεί χρυσή ευκαιρία για έναν κλάδο που έχει δοκιμαστεί με θετικά αποτελέσματα στο παρελθόν και έχει στηρίξει χιλιάδες ελληνικές οικογένειες, συμπληρώνοντας το οικογενειακό εισόδημα, ακόμα και στις πιο δύσκολες περιόδους της ελληνικής ιστορίας. Μπορεί να αποτελέσει ενδιαφέρουσα και συγχρόνως ελπιδοφόρα εναλλακτική επαγγελματική διέξοδο.

Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο μεγαλύτερος αντίπαλος της ευρωπαϊκής και ελληνικής σηροτροφίας είναι οι χαμηλές τιμές των εισαγόμενων μεταξωτών προϊόντων από χώρες της Ασίας. Το ισχυρότερο όπλο που διαθέτει η Ελλάδα ενάντια σε αυτή την πραγματικότητα, είναι τα υψηλής ποιότητας προϊόντα που μπορεί να παράγει, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να είναι σε πλήρη εναρμόνιση με τις απαιτήσεις της ευρωπαϊκής βιομηχανίας του υφάσματος και της υψηλής ραπτικής. Οι ανάγκες της Ευρωπαϊκής Ένωσης σε ποιοτικό μετάξι συνεχώς αυξάνονται και τα ποσά που ξοδεύονται για την εισαγωγή μεταξίου, κατώτερης ποιότητας από αυτή που μπορεί να παραχθεί στην Ελλάδα, είναι πολύ μεγάλα.

Η βιώσιμη ανάπτυξη της σηροτροφίας και η σταδιακή αύξηση της παραγωγής τόσο ποσοτικά όσο και ποιοτικά, προϋποθέτει συνεχή εξέλιξη και βελτίωση των εκτρεφόμενων μεταξοσκωλήκων μέσα από

προγραμματισμένη και αποτελεσματική αξιοποίηση της υπάρχουσας γενετικής ποικιλότητας του είδους.

Προς αυτή την κατεύθυνση βρίσκεται και η εκπόνηση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής, σκοπός της οποίας είναι η προσπάθεια δημιουργίας, μελέτης, καταγραφής και διατήρησης καθαρών σειρών του μεταξοσκώληκα ***B. mori***, αξιοποιώντας το γενετικό υλικό του Εργαστηρίου Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας και του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών, με απώτερο στόχο τη μαζική παραγωγή μεταξόσπορου στην Ελλάδα, για εμπορικούς σκοπούς.

Παράλληλα, η συγκριτική μελέτη και καταγραφή ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών εμπορικών υβριδίων που χρησιμοποιούνται τα τελευταία χρόνια στην πράξη από Έλληνες σηροτρόφους, η οποία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της παρούσας Διατριβής, δίνει τη δυνατότητα αξιολόγησης της απόδοσης και της ποιότητας του εν λόγω υλικού, και επιλογής του κατάλληλου μεταξόσπορου για τις ανάγκες των εκτροφών της Ελλάδας.

Κεφάλαιο 2^ο

Υλικά & Μέθοδοι

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Γενικά

Κατά την εκπόνηση της παρούσας Διδακτορικής Διατριβής πραγματοποιήθηκαν πειράματα, στη διάρκεια των οποίων έλαβε χώρα εκτροφή πληθυσμών μεταξοσκωλήκων του είδους ***B. mori***. Έγινε καταγραφή συγκεκριμένων χαρακτηριστικών του κάθε πληθυσμού, αναφορικά με το φαινότυπο, την ποσότητα και ποιότητα των παραγόμενων κουκουλιών, την αναπαραγωγική ικανότητα των ενήλικων ατόμων και τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων αυγών. Επιπλέον έγιναν μοριακές αναλύσεις με σκοπό τη διερεύνηση της ύπαρξης μοριακών δεικτών οι οποίοι να χαρακτηρίζουν τους εν λόγω πληθυσμούς. Οι καθαρές σειρές που μελετήθηκαν και καταγράφονται, αποτελούν μέρος της Τράπεζας Γενετικού Υλικού του μεταξοσκώληκα, η οποία διατηρείται στο Εργαστήριο Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.), σε συνεργασία με το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων.

Οι πειραματικές εκτροφές, οι παρατηρήσεις, οι καταγραφές, οι δειγματοληψίες, οι μετρήσεις, οι αναλύσεις και γενικά κάθε είδους εργασία η οποία ήταν απαραίτητη για την ολοκλήρωση της παρούσας Διατριβής, πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γ.Π.Α., από την άνοιξη του 2005 μέχρι και το φθινόπωρο του 2011.

Στο παρόν κεφάλαιο, περιγράφονται λεπτομερώς όλα τα στάδια του πειραματικού μέρους της παρούσας Διατριβής, οι μέθοδοι και οι διαδικασίες που εφαρμόστηκαν, καθώς και τα υλικά οι εγκαταστάσεις και ο εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκαν. Επιπλέον, γίνονται παραπομπές σε σχετικά θεωρητικά υπομνήματα, τα οποία αιτιολογούν την επιλογή των εφαρμοζόμενων μεθόδων και διαδικασιών, κυρίως αναφορικά με τις εκτροφές και τις μετρήσεις που έλαβαν χώρα.

2.2. Πειραματική διαδικασία

Το πειραματικό μέρος της Διατριβής μπορεί να χωριστεί σε δύο επί μέρους τμήματα. Το ένα τμήμα αφορά στην μελέτη και καταγραφή ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών εμπορικών υβριδίων, τα οποία προορίζονταν για χρήση από τους Έλληνες σηροτρόφους (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 1**). Στο πλαίσιο αυτό έγινε δειγματοληψία και έλεγχος της ποιότητας των διακινούμενων εντός της ελληνικής επικράτειας, κουτιών μεταξόσπορου. Ακολούθησε επώαση των αυγών, υπολογισμός του ποσοστού εκκολαπτικότητας, εκτροφή των εκκολαφθέντων προνυμφών και καταγραφή των ποιοτικών και ποσοτικών παραγωγικών στοιχείων της κάθε εκτροφής και του κάθε υβριδίου ξεχωριστά.

Παράλληλα πραγματοποιήθηκε σειρά πειραμάτων που σχετίζονταν με τη δημιουργία, μελέτη, καταγραφή και διατήρηση καθαρών σειρών του μεταξοσκώληκα *B. mori* και τη δημιουργία τράπεζας γενετικού υλικού του είδους. Για την επίτευξη του παραπάνω στόχου χρησιμοποιήθηκαν ως υλικό, οι καθарές σειρές που είχε στην κατοχή του το Εργαστήριο Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας και το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών. Επιπλέον επιχειρήθηκε η δημιουργία νέων καθαρών σειρών, ύστερα από ελεγχόμενες και κατευθυνόμενες συζεύξεις – διασταυρώσεις του υπάρχοντος υλικού, ακολουθώντας τους κανόνες και τις διαδικασίες που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία για αντίστοιχες εργασίες.

2.2.1. Έλεγχος μελέτη και καταγραφή ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών εμπορικών υβριδίων

Ο έλεγχος, η μελέτη και η καταγραφή των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών των εμπορικών υβριδίων που διακινήθηκαν εντός της Ελλάδας και χρησιμοποιήθηκαν από τους Έλληνες παραγωγούς, έγινε σε συνεργασία με το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 2**). Καταγράφηκαν στοιχεία τα οποία αφορούσαν στην ποιότητα των κουτιών του προς χρήση μεταξόσπορου (**Εικ. 2.1**) ως εμπορικό αγαθό και ως παραληφθέν φορτίο, ενώ επιπλέον

πραγματοποιήθηκαν εκτροφές και έγινε καταγραφή παραγωγικών στοιχείων για κάθε ένα από τα μελετηθέντα υβρίδια.



Εικόνα 2.1: Κουτιά μεταξόσπορου εμπορικών υβριδίων

2.2.1.1. Δειγματοληψία – ποιοτικός έλεγχος των κουτιών μεταξόσπορου που προορίζονται για εμπορική χρήση

Πριν τη διάθεση του μεταξόσπορου στους παραγωγούς, γινόταν δειγματοληψία. Το τυχαίο δείγμα ήταν σε ποσοστό 0,5% επί του φορτίου του κάθε υβριδίου και τουλάχιστον δύο κουτιά ανά υβρίδιο.

Οι έλεγχοι που πραγματοποιούνταν σε αυτή τη φάση αφορούσαν:

α) τον αριθμό των παραληφθέντων κουτιών μεταξόσπορου, **β)** την ποσότητα των αυγών εντός των κουτιών, **γ)** την ποσότητα των ελαττωματικών αυγών, **δ)** τον έλεγχο για την ύπαρξη μεταδοτικών ασθενειών, **ε)** τον έλεγχο των απαραίτητων συνοδευτικών εγγράφων και **στ)** το ποσοστό εκκολαπτικότητας.

Τα αποτελέσματα των ελέγχων αυτών, οι οποίοι περιγράφονται αναλυτικά ακολούθως, σε συνδυασμό με το διοικητικό έλεγχο των συνοδευτικών εγγράφων, είναι οι ελάχιστες προϋποθέσεις που καθορίζουν την αποδοχή ή μη των κουτιών του μεταξόσπορου, προκειμένου αυτά να κριθούν ικανά για χρήση από τους Έλληνες σηροτρόφους.

2.2.1.1.1. Καταμέτρηση αριθμού κουτιών μεταξόσπορου - δειγματοληψία

Η καταμέτρηση του αριθμού των κουτιών, του προοριζόμενου για έλεγχο μεταξόσπορου γίνεται από τριμελείς επιτροπές σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 3**)

2.2.1.1.2. Αριθμός αυγών ανά κουτί – έλεγχος για ξένα σώματα, ελαττωματικά ή αγονιμοποίητα αυγά

Μετά την καταμέτρηση και σφράγιση των παραληφθέντων κουτιών και την παραλαβή των σχετικών εγγράφων και του δείγματος ελέγχου από το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, πραγματοποιείται η καταμέτρηση του αριθμού των αυγών ανά κουτί. Η μέθοδος που εφαρμόζοταν ήταν η μέθοδος του βάρους και είχε ως εξής:

Τα κουτιά του δείγματος αριθμούνταν και στη συνέχεια ανοιγόταν με προσοχή η ειδική οπή που βρίσκεται πίσω από την ετικέτα. Αφαιρείτο από τα κουτιά όλο το περιεχόμενο και ζυγιζόταν σε ηλεκτρονικό ζυγό, ακριβείας τριών (3) δεκαδικών ψηφίων τύπου **Kern 510 (Εικ. 2.2)**. Μετά τη ζύγιση και καταγραφή των δεδομένων, 1 γραμμάριο (**1 g**) από τα ζυγισμένα αυγά τοποθετούνταν σε αντιστοίχως αριθμημένα υάλινα τριβλία. Παράλληλα, μικρή ποσότητα αυγών από κάθε δείγμα τοποθετείτο σε αριθμημένα μπρούτζινα γουδιά, προκειμένου στη συνέχεια να γίνει παρασκευάσμα για τον μικροσκοπικό έλεγχο της πιπεριτίδας. Τα υπόλοιπα αυγά επανατοποθετούνταν στα αντίστοιχα κουτιά, με τη βοήθεια υάλινου κωνιού.



Εικόνα 2.2: Ψηφιακός ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων της εταιρείας **Kern**

Τα αυγά που βρίσκονταν εντός των αριθμημένων τριβλίων, καταμετρούνταν ένα προς ένα με τη βοήθεια μεταλικής ράβδου (**Εικ. 2.3**) και στη συνέχεια επανατοποθετούνταν στα αντίστοιχα τριβλία, προκειμένου να ακολουθήσει η επώασή τους. Κατά την καταμέτρηση καταγραφόταν ο αριθμός τόσο των καλών όσο και των ελαττωματικών ή αγονιμοποίητων αυγών. Επειδή η καταμέτρηση αφορούσε στην ποσότητα των αυγών που αντιστοιχεί σε **1 g** παραληφθέντος δείγματος από κάθε

κουτί, ακολουθούσε αναγωγή των δεδομένων στο συνολικό βάρος του κάθε κουτιού σύμφωνα ως εξής:

(α) = **βάρος του συνολικού περιεχομένου του κουτιού (g)**

(β) = **αριθμός καλών αυγών στο 1 g δείγματος**

(γ) = **αριθμός ελαττωματικών αυγών στο 1 g δείγματος**

(δ) = (α) X (β) = **αριθμός καλών αυγών στο κουτί**

(ε) = (α) X (γ) = **αριθμός ελαττωματικών αυγών στο κουτί**

(ζ) = $\frac{(\gamma) \times 100}{(\alpha)}$ = **ποσοστό ελαττωματικών αυγών στο κουτί**

Πιθανή ύπαρξη ξένων σωμάτων καταγραφόταν στο σχετικό πρακτικό.



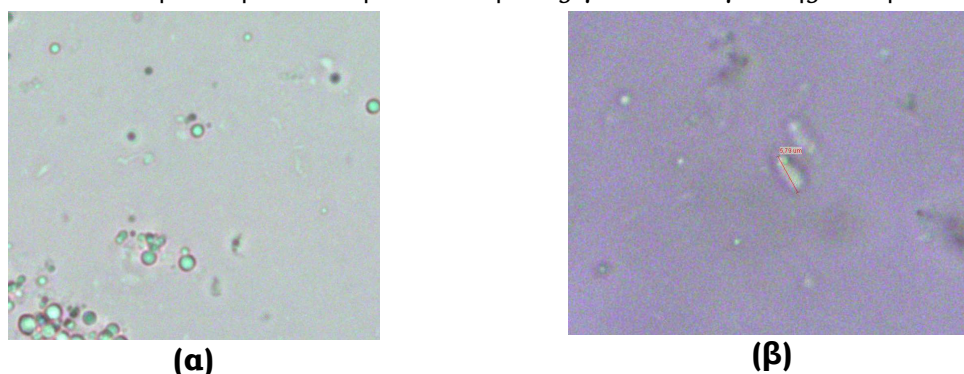
Εικόνα 2.3: Καταμέτρηση αυγών με τη χρήση μεταλλικής ράβδου

2.2.1.1.3. Έλεγχος για την πιπερίτιδα

Για τον έλεγχο της πιπερίτιδας ετοιμάζονταν μικροσκοπικά παρασκευάσματα, από τα δείγματα των αυγών που είχαν τοποθετηθεί στα μπρούτζινα γουδιά. Τα δείγματα λειοτριβούνταν με την προσθήκη της απαραίτητης ποσότητας νερού. Στη συνέχεια, μικρή ποσότητα από το λειοτριβηθέν δείγμα τοποθετείτο σε αντικειμενοφόρο πλάκα και καλυπτόταν με καλυπτρίδα (**Εικ. 2.4**). Η παρατήρηση γινόταν σε απλό οπτικό μικροσκόπιο σε μεγέθυνση **X 400**. Πιθανή ύπαρξη σπορίων του πρωτόζωου ***Nosema bombycis*** (**Εικ. 2.5**) θα σήμαινε αυτόματη απόρριψη του φορτίου, ενώ ο εισαγωγέας ή ο μεταξοποροπαραγωγός (στην περίπτωση εγχώριου μεταξόσπορου) θα υποχρεούτο να αναλάβει την καταστροφή του φορτίου και τα έξοδα απολύμανσης των χώρων, των συσκευών και των υλικών που θα έρχονταν σε επαφή με το μολυσμένο μεταξόσπορο.



Εικόνα 2.4: Προετοιμασία παρασκευάσματος για τον έλεγχο της πιπερίτιδας



Εικόνα 2.5: Μικροσκοπική παρατήρηση παρασκευάσματος. **(α):** καθαρό δείγμα, **(β):** ήπια προσβολή διακρίνεται το σπόριο του παρασίτου



Εικόνα 2.6: Μεταξοσκώληκες προσβεβλημένοι από πιπερίτιδα (*N. Bomycis*)
Πηγή: dailyparasite.blogspot.com

2.2.1.1.4 Επώαση – Έλεγχος για το ποσοστό εκκολαπτικότητας

Τα αριθμημένα τριβλία με τα καταμετρημένα αυγά τοποθετούνταν σε ειδικό δωμάτιο το οποίο βρίσκεται στο ισόγειο του Κτιρίου Ισαακίδη του Γ.Π.Α., προκειμένου να επωαστούν σε κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού, μέχρι την εκκόλαψη των προνυμφών **(Παράρτημα II, Υπόμνημα 4)**.

Το δωμάτιο το οποίο χρησιμοποιείτο ως επωαστικός θάλαμος κατά την υλοποίηση της παρούσας διατριβής διαθέτει δάπεδο και τοιχώματα από πλακάκια προκειμένου να είναι δυνατή η καθαριότητα και η απολύμανση του χώρου. **(Εικ. 2.7)** Η θερμοκρασία του χώρου ρυθμιζόταν με κλιματιστικό (*Mistubishi*) και ηλεκτρικό θερμαντικό σώμα λαδιού. Επίσης, στο χώρο ήταν εγκατεστημένος υγραντήρας **HR-15** της εταιρείας **Aquaculture hydroponics** **(Εικ. 2.8)**, ο οποίος

συνδεόταν με διαβαθμισμένο αισθητήρα υγρασίας του χώρου (**Εικ. 2.9**). Τις χρονικές περιόδους κατά τις οποίες η φυσική φωτοπερίοδος ταυτιζόταν με την προβλεπόμενη ιδανική φωτοπερίοδο για την επώαση των αυγών, ο χώρος φωτιζόταν φυσικά. Σε αντίθετη περίπτωση γινόταν χρήση φωτιστικού σώματος με χρονοδιακόπτη.



Εικόνα 2.7: Δωμάτιο που χρησιμοποιείται ως επωαστικός θάλαμος και θάλαμος εκτροφής πρώτων ηλικιών



Εικόνα 2.8: Υγραντήρας χώρου **HR-15** της εταιρείας **Aquaculture hydroponics**



Εικόνα 2.9 Διαβαθμισμένος αισθητήρας υγρασίας συνδεδεμένος με τον υγραντήρα χώρου

Σε συνδυασμό με τον προαναφερθέντα εξοπλισμό, ο οποίος χρησίμευε για τη ρύθμιση των αβιοτικών παραμέτρων εντός του χώρου επώασης, γινόταν συνεχής έλεγχος και καταγραφή των δεδομένων, βάσει των οποίων θα εφαρμόζονταν οι απαραίτητες διορθωτικές κινήσεις εάν και όποτε αυτό κρίνονταν απαραίτητο. Για το λόγο αυτό λαμβάνονταν

μετρήσεις θερμοκρασίας και υγρασίας εντός του χώρου κάθε έξι ώρες, με χρήση υγρόμετρου, υγρού – ξηρού θερμομέτρου (**Εικ. 2.10**). Παράλληλα, προκειμένου να είναι δυνατή η αποτύπωση της πλήρους εικόνας των συνθηκών επώασης και ο εντοπισμός πιθανών αποκλίσεων από τις προβλεπόμενες τιμές καθ' όλο το εικοσιτετράωρο, λαμβάνονταν μετρήσεις θερμοκρασίας και υγρασίας κάθε 30 λεπτά με τη χρήση ηλεκτρονικού καταγραφέα δεδομένων τύπου **HOBO® RH/Temp/Light/External Data Logger - H08-004-02** της εταιρείας **Onset Computer Corporation, MA, USA** (**Εικ. 2.11**). Τα καταγεγραμμένα και αποθηκευμένα εντός της μνήμης του ηλεκτρονικού καταγραφέα δεδομένα, μπορούσαν να εξαχθούν και να αποθηκευτούν σε αναγνώσιμη μορφή με τη χρήση ηλεκτρονικού υπολογιστή, για περαιτέρω επεξεργασία με το κατάλληλο λογισμικό.



Εικόνα 2.10: Υγρόμετρο υγρού – ξηρού θερμομέτρου



Εικόνα 2.11: Ηλεκτρονικός καταγραφέας δεδομένων τύπου **HOBO® RH/Temp/Light/External Data Logger - H08-004-02**

Οι συνθήκες που επικρατούσαν εντός του επωαστικού θαλάμου κατά τη διάρκεια της επώασης ήταν εντός των ορίων που ορίζει η διεθνής βιβλιογραφία και σύμφωνες με τις οδηγίες του εκάστοτε παραγωγού οίκου (**Πιν. 2.1**).

Πίνακας 2.1: Συνθήκες επώασης αυγών των εμπορικών υβριδίων.

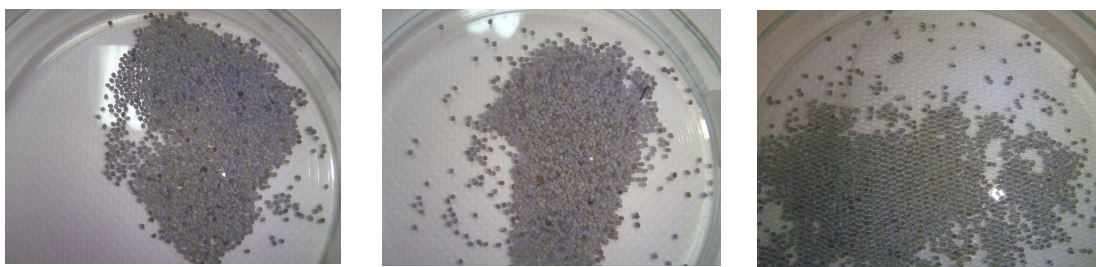
	Θερμοκρασία (°C)	Υγρασία %	Φωτοπερίοδος	
			Φως (h)	Σκοτάδι (h)
1^η ημέρα	20	80	18	6
2^η ημέρα	20	80	18	6
3^η ημέρα	20	80	18	6
4^η ημέρα	25	80	18	6
5^η ημέρα	25	80	18	6
6^η ημέρα	25	80	18	6
7^η ημέρα	25	80	18	6
8^η ημέρα	25	80	18	6
9^η ημέρα	25	80	18	6
10^η ημέρα	25	80	18	6

Πριν την ολοκλήρωση της επώασης, κατά τη φάση του αποχρωματισμού των αυγών, αυτά καλύπτονταν με μικρά κομμάτια από διάτρητο υλικό (τούλι) με μέγεθος και σχήμα όμοιο με αυτό του τριβλίου (κυκλικό) (**Εικ. 2.12**). Η διατομή των πόρων του διάτρητου υλικού ήταν τέτοια ώστε τυχόν ανεκκόλαπτα αυγά ή άδεια κελύφη να μη μπορούν να το διαπεράσουν, ενώ οι νεοεκκολαφθείσες προνύμφες, στην αναζήτησή τους για τροφή να το διαπερνούν.

Μόλις εντοπιζόνταν οι πρώτες εκκολαφθείσες προνύμφες, τοποθετούνταν στα τριβλία, πάνω από το τούλι, ολόκληρα μικρά τρυφερά φύλλα μουριάς μαζί με το μίσχο τους, προκειμένου όλες οι εκκολαπτόμενες προνύμφες να μετακινηθούν προς την τροφή, εγκαταλείποντας τα άδεια κελύφη και τα ανεκκόλαπτα αυγά (**Εικ. 2.13**).

Επειδή η εκκόλαψη των προνυμφών συμβαίνει συνήθως τις πρωινές ώρες, όσες προνύμφες είχαν εκκολαφθεί μέχρι το μεσημέρι και είχαν μετακινηθεί προς αναζήτηση τροφής, συλλέγονταν και τοποθετούνταν σε πλαστική λεκάνη (**Εικ. 2.14**) εντός του ίδιου χώρου,

όπου επρόκειτο να γίνει η εκτροφή των πρώτων ηλικιών, όπως περιγράφεται ακολούθως.



Εικόνα 2.12: Τριβλία με μεταξόσπορο έτοιμο για εκκόλαψη



Εικόνα 2.13: Νεοεκκολαφθείσες προνύμφες κατά το πρώτο τους γεύμα, άδεια κελύφη και ανεκκόλαπτα αυγά, μαζική εκκόλαψη

Κατά κανόνα, την πρώτη ημέρα εκκολάπτεται ένα μικρό ποσοστό των προνυμφών, ενώ το μεγαλύτερο μέρος αυτών εκκολάπτεται τη δεύτερη ημέρα. Η εκκόλαψη συνήθως συνεχίζεται και τις επόμενες ημέρες, με φθίνοντα ρυθμό. Μεταξόσπορος με ποσοστό εκκολαπτικότητας από 95% και πάνω, μέσα σε 3 – 4 το πολύ ημέρες, θεωρείται ότι παρουσιάζει κανονική και συγχρονισμένη εκκόλαψη και είναι εντός των προβλεπόμενων προδιαγραφών.



Εικόνα 2.14: Μεταφορά νεοεκκολαφθεισών προνυμφών σε λεκάνη εκτροφής

Η ημέρα εκκόλαψης των πρώτων προνυμφών, θεωρείτο ημέρα έναρξης της εκκόλαψης. Μετά το πέρας και της τέταρτης ημέρας και την παραλαβή των εκκολαφθέντων προνυμφών, αφαιρείτο το τούλι από την επιφάνεια του τριβλίου, ενώ τα κενά κελύφη και πιθανά ανεκκόλαπτα αυγά αφήνονταν στον πυθμένα. Στη συνέχεια και με τη βοήθεια μεγεθυντικού φακού καταμετρούνταν τα ανεκκόλαπτα αυγά (**Εικ. 2.15**). Έχοντας ως δεδομένο τον αρχικό συνολικό αριθμό των αυγών που περιείχε το τριβλίο, ο οποίος είχε καταγραφεί κατά τη διαδικασία καταμέτρησης του αριθμού των αυγών με τη μέθοδο του βάρους (παρ. 2.2.1.1.2.) και λαμβάνοντας υπόψη τον αριθμό των μη εκκολαφθέντων αυγών μετά το πέρας της τέταρτης μετά την έναρξη της εκκόλαψης ημέρας, υπολογιζόταν ο αριθμός των εκκολαφθέντων αυγών και το ποσοστό εκκολαπτικότητας του δείγματος, με την εξίσωση

$$(\delta) = (\gamma) \times 100 / (\alpha)$$

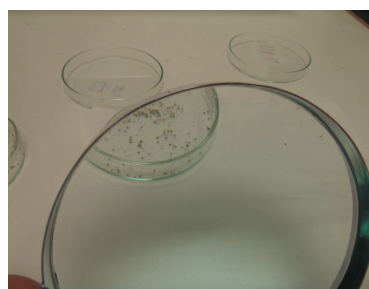
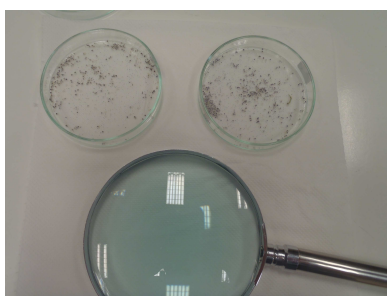
όπου:

(α) = Αριθμός αυγών εντός του τριβλίου

(β) = Αριθμός ανεκκόλαπτων αυγών

(γ) = (α-β) = αριθμός εκκολαφθέντων αυγών

(δ) = $\frac{(\gamma) \times 100}{(\alpha)}$ = ποσοστό εκκολαπτικότητας



Εικόνα 2.15: Προσδιορισμός ποσοστού εκκολαπτικότητας με μεγεθυντικό φακό

2.2.1.1.5. Έκδοση πιστοποιητικού καταλληλότητας μεταξόσπορου

Τα δεδομένα των παρατηρήσεων που προηγήθηκαν καταγράφονταν σε ειδικό πρωτόκολλο και εφόσον ο μεταξόσπορος πληρούσε τις προβλεπόμενες από τις Εθνικές και Κοινοτικές διατάξεις

προϋποθέσεις, εκδίδετο πιστοποιητικό καταλληλότητας (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 5**).

2.2.1.2. Εκτροφές των εμπορικών υβριδίων

Στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκαν επίσης έλεγχοι που αφορούσαν στη βιωσιμότητα των προνυμφών, στη χρονική διάρκεια της εκτροφής (διάρκεια προνύμφης), στο ποσοστό κλαδώματος και σε χαρακτηριστικά των παραγόμενων κουκουλιών.

Προκειμένου τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα, έγινε περιορισμός των διακυμάνσεων παραγόντων που μπορούν να επηρεάσουν τη φυσιολογία των προνυμφών και το τελικό αποτέλεσμα της εκτροφής, δηλαδή την παραγωγή κουκουλιών. Σε όλες τις εκτροφές, αμέσως μετά την εκκόλαψη των προνυμφών ακολουθήθηκαν τα ίδια βήματα, χρησιμοποιήθηκε ίδιας ποιότητας, ίση σε ποσότητα και ίδια σε αριθμό γευμάτων τροφή για κάθε ένα από τα υβρίδια, ανάλογα με το αναπτυξιακό στάδιο (ηλικία), ενώ οι συνθήκες εντός των θαλάμων εκτροφής ελέγχονταν και ρυθμιζονταν έτσι ώστε να παραμένουν σταθερές σε κάθε φάση των εκτροφών, ανάλογα με τις απαιτήσεις της εκάστοτε ηλικίας.

2.2.1.2.1 Απολύμανση χώρων και εργαλείων

Για την απολύμανση των χώρων και των μέσων που χρησιμοποιήθηκαν (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 6**) έγινε εφαρμογή του απολυμαντικού σκευάσματος **DALCO-100 (Εικ. 2.16)** της εταιρείας **DALCOCHEM A.B.E.E.Φ.Α.** Το DALCO-100 είναι σταθεροποιημένο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου (**ClO₂**), το οποίο είναι εξαιρετικά δραστικό στην καταπολέμηση ευρέως φάσματος βακτηρίων, μυκήτων, ζυμών, άλγεων και άλλων μικροβιακών παραγόντων (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 7**).

Το άτομο που διενεργούσε την απολύμανση φορούσε κατάλληλη μάσκα και προστατευτικά ρούχα (**Εικ. 2.17**), ενώ για τον ψεκασμό χρησιμοποιείτο ψεκαστήρα πίεσεως και συμπιεστής αέρος (κομπρεσέρ) (**Εικ. 2.18**)



Εικόνα 2.16: Το απολυμαντικό σκεύασμα **DALCO – 100**



Εικόνα 2.17: Προστατευτική μάσκα και ρούχα κατά τον ψεκασμό



Εικόνα 2.18: Ψεκαστήρα πίεσεως και αεροσυμπιεστή

Προκειμένου η απολύμανση που διενεργείται να έχει τα επιθυμητά αποτελέσματα, λαμβανόταν μέριμνα ώστε να γίνεται ενεργοποίηση του σκευάσματος σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή με την εξής διαδικασία:

- Σε 200 ml του εμπορικού σκευάσματος Dalco 100 προστίθεντο 5ml οργανικού οξέως (οξαλικό οξύ ή οξικό οξύ ή κιτρικό οξύ).
- Το διάλυμα παρέμενε για περίπου 10 λεπτά, προκειμένου να ολοκληρωθεί η ενεργοποίηση (από pH 8,5 σε pH 2,5)
- Τα 205 ml του ενεργοποιημένου διαλύματος προστίθεντο σε 9,8 lt νερό και εισάγονταν στην ψεκαστήρα πίεσεως.

Ψεκάζονταν σχολαστικά όλες οι επιφάνειες, το δάπεδο, οι τοίχοι και η οροφή του χώρου εκτροφής, ενώ εμβαπτιζονταν στο ενεργοποιημένο απολυμαντικό σκεύασμα όλα τα εργαλεία και τα μέσα που θα χρησιμοποιούντο κατά τη διάρκεια της εκτροφής και του κλαδώματος.

2.2.1.2.2. Εκτροφή πρώτων ηλικιών (1^η – 3^η ηλικία)

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η εκκόλαψη των προνυμφών συμβαίνει συνήθως τις πρωινές ώρες της ημέρας. Όσες προνύμφες είχαν εκκολαφθεί μέχρι το μεσημέρι και είχαν μετακινηθεί προς αναζήτηση τροφής, συλλέγονταν και τοποθετούνταν σε πλαστική λεκάνη εκτροφής **(Εικ. 2.19)**

Η συλλογή των προνυμφών γινόταν με τη λήψη από το μίσχο και μεταφορά ολόκληρου του χορηγηθέντος μορεόφυλλου πάνω στο οποίο είχαν μετακινηθεί μετά την εκκόλαψή τους για να τραφούν. Τυχόν εκκολαφθείσες προνύμφες οι οποίες είχαν διαπεράσει το διάτρητο τούλι αλλά δεν είχαν προσκολληθεί στο μορεόφυλλο ή είχαν πέσει απ' αυτό, μεταφέρονταν στη λεκάνη εκτροφής με τη χρήση λεπτού πινέλου **No 2 (Εικ. 2.20)**.

Προκειμένου να μην αναμιγνύονται οι προνύμφες που εκκολάπτονταν σε διαφορετικές ημέρες, γεγονός το οποίο θα είχε ως επακόλουθο το σχηματισμό ομάδων ανομοιογενών ως προς την ανάπτυξη και το συγχρονισμό των απαιτούμενων χειρισμών, τα εκκολαφθέντα άτομα τοποθετούνταν σε διαφορετική λεκάνη εκτροφής, ανάλογα με την ημερομηνία εκκόλαψης. Ο πυθμένας των λεκανών καλυπτόταν με διηθητικό χαρτί, προκειμένου να απορροφάται η υγρασία των στρωμών.

Η εκτροφή μέχρι και την 3^η ηλικία πραγματοποιείτο στον ίδιο χώρο, στον οποίο γινόταν και η επώαση των αυγών (επώαστικός θάλαμος – θάλαμος εκτροφής πρώτων ηλικιών) **(Εικ. 2.7) (Παράρτημα II, Υπόμνημα 8)**.



Εικόνα 2.19: Πλαστική λεκάνη εκτροφής



Εικόνα 2.20: Μεταφορά νεαρών προνυμφών με τη χρήση πινέλου no 2

Γινόταν συνεχής έλεγχος και καταγραφή των συνθηκών εκτροφής λαμβάνοντας μετρήσεις θερμοκρασίας και υγρασίας, με τον ίδιο τρόπο και εξοπλισμό, ο οποίος περιγράφηκε νωρίτερα (**παρ. 2.2.1.1.4**), κατά τη φάση επώασης των αυγών, με τη χρήση υγρόμετρου, υγρού – ξηρού θερμομέτρου, και ηλεκτρονικού καταγραφέα δεδομένων τύπου **HOBO® RH/Temp/Light/External Data Logger - H08-004-02** της εταιρείας Onset Computer Corporation, MA, USA. (**Πιν. 2.2**) (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 9**).

Πίνακας 2.2: Θερμοϋγρομετρικές συνθήκες εκτροφής πρώτων ηλικιών εμπορικών υβριδίων

	T (°C)	RH (%)
1^η ηλικία	25 ± 1	80 ± 1
2^η ηλικία	25 ± 1	80 ± 1
3^η ηλικία	25 ± 1	70 ± 1

Πραγματοποιούνταν τρία ταΐσματα την ημέρα, μεριμνώντας πάντα για τη χορήγηση της απαραίτητης ποσότητας τεμαχισμένων μορεόφυλλων και για τη διατήρηση των κατάλληλων συνθηκών

θερμοκρασίας και υγρασίας στους χώρους εκτροφής (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 10**).

2.2.1.2.3. Εκτροφή 4ης και 5ης ηλικίας

Η εκτροφή της 4ης και 5ης ηλικίας των προνυμφών γινόταν σε διαφορετικό χώρο από αυτό στον οποίο λάμβαναν χώρα η επώαση των αυγών και η εκτροφή των πρώτων – ευαίσθητων ηλικιών.

Μετά την ολοκλήρωση του 3ου ύπνου και της 3ης έκδυσης, και πριν την έναρξη χορήγησης τροφής, οι σχηματισθείσες ομοιόμορφες ομάδες προνυμφών 4ης ηλικίας τοποθετούνταν σε κενές πλαστικές λεκάνες, προκειμένου να μεταφερθούν στον κυρίως χώρο εκτροφής, όπου οι συνθήκες θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας ρυθμιζόνταν επίσης με τη χρήση κλιματιστικού **TECO** και υγραντήρα χώρου **HR-15** της εταιρείας **Aquaculture hydroponics**. Σχηματιζόνταν ομοιόμορφες ομάδες των διακοσίων ατόμων. Λόγω του μεγάλου μεγέθους των προνυμφών σε αυτή τη φάση του βιολογικού τους κύκλου, η μεταφορά τους γινόταν με το χέρι. Σημειώνεται ότι χρησιμοποιούνταν πλαστικά γάντια μίας χρήσης τα οποία αντικαθιστούνταν για κάθε πληθυσμό, προς αποφυγή ενδεχόμενης μετάδοσης παθογόνων.

Ο χώρος φωτιζόταν φυσικά χωρίς άμεση πρόσπτωση της ηλιακής ακτινοβολίας επί των εκτρεφόμενων πληθυσμών. Οι εκτροφές πραγματοποιούνταν σε μεταλλικές τροχήλατες εταζέρες τριών επιπέδων (**Εικ. 2.21, 2.22**).

Ο έλεγχος και η καταγραφή των συνθηκών εκτροφής ήταν και σε αυτή την περίπτωση συνεχής και πραγματοποιείτο λαμβάνοντας μετρήσεις θερμοκρασίας και υγρασίας (**Πιν. 2.3**), όπως περιγράφηκε νωρίτερα κατά τη φάση επώασης των αυγών (**παρ. 2.2.1.1.4**) και κατά τη φάση της εκτροφής των πρώτων ηλικιών (**παρ. 2.2.1.2.2**).



Εικόνα 2.21: Λεπτομέρεια τροχήλατης εταζέρας



Εικόνα 2.22: Μεταλλικές τροχήλατες εταζέρες

- οι επιφάνειες εκτροφής προσαρμόζονται συρταρωτά στο σκελετό της εταζέρας
- περιφερειακά μεταλλικός σκελετός
- επιφάνεια εκτροφής κατασκευασμένη από συρμάτινο πλέγμα για ικανοποιητικό αερισμό και αποτροπή ανάπτυξης υπερβολικής υγρασίας και μυκήτων
- μεταξύ του συρμάτινου πλέγματος και των εκτρεφόμενων μεταξοσκωλήκων τοποθετείτο χαρτί σε όλη την επιφάνεια εκτροφής

Πίνακας 2.3: Θερμοϋγρομετρικές συνθήκες εκτροφής 4^{ης} – 5^{ης} ηλικίας εμπορικών υβριδίων

	Ta (°C)	RH (%)
4^η ηλικία	24 ± 1	65 ± 1
5^η ηλικία	22 ± 1	60 ± 1

Πραγματοποιούνταν τρία ταΐσματα την ημέρα, μεριμνώντας πάντα για τη χορήγηση της απαραίτητης ποσότητας ολόκληρων μορεόφυλλων ή κλαδίσκων ανάλογα με τη φάση της εκτροφής (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 11**).

2.2.1.2.4. Αραιώση των προνυμφών

Εάν δε ληφθεί κατάλληλη μέριμνα για την απαραίτητη αραιώση, η πυκνότητα των εκτρεφόμενων προνυμφών γίνεται πολύ υψηλή, οδηγώντας στην εμφάνιση συνθηκών συνωστισμού (**Εικ. 2.23**). Σε μια τέτοια περίπτωση οι προνύμφες αδυνατούν να καταναλώσουν επαρκή ποσότητα τροφής και υποσιτίζονται, με δυσμενείς συνέπειες για τη φυσιολογία και την υγεία τους.



Εικόνα 2.23: Συνθήκες συνωστισμού

Οι κατάλληλες ενέργειες για τη σωστή αραιώση πρέπει να εφαρμόζονται από την πρώτη κιόλας ηλικία, από τη στιγμή της εκκόλαψης (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 12**). Για το σκοπό αυτό ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία. Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, η συλλογή των εκκολαπτόμενων προνυμφών και η μεταφορά τους στις λεκάνες εκτροφής γινόταν με τη λήψη από το μίσχο και μεταφορά ολόκληρου του χορηγηθέντος τρυφερού μορεόφυλλου πάνω στο οποίο είχαν μετακινηθεί μετά την εκκόλαψη τους για να τραφούν. Τα μορεόφυλλα επί των οποίων βρίσκονταν οι νεοεκκολαφθείσες προνύμφες τοποθετούνταν το ένα δίπλα στο άλλο και σε σχετική απόσταση μεταξύ τους. Στη συνέχεια και κατά τη χορήγηση τροφής, αυτή τοποθετείτο όχι μόνο πάνω στα υπολείμματα του προηγούμενου γεύματος και στους εκτρεφόμενους μεταξοσκώληκες, αλλά καλύπτοντας περιφερειακά και τη

γύρω από την κατειλημμένη από τις προνύμφες επιφάνεια, προκειμένου οι τελευταίες να μετακινηθούν και προς τα έξω, έτσι ώστε συνεχώς να αυξάνεται η επιφάνεια που καταλαμβάνουν (**Εικ. 2.24**). Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνονταν σε κάθε τάισμα στις τρεις πρώτες ηλικίες, με αποτέλεσμα μέχρι τον τρίτο ύπνο η πυκνότητα της εκτροφής να διατηρείται σε ικανοποιητικά επίπεδα.

Ύστερα από την ολοκλήρωση της 3^{ης} έκδυσης οι προνύμφες μεταφέρονταν στον κυρίως χώρο του σηροτροφείου σε ομοιόμορφες ομάδες των διακοσίων ατόμων.

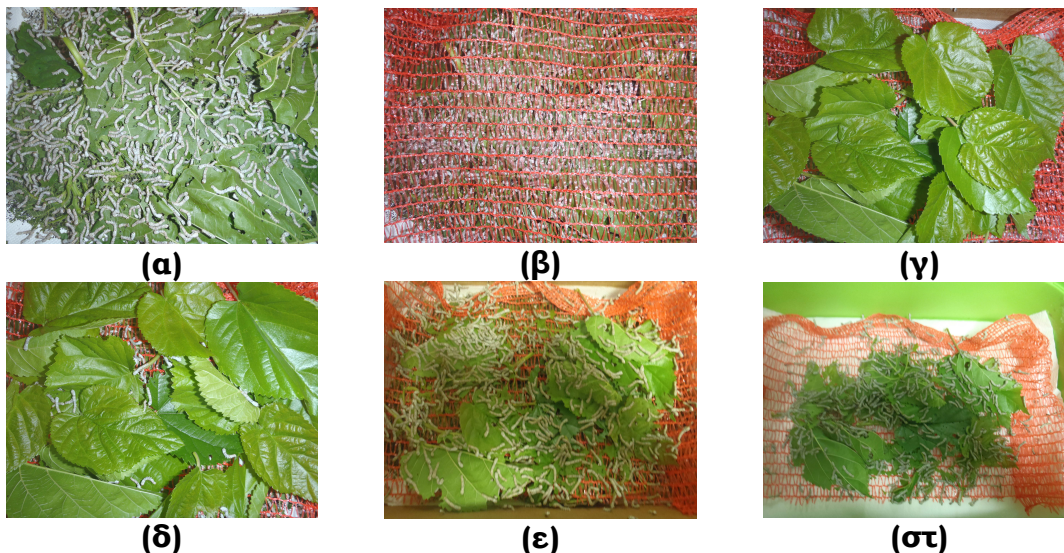


Εικόνα 2.24: Χορήγηση τροφής περιφερειακά γύρω από τις εκτρεφόμενες προνύμφες για την επίτευξη της αραιώσης

2.2.1.2.5. Αφαίρεση στρωμών

Για την αφαίρεση των στρωμών (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 13**) χρησιμοποιείται δικτυωτό υλικό από νάιλον, κατάλληλου μεγέθους και σχήματος, έτσι ώστε να καλύπτεται η επιφάνεια των λεκανών εκτροφής (**Εικ. 2.25**). Η αλλαγή της στρωμνής γινόταν κάθε δεύτερη ημέρα, κατά το πρώτο ημερήσιο τάισμα. Πριν τη χορήγηση της τροφής, απλωνόταν πάνω από τις εκτρεφόμενες προνύμφες το δικτυωτό υλικό και πάνω από αυτό τοποθετείτο η τροφή. Πριν το δεύτερο ημερήσιο τάισμα, το δίχτυ μαζί με τη χορηγηθείσα τροφή και τους μεταξοσκώληκες που το είχαν διαπεράσει, μεταφερόταν σε νέα λεκάνη. Στη συνέχεια ή εναπομείνασα στρωμνή εξεταζόταν για πιθανή παρουσία προνυμφών οι οποίες δεν είχαν διαπεράσει το δίχτυ. Οι προνύμφες αυτές, σε περίπτωση που επιδείκνυαν ικανοποιητική κινητικότητα και δραστηριότητα, με τη βοήθεια λεπτού πινέλου (**no 2**) στις πρώτες ηλικίες, ή με το χέρι στην 4^η και 5^η ηλικία, μεταφέρονταν στη νέα λεκάνη ή επιφάνεια εκτροφής όπου

είχαν νωρίτερα τοποθετηθεί οι υπόλοιποι μετασοκώληκες μαζί με το δίχτυ. Τυχόν προνύμφες οι οποίες είχαν παραμείνει στο εσωτερικό της στρωμνής ή εμφάνιζαν στοιχεία συμπεριφοράς που υποδήλωναν την ύπαρξη κάποιας ασθένειας, απορρίπτονταν μαζί με τη στρωμνή.



Εικόνα 2.25: Αφαίρεση της στρωμνής

(α): λεκάνη εκτροφής που χρειάζεται αλλαγή στρωμνής, **(β):** τοποθέτηση δικτυωτού πλέγματος, **(γ):** τοποθέτηση τροφής πάνω στο πλέγμα **(δ):** λίγα λεπτά αργότερα οι πρώτες προνύμφες περνούν το πλέγμα, **(ε):** μία ώρα μετά, σχεδόν όλες οι προνύμφες έχουν περάσει το πλέγμα, **(στ):** μεταφορά σε νέα λεκάνη

Το άνοιγμα των βρόχων του δικτυωτού υλικού που χρησιμοποιείται ήταν ανάλογο του μεγέθους των προνυμφών, αφού πολύ μικρό άνοιγμα δεν θα επέτρεπε στις προνύμφες να το διαπεράσουν, ενώ μεγαλύτερο από το ενδεικνυόμενο άνοιγμα θα δυσκόλευε επίσης τις προνύμφες οι οποίες γλιστρώντας θα ξανάπεφταν στις παλιές στρωμνές. Έτσι, για την πρώτη και τη δεύτερη ηλικία το άνοιγμα ήταν **2 mm²**, για την τρίτη ηλικία το άνοιγμα ήταν **10 mm²**, ενώ για την τέταρτη και πέμπτη ηλικία ήταν **20 mm²** (Ganga, 2003; Ullal and Narasimhanna, 1977).

2.2.1.2.6. Εξισώσεις ηλικιών

Για το συγχρονισμό των εκτροφών **(Παράρτημα II, Υπόμνημα 14)**, οι προνύμφες που εκκολάπτονταν κάθε μέρα, τοποθετούνταν σε διαφορετικές λεκάνες από αυτές που εκκολάπτονταν τις επόμενες ημέρες, όπως έχει ήδη αναφερθεί. Όταν εισέρχονταν στο στάδιο του ύπνου, δεν σταματούσε αμέσως η χορήγηση τροφής, αλλά μειωνόταν σταδιακά η

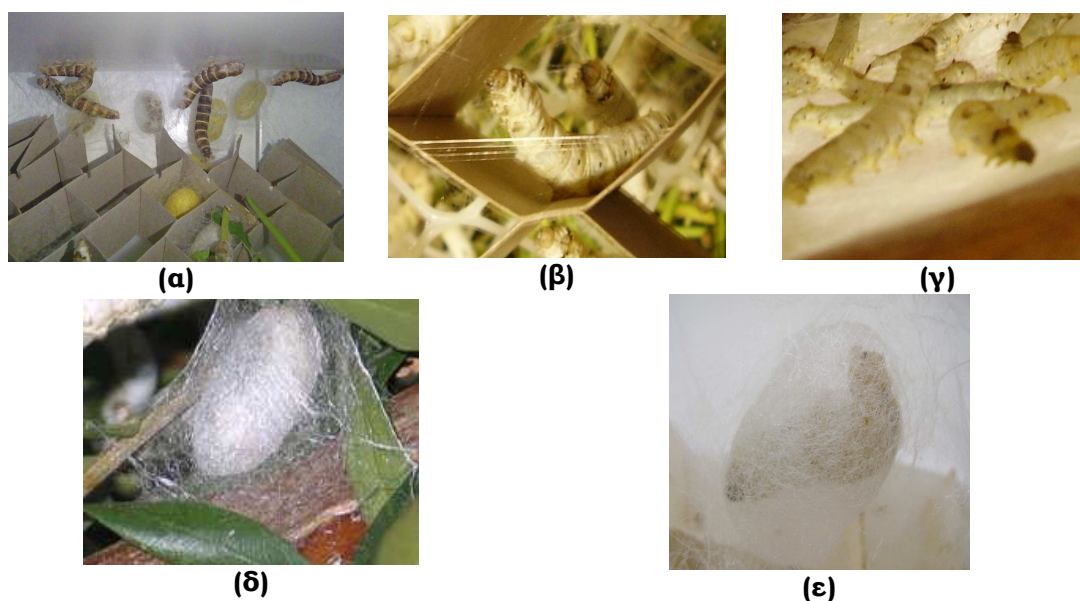
ποσότητα των χορηγούμενων φύλλων, τα οποία τοποθετούνταν περιφερειακά και όχι πάνω στις «κοιμώμενες» προνύμφες, έτσι ώστε αυτές που δεν είχαν ακόμα «κοιμηθεί» να συνεχίσουν να λαμβάνουν τροφή, χωρίς να διαταράσσουν έντονα αυτές που βρίσκονταν ήδη στο στάδιο του ύπνου. Όταν οι μισές προνύμφες ολοκλήρωναν το στάδιο του ύπνου και της έκδυσης, τοποθετούνταν στην επιφάνεια εκτροφής φύλλα με τους μίσχους τους. Οι προνύμφες ανέβαιναν στα φύλλα τα οποία στη συνέχεια μεταφέρονταν σε νέα επιφάνεια εκτροφής, λαμβανόμενα από τους μίσχους. Τυχόν προνύμφες που βρίσκονταν ακόμη σε κατάσταση ύπνου αφήνονταν για 24 ώρες χωρίς τροφή και όταν επαναδραστηριοποιούνταν, τοποθετούνταν σε διαφορετική επιφάνεια εκτροφής. Με τη διαδικασία αυτή γινόταν ταυτόχρονα εκτός από την εξίσωση, η αραίωση και η αφαίρεση της στρωμνής.

2.2.1.2.7. Κλάδωμα, πλοκή κουκουλιών, διάρκεια προνύμφης

Όταν οι προνύμφες του μεταξοσκώληκα πλησιάζουν στην ολοκλήρωση του προνυμφικού αναπτυξιακού σταδίου τους και πριν τη νύμφωση, αρχίζει η φάση του «κλαδώματος», δηλαδή η έναρξη πλοκής του κουκουλιού (**Εικ. 2.26**) με τη χρήση φυσικών ή τεχνητών υλικών (**Εικ. 2.28**) (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 15**).

Για της ανάγκες της παρούσας διατριβής, ως υλικό κλαδώματος χρησιμοποιήθηκε ειδικό πλαστικό πλέγμα κυματοειδούς μορφής. Η ημέρα κατά την οποία παρατηρείτο η έναρξη πλοκής του πρώτου κουκουλιού, σε κάθε επιφάνεια εκτροφής, καταγραφόταν και οριζόταν ως ημέρα έναρξης του κλαδώματος. Όταν πλησίαζε η 8^η ημέρα της 5^{ης} ηλικίας γινόταν καθαρισμός των επιφανειών εκτροφής και απόρριψη των στρωμών, ενώ τοποθετούνταν περιφερειακά γύρω από τις προνύμφες, στις παρυφές των επιφανειών εκτροφής, τα κατάλληλα πλαστικά πλέγματα. Η τροφή συνέχιζε να χορηγείται σε μικρότερες ποσότητες στο κέντρο της επιφάνειας εκτροφής, έτσι ώστε οι περιφέρειες να παραμένουν καθαρές και ελεύθερες για το σχηματισμό των κουκουλιών. Κάθε ημέρα μετά την εμφάνιση του πρώτου κουκουλιού γινόταν

παρατήρηση της επιφάνειας εκτροφής και καταγραφόταν ο αριθμός των κουκουλιών των οποίων είχε αρχίσει η πλοκή.



Εικόνα 2.26: Πλοκή κουκουλιού

(α), (β), (γ): προνύμφες έτοιμες για κλάδωμα, (δ), (ε): έναρξη πλοκής κουκουλιού



Εικόνα 2.27: Υλικά κλαδώματος (φυσικά –τεχνητά)

Η ημέρα έναρξης της πλοκής του πρώτου κουκουλιού καταγραφόταν στο πρωτόκολλο εκτροφής ως ημέρα έναρξης του κλαδώματος.

2.2.1.2.8. Συλλογή κουκουλιών – ξεκλάδωμα

Μέσα σε έξι το πολύ ημέρες από την εμφάνιση του πρώτου κουκουλιού θεωρείται ότι το κλάδωμα έχει ολοκληρωθεί σε κάθε εκτρεφόμενη ομάδα. Την έβδομη ημέρα μετά την έναρξη του κλαδώματος, γινόταν η συλλογή των σχηματισμένων κουκουλιών (ξεκλάδωμα). Επίσης γινόταν καταμέτρηση των προνυμφών που δεν είχαν νυμφωθεί ή είχαν νυμφωθεί χωρίς να έχουν πλέξει κουκούλι. Όλα τα συλλεχθέντα κουκούλια φυλάσσονταν ξεχωριστά ανά πληθυσμό.

2.2.1.2.9. Ποσοστό επιβίωσης προνυμφών

Από την έναρξη της 4^{ης} ηλικίας και μετά οι εκτροφές πραγματοποιούνταν σε ομοιόμορφες – εξισωμένες ομάδες των διακοσίων ατόμων. Επιπλέον, κατά την έναρξη της 5^{ης} ηλικίας και σε περίπτωση που παρατηρείτο απώλεια ατόμων που είχε σημειωθεί στην 4^η ηλικία, συμπληρωνόταν ο αριθμός των 200 ατόμων σε κάθε ομάδα εκτροφής. Η συμπλήρωση γινόταν από ομάδα προνυμφών η οποία εκτρεφόταν παράλληλα και διατηρείτο σε όμοιες συνθήκες παίζοντας το ρόλο της «δεξαμενής». Λαμβάνοντας υπόψη και για τις δύο αυτές ηλικίες τον αριθμό 200 ως αρχικό αριθμό εκτρεφόμενων ατόμων (**N1**), υπολογίστηκε το ποσοστό επιβίωσης για την κάθε ηλικία ως εξής

$$SR_{(4,5)} = SR_{(4)} \times SR_{(5)}$$

όπου:

SR_(4,5) = το συνολικό ποσοστό επιβίωσης ανά εκτρεφόμενη ομάδα, λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό επιβίωσης της 4^{ης} και στην 5^η ηλικίας

SR₍₄₎ = $N2_{(4)} \times \frac{100}{N1}$: το ποσοστό επιβίωσης για την 4^η ηλικία

SR₍₅₎ = $N2_{(5)} \times \frac{100}{N1}$: το ποσοστό επιβίωσης για την 5^η ηλικία

N1 = 200

N2₍₄₎ = ο αριθμός των προνυμφών που αποδερματώθηκαν κανονικά και εισήλθαν στην 5^η ηλικία (αριθμός επιβιωσάντων ατόμων 4^{ης} ηλικίας)

N2₍₅₎ = ο αριθμός των σχηματισθέντων απλών κουκουλιών συν τον αριθμό των διπλών κουκουλιών επί δύο, συν τον αριθμό των ζωντανών προνυμφών που δεν νυμφώθηκαν ή νυμφώθηκαν χωρίς να σχηματίσουν κουκούλι (αριθμός επιβιωσάντων ατόμων 5^{ης} ηλικίας)

2.2.1.2.10. Ποσοστό κλαδώματος, βάρος χλωρών κουκουλιών, ποσοστό κελύφους

Μετά τη συλλογή, τον καθαρισμό και το διαχωρισμό των ελαττωματικών από τα καλά κουκούλια, πραγματοποιούνταν μετρήσεις που αφορούσαν στον αριθμό και στο βάρος των κουκουλιών και στο ποσοστό κελύφους, παράγοντες οι οποίοι χρησιμοποιούνται διεθνώς ως

δείκτες απόδοσης και ποιότητας, καθώς συσχετίζονται άμεσα με την παραγωγικότητα της εκτροφής, την απόδοση των κουκουλιών σε μετάξι και την οικονομικότητα της σηροτροφικής επιχείρησης.

Αρχικά, γινόταν καταμέτρηση και καταγραφή του συνολικού αριθμού των κουκουλιών που συλλέγονταν τόσο των καλών όσο των και ελαττωματικών και υπολογιζόταν το ποσοστό κλαδώματος. Επειδή, όπως αναφέρθηκε, ο αρχικός αριθμός εκτροφομένων ατόμων κατά την πέμπτη ηλικία σε κάθε επιφάνεια εκτροφής ήταν σταθερός και ίσος με 200, το ποσοστό κλαδώματος υπολογιζόταν ως ποσοστό επί αυτού του αριθμού.

Στη συνέχεια γινόταν ο διαχωρισμός και η κατάταξη των κουκουλιών σε **καλά (Εικ.) 2.28** και **ελαττωματικά (Εικ. 2.29)**.



Εικόνα 2.28: καλά κουκούλια



Εικόνα 2.29: Ελαττωματικά κουκούλια.

Ακολουθώς είκοσι από τα σχηματισθέντα καλά απλά κουκούλια παραλαμβάνονταν τυχαία, προκειμένου να καταγραφεί το βάρος κλωρού κουκουλιού και το βάρος κελύφους (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 16**). Για την καταγραφή του βάρους χρησιμοποιείται ψηφιακός ζυγός ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων **Kern 510 (Εικ. 2.2)**. Στη συνέχεια τα ίδια κουκούλια κόβονταν κατά μήκος, με τη χρήση νυστεριού και αφαιρούνταν από το εσωτερικό τους οι νύμφες και τα εκδύματα της τελευταίας έκδυσης των προνυμφών, η οποία έλαβε χώρα εντός των κουκουλιών κατά τη μεταμόρφωση των προνυμφών σε νύμφες. Τα άδεια

κομμένα κουκούλια, τα οποία ονομάζονται «κελύφη» ζυγίζονταν εκ νέου στον ψηφιακό ζυγό.

2.2.2. Δημιουργία, διατήρηση, μελέτη και καταγραφή καθαρών σειρών μεταξοσκωλήκων

Αναφορικά με τις καθарές σειρές (**Παράρτημα I, Υπόμνημα 17**), μελετήθηκαν και καταγράφηκαν τα χαρακτηριστικά πληθυσμών μεταξοσκωλήκων οι οποίοι προέρχονταν είτε από εμπορικά υβρίδια ύστερα από ελεγχόμενες – κατευθυνόμενες συζεύξεις, είτε από πληθυσμούς από το υπάρχον υλικό του εργαστηρίου.

2.2.2.1. Πρωτογενές γενετικό υλικό

Οι καθарές σειρές μεταξοσκωλήκων οι οποίες δημιουργήθηκαν και ταυτοποιήθηκαν προέρχονταν:

α) Από το κινεζικό εμπορικό υβρίδιο Qiufeng X Βαίγυ και το τουρκικό εμπορικό υβρίδιο M X N

Από τους απογόνους των εν λόγω υβριδίων επιλέχθηκαν άτομα τα οποία επιδείκνυαν συγκεκριμένα επιθυμητά ποιοτικά χαρακτηριστικά σε σχέση με το μέγεθος του παραγόμενου κουκουλιού και το ποσοστό κλαδώματος. Οι πληθυσμοί που προέκυψαν από τις συζεύξεις των παραπάνω ατόμων επιλέχθηκαν περαιτέρω και πραγματοποιήθηκαν διαδοχικές εκτροφές και συζεύξεις των ενηλίκων, προκειμένου να διατηρηθούν τα επιθυμητά χαρακτηριστικά. Άτομα που δεν πληρούσαν τις προβλεπόμενες προϋποθέσεις αποκλείονταν από την εκτροφή και την αναπαραγωγή. Οι κατευθυνόμενες συζεύξεις συνεχίστηκαν τουλάχιστον για επτά γενεές, απορρίπτοντας σε κάθε γενεά τυχόν άτομα που παρουσίαζαν αποκλίσεις από τα επιθυμητά χαρακτηριστικά.

β) Από το γενετικό υλικό του εργαστηρίου

Το Εργαστήριο Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας σε συνεργασία με το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών διατηρεί πληθυσμούς οι οποίοι προέρχονται από προγενέστερες εκτροφές και πειραματισμούς, χωρίς να έχει γίνει συστηματική καταγραφή τους και προσπάθεια διατήρησης συγκεκριμένων χαρακτήρων, στο πρόσφατο παρελθόν. Από τους πληθυσμούς αυτούς έγινε επιλογή εκείνων με τα πλέον επιθυμητά χαρακτηριστικά, σε σχέση με το μέγεθος του παραγόμενου κουκουλιού

και την αναπαραγωγική ικανότητα. Επίσης, ελήφθησαν υπόψη ιδιαίτερα γνωρίσματα όπως το χρώμα της αιμολέμφου, το χρώμα του κουκουλιού και η εμφάνιση χαρακτηριστικών στην προνύμφη, όπως π.χ. ραβδώσεις, προσωπίδα, ημισέληνος, κ.ά. Οι απόγονοι των ατόμων αυτών επιλέχτηκαν, αφού καταγράφηκαν τα χαρακτηριστικά τους. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν εκ νέου εκτροφές των απογόνων των παραπάνω ατόμων, με όμοιο τρόπο όπως αυτός περιγράφηκε στο εδάφιο 2.2.2.1.α.

2.2.2.2. Προφύλαξη από μεταδοτικές ασθένειες

Οι νεοεισερχόμενοι στο εργαστήριο πληθυσμοί, σε περίπτωση που δεν προέρχονταν από πιστοποιημένο οίκο παραγωγής, όπως συμβαίνει με τα αναγνωρισμένα εμπορικά υβρίδια, εκτρέφονται πάντα σε ξεχωριστό, απομονωμένο χώρο για τις πρώτες δύο γενεές, χωρίς να έρχονται σε επαφή με τους υπόλοιπους πληθυσμούς και υλικά του εργαστηρίου. Μόνο όταν βεβαιωνόταν η μη προσβολή των πληθυσμών αυτών από το πρωτόζωο της πιπερίτιδας (*Nosema bombycis*), επιτρεπόταν η επαφή τους με τα υλικά και τον εξοπλισμό του εργαστηρίου και η εκτροφή τους στους ίδιους χώρους στους οποίους εκτρέφονται και οι υπάρχοντες πληθυσμοί. Πριν την εκκόλαψη, στη φάση του αποχρωματισμού των αυγών, οι ωτοκίες απολυμαίνονταν εμβαπτιζόμενες σε διάλυμα φορμόλης 2%.

2.2.2.3. Επιλογή, διατήρηση πληθυσμών και καταγραφή επιθυμητών χαρακτηριστικών

Κατά κανόνα, για τις μονόγονες και δίγονες φυλές οι οποίες εκτρέφονται σε εύκρατες περιοχές όπως η χώρα μας, είναι απαραίτητη πραγματοποίηση εκτροφής μία φορά ανά έτος, κατά τη διάρκεια της ενδεδειγμένης για κάθε πληθυσμό εποχής. Η πρακτική αυτή εφαρμόστηκε για τους πληθυσμούς οι οποίοι μελετήθηκαν κατά την υλοποίηση της παρούσας Διατριβής.

Μετά την εκκόλαψη, οι προνύμφες που προέρχονταν από ωτοκίες οι οποίες παρουσίαζαν ποσοστό εκκολαψιμότητας από 95% και πάνω, επιλέγονταν προκειμένου να συνεχιστεί η εκτροφή τους. Μόνο οι

προνύμφες που εκκολάπτονταν την ημέρα της «μαζικής» εκκόλαψης οδηγούνταν για εκτροφή.

Προκειμένου να αποφευχθεί η έντονη ομομικτική υποβάθμιση και να διατηρηθούν τα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά των υπό μελέτη πληθυσμών, οι νεοεκκολαπτόμενες προνύμφες οι οποίες εκτρέφονταν και χρησιμοποιούνταν για την παραγωγή απογόνων, προέρχονταν τουλάχιστον από είκοσι διαφορετικές ωοτοκίες.

Επιδιωκόταν η διατήρηση της καθαρότητας του κάθε πληθυσμού σε όλα τα στάδια, από τη φύλαξη και διαχείριση των αυγών, την επώασή τους, την εκτροφή, το κλάδωμα, τη συλλογή των κουκουλιών, μέχρι και τη μεταμόρφωση των νυμφών σε ενήλικα, τη σύζευξη και την παραγωγή των αυγών της επόμενης γενεάς. Σε περίπτωση που παρατηρείτο η εμφάνιση ατόμων που φαινοτυπικά απέκλιναν από τα δεδομένα που χαρακτηρίζουν τον μελετούμενο πληθυσμό, αυτά είτε απορρίπτονταν ή στην περίπτωση που υπήρχε η πιθανότητα να αποτελούν κάποια νέα ενδιαφέρουσα μετάλλαξη διατηρούνταν και εκτρέφονταν ξεχωριστά, προκειμένου να μελετηθεί το ενδεχόμενο δημιουργίας και διατήρησης ενός νέου πληθυσμού. Επιπροσθέτως, λαμβάνονταν μέτρα ώστε να μην αναμιγνύονται άτομα διαφορετικών πληθυσμών.

Παράλληλα, υπήρχε μέριμνα ώστε να πραγματοποιείται παραγωγή και διατήρηση τουλάχιστον μίας επαναληπτικής παρτίδας αυγών για κάθε πληθυσμό, και φύλαξής τους σε διαφορετικό χώρο, έτσι ώστε να αποτραπεί η πιθανότητα απώλειάς τους σε ενδεχόμενη ανεπιτυχή εκκόλαψη ή καταστροφή τους, ή μη ολοκληρωμένη εκτροφή και αναπαραγωγή, εξαιτίας απρόβλεπτων ή καταστροφικών καταστάσεων.

2.2.2.4. Εκτροφή των υπό μελέτη πληθυσμών

2.2.2.4.1. Ιδιαιτερότητες εκτροφής

Οι εκτροφές των καθαρών σειρών και των πληθυσμών που αξιοποιήθηκαν για τη δημιουργία καθαρών σειρών, γίνονταν στο χώρο όπου πραγματοποιούνταν η επώαση των αυγών και η εκτροφή των πρώτων ηλικιών των εμπορικών υβριδίων (**Εικ. 2.7**).

Λόγω της μοναδικότητας των πληθυσμών και εξαιτίας του περιορισμένου αριθμού ατόμων που εκτρέφονταν, σε σχέση με τα

εμπορικά υβρίδια, οι εκτροφές πραγματοποιήθηκαν εξ' ολοκλήρου σε εκείνο το χώρο. Η επιλογή αυτή έγινε κυρίως, επειδή οι περιορισμένες διαστάσεις καθιστούν δυνατό τον καλύτερο έλεγχο αλλά και τη ρύθμιση των συνθηκών εκτροφής, ενώ μπορεί να γίνει περισσότερο αποτελεσματική και σχολαστική απολύμανση και αποτροπή εισόδου παθογόνων.

Για τον υπολογισμό του ποσοστού εκκολαπτικότητας ακολουθήθηκε όμοια διαδικασία με αυτή που έχει ήδη περιγραφεί κατά τον υπολογισμό της ίδιας παραμέτρου για τα εμπορικά υβρίδια (**παρ. 2.2.1.1.4**). Βάσει του προσδιορισθέντος ποσοστού εκκολαπτικότητας γινόταν η επιλογή των ομάδων των οποίων θα συνεχιζόταν η εκτροφή.

2.2.2.4.2. Έλεγχος συνθηκών εκτροφής

Η ρύθμιση των συνθηκών που επικρατούσαν κατά τη διάρκεια της εκτροφής, καθώς επίσης ο έλεγχος και η καταγραφή των συνθηκών εκτροφής, ήταν και σε αυτή την περίπτωση συνεχείς και πραγματοποιούνταν όπως έχει ήδη περιγραφεί για τα εμπορικά υβρίδια (**παρ. 2.2.1.1.4., 2.2.1.2.2., 2.2.1.2.3.**).

2.2.2.4.3 Φροντίδες εκτροφής

Καθ' όλη τη διάρκεια της εκτροφής ακολουθούνταν σε μικρότερη κλίμακα, οι διαδικασίες που εφαρμόζονταν κατά τις εκτροφές των εμπορικών υβριδίων. Λαμβανόταν μέριμνα για την **απολύμανση** των χώρων και των εργαλείων εκτροφής, τη σωστή **διατροφή** των προνυμφών, το **αραίωμα**, την **αφαίρεση των στρωμών** και την **εξίσωση** των ηλικιών, όπως έχει ήδη περιγραφεί.

Στις τρεις πρώτες ηλικίες η διατροφή των προνυμφών γινόταν σε επίπεδο κορεσμού, χρησιμοποιώντας ολόκληρα τρυφερά νεαρά μορεόφυλλα τα οποία χορηγούνταν τουλάχιστον τρεις φορές την ημέρα.

Μετά την ολοκλήρωση του 3^{ου} ύπνου και της 3^{ης} έκδυσης, και πριν την έναρξη χορήγησης τροφής, σχηματίζονταν ομοιόμορφες ομάδες των είκοσι (20) ατόμων ανά πληθυσμό. Οι σχηματισθείσες ομοιόμορφες ομάδες προνυμφών 4^{ης} ηλικίας τοποθετούνταν σε ειδικούς κλωβούς

εκτροφής (**Εικ. 2.30**), προκειμένου να συνεχιστεί η εκτροφή των τελευταίων ηλικιών χωρίς κίνδυνο ανάμειξης των διαφορετικών πληθυσμών. Η επιφάνεια εκτροφής καλυπτόταν με διηθητικό χαρτί.



Εικόνα 2.30: Κλωβοί εκτροφής

- κλωβοί σχήματος ορθογώνιου παραλληλεπίπεδου κατασκευασμένοι από κόντρα πλακέ θαλάσσης
- ανοίγματα καλυμμένα από λεπτό διάτρητο ύφασμα στις τρεις κάθετες έδρες
- πάνω οριζόντια έδρα αποτελούμενη από τζάμι

Κατά τη μεταφορά και τους χειρισμούς των προνυμφών χρησιμοποιούνταν πλαστικά γάντια μίας χρήσης τα οποία αντικαθιστούνταν για κάθε πληθυσμό, προς αποφυγή ενδεχόμενης μετάδοσης παθογόνων.

Οι συνθήκες που επικρατούσαν στο χώρο εκτροφής κατά την 4^η και 5^η ηλικία ήταν όμοιες με αυτές των εμπορικών υβριδίων, ενώ η διατροφή των προνυμφών γινόταν σε επίπεδο κορεσμού με ολόκληρα μορεόφυλλα τα οποία χορηγούνταν τουλάχιστον τρεις φορές την ημέρα.

2.2.2.4.4. Κλάδωμα – πλοκή κουκουλιών

Όταν πλησίαζε η ημέρα έναρξης πλοκής των κουκουλιών, τοποθετούνταν τα ειδικά υλικά κλαδώματος, σε μέγεθος αντίστοιχο με αυτό των κλωβών εκτροφής. Η ημέρα κατά την οποία παρατηρείτο η έναρξη πλοκής του πρώτου κουκουλιού, σε κάθε κλωβό εκτροφής, καταγραφόταν και οριζόταν όπως και στα εμπορικά υβρίδια, ως ημέρα έναρξης του κλαδώματος. Κάθε ημέρα μετά την εμφάνιση του πρώτου κουκουλιού γινόταν παρατήρηση του κλωβού εκτροφής και

καταγραφόταν ο αριθμός των κουκουλιών των οποίων είχε αρχίσει η πλοκή.

2.2.2.4.5. Συλλογή κουκουλιών – ξεκλάδωμα

Την έβδομη ημέρα μετά την έναρξη του κλαδώματος, γινόταν το ξεκλάδωμα. Γινόταν καταμέτρηση των προνυμφών που δεν είχαν νυμφωθεί ή είχαν νυμφωθεί χωρίς να έχουν πλέξει κουκούλι. Στη συνέχεια τα σχηματισμένα κουκούλια συλλέγονταν από τα υλικά κλαδώματος και διαχωρίζονταν σε καλά και ελαττωματικά.

2.2.2.5. Καταγραφή χαρακτηριστικών προνυμφών

Κατά τη διάρκεια των εκτροφών καταγράφηκαν τα παρακάτω στοιχεία για κάθε έναν από τους υπό μελέτη πληθυσμούς.

2.2.2.5.1. Διάρκεια προνύμφης

Η διάρκεια προνύμφης υπολογιζόταν όπως και στην περίπτωση των εμπορικών υβριδίων (**παρ. 2.2.1.2.7.**).

2.2.2.5.2. Αριθμός εκδύσεων

Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων έγιναν παρατηρήσεις που αφορούσαν στον αριθμό των εκδύσεων (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 18**) των προνυμφών, οι οποίες αντιστοιχούν στον αριθμό των ύπνων από τους οποίους διέρχονται οι μεταξοσκώληκες. Οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν παρουσίαζαν όλοι 4 εκδύσεις και 5 προνυμφικές ηλικίες.

2.2.2.5.3. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των προνυμφών

Έγιναν παρατηρήσεις και καταγραφές που αφορούσαν στο χρωματισμό και τα σημάδια που εμφανίζονταν στο σώμα των εκτρεφόμενων προνυμφών (**Εικ. 2.31**) (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 19**). Εκτός από τις περιγραφικές καταγραφές, έγιναν και φωτογραφίες ώριμων προνυμφών 5^{ης} ηλικίας, με τη χρήση ψηφιακής φωτογραφικής μηχανής **Olympus μ TOUGH - 8010**.



Εικόνα 2.31: Διάφοροι φαινότυποι των ώριμων προνυμφών

2.2.2.5.4. Χρώμα αιμολέμφου

Το χρώμα της αιμολέμφου (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 20**) καταγράφηκε περιγραφικά στο σχετικό πρωτόκολλο, ύστερα από παρατήρηση των ψευδοποδίων ώριμων προνυμφών 5^{ης} ηλικίας (**Εικ. 2.32**).



Εικόνα 2.32: Προνύμφες με κίτρινη **(α)** και άχρωμη **(β)** αιμολέμφο και αντίστοιχα ψευδοπόδια.

2.2.2.5.5. Ποσοστό επιβίωσης προνυμφών

Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, από την έναρξη της 4^{ης} ηλικίας και μετά οι προνύμφες κάθε πληθυσμού τοποθετούνταν σε ειδικούς «κλωβούς εκτροφής», σε ομοιόμορφες ομάδες των 20 ατόμων, ενώ κατά την έναρξη της 5^{ης} ηλικίας πιθανές απώλειες λόγω θανάτου κάποιων προνυμφών αντικαθίσταντο από δεξαμενή ατόμων η οποία συνέχιζε να εκτρέφεται σε όμοιες συνθήκες για το σκοπό αυτό, όπως συνέβαινε και στην περίπτωση της εκτροφής των εμπορικών υβριδίων

Λαμβάνοντας υπόψη και για τις δύο αυτές ηλικίες τον αριθμό 20 ως αρχικό αριθμό εκτρεφόμενων ατόμων (**N1**), υπολογίστηκε το ποσοστό επιβίωσης για την κάθε ηλικία με όμοιο τρόπο όπως υπολογίστηκε για τα εμπορικά υβρίδια

$$SR_{(4,5)} = SR_{(4)} \times SR_{(5)}$$

όπου:

SR_(4,5) = το συνολικό ποσοστό επιβίωσης ανά εκτρεφόμενη ομάδα, λαμβάνοντας υπόψη το ποσοστό επιβίωσης της 4^{ης} και στην 5^{ης} ηλικίας

SR₍₄₎ = $N2_{(4)} \times \frac{100}{N1}$: το ποσοστό επιβίωσης για την 4^η ηλικία

SR₍₅₎ = $N2_{(5)} \times \frac{100}{N1}$: το ποσοστό επιβίωσης για την 5^η ηλικία

N1 = 20

N2₍₄₎ = ο αριθμός των προνυμφών που αποδερματώθηκαν κανονικά και εισήλθαν στην 5^η ηλικία (αριθμός επιβιωσάντων ατόμων 4^{ης} ηλικίας)

N2₍₅₎ = ο αριθμός των σχηματισθέντων απλών κουκουλιών συν τον αριθμό των διπλών κουκουλιών επί δύο, συν τον αριθμό των ζωντανών προνυμφών που δεν νυμφώθηκαν ή νυμφώθηκαν χωρίς να σχηματίσουν κουκούλι (αριθμός επιβιωσάντων ατόμων 5^{ης} ηλικίας)

2.2.2.5.6. Ποσοστό κλαδώματος

Μετά την ολοκλήρωση της πλοκής των κουκουλιών και τη συλλογή τους, καταμετρήθηκε και καταγράφηκε ο συνολικός αριθμός των κουκουλιών που συλλέχθηκαν από κάθε κλωβό εκτροφής, τόσο των καλών όσο των και ελαττωματικών και υπολογίστηκε το ποσοστό κλαδώματος. Επειδή όπως αναφέρθηκε, ο αρχικός αριθμός εκτροφομένων ατόμων κατά την πέμπτη ηλικία, σε κάθε κλωβό εκτροφής ήταν σταθερός και ίσος με 20, το ποσοστό κλαδώματος υπολογίστηκε ως ποσοστό επί αυτού του αριθμού.

2.2.2.6. Καταγραφή χαρακτηριστικών κουκουλιών – νυμφών

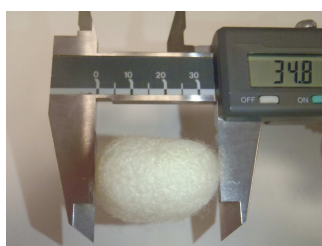
Μετά τη συλλογή των κουκουλιών, την καταμέτρησή τους, το διαχωρισμό των καλών από τα ελαττωματικά και τον υπολογισμό του ποσοστού κλαδώματος, καταγράφηκαν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά των κουκουλιών και των νυμφών που περιέχονταν σε αυτά.

2.2.2.6.1. Χρώμα κουκουλιών

Ο χρωματισμός των κουκουλιών (**Παράρτημα II, Υπόμνημα 21**) καταγράφηκε περιγραφικά στο σχετικό πρωτόκολλο και παράλληλα διατηρήθηκε φωτογραφικό αρχείο των κουκουλιών.

2.2.2.6.2. Βάρος, μήκος, πλάτος, σχήμα κουκουλιών

Το βάρος των κλωρών κουκουλιών μετρήθηκε με ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας τριών (3) δεκαδικών ψηφίων της εταιρείας **Kern**. Στη συνέχεια μετρήθηκε το μήκος και το πλάτος τους με τη χρήση ψηφιακού παχύμετρου της εταιρείας **Mutitoyo** (**Εικ. 2.33**). Επιπλέον καταγράφηκε το σχήμα των κουκουλιών (επίμηκες, ωσειδές, σφαιροειδές ή ζωνωτό), ενώ επίσης έγινε στατιστική συσχέτιση του μήκους με το βάρος του κουκουλιού, με τη χρήση της ανάλυσης απλής παλινδρόμησης.



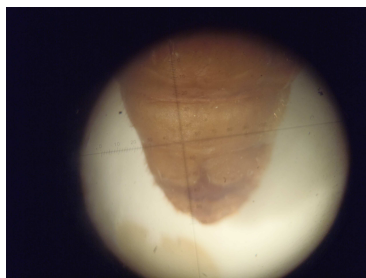
Εικόνα 2.33: Μέτρηση διαστάσεων κουκουλιών με ψηφιακό παχύμετρο **Mutitoyo**

2.2.2.6.3. Βάρος, μήκος, πλάτος, φύλο νυμφών

Μετά τη μέτρηση του βάρους και των διαστάσεων των κουκουλιών, αυτά ανοίχτηκαν κατά μήκος με νυστέρι και αφαιρέθηκε το περιεχόμενό τους, δηλαδή η ζωντανή νύμφη και τα εκδύματα της τελευταίας αποδερμάτωσης που έγινε εντός του κουκουλιού. Στη συνέχεια με τη χρήση του ίδιου ζυγού και του ίδιου ψηφιακού παχύμετρου μετρήθηκαν το βάρος και οι διαστάσεις των νυμφών (**Εικ. 2.34**). Επιπλέον, προσδιορίστηκε το φύλο των νυμφών με τη βοήθεια απλού οπτικού στερεοσκοπίου με παρατήρηση του 8^{ου} κοιλιακού τμήματος (**Εικ. 2.35**)



Εικόνα 2.34: Μέτρηση διαστάσεων νυμφών με ψηφιακό παχύμετρο **Mutitoyo**



(α)



(β)

Εικόνα 2.35: Προσδιορισμός του φύλλου της νύμφης με παρατήρηση του 8^{ου} κοιλιακού τμήματος

2.2.2.6.4. Βάρος κελύφους

Μετά την αφαίρεση του περιεχομένου των ανοιγμένων χλωρών κουκουλιών, αυτά ξαναζυγίζονταν στον ίδιο ζυγό για τον προσδιορισμό του βάρους κελύφους. Το βάρος κελύφους αποτελεί έναν από τους χαρακτηριστικούς και αρκετά χρησιμοποιούμενους δείκτες προσδιορισμού της ποιότητας των παραγόμενων κουκουλιών και έμμεσης εκτίμησης της απόδοσής τους σε μέταξα.

2.2.2.7. Μέτρηση χαρακτηριστικών γονιμότητας των καθαρών σειρών

2.2.2.7.1. Ελεγχόμενες συζεύξεις

Αμέσως μετά τη μέτρηση των διαστάσεων και του βάρους, αλλά και τον προσδιορισμό του φύλλου των νυμφών, οι τελευταίες τοποθετούνταν σε ειδικές λεκάνες, χωριστά ανά πληθυσμό. Οι λεκάνες με τις νύμφες παρέμεναν σε κλιματιζόμενο χώρο σε σταθερές συνθήκες χωρίς να διαταράσσονται, προκειμένου να ολοκληρωθεί με ηρεμία το νυμφικό αναπτυξιακό τους στάδιο. Επιπλέον η κάθε νύμφη, της οποίας το φύλλο, οι διαστάσεις και το βάρος ήταν προσδιορισμένα και καταγεγραμμένα, απομονωνόταν από τις υπόλοιπες της ίδιας ομάδας. Για τον ατομικό διαχωρισμό των νυμφών χρησιμοποιούνταν αποστειρωμένοι ουροσυλλέκτες μίας χρήσης, στον πυθμένα των οποίων είχαν ανοικτεί οπές, προκειμένου να είναι δυνατή η είσοδος αέρα και η αναπνοή των νυμφών ή των ενηλίκων μετά τη μεταμόρφωσή τους (**Εικ. 2.36**). Σε κάθε ουροσυλλέκτη υπήρχε αυτοκόλλητη ετικέτα με τα στοιχεία του ατόμου το οποίο περιείχε (κωδικό πληθυσμού, αύξοντα αριθμό, φύλλο, ημερομηνία μέτρησης).



Εικόνα 2.36: Διαχωρισμός των νυμφών με τη χρήση ουροσυλλεκτών

Γινόταν παρατήρηση των λεκανών που περιείχαν τις νύμφες τουλάχιστον δύο φορές την ημέρα. Σε περίπτωση που παρατηρείτο η μεταμόρφωση ατόμων διαφορετικού φύλου, αυτά τοποθετούνταν το ένα πλησίον του άλλου προκειμένου να συζευχθούν με φυσικό τρόπο (**Εικ. 2.37**). Μόλις το αρσενικό και το θηλυκό έρχονταν σε επαφή και ενώ ήταν ακόμα προσκολλημένα μεταξύ τους, τοποθετούνταν σε σακουλάκια από διάτρητο υλικό (ταφτά) το οποίο επιτρέπει την είσοδο του αέρα και την αναπνοή των ατόμων που περιέχει. Τα σακουλάκια ονομάστηκαν «**σάκοι ωοτοκίας**». Στη συνέχεια οι σάκοι ωοτοκίας κλείνονταν ερμητικά ώστε οι πεταλούδες να μην μπορούν να εξέλθουν και αφήνονταν μέχρι να ολοκληρωθεί η σύζευξη και η απόθεση των αυγών (**Εικ. 2.38**) (**Εικ. 2.39**). Κατά κανόνα τα αυγά αποτίθενται από το ενήλικο θηλυκό σε όποια επιφάνεια είναι διαθέσιμη για το σκοπό αυτό. Στη συγκεκριμένη περίπτωση τα αυγά προσκολλούνταν στην επιφάνεια του σάκου ωοτοκίας.



(α)



(β)

Εικόνα 2.37: (α): μεταμόρφωση νύμφης σε ενήλικο, (β):σύζευξη ενηλίκων



Εικόνα 2.38: Σάκοι ωστοκίας



Εικόνα 2.39: Απόθεση Αυγών

Μετά την ολοκλήρωση της ωστοκίας και πριν την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου, τα θηλυκά άτομα τοποθετούνταν σε πλαστικό περιέκτη τύπου **Falcon** και φυλάσσονταν στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ για περαιτέρω αναλύσεις.

Τα αρσενικά άτομα μετά την ολοκλήρωση της σύζευξης μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τη γονιμοποίηση και άλλων θηλυκών ατόμων, εφόσον υπήρχαν διαθέσιμα θηλυκά ενήλικα που δεν είχαν συζευχθεί. Μετά την ολοκλήρωση των συζεύξεων και πριν το τέλος του βιολογικού τους κύκλου, τα αρσενικά ενήλικα τοποθετούνταν επίσης σε πλαστικούς περιέκτες τύπου **Falcon** και φυλάσσονταν στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.2.2.7.2. Πλύσιμο και αποκόλληση των αυγών

Μετά την ολοκλήρωση της απόθεσης των αυγών και την απομάκρυνση των γεννητόρων από τους σάκους ωστοκίας, γινόταν

μακροσκοπική παρατήρηση του χρωματισμού των ωτοκίων, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν τα αυγά ήταν γονιμοποιημένα ή αγονιμοποίητα **(Παράρτημα II, Υπόμνημα 22)**.

Οι ωτοκίες με τα γονιμοποιημένα αυγά αναρτούνταν με τέτοιο τρόπο ώστε να διευκολύνεται η κυκλοφορία του αέρα και να αποφεύγεται η ανάπτυξη υγρασίας που μπορεί να τα αλλοιώσει. Η αποθήκευση των γονιμοποιημένων ωτοκίων μέχρι την έναρξη της φάσης της διαχείμασης γινόταν στους 25 °C.

Λίγο πριν την έναρξη της διαχείμασης των αυγών γινόταν το πλύσιμο και η αποκόλλησή τους από την επιφάνεια των σάκων ωτοκίας. Το πλύσιμο γινόταν με νερό βρύσης, με τέτοιο τρόπο ώστε τα αυγά που αποκολλούνταν από τα τοιχώματα των σάκων ωτοκίας να συσσωρεύονται στον πυθμένα τους. Στη συνέχεια οι σάκοι ωτοκίας αναρτούνταν εκ νέου και αφήνονταν να στεγνώσουν στον αέρα σε θερμοκρασία δωματίου.

2.2.2.7.3. Μέτρηση αριθμού αυγών

Μετά το στέγνωμα των ωτοκίων γινόταν η καταμέτρηση των αυγών. Τα αυγά κάθε ωτοκίας τοποθετούνταν σε λευκή κόλα χαρτί A4, όπου προσμετρούνταν ένα προς ένα με τη χρήση ράβδου, όμοια με εκείνη που χρησιμοποιείται κατά την καταμέτρηση του αριθμού των αυγών των κουτιών των εμπορικών υβριδίων **(Εικ. 2.4)**. Κατά την καταμέτρηση των αυγών γινόταν καταγραφή του αριθμού των γονιμοποιημένων καλών αυγών ανά ωτοκία, των μη γονιμοποιημένων και των ελαττωματικών ή κατεστραμμένων αυγών. Επίσης γινόταν καταμέτρηση και καταγραφή των αυγών που είχαν εκκολαφθεί προσδιορίζοντας έτσι το ποσοστό διγονισμού.

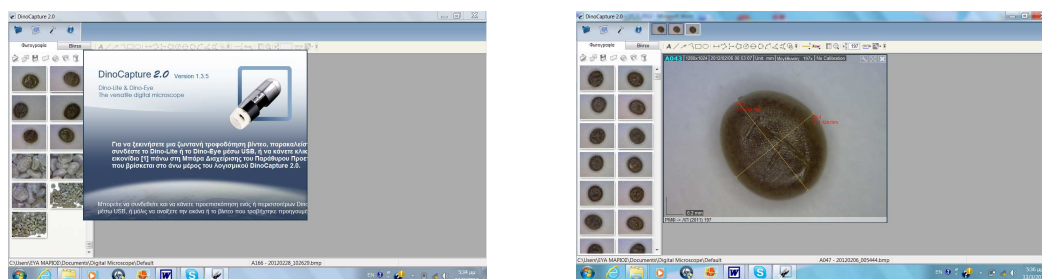
2.2.2.7.4. Μέτρηση των διαστάσεων των αυγών

Μετά την καταμέτρηση των αυγών ανά ωτοκία, γινόταν η μέτρηση των διαστάσεων τους. Με τη χρήση του ψηφιακού μικροσκοπίου USB **Dinolite Pro-AM413T** της εταιρείας **ANMO Electronics Corporation** **(Εικ. 2.40)** γινόταν φωτογράφιση τουλάχιστον είκοσι (20) αυγών τα

οποία λαμβάνονταν τυχαία από κάθε ωτοκία σε μεγέθυνση X 197. Οι ψηφιακές φωτογραφίες αποθηκεύονταν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή για περαιτέρω επεξεργασία. Με τη χρήση του λογισμικού **DinoCapture 2.0 Version 1.3.5** (Εικ. 2.41), γινόταν η ακριβής μέτρηση των διαστάσεων των αυγών (μήκος και πλάτος). Επιπλέον οι φωτογραφίες των αυγών χρησιμοποιούνταν για τη συμπλήρωση του φωτογραφικού αρχείου του κάθε πληθυσμού.



Εικόνα 2.40: Ψηφιακό USB μικροσκόπιο Dinolite Pro-AM413T



Εικόνα 2.41: Λογισμικού **DinoCapture 2.0 Version 1.3.5**, μέτρηση διαστάσεων αυγών

2.2.2.7.5. Μέτρηση του βάρους των αυγών

Μετά την καταμέτρηση του αριθμού και τη μέτρηση των διαστάσεων των αυγών, πραγματοποιείται η καταγραφή του βάρους τους σε ψηφιακό ζυγό ακριβείας τεσσάρων (4) δεκαδικών ψηφίων **Mettler Toledo AB204-S** (Εικ. 2.42).



Εικόνα 2.42: Ψηφιακός ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων, ζύγιση αυγών

2.2.2.8. Φύλαξη, διατήρηση και διαχείριση αυγών

Για τη φύλαξη, τη διατήρηση και τη διαχείριση των αυγών ακολουθούνταν τα πρωτόκολλα, οι διαδικασίες και ο εξοπλισμός που προβλέπονται διεθνώς.

Οι φυλές που μελετήθηκαν ήταν όλες μονόγονες, διαχειμάζουσες.

Από την απόθεση και μετά, τα αυγά παρέμεναν μέσα στους σάκους ωοτοκίας, οι οποίοι φυλάσσονταν αναρτημένοι προκειμένου να υπάρχει επαρκής αερισμός. Ο χώρος φύλαξης των αυγών κλιματιζόταν και η θερμοκρασία διατηρείτο σταθερή στους **25 °C**, από την ωοτοκία και για 5 μήνες. Μετά το πέρας του διαστήματος αυτού και πριν την έναρξη της διαχείρισης γινόταν το πλύσιμο και η αποκόλληση. Ακολούθως, οι σάκοι ωοτοκίας αφήνονταν για μία ημέρα αναρτημένοι σε θερμοκρασία δωματίου ώστε τα αυγά να στεγνώσουν και στη συνέχεια γινόταν η καταμέτρηση, η φωτογράφιση και η ζύγισή τους, όπως έχουν ήδη περιγραφεί.

Προκειμένου να μην επέλθει απότομα μεγάλη πτώση της θερμοκρασίας διατήρησης των αυγών, κατά το στάδιο της διαχείρισης που ακολουθούσε, γεγονός το οποίο θα μπορούσε να καταπονήσει τα έμβρυα, γινόταν σταδιακή μείωση της θερμοκρασίας του χώρου φύλαξης κατά **2 °C** ανά ημέρα, μέχρι τους **16 °C**, με τη χρήση του κλιματιστικού **Teco**.

Στη συνέχεια τα αυγά μεταφέρονταν σε εργαστηριακό ψυκτικό θάλαμο τύπου **GRAM, Model BioCompact II RR400 (Εικ. 2.43)** και

συνεχιζόταν η σταδιακή μείωση της θερμοκρασίας φύλαξής τους μέχρι την τιμή των **3 °C**. Τα διαχειμάζοντα αυγά διατηρούσαν σε αυτή τη θερμοκρασία για τους επόμενους 3 μήνες τουλάχιστον. Παράλληλα, όπως έχει ήδη αναφερθεί, ένα μέρος των ωοτοκίων από κάθε πληθυσμό, μεταφέρονταν και φυλασσόταν σε άλλο ψυκτικό θάλαμο, σε άλλο χώρο του εργαστηρίου, προκειμένου να αποφευχθεί απώλεια του γενετικού υλικού από ενδεχόμενο απρόβλεπτο ή καταστροφικό συμβάν (διακοπή ρεύματος, βλάβη του ψυκτικού θαλάμου, έκτακτο καιρικό φαινόμενο, σεισμός κλπ.).



Εικόνα 2.43: Εργαστηριακός ψυκτικός θάλαμος τύπου Gram *BioCompact II RR400*

Ο ψυκτικός θάλαμος **GRAM, Model BioCompact II RR400** που χρησιμοποιείτο για τη φύλαξη και διαχείμαση των αυγών είχε ψηφιακή ένδειξη θερμοστάτη, ενσωματωμένο επεξεργαστή ελέγχου με καταγραφικό θερμοκρασίας, με δυνατότητα μεταφοράς των δεδομένων σε Η/Υ και παρακολούθησής τους μέσω του λογισμικού **Gram Data Logger 4.0**. Το εύρος θερμοκρασιών κυμαινόταν από 2 έως 15 °C, ενώ διέθετε σύστημα κυκλοφορίας του αέρα στο εσωτερικό του θαλάμου, ώστε να εξασφαλίζεται ομοιογένεια της θερμοκρασίας.

2.2.2.9. Μελέτη πολυμορφισμών του mtDNA των καθαρών σειρών, μέθοδος PCR – RFLPs

Η μελέτη μοριακών δεικτών μπορεί να βοηθήσει στον προσδιορισμό της γενετικής ποικιλότητας των γενετικών αποθεμάτων του μεταξοσκώληκα. Σε συνέργια με μορφολογικούς και παραγωγικούς δείκτες μπορεί να δώσει πιο ολοκληρωμένα συμπεράσματα.

Κατά τη εκπόνηση της παρούσας διατριβής διερευνήθηκε η πιθανή εμφάνιση πολυμορφισμών των COI και 16srDNA γονιδιακών τμημάτων του μιτοχondριακού DNA στους υπό μελέτη πληθυσμούς με τη συνδυασμένη μέθοδο **PCR-RFLPs**.

2.2.2.9.1. Απομόνωση ολικού DNA

Έγινε απομόνωση ολικού DNA σε δείγματα από τη σάρκα του θώρακα των ενήλικων ατόμων, τα οποία φυλάσσονταν στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Χρησιμοποιήθηκε το kit απομόνωσης **DNeasy Blood and Tissue Kit** της εταιρεία **Qiagen** (**Εικ. 2.44**). Ακολουθήθηκαν και εφαρμόστηκαν οι οδηγίες και το πρωτόκολλο του κατασκευαστή. Απομονώθηκε γενετικό υλικό από 12 ενήλικα άτομα ανά πληθυσμό. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας έγινε έλεγχος της επιτυχίας της απομόνωσης του γενετικού υλικού με δοκιμαστική ηλεκτροφόρηση σε πηκτική αγαρόζης προκειμένου να γίνει επαναληπτική απομόνωση εάν αυτό κρίνόταν απαραίτητο.



Εικόνα 2.44: Kit απομόνωσης ολικού DNA (DNeasy® Blood & Tissue Kit QIAGEN)

Πέραν του Kit απομόνωσης και των υλικών και αντιδραστηρίων που παρέχονταν από τον κατασκευαστή, χρησιμοποιήθηκε επίσης απόλυτη αιθυλική αλκοόλη 99,8% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ M.B.:46,07 του εμπορίου (**Merck**) καθώς και τα ακόλουθα υλικά και συσκευές (**Εικ. 2.45**)

- Κλίβανος υγρής αποστείρωσης (αυτόκαυστο) **Autoclave Mini, PBI**
- Συσκευή απόσταξης νερού **Aquatron A4S BSi testing**
- Ψηφιακός Ζυγός ακριβείας 3 δεκαδικών ψηφίων τύπου **Kern 510**
- Μαγνητικός αναδευτήρας **MR 3003 control Heidolph**

- Υδατόλουτρο **Memmert**
- Φυγόκεντρος 24 θέσεων **Heraeus Biofuge pico**
- Πεχάμετρο **Crison micro pH, Controla AC**
- Μηχανικά σιφόνια μεταβλητού όγκου (πιπέτες) **Eppendorf**
- Συσκευή μηχανικής ανάδευσης **Vortex Mixer LVM-202, LabTech**



(α)



(β)



(γ)



(δ)



(ε)



(στ)



(ζ)



(η)

Εικόνα 2.45: Συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά την απομόνωση DNA

(α): αυτόκαυσι

(β): συσκευή απόσταξης νερού

(γ): μαγνητικός αναδευτήρας

(δ): πεχάμετρο

(ε): πιπέτες

(στ): συσκευή περιδίνησης

(ζ): υδατόλουτρο

(η): φυγόκεντρος 24 θέσεων

Ο μυϊκός ιστός του θώρακα των ενηλίκων ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν ως δείγμα, τεμαχιζόταν και τοποθετείτο σε αριθμημένο πλαστικό σωλήνα τύπου eppendorf. Προστίθετο ρυθμιστικό διάλυμα ATL και με τη βοήθεια πλαστικής ράβδου (pestle) προσαρμοσμένης σε ηλεκτρικό δράπανο το δείγμα ομογενοποιείται. Στη συνέχεια, προστίθεντο το ρυθμιστικό διάλυμα AL και η πρωτεΐνάση K

ώστε να πραγματοποιηθεί η λύση των κυττάρων. Το περιεχόμενο του σωλήνα αναδευόταν και επωζόταν στο υδατόλουτρο για 10 min στους 70°C. Ακολούθως, προστίθετο απόλυτη αιθυλική αλκοόλη και το erpendorf ανακινείτο έντονα στη συσκευή μηχανικής ανάδευσης. Όλο το δείγμα μεταγγιζόταν σε αριθμημένες ειδικές στήλες χωρητικότητας 2 ml με κατάλληλο φίλτρο (DNeasy mini spin column) που παρέχεται από τον κατασκευαστή στη συσκευασία. Ακολουθούσε φυγοκέντριση και απορριπτόταν το υποκείμενο διάλυμα.

Στη συνέχεια, σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρίας, ακολουθούσαν δύο κύκλοι φυγοκέντρισης και απόρριψης του υποκείμενου διαλύματος ενώ παράλληλα προστίθεντο αντίστοιχα τα ρυθμιστικά διαλύματα AW1 και AW2. Τέλος, το φίλτρο τοποθετείτο σε πλαστικό σωλήνα erpendorf και προστίθετο ρυθμιστικό διάλυμα AE. Μετά την εξάτμιση της περιεχόμενης αιθυλικής αλκοόλης από το δείγμα, πραγματοποιείτο η τελευταία φυγοκέντριση. Το φίλτρο απορριπτόταν και στον πυθμένα του erpendorf παρέμενε το απομονωμένο ολικό DNA το οποίο στη συνέχεια διατηρείτο σε θερμοκρασία -20°C.

Όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνταν κατά την απομόνωση του ολικού DNA είχαν προηγουμένως αποστειρωθεί στον κλίβανο υγρής αποστείρωσης.

2.2.2.9.2. Ενίσχυση τμημάτων του mtDNA με τη μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)

Η επιλογή του κατάλληλου γονιδιακού τμήματος που πρόκειται να μελετηθεί και κατ' επέκταση των εκκινητών που θα χρησιμοποιηθούν είναι βασικός παράγοντας που καθορίζει την πιθανότητα εύρεσης αξιοποιήσιμων συμπερασμάτων.

Για την εφαρμογή της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν τα εξής:

- **Απομονωμένο ολικό DNA από τη σάρκα των ατόμων των υπό μελέτη πληθυσμών.**
- **Ζεύγη συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων τα οποία προσκολλώνται σε συγκεκριμένη αλληλουχία του DNA καθορίζοντας τη θέση έναρξης σύνθεσης του υπό μελέτη τμήματος. Τα ολιγονουκλεοτίδια αυτά ονομάζονται «εκκινητές» και χρησιμοποιούνται διαφορετικά ζεύγη για κάθε τμήμα του DNA που πρόκειται να μελετηθεί.**

- Διάλυμα ελεύθερων, 5' τριφωσφοδεσοξυριβονουκλεοτιδίων (dNTPs) που χρησιμεύουν για τη σύνθεση των νέων αλυσίδων του DNA.
- Ταq DNA πολυμεράση η οποία απομονώνεται από το θερμοφιλο βακτήριο *Thermus aquaticus* και αντέχει σε υψηλές θερμοκρασίες, παραμένοντας ενεργή σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας
- Ειδικό ρυθμιστικό διάλυμα για τη δράση της Ταq DNA πολυμεράσης (10 X PCR buffer MgCl₂)
- Διάλυμα MgCl₂ σε κατάλληλη συγκέντρωση, καθώς τα ιόντα του μαγνησίου είναι απαραίτητα για την αντίδραση, λειτουργώντας ως προσθετική ομάδα.

Ο πολλαπλασιασμός έγινε με τη χρήση θερμοκυκλοποιητή **Peltier Thermal Cycle** (Εικ. 2.46).



Εικόνα 2.46: Συσσκευή PCR **Peltier Thermal Cycle**

2.2.2.9.2.1. Ενίσχυση γονιδιακού τμήματος 16srDNA

Ο φυσιολογικός ρόλος του εν λόγω γονιδίου είναι ο έλεγχος της σύνθεσης της μεγάλης υπομονάδας των ριβοσωμάτων (Alumbi *et al.*, 1991).

Για την παραγωγή της συγκεκριμένης αλληλουχίας έγινε χρήση των εκκινητών **5'-CAA CAT CGA GGT CGC AAA CAT C-3'** και **5'-GTA CCT TTT GTA TCA GGG TTG A-3'** ενώ το τμήμα που προκύπτει έχει μήκος περίπου 964 ζεύγη βάσεων (bp) (Nielsen *et al.*, 1994).

Εφαρμόστηκαν οι ακόλουθες συνθήκες:

94 °C	για 4 λεπτά	1 φορά
94 °C	για 1 λεπτό	
40 °C	για 1 λεπτά	35 φορές
72 °C	για 2 λεπτό	
72 °C	για 2 λεπτό	1 φορά

2.2.2.9.2.2. Ενίσχυση γονιδιακού τμήματος COI – barcode

Το γονιδιακό τμήμα **COI** ελέγχει τη σύνθεση της υπομονάδας I του συμπλόκου της κυτοχρωμικής οξειδάσης **COI**. Η διαμεμβρανική αυτή

πρωτεΐνη των μιτοχονδρίων συμμετέχει στη μεταφορά ιόντων εντός και εκτός του οργανιδίου, προάγοντας την ομαλή εξέλιξη της κυτταρικής αναπνοής και της παραγωγής ενέργειας (Folmer et al., 1994).

Για την παραγωγή της συγκεκριμένης αλληλουχίας έγινε χρήση των εκκινητών **5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3'** και **5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'** ενώ το τμήμα που προκύπτει έχει μήκος 700 ζεύγη βάσεων (Nielsen *et al.*, 1999).

Εφαρμόστηκαν οι ακόλουθες συνθήκες:

94 °C	για 4 λεπτά	1 φορά
94 °C	για 1 λεπτό	
40 °C	για 1 λεπτά	35 φορές
72 °C	για 2 λεπτό	
72 °C	για 2 λεπτό	1 φορά

2.2.2.9.3. Πέψεις με ένζυμα περιορισμού

Στα τμήματα των γονιδίων του mtDNA που πολλαπλασιάστηκαν με τη μέθοδο PCR, έγιναν δοκιμαστικά πέψεις με περιοριστικά ένζυμα. Οι πέψεις έγιναν σε συνολικό όγκο 10μl. Χρησιμοποιήθηκαν 2,5 – 5μl από τα προϊόντα της PCR, 5 μονάδες (Units) ενζύμου, 1μl ρυθμιστικού διαλύματος και απεσταγμένο – αποστειρωμένο νερό. Οι αντιδράσεις των πέψεων πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή των ενζύμων.

2.2.2.9.4. Ηλεκτροφορητικός διαχωρισμός των θραυσμάτων DNA

Τα προϊόντα των πέψεων των υπό μελέτη τμημάτων του DNA διαχωρίζονταν με ηλεκτροφόρηση πήκτωματος αγαρόζης, συγκέντρωσης 2%. Το πήκτωμα παρασκευαζόταν σε ρυθμιστικό διάλυμα 0,5X TBE.

Τα δείγματα τοποθετούνταν στις προβλεπόμενες θέσεις στο πήκτωμα και προστίθετο διάλυμα χρωστικής, προκειμένου να είναι ορατή με γυμνό μάτι η μετανάστευση του DNA. Στη συνέχεια πραγματοποιείται ηλεκτροφόρηση σε ρυθμιστικό διάλυμα 0,5 X TBE. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα τοποθετείται σε δοχείο με 350 ml απεσταγμένο H₂O και 18μl βρωμιούχο αιθίδιο. Ακολουθούσε ανακίνηση του δοχείου που περιείχε το πήκτωμα, για περίπου 30 min προκειμένου το βρωμιούχο αιθίδιο να δεσμευτεί

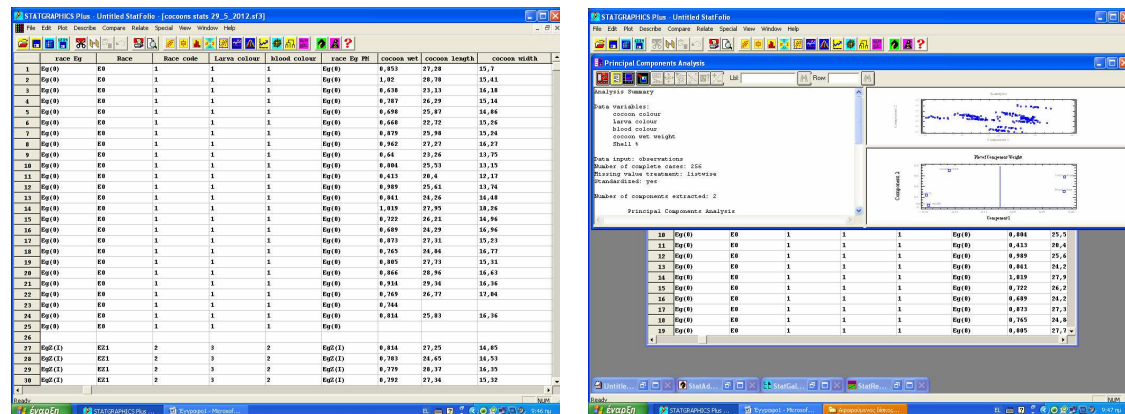
από τα μόρια και τα θραύσματα του DNA, ώστε να είναι ορατό σε φωτισμό υπεριώδους ακτινοβολίας (UV).

Τα μήκη των θραυσμάτων που προέκυψαν υπολογίστηκαν με τη βοήθεια μάρτυρα του οποίου τα θραύσματα είχαν γνωστό μήκος (PCR marker G3161 Promega corp) και με τη βοήθεια του λογισμικού DNAfrag 3.03 (Nash, 1991).

2.3. Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων

2.3.1. Στατιστική επεξεργασία μορφομετρικών – παραγωγικών χαρακτήρων

Η στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων των μετρήσεων των μορφομετρικών και παραγωγικών χαρακτηριστικών έγινε σε ηλεκτρονικό υπολογιστή με τη χρήση του στατιστικού λογισμικού **Statgraphics Plus 4.0** (Εικ. 2.47).



Εικόνα 2. 47: Στατιστικό πακέτο **Statgraphics Plus 4.0**

2.3.1.1. Ανάλυση Διασποράς

Με την εφαρμογή της απλής (one way ANOVA) ή της πολύπα-
ραγοντικής (Multifactor ANOVA) ανάλυσης διασποράς εξετάστηκε αν η μεταβλητότητα μεταξύ των ομάδων διέφερε στατιστικά σημαντικά από τη μεταβλητότητα εντός των ομάδων. Η σύγκριση των μέσων όρων πραγματοποιήθηκε με τη δοκιμασία **Tukey - HSD** και οι διαφορές θεωρήθηκαν στατιστικά σημαντικές όταν **P<0,05**.

2.3.1.2. Ανάλυση παλινδρόμησης

Με τη χρήση της **ανάλυσης παλινδρόμησης (regression analysis)** είναι δυνατή η σύνδεση μιας εξαρτημένης μεταβλητής με μια ανεξάρτητη μεταβλητή, ελαχιστοποιώντας το άθροισμα των τετραγώνων των υπολειπόμενων τιμών για την πρότυπη καμπύλη. Η σχέση αυτή μπορεί να εκφραστεί είτε ως γραμμική συνάρτηση, είτε με εφαρμογή μη γραμμικών προτύπων. Έτσι, είναι δυνατή η ποσοτικοποίηση της φύσης και της ισχύος της σχέσης μεταξύ των μεταβλητών, ενώ παράλληλα μπορούν να προβλεφθούν νέες τιμές της εξαρτημένης μεταβλητής, βασισμένες στις παρατηρούμενες τιμές της ανεξάρτητης μεταβλητής.

Η **σύγκριση των ευθειών παλινδρόμησης (comparison of regression lines)**, επιτρέπει την πραγματοποίηση σύγκρισης μεταξύ της κλίσης και του σημείου τομής της τεταγμένης των διαφορετικών προτύπων καμπυλών που προκύπτουν από την ανάλυση παλινδρόμησης δύο ή περισσότερων ομάδων μεταβλητών, εξετάζοντας τη δυνατότητα χρήσης μίας ενιαίας πρότυπης καμπύλης για όλες τις διαφορετικές ομάδες μεταβλητών.

2.3.1.3. Ανάλυση βασικών συνιστωσών

Με την **ανάλυση βασικών συνιστωσών (principal components analysis)** επιτυγχάνεται η μείωση των διαστάσεων μιας ομάδας παρατηρήσεων, εντοπίζοντας τους παράγοντες που παρουσιάζουν τις εντονότερες διακυμάνσεις και επιδρούν σε μεγαλύτερο ποσοστό στη μεταβλητότητα των παρατηρήσεων, οριοθετώντας παράλληλα ομοιογενείς ομάδες μεταβλητών που παρουσιάζουν ομοιότητες ως προς τη σύνθεσή τους.

2.3.2.1 Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων από την ανάλυση του DNA

Για την περαιτέρω επεξεργασία των παρατηρήσεων που αφορούσαν στα διάφορου μήκους θραύσματα DNA που προέκυψαν, με τη χρήση των ενζύμων περιορισμού, χρησιμοποιήθηκαν οι θέσεις περιορισμού και όχι οι διαφορές του μήκους των θραυσμάτων, διότι οι τελευταίες είναι δυνατόν να οφείλονται σε ελλείμματα νουκλεοτιδίων και όχι σε

πραγματικές διαφορετικές θέσεις περιορισμού. Ο υπολογισμός του συντελεστή νουκλεοτιδικών υποκαταστάσεων είναι περισσότερο ακριβής όταν γίνεται με βάση τις θέσεις περιορισμού (Swofford & Olsen, 1990). Το πρότυπο που προέκυψε ύστερα από κάθε πέψη, συμβολίστηκε με ένα γράμμα για κάθε ένζυμο. Μετά την ολοκλήρωση του συνόλου των πέψεων, κάθε άτομο χαρακτηρίστηκε από ένα σύνολο γραμμάτων, το οποίο ονομάζεται σύνθετος γενότυπος ή απλότυπος.

Στη συνέχεια υπολογίστηκαν η απλοτυπική και νουκλεοτιδική ποικιλότητα για κάθε μελετούμενο πληθυσμό και η διαειδική νουκλεοτιδική απόκλιση μεταξύ των πληθυσμών με τη χρήση του υπολογιστικού πακέτου REAP (McElroy *et al.*, 1991).

Κεφάλαιο 3^ο

Αποτελέσματα

3. Αποτελέσματα

3.1. Γενικά

Στο παρόν κεφάλαιο παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων και των παρατηρήσεων που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων. Η παρουσίασή τους γίνεται υπό μορφή συνοπτικών πινάκων και διαγραμμάτων στα οποία αποτυπώνονται τα πορίσματα της στατιστικής επεξεργασίας που έλαβε χώρα.

3.2. Μελέτη εμπορικών υβριδίων

Από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν καταγράφηκαν τα στοιχεία που αναφέρονται ακολούθως:

3.2.1. Καταγραφή χαρακτηριστικών του παραληφθέντος φορτίου

Εκτός από τον έλεγχο των απαραίτητων συνοδευτικών εγγράφων και του αριθμού των παραληφθέντων κουτιών μεταξόσπορου, ο οποίος προσμετρήθηκε από τις αρμόδιες επιτροπές και ήταν ίσος με τον αριθμό που είχε δηλωθεί από τον προμηθευτή, εξετάστηκαν επίσης:

- α) Το ενδεχόμενο προσβολής του μεταξόσπορου από πιπεριτίδα, εξέταση η οποία σε όλες τις περιπτώσεις προέκυψε αρνητική.
- β) Ο αριθμός των καλών αυγών που περιείχαν τα παραληφθέντα κουτιά μεταξόσπορου (**πιν. 3.1.**), ο οποίος σε όλες τις περιπτώσεις ήταν μεγαλύτερος από 20.000.
- γ) Το ποσοστό εκκολαπτικότητας (**πιν. 3.2.**), το οποίο σε όλες τις περιπτώσεις βρέθηκε μεγαλύτερο από **95%**.

Πίνακας 3.1: Αριθμός αυγών ανά κουτί (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός κουτιών μεταξόσπορου (n)	Αριθμός αυγών ανά κουτί ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	24	21.003±106
Qiufeng x Baiyu	32	21.356±211
M x N	24	24.193±150

Πίνακας 3.2: Ποσοστό εκκολαπτικότητας (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός κουτιών μεταξόσπορου (n)	Ποσοστό εκκολαπτικότητας (%) ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	24	98,20±0,090
Qiufeng x Baiyu	32	99,00±0,057
M x N	24	97,40±0,088

3.2.2. Αποτελέσματα εκτροφής των εμπορικών υβριδίων

3.2.2.1. Χαρακτηριστικά εκτροφής

Με την ολοκλήρωση των πειραματικών εκτροφών καταγράφονταν η διάρκεια προνύμφης και τα ποσοστά επιβίωσης και κλαδώματος (Πιν. 3.3, 3.4, 3.5).

Πίνακας 3.3: Μετρήσεις ανά εκτρεφόμενη ομάδα και ανά έτος για το 2005 και το 2006 για το ελληνικό υβρίδιο **X1 x K1**. Κάθε εκτρεφόμενη ομάδα αποτελείται από 200 προνύμφες.

	2005			2006		
	διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	ποσοστό επιβίωσης (%)	ποσοστό κλαδώματος (%)	Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	ποσοστό Επιβίωσης (%)	ποσοστό κλαδώματος (%)
1	28	90	87	28	92	89
2	28	92	89	28	90	88
3	27	88	85	27	89	86
4	28	95	90	27	92	90
5	27	94	89	27	91	90
6	28	91	88	28	93	89
7	28	89	85	27	88	87
8	27	93	92	27	92	89

Πίνακας 3.4: Μετρήσεις ανά εκτρεφόμενη ομάδα και ανά έτος για το 2009 και το 2010 για το κινεζικό υβρίδιο **Qiufeng x Baiyu**. Κάθε εκτρεφόμενη ομάδα αποτελείται από 200 προνύμφες.

	2009			2010		
	διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	ποσοστό επιβίωσης (%)	ποσοστό κλαδώματος (%)	Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	ποσοστό Επιβίωσης (%)	ποσοστό κλαδώματος (%)
1	27	92	85	27	88	89
2	26	89	88	27	89	89
3	26	92	89	27	91	90
4	27	91	89	27	90	90
5	27	88	88	26	89	89
6	26	90	85	26	91	87
7	27	92	87	27	90	89
8	26	92	90	26	90	90

Πίνακας 3.5: Μετρήσεις ανά εκτρεφόμενη ομάδα και ανά έτος για το 2010 και το 2011 για το κινεζικό υβρίδιο **M x N**. Κάθε εκτρεφόμενη ομάδα αποτελείται από 200 προνύμφες.

	2010			2011		
	διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	ποσοστό επιβίωσης (%)	ποσοστό κλαδώματος (%)	Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	ποσοστό Επιβίωσης (%)	ποσοστό κλαδώματος (%)
1	27	90	97	27	92	95
2	27	92	90	26	90	89
3	26	89	98	26	89	89
4	27	92	92	27	91	97
5	27	91	93	27	93	93
6	26	88	88	27	91	88
7	26	90	95	26	91	85
8	27	92	97	27	90	92

Οι μετρήσεις και τα δεδομένα ομαδοποιήθηκαν ανά υβρίδιο και ανά έτος εκτροφής. Προκειμένου να διαπιστωθεί πιθανή, στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των τιμών των μετρήσεων που παρατηρήθηκαν ανά υβρίδιο, αλλά και ανά έτος εντός του ίδιου υβριδίου, πραγματοποιήθηκε απλή ανάλυση διασποράς (**One Way Analysis Of Variance**), με εξαρτημένη μεταβλητή κατά περίπτωση τη **διάρκεια προνύμφης**, το **ποσοστό επιβίωσης** και το **ποσοστό κλαδώματος**. Ως ανεξάρτητη μεταβλητή, για τις μετρήσεις που αφορούσαν στο ίδιο υβρίδιο, ελήφθη το έτος εκτροφής. Από την παραπάνω στατιστική επεξεργασία δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των μετρήσεων που αφορούσαν στο ίδιο υβρίδιο και είχαν πραγματοποιηθεί σε διαφορετικό έτος, αφού ο δείκτης P (**P-value**) βρέθηκε μεγαλύτερος από 0,05 σε όλες τις περιπτώσεις.

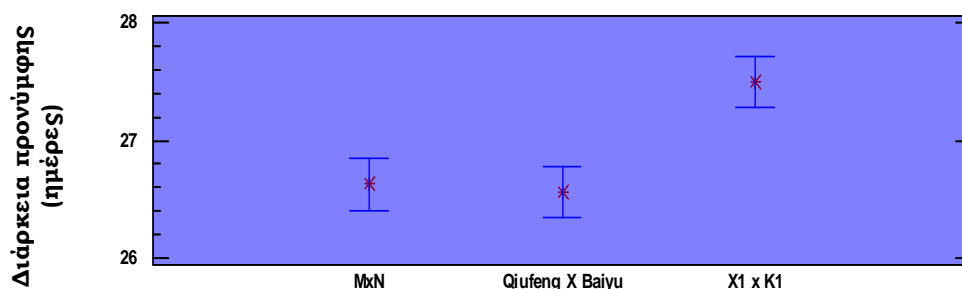
Στη συνέχεια, αφού είχε διαπιστωθεί ότι το έτος εκτροφής δεν επηρεάζει στατιστικά σημαντικά το αποτέλεσμα των μετρήσεων εντός του ίδιου υβριδίου, έγινε εκ νέου απλή ανάλυση διασποράς, με εξαρτημένη μεταβλητή κατά περίπτωση τη **διάρκεια προνύμφης**, το **ποσοστό επιβίωσης** και το **ποσοστό κλαδώματος**, εισάγοντας προς επεξεργασία τις τιμές όλων των ετών και λαμβάνοντας ως ανεξάρτητη μεταβλητή το υβρίδιο (**Πιν. 3.6, 3.7, 3.8, Διαγρ. 3.1, 3.2, 3.3**).

Πίνακας 3.6: Διάρκεια προνύμφης σε ημέρες για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός εκτροφών* (n)	Διάρκεια προνύμφης (ημέρες) ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	16	27,50±0,127^b
Qiufeng x Baiyu	16	26,56±0,127^a
M x N	16	26,63±0,127^a

* Κάθε εκτροφή αποτελείται από 200 άτομα

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (**P < 0,05**)



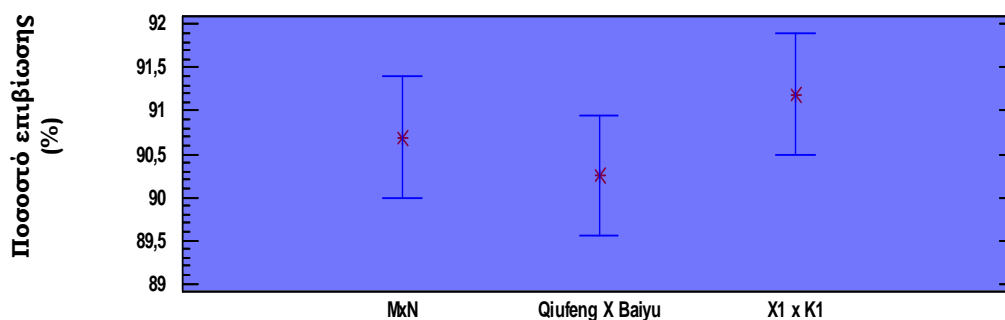
Διάγραμμα 3.1: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης **Tukey HSD**

Πίνακας 3.7: Ποσοστό επιβίωσης % για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός εκτροφών* (n)	Ποσοστό επιβίωσης (%) ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	16	91,19±0,410^a
Qiufeng x Baiyu	16	90,25±0,410^a
M x N	16	90,69±0,410^a

* Κάθε εκτροφή αποτελείται από 200 άτομα

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (**P < 0,05**)



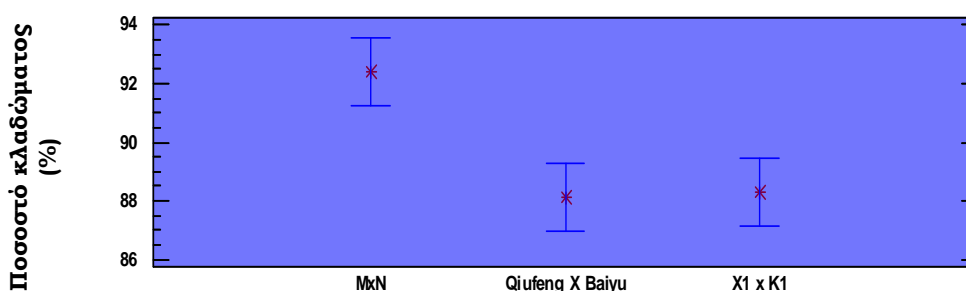
Διάγραμμα 3.2: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης **Tukey HSD**

Πίνακας 3.8: Ποσοστό κλαδώματος % για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός εκτροφών * (n)	Ποσοστό κλαδώματος (%) ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	16	88,31±0,676 ^a
Qiufeng x Baiyu	16	88,13±0,676 ^a
M x N	16	92,38±0,676 ^b

* Κάθε εκτροφή αποτελείται από 200 άτομα

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (**P < 0,05**)



Διάγραμμα 3.3: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

3.2.2.2. Ποιοτικά παραγωγικά χαρακτηριστικά

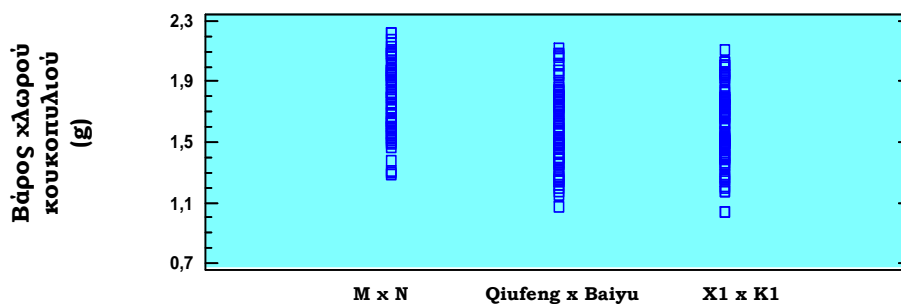
Μετά την ολοκλήρωση των εκτροφών και την καταγραφή του ποσοστού κλαδώματος, καταγράφηκε δειγματοληπτικά, σε 25 τυχαία κουκούλια από κάθε εκτρεφόμενη ομάδα, το βάρος χλωρού κουκουλιού, το βάρος κελύφους και το ποσοστό κελύφους για κάθε κουκούλι. Με όμοιο τρόπο όπως περιγράφεται στην παράγραφο **3.2.2.1** έγινε στατιστική επεξεργασία των δεδομένων που αφορούσαν σε αυτούς τους χαρακτήρες, με τη διαφορά ότι για τις μετρήσεις αυτές πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση διασποράς (**Multifactor Analysis Of Variance**) εισάγοντας ως συντελεστή συνδιακύμανσης το φύλο του εντόμου, παράγοντας ο οποίος επηρεάζει σημαντικά αυτές τις μεταβλητές και αν δεν ληφθεί υπόψη μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένα συμπεράσματα (Aruga, 1994; Ganga, 2003).

Διαπιστώθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές οι οποίες αποτυπώνονται συνοπτικά σε αντίστοιχους πίνακες και διαγράμματα. (Πιν. 3.9, 3.10, 3.11 Διαγρ. 3.4αβ, 3.5αβ, 3.6αβ)

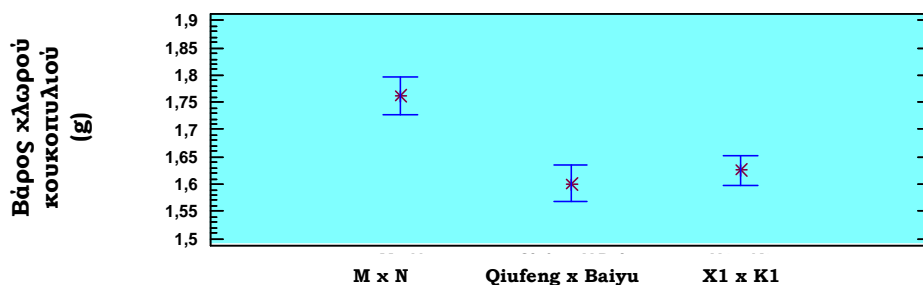
Πίνακας 3.9: Βάρος κλωρού κουκουλιού σε g για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός κουκουλιών (n)	Βάρος κλωρού κουκουλιού (g) ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	160	1,63±0,016 ^α
Qiufeng x Baiyu	160	1,60±0,020 ^α
M x N	160	1,76±0,021 ^β

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.4α: Διασπορά τιμών

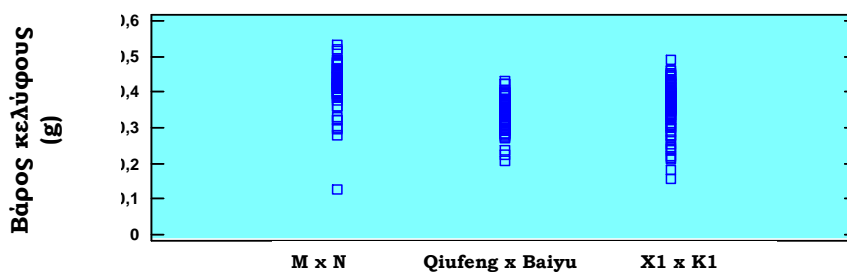


Διάγραμμα 3.4β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

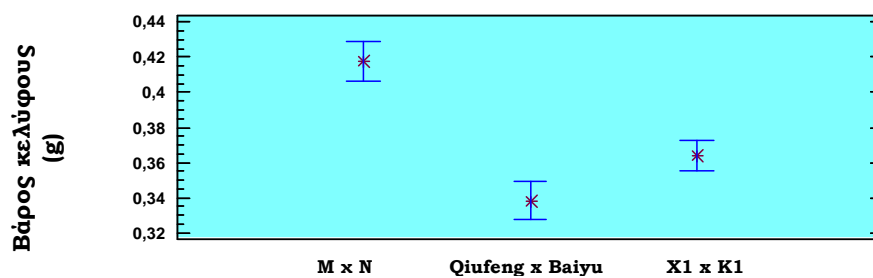
Πίνακας 3.10: Βάρος κελύφους σε g για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός κουκουλιών (n)	Βάρος κελύφους (g) ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	160	0,36±0,005^β
Qiufeng x Baiyu	160	0,34±0,006^α
M x N	160	0,42±0,007^γ

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (**P < 0,05**)



Διάγραμμα 3.5α: Διασπορά τιμών

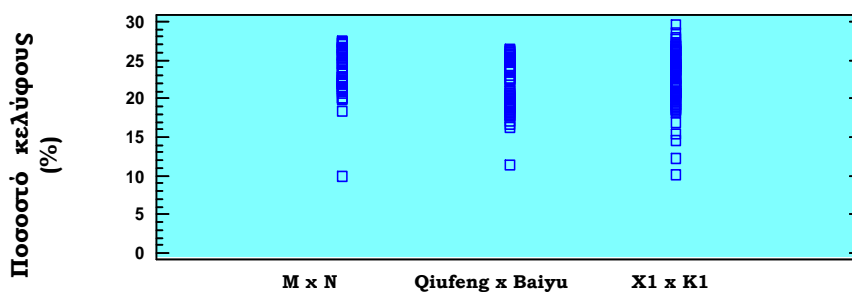


Διάγραμμα 3.5β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

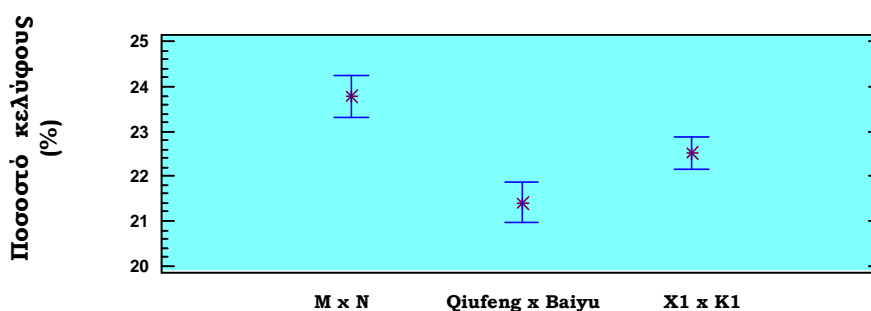
Πίνακας 3.11: Ποσοστό κελύφους % για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Υβρίδιο	Αριθμός κουκουλιών (n)	Ποσοστό κελύφους (%) ± Τυπικό Σφάλμα
X1 x K1	160	22,52±0,218 ^β
Qiufeng x Baiyu	160	21,41±0,266 ^α
M x N	160	23,77±0,282 ^γ

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.6α: Διασπορά τιμών



Διάγραμμα 3.6β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

3.3. Μελέτη – διαχείριση καθαρών σειρών

Προς την κατεύθυνση της συστηματικής και αποτελεσματικής αξιοποίησης του υπάρχοντος γενετικού υλικού του είδους, έγινε μελέτη και διαχείριση οκτώ πληθυσμών που βρίσκονταν στη διάθεση του εργαστηρίου, στους οποίους δόθηκαν τα κωδικά ονόματα:

- | | |
|------------------------|-------------------------|
| 1. <u>E0</u> | 2. <u>E(ii)</u> |
| 3. <u>EZ1</u> | 4. <u>EZ2</u> |
| 5. <u>EZ3</u> | 6. <u>I(ii)E</u> |
| 7. <u>MN(O)</u> | 8. <u>PM</u> |

Σημειώνεται ότι οι πληθυσμοί **PM** και **MN(O)** προέρχονται από τα εμπορικά υβρίδια **Qiufeng X Baiyu** και **M X N** αντίστοιχα.

Προκειμένου να καταγραφούν τα φαινοτυπικά και παραγωγικά χαρακτηριστικά των υπό μελέτη πληθυσμών και η δυνατότητα διάκρισης μεταξύ τους έγιναν μετρήσεις που αφορούσαν διάφορους χαρακτήρες, ενώ παράλληλα έλαβε χώρα στατιστική επεξεργασία για να διαπιστωθεί κατά πόσο οι πληθυσμοί παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις.

3.3.1. Χαρακτηριστικά προνύμφων

Όλες οι μετρήσεις που καταγράφονται στην παρούσα ενότητα αφορούν στο ίδιο έτος εκτροφής και πραγματοποιήθηκαν το φθινόπωρο του 2010 για τους πληθυσμούς **1 – 5** και την άνοιξη του 2010 για τους πληθυσμούς **6 – 8**.

3.3.1.1. Διάρκεια προνύμφης

Πίνακας 3.12: Διάρκεια προνύμφης σε ημέρες, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. Κάθε εκτροφή αποτελείται από 20 άτομα.

	Πληθυσμός	Αριθμός εκτροφών (n)	Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)
1	E0	8	28
2	E(ii)	8	28
3	EZ1	8	29
4	EZ2	8	29
5	EZ3	8	29
6	I(ii)E	8	27
7	MN(O)	8	27
8	PM	8	27

3.3.1.2. Ποσοστό επιβίωσης προνυμφών

Πίνακας 3.13: Ποσοστό επιβίωσης (%), των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. Κάθε εκτροφή αποτελείται από 20 άτομα.

Πληθυσμός	Αριθμός εκτροφών (n)	Ποσοστό επιβίωσης (%)
1	Ε0	82
2	Ε(ii)	85
3	ΕΖ1	85
4	ΕΖ2	86
5	ΕΖ3	89
6	Ι(ii)Ε	90
7	ΜΝ(0)	90
8	ΡΜ	92

3.3.1.3. Ποσοστό κλαδώματος

Πίνακας 3.14: Ποσοστό κλαδώματος (%), των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. Κάθε εκτροφή αποτελείται από 20 άτομα.

Πληθυσμός	Πλήθος μετρήσεων (n)*	Ποσοστό κλαδώματος (%)
1	Ε0	90
2	Ε(ii)	89
3	ΕΖ1	89
4	ΕΖ2	87
5	ΕΖ3	88
6	Ι(ii)Ε	91
7	ΜΝ(0)	89
8	ΡΜ	93

3.3.1.4. Αριθμός εκδύσεων

Όλοι οι υπό μελέτη πληθυσμοί παρουσίασαν 4 εκδύσεις πριν την πλοκή του κουκουλιού και 5 προνυμφικές ηλικίες όπως συμβαίνει συνήθως με τους πληθυσμούς οι οποίοι εκτρέφονται σε εύκρατα κλίματα. Η εκτροφή μετασοκωλήκων με αυτό το γνώρισμα είναι οι πλέον διαδεδομένοι σε όλο τον κόσμο, όπως και στην Ελλάδα.









3.3.1.5. Χρώμα αιμολέμφου

Σύμφωνα με τις παρατηρήσεις που έγιναν κατά τη διάρκεια των εκτροφών, το χρώμα της αιμολέμφου διέφερε μεταξύ των υπό μελέτη πληθυσμών και ήταν ή κίτρινο ή λευκό. Οι πληθυσμοί **ΕΖ1** και **ΕΖ3** είχαν κίτρινη αιμολέμφο, ενώ όλοι οι υπόλοιποι είχαν αιμολέμφο λευκού χρώματος

3.3.1.6. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των προνυμφών

Σύμφωνα με τις παρατηρήσεις που έγιναν κατά τη διάρκεια των εκτροφών, οι χρωματισμοί και οι σχηματισμοί στο σώμα των ώριμων προνυμφών 5^{ης} ηλικίας διέφεραν μεταξύ των υπό μελέτη πληθυσμών. Οι διαφορές καταγράφονται στον πίνακα πίνακα 3.15.

Πίνακας 3.15: Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των προνυμφών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών.

Πληθυσμός	Περιγραφή χρωματισμών – σχηματισμοί	Φωτογραφία
E0	χρώμα σώματος λευκό, παντελής απουσία σχηματισμών (απουσία προσωπίδας, ημισελήνου, αστεροειδούς στίγματος, ραβδώσεων)	
E(ii)	χρώμα σώματος λευκό, παρουσία προσωπίδας, ακνή εμφάνιση ημισελήνου (απουσία αστεροειδούς στίγματος, ραβδώσεων)	
EZ1	μέλανες ζωνωτοί σκώληκες επί των δακτυλίων σκούρου χρώματος (γκρι – πράσινο) υπάρχει λευκή ζώνη, παρουσία προσωπίδας	
EZ2	μέλανες ζωνωτοί σκώληκες επί των δακτυλίων σκούρου χρώματος (γκρι) υπάρχει λευκή ζώνη, παρουσία προσωπίδας	
EZ3	μέλανες ζωνωτοί σκώληκες επί των δακτυλίων σκούρου χρώματος (μαύρο) υπάρχει λευκή ζώνη, παρουσία προσωπίδας	
I(ii)E	χρώμα σώματος λευκό, παρουσία προσωπίδας, έντονη εμφάνιση ημισελήνου, ακνότερο αστεροειδές στίγμα χρώματος καφέ, σκούρες αποχρώσεις στα τελευταία τμήματα	
MN(O)	χρώμα σώματος λευκό, παντελής απουσία σχηματισμών (απουσία προσωπίδας, ημισελήνου, αστεροειδούς στίγματος, ραβδώσεων)	
PM	χρώμα σώματος λευκό, παρουσία προσωπίδας, έντονη εμφάνιση ημισελήνου και αστεροειδούς στίγματος χρώματος καφέ	

3.3.2. Χαρακτηριστικά κουκουλιών

Οι εκτροφές, τα αποτελέσματα των οποίων συνοψίζονται ακολούθως σε πίνακες και διαγράμματα, πραγματοποιήθηκαν το φθινόπωρο του 2010 για τους πληθυσμούς **1 - 5** και την άνοιξη του 2010 για τους πληθυσμούς **6 - 8**.

3.3.2.1. Χρώμα κουκουλιών

Από τις παρατηρήσεις που έγιναν κατά τη διάρκεια των εκτροφών και τη συλλογή των παραχθέντων κουκουλιών, το χρώμα των τελευταίων διέφερε μεταξύ των πληθυσμών που μελετήθηκαν. Οι διαφορές που εντοπίστηκαν, καταγράφονται στον πίνακα 3.16.

Σημειώνεται ότι, στις περιπτώσεις που η αιμολέμφος των προνυμφών ήταν κίτρινη, το χρώμα των κουκουλιών ήταν αντιστοίχως κίτρινο, όπως ήταν αναμενόμενο.

Πίνακας 3.16: Χρώμα και σχήμα κουκουλιών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών

Πληθυσμός		Χρώμα	Σχήμα
1	E0	Λευκό	Επίμηκες
2	E(ii)	Υπόλευκό	Επίμηκες - ζωνοτό
3	EZ1	Υπόλευκο - Κίτρινο	Επίμηκες
4	EZ2	Υπόλευκο	Επίμηκες
5	EZ3	Κίτρινο	Επίμηκες
6	I(ii)E	Λευκό	Επίμηκες ωοειδές
7	MN(O)	Λευκό	Επίμηκες χονδρό
8	PM	Υπόλευκο - Λευκοπράσινο	Επίμηκες ωοειδές

3.3.2.2. Βάρος και διαστάσεις κουκουλιών

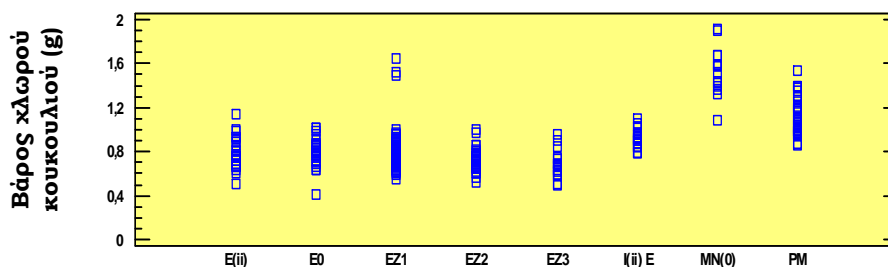
Όπως αναφέρθηκε και στην **παρ. 3.2.2.2.** το βάρος του παραγόμενου κουκουλιού και κατά συνέπεια οι διαστάσεις του, συνδέονται άμεσα με την οικονομική απόδοση της εκτροφής, καθιστώντας ιδιαίτερης σημασίας την καταγραφή των παραμέτρων αυτών.

Προκειμένου να διαπιστωθεί πιθανή στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των τιμών των μετρήσεων που παρατηρήθηκαν ανά πληθυσμό, πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση διασποράς, με εξαρτημένη μεταβλητή κατά περίπτωση το **βάρος κλωρού κουκουλιού**, το **μήκος κουκουλιού** και το **πλάτος κουκουλιού**. Ως ανεξάρτητη μεταβλητή ελήφθησαν οι ο προς μελέτη πληθυσμοί ενώ εισήχθη ως συντελεστής συνδιακύμανσης το φύλο του εντόμου, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα εμφάνισης σφάλματος στα αποτελέσματα (**Πιν. 3.17, 3.17, 3.19 Διαγρ. 3.7αβ, 3.8αβ, 3.9αβ**).

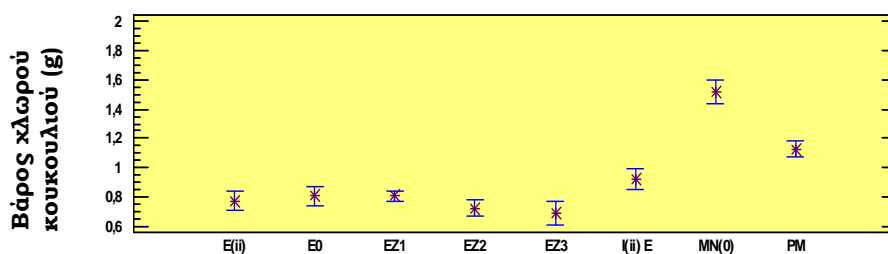
Πίνακας 3.17: Βάρος κλωρού κουκουλιού σε g, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός κουκουλιών (n)	Βάρος κλωρού κουκουλιού (g) ± Τυπικό Σφάλμα
1	E0	0,80±0,030 ^{αβ}
2	E(ii)	0,77±0,030 ^α
3	EZ1	0,81±0,017 ^α
4	EZ2	0,72±0,025 ^α
5	EZ3	0,69±0,037 ^α
6	I(ii)E	0,92±0,033 ^β
7	MN(0)	1,52±0,038 ^δ
8	PM	1,13±0,025 ^γ

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.7α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

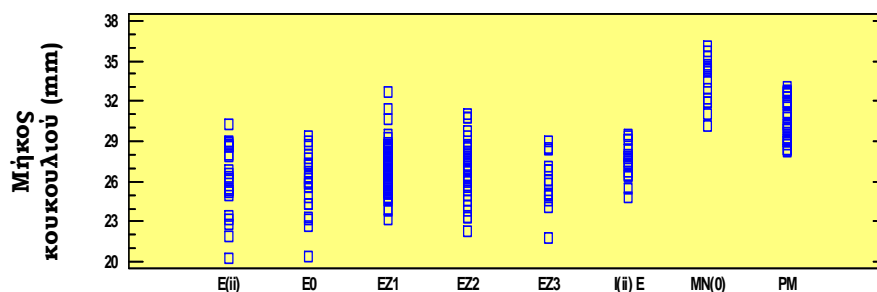


Διάγραμμα 3.7β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

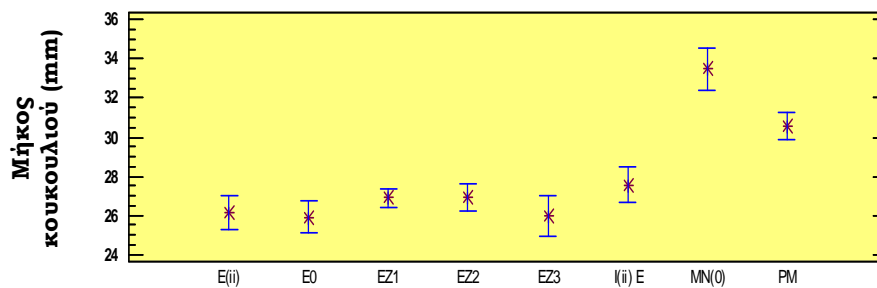
Πίνακας 3.18: Μήκος κουκουλιού σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός κουκουλιών (n)	Μήκος κουκουλιού (mm) ± Τυπικό Σφάλμα
1 E0	120	25,92±0,391 ^α
2 E(ii)	112	26,14±0,384 ^α
3 EZ1	126	26,89±0,213 ^α
4 EZ2	111	26,89±0,313 ^α
5 EZ3	122	25,96±0,469 ^α
6 I(ii)E	135	27,56±0,419 ^α
7 MN(0)	128	33,47±0,485 ^γ
8 PM	136	30,52±0,322 ^β

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.8α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

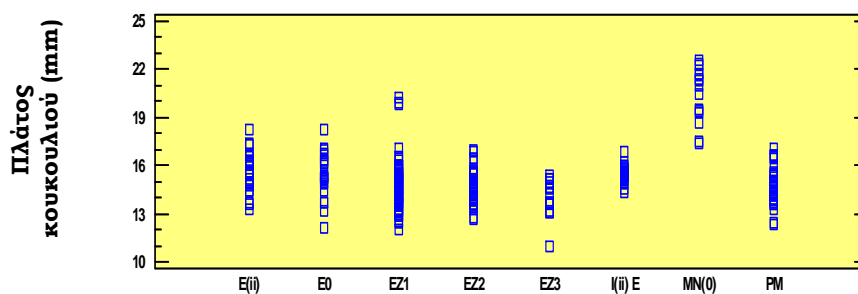


Διάγραμμα 3.8β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

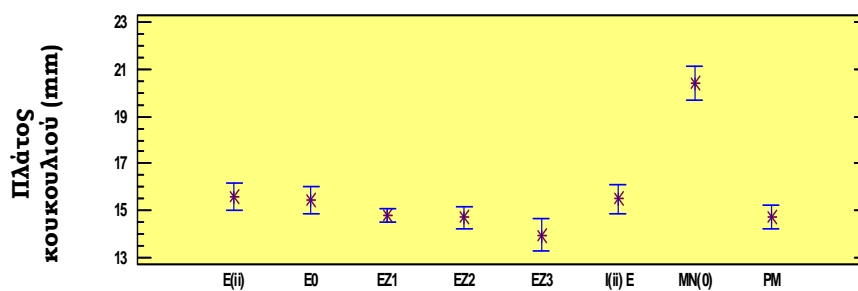
Πίνακας 3.19: Πλάτος κουκουλιού σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός κουκουλιών (n)	Πλάτος κουκουλιού (mm) ± Τυπικό Σφάλμα
1 E0	120	15,45±0.272 ^β
2 E(ii)	112	15,61±0.267 ^β
3 EZ1	126	14,79±0,148 ^{αβ}
4 EZ2	111	14,68±0,224 ^{αβ}
5 EZ3	122	13,94±0,326 ^α
6 I(ii)E	135	15,49±0,291 ^β
7 MN(O)	128	20,43±0,337 ^γ
8 PM	136	14,70±0,224 ^{αβ}

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.9α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

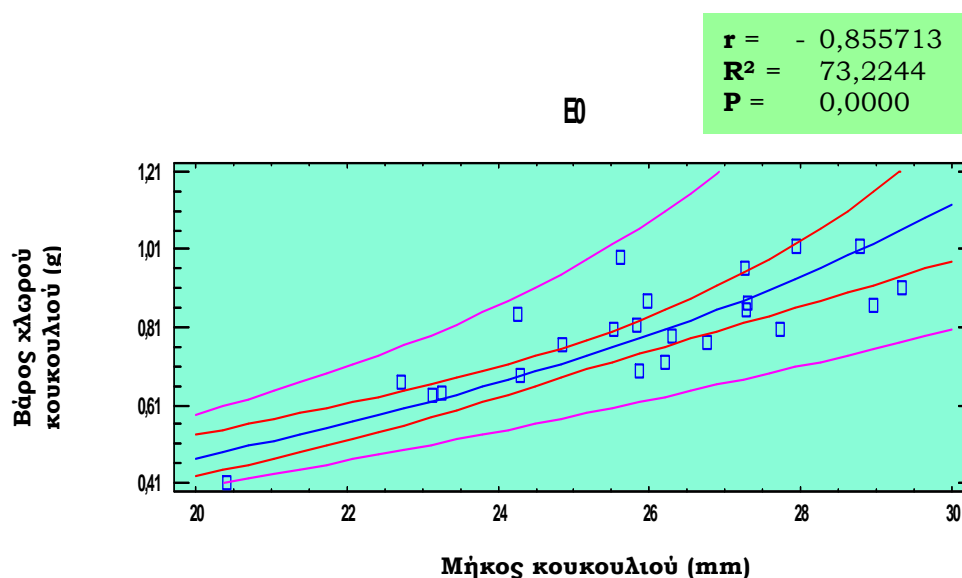


Διάγραμμα 3.9β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

3.3.2.3. Σχήμα κουκουλιών

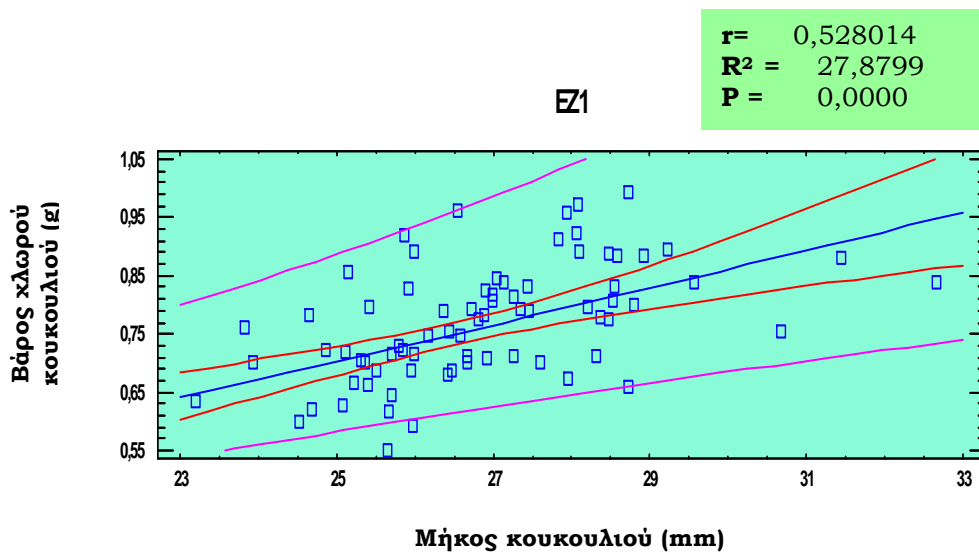
Προκειμένου να γίνει καταγραφή του σχήματος των παραγόμενων κουκουλιών, όσον αφορά την αναλογία μήκους πλάτους, εφαρμόστηκε ανάλυση απλής παλινδρόμησης του βάρους των κλωρών κουκουλιών σε σχέση με το μήκος τους, για κάθε έναν από τους υπό μελέτη πληθυσμούς.

Κατά την εφαρμογή της ανάλυσης παλινδρόμησης και ύστερα από σύγκριση των ευθειών παλινδρόμησης και των πιθανών εναλλακτικών μαθηματικών συναρτήσεων, επιλέχθηκαν για κάθε πληθυσμό τα αντίστοιχα μαθηματικά μοντέλα και πρότυπες καμπύλες, που εξηγούν το μεγαλύτερο ποσοστό των παρατηρήσεων (**Διαγρ. 3.10 – 3.17**).



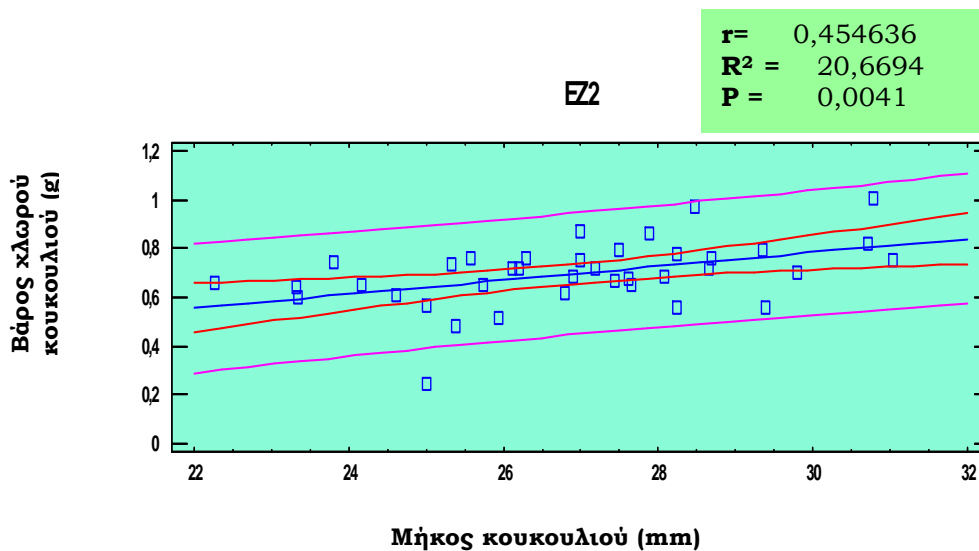
Διάγραμμα 3.10: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό Ε0

Για τον πληθυσμό **Ε0** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών ($P= 0,0000$). Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.10** περιγράφεται από την εξίσωση $\alpha=1/(-1,54793+73,1196/\beta)$, όπου: α =**βάρος κλωρού κουκουλιού**, β =**μήκος κουκουλιού**, ενώ $R^2 = 73,2244$ και ο συντελεστής συσχέτισης $r= 0,855713$.



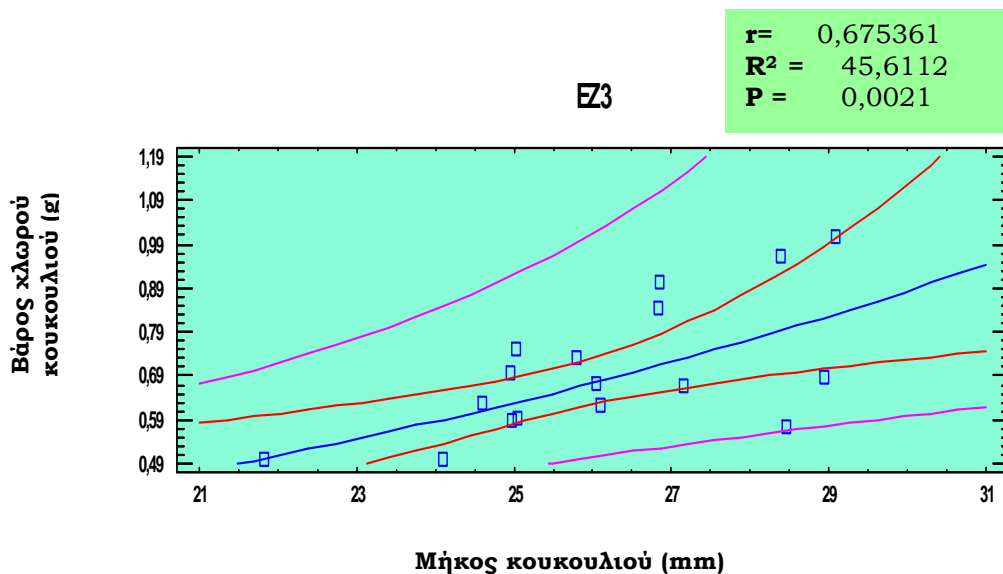
Διάγραμμα 3.11: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό EZ1

Ομοίως για τον πληθυσμό **EZ1** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών ($P = 0,0000$). Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.11** περιγράφεται από την εξίσωση $\alpha = 1 / (-0,141285 + 39,085 / \beta)$, όπου: $\alpha = \text{βάρους χλωρού κουκουλιού}$, $\beta = \text{μήκος κουκουλιού}$, ενώ $R^2 = 27,8799$ και ο συντελεστής συσχέτισης $r = 0,528014$.



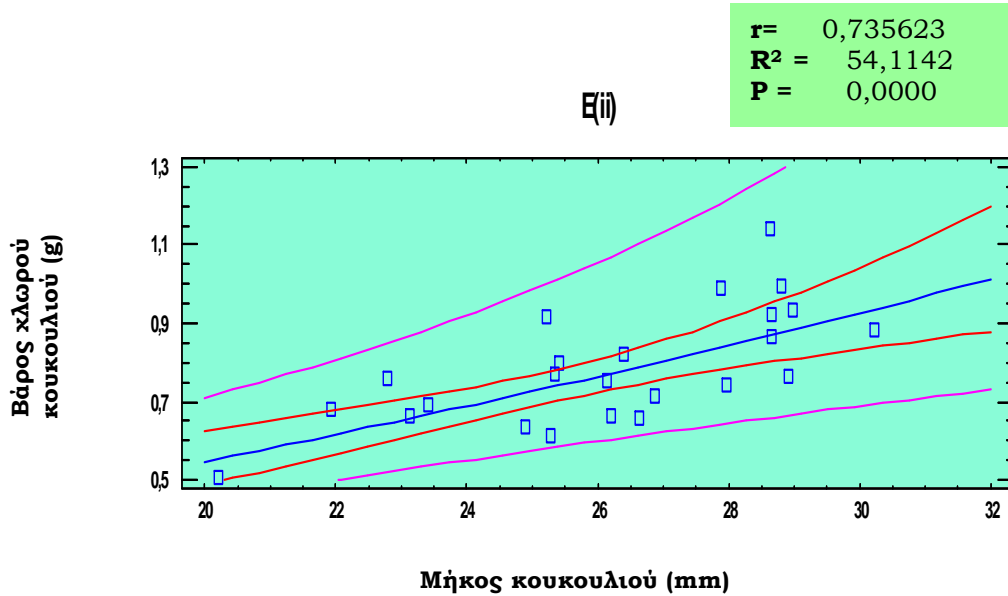
Διάγραμμα 3.12: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό EZ2

Για τον πληθυσμό **EZ2** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών ($P = 0,0041$). Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.12** περιγράφεται από την εξίσωση $\alpha = -0,0675069 + 0,0283692 \cdot \beta$, όπου: $\alpha = \text{βάρους κλωρού κουκουλιού}$, $\beta = \text{μήκος κουκουλιού}$, ενώ $R^2 = 20,6694$ και ο συντελεστής συσχέτισης $r = 0,454636$.



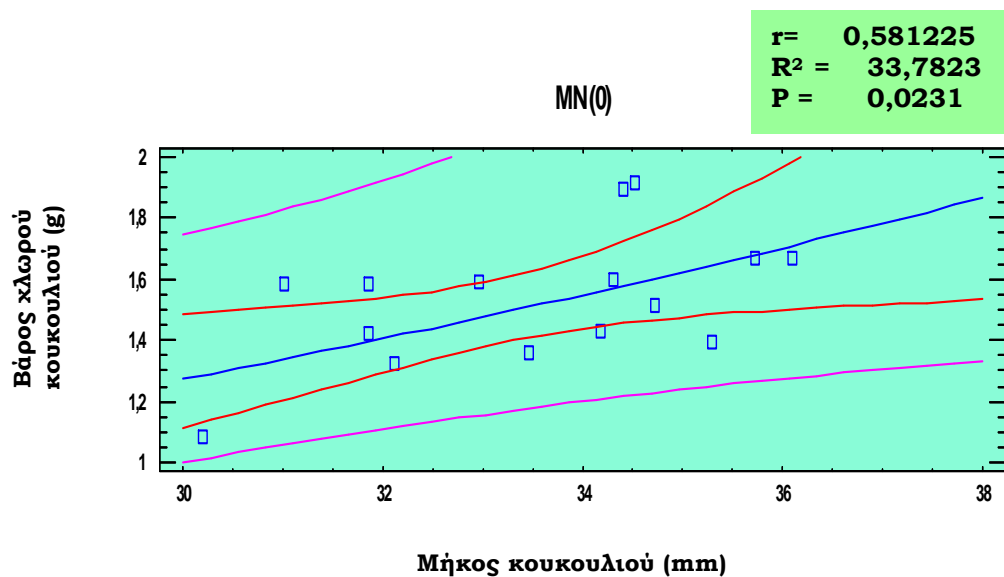
Διάγραμμα 3.13: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό EZ3

Για τον πληθυσμό **EZ3** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών ($P = 0,0021$). Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.13** περιγράφεται από την εξίσωση $\alpha = 1/(-1,1573 + 68,6675/\beta)$ όπου: α = **βάρος κλωρού κουκουλιού**, β = **μήκος κουκουλιού**, ενώ $R^2 = 45,6112$ και ο συντελεστής συσχέτισης $r = 0,675361$.



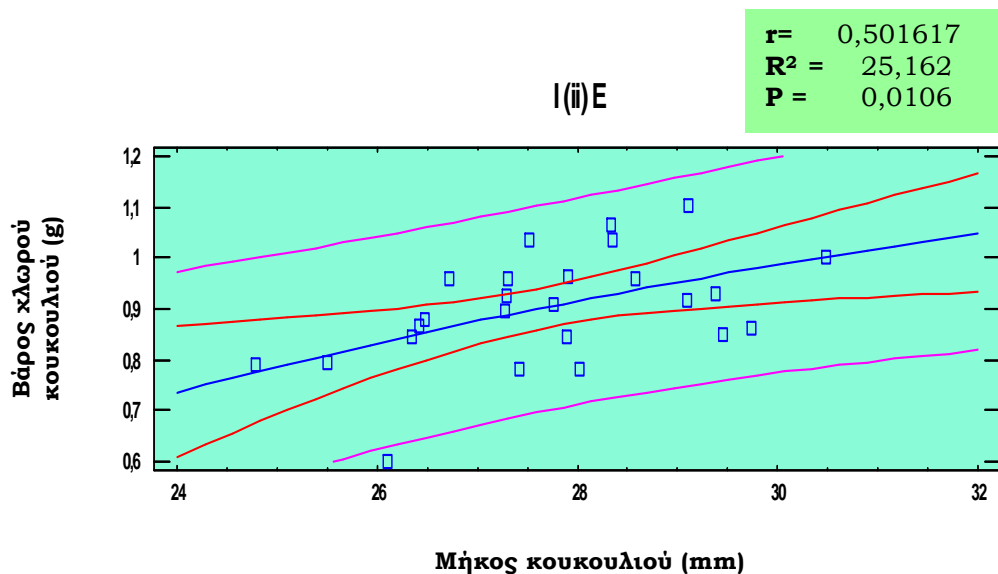
Διάγραμμα 3.14: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό E(ii)

Για τον πληθυσμό **E(ii)** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών (**P**= 0,0000). Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.14** περιγράφεται από την εξίσωση **$a = 1/(-0,411514 + 44,7299/\beta)$** , όπου: **a=βάρος κλωρού κουκουλιού**, **β=μήκος κουκουλιού**, ενώ $R^2 = 54,1142$) και ο συντελεστής συσχέτισης **r**= 0,735623.



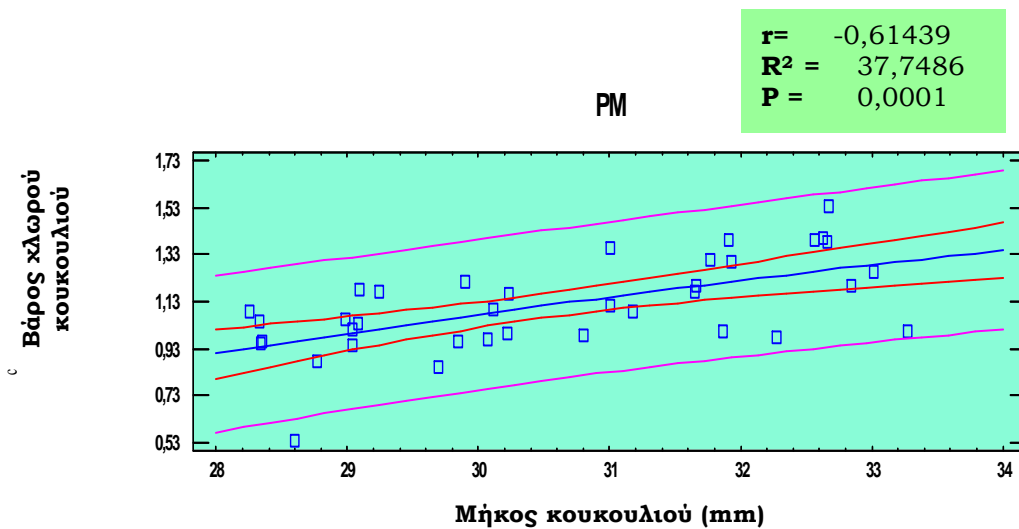
Διάγραμμα 3.15: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό MN (0)

Για τον πληθυσμό **MN(0)** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών (**P= 0,0231**) σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.15** περιγράφεται από την εξίσωση **$a = 1 / (-0,399234 + 35,5304 / \beta)$** , όπου: **a=βάρος χλωρού κουκουλιού**, **β =μήκος κουκουλιού**, ενώ $R^2 = 33,7823$ και ο συντελεστής συσχέτισης $r = 0,581225$.



Διάγραμμα 3.16: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό I(ii)E

Για τον πληθυσμό **I(ii)E** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών (**P**= 0,0106) σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.16** περιγράφεται από την εξίσωση $\alpha = 1,98185 - 29,8699/\beta$, όπου: **α** =βάρος χλωρού κουκουλιού, **β** =μήκος κουκουλιού, ενώ $R^2 = 25,162$ και ο συντελεστής συσχέτισης **r**= 0,501617.



Διάγραμμα 3.17: συσχέτιση μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό PM

Για τον πληθυσμό **PM** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών ($P = 0,0001$). Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.17** περιγράφεται από την εξίσωση $\alpha = 3,40359 - 69,8893/\beta$, όπου: $\alpha = \text{βάρος χλωρού κουκουλιού}$, $\beta = \text{μήκος κουκουλιού}$, ενώ $R^2 = 37,7486$ και ο συντελεστής συσχέτισης $r = -0,61439$.

3.3.3. Βάρος –ποσοστό κελύφους

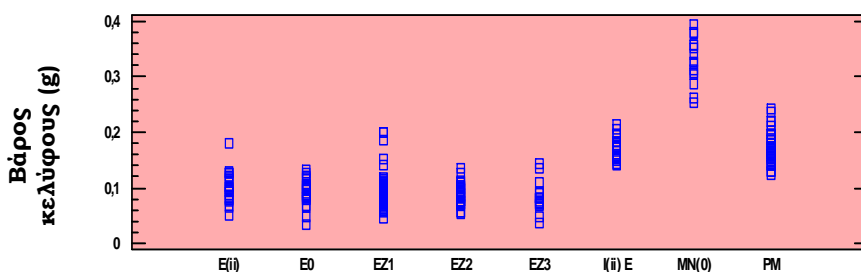
Κατά τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων που αφορούσαν στο βάρος και το ποσοστό κελύφους εφαρμόστηκε πολυπαραγοντική ανάλυση διασποράς, προκειμένου να διαπιστωθεί πιθανή στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των τιμών των μετρήσεων που παρατηρήθηκαν ανά πληθυσμό. Εξαρτημένη μεταβλητή κατά περίπτωση ήταν το **βάρος κελύφους** και το **ποσοστό κελύφους**, ενώ ως ανεξάρτητη μεταβλητή ελήφθησαν οι προς μελέτη πληθυσμοί με συντελεστή συνδιακύμανσης το φύλο του εντόμου.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας αποτυπώνονται στους **πίνακες 3.20, 3.21** και τα **διαγράμματα 3.18αβ, 3.19αβ**.

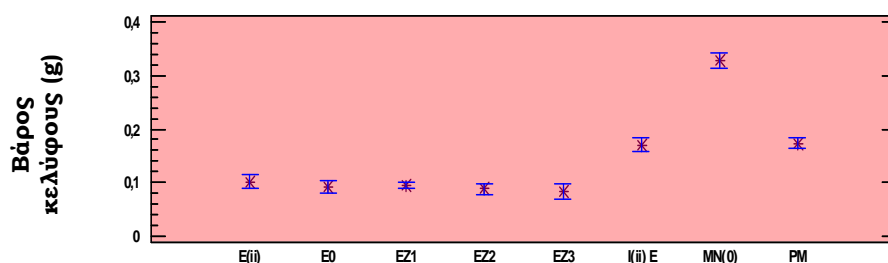
Πίνακας 3.20: Βάρος κελύφους σε g, σε κουκούλια των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός κουκουλιών (n)	Βάρος κελύφους (g) ± Τυπικό Σφάλμα
1 E0	120	0,09±0,006 ^α
2 E(ii)	112	0,10±0,006 ^α
3 EZ1	126	0,09±0,003 ^α
4 EZ2	111	0,09±0,005 ^α
5 EZ3	122	0,08±0,007 ^α
6 I(ii)E	135	0,17±0,006 ^β
7 MN(0)	128	0,33±0,007 ^γ
8 PM	136	0,17±0,005 ^β

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.18α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

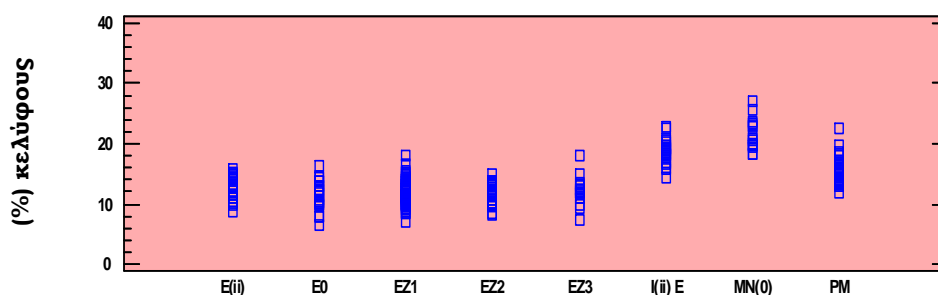


Διάγραμμα 3.18β: Μέσες τιμές και 96% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey Hsd*

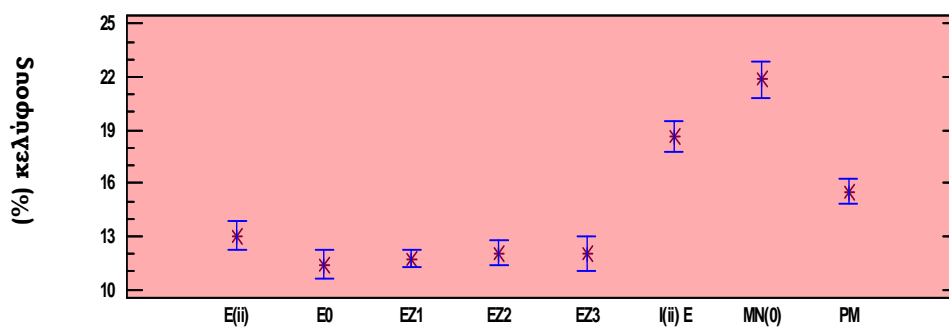
Πίνακας 3.21: Ποσοστό κελύφους % σε κουκούλια των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός κουκουλιών (n)	Ποσοστό κελύφους (%) ± Τυπικό Σφάλμα
1	E0	11,41±0,365 ^α
2	E(ii)	13,05±0,367 ^β
3	EZ1	11,75±0,203 ^α
4	EZ2	12,07±0,307 ^{αβ}
5	EZ3	12,01±0,448 ^{αβ}
6	I(ii)E	18,61±0,400 ^δ
7	MN(0)	21,85±0,463 ^ε
8	PM	15,54±0,307 ^γ

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.19α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς



Διάγραμμα 3.19β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

3.3.4 Χαρακτηριστικά νυμφών

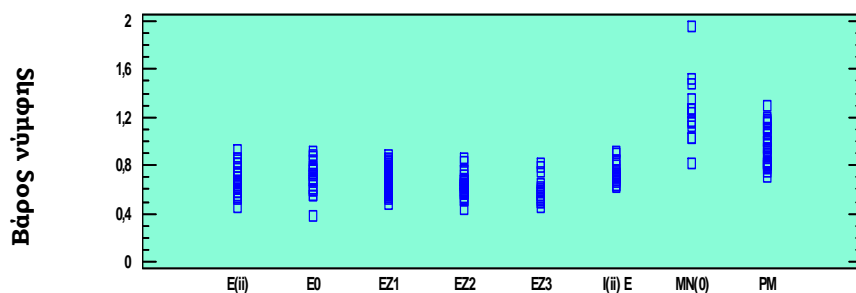
3.3.4.1. Βάρος – διαστάσεις νυμφών

Προκειμένου να διαπιστωθεί πιθανή στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των τιμών των μετρήσεων που παρατηρήθηκαν ανά πληθυσμό, εφαρμόστηκε πολυπαραγοντική ανάλυση διασποράς, με εξαρτημένη μεταβλητή το **βάρος**, το **μήκος** και το **πλάτος νύμφης**, ανεξάρτητη μεταβλητή τους προς μελέτη πληθυσμούς και συντελεστή συνδιακύμανσης το φύλο του εντόμου (**Πιν. 3.22, 3.23, 3.24 Διαγρ. 3.20αβ, 3.21αβ, 3.22αβ**).

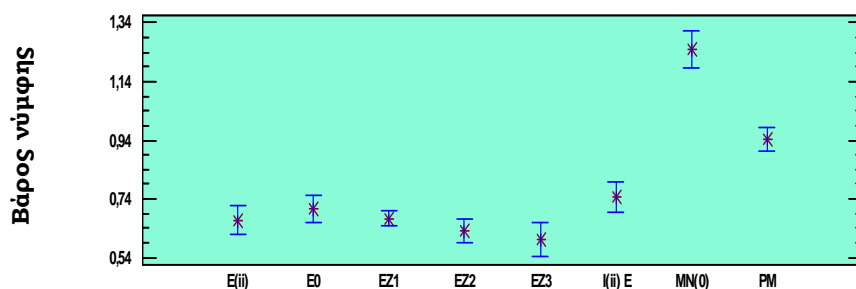
Πίνακας 3.22: Βάρος νυμφών σε g, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός νυμφών (n)	Βάρος νυμφών (g) ± Τυπικό Σφάλμα
1 Ε0	120	0,71±0,022 ^{αβ}
2 E(ii)	112	0,67±0,022 ^{αβ}
3 EZ1	126	0,67±0,012 ^{αβ}
4 EZ2	111	0,63±0,019 ^α
5 EZ3	122	0,60±0,027 ^α
6 I(ii)E	135	0,75±0,025 ^β
7 MN(O)	128	1,25±0,028 ^δ
8 PM	136	0,94±0,019 ^γ

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (**P < 0,05**)



Διάγραμμα 3.20α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

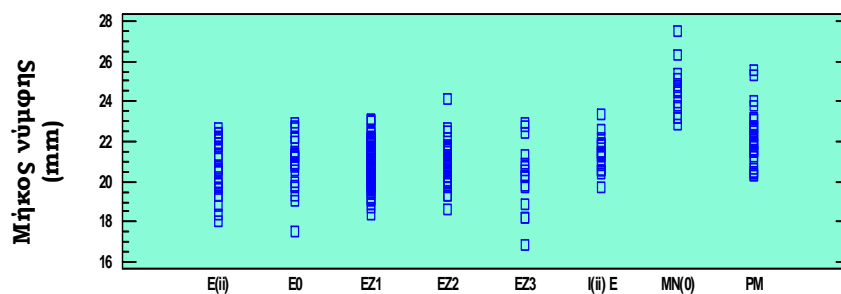


Διάγραμμα 3.20β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης **Tukey HSD**

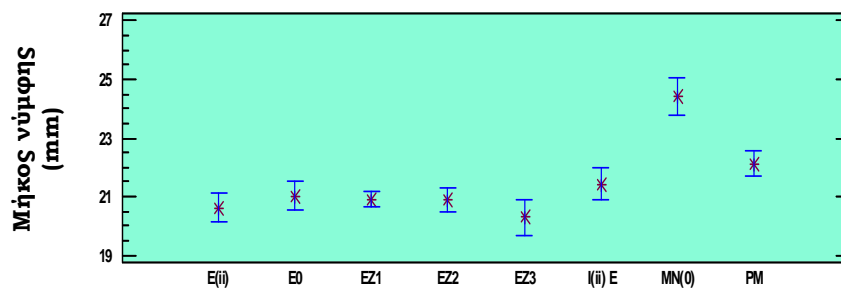
Πίνακας 3.23: Μήκος νυμφών σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός		Αριθμός νυμφών (n)	Μήκος νυμφών (mm) ± Τυπικό Σφάλμα
1	E0	120	21.02±0.232 ^α
2	E(ii)	112	20,62±0,233 ^α
3	EZ1	126	20,91±0,128 ^α
4	EZ2	111	20,90±0,195 ^α
5	EZ3	122	20,29±0,284 ^α
6	I(ii)E	135	21,43±0,254 ^{αβ}
7	MN(O)	128	24,43±0,294 ^γ
8	PM	136	22,12±0,198 ^β

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.21α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

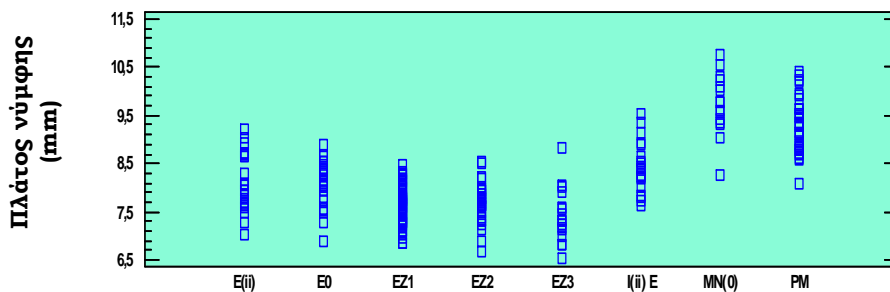


Διάγραμμα 3.21β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

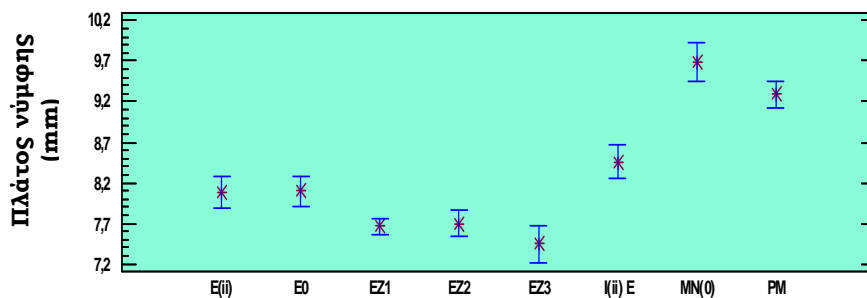
Πίνακας 3.24: Πλάτος νυμφών σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός νυμφών (n)	Πλάτος νυμφών (mm) ± Τυπικό Σφάλμα
1 Ε0	120	8,10±0,087 ^β
2 E(ii)	112	8,08±0,087 ^β
3 EZ1	126	7,66±0,048 ^α
4 EZ2	111	7,70±0,073 ^α
5 EZ3	122	7,45±0,106 ^α
6 I(ii)E	135	8,46±0,095 ^β
7 MN(0)	128	9,68±0,110 ^γ
8 PM	136	9,29±0,074 ^γ

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.22α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς



Διάγραμμα 3.22β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

3.3.5. Χαρακτηριστικά γονιμότητας

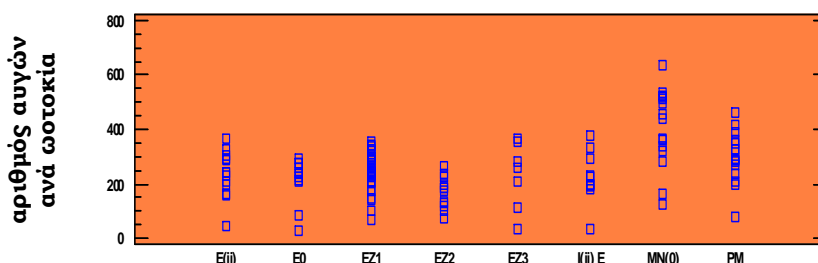
3.3.5.1. Αριθμός αυγών ανά ωτοκία

Με σκοπό τη διερεύνηση της γονιμότητας των υπό μελέτη πληθυσμών και την πιθανή στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση του παράγοντα αυτού, εφαρμόστηκε απλή ανάλυση διασποράς, με εξαρτημένη μεταβλητή τον αριθμό των καλών γονιμοποιημένων αυγών που αποτέθηκαν και ανεξάρτητη μεταβλητή τους προς μελέτη πληθυσμούς (Πιν. 3.25 Διαγρ. 3.23αβ)

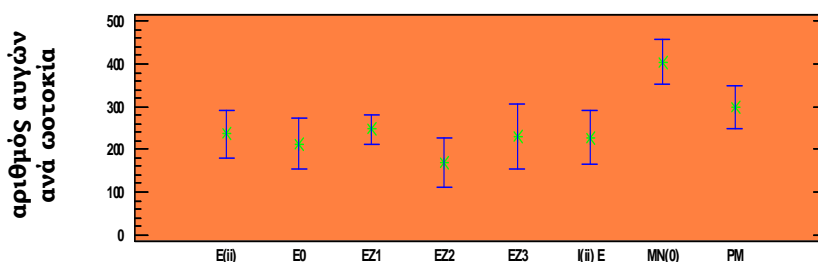
Πίνακας 3.25: Αριθμός αυγών ανά ωτοκία, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός ωτοκίων (n)	Αριθμός αυγών ανά ωτοκία ± Τυπικό Σφάλμα
1	E0	213,36±27,649 ^{αβ}
2	E(ii)	236,46±25,433 ^{αβγ}
3	EZ1	247,12±15,726 ^{βγ}
4	EZ2	169,17±26,471 ^α
5	EZ3	231,00±34,659 ^{αβγ}
6	I(ii)E	226,70±28,998 ^{αβγ}
7	MN(0)	405,20±23,677 ^γ
8	PM	298,56±22,925 ^β

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.23α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς



Διάγραμμα 3.23β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

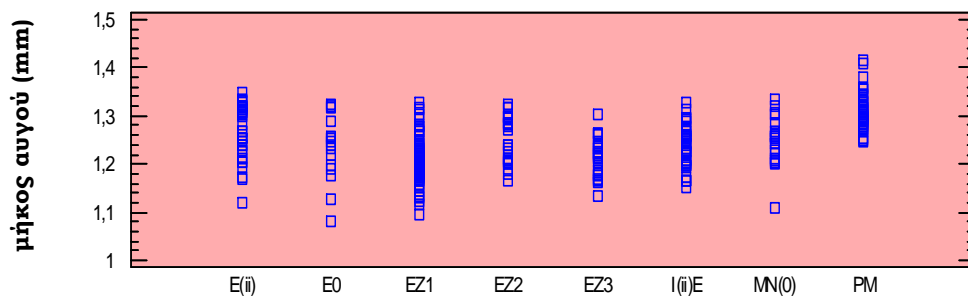
3.3.5.2. Διαστάσεις αυγών

Παράλληλα, εφαρμόστηκε απλή ανάλυση διασποράς με εξαρτημένη μεταβλητή τις διαστάσεις των αυγών και την αναλογία μήκος/πλάτος και ανεξάρτητη μεταβλητή τους προς μελέτη πληθυσμούς (Πιν. 3.26, 3.27, 3.28 Διαγρ. 3.24αβ, 3.25αβ, 3.26αβ)

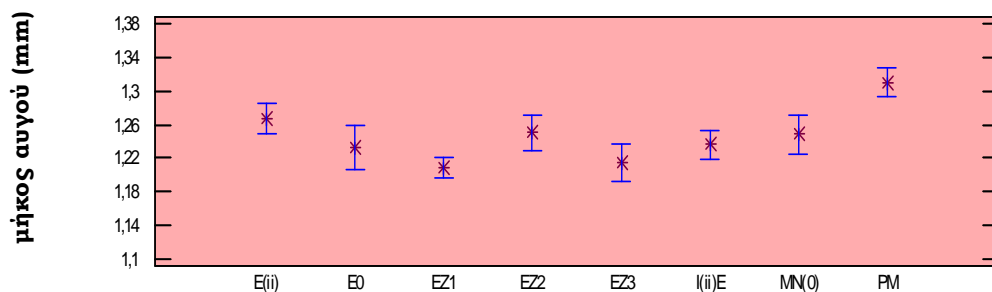
Πίνακας 3.26: Μήκος αυγών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός αυγών (n)	Μήκος αυγών ± Τυπικό Σφάλμα
1	E0	1,23±0,0121 ^{αβγ}
2	E(ii)	1,27±0,008 ^γ
3	EZ1	1,21±0,006 ^α
4	EZ2	1,25±0,010 ^{βγ}
5	EZ3	1,21±0,011 ^{αβ}
6	I(ii)E	1,24±0,008 ^{αβγ}
7	MN(0)	1,25±0,011 ^{βγ}
8	PM	1,31±0,008 ^δ

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.24α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

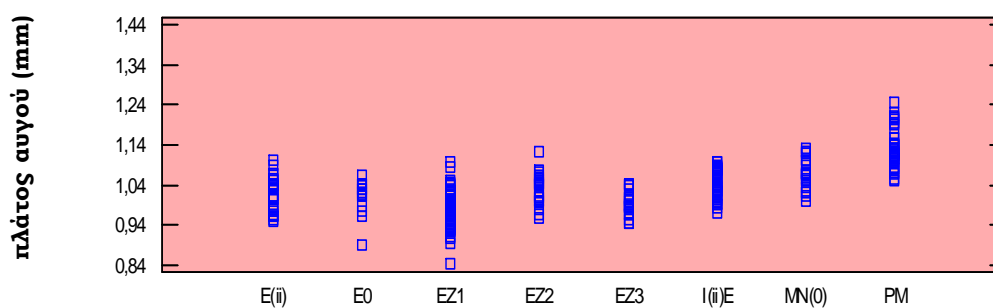


Διάγραμμα 3.24β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

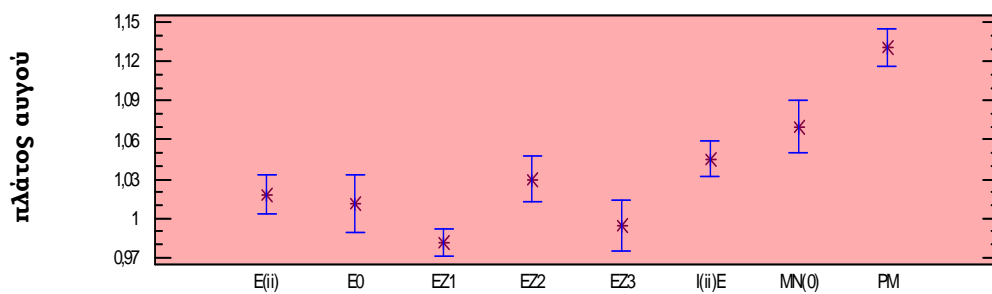
Πίνακας 3.27: Πλάτος αυγών, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός αυγών (n)	Πλάτος αυγών ± Τυπικό Σφάλμα	
1	E0	25	1,01±0,010 ^{αβγ}
2	E(ii)	25	1,02±0,007 ^{βγ}
3	EZ1	25	0,98±0,005 ^α
4	EZ2	25	1,03±0,008 ^{βγ}
5	EZ3	25	0,99±0,009 ^{αβ}
6	I(ii)E	25	1,05±0,006 ^{γδ}
7	MN(0)	25	1,07±0,009 ^δ
8	PM	25	1,13±0,007 ^ε

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



Διάγραμμα 3.25α: Διασπορά τιμών στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς

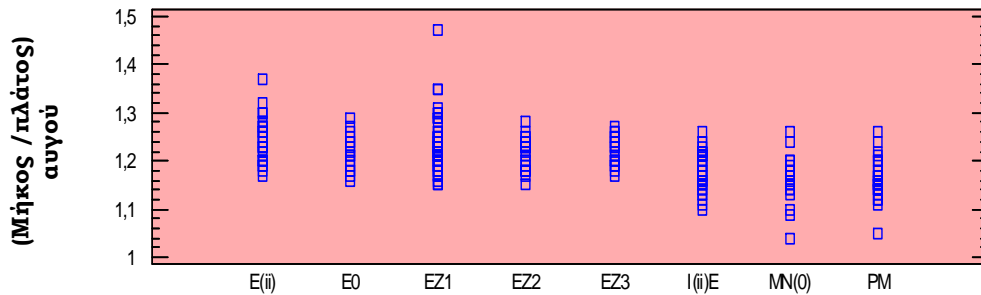


Διάγραμμα 3.25β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης *Tukey HSD*

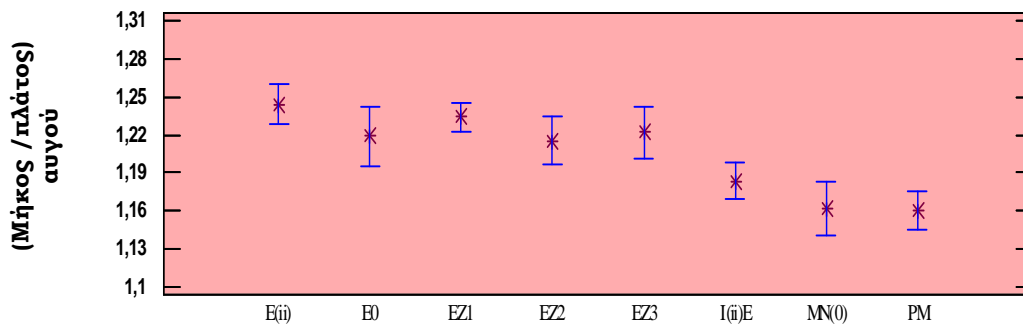
Πίνακας 3.28: Αναλογία μήκος/πλάτος αυγών, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών (μέσες τιμές \pm τυπικό σφάλμα)

Πληθυσμός	Αριθμός αυγών (n)	μήκος/πλάτος αυγών \pm Τυπικό Σφάλμα
1 E0	25	1,22 \pm 0,011 ^{$\beta\gamma$}
2 E(ii)	25	1,24 \pm 0,008 ^{γ}
3 EZ1	25	1,23 \pm 0,005 ^{γ}
4 EZ2	25	1,22 \pm 0,009 ^{$\beta\gamma$}
5 EZ3	25	1,22 \pm 0,009 ^{γ}
6 I(ii)E	25	1,18 \pm 0,007 ^{$\alpha\beta$}
7 MN(0)	25	1,16 \pm 0,010 ^{α}
8 PM	25	1,16 \pm 0,007 ^{α}

Μη κοινοί εκθέτες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$)



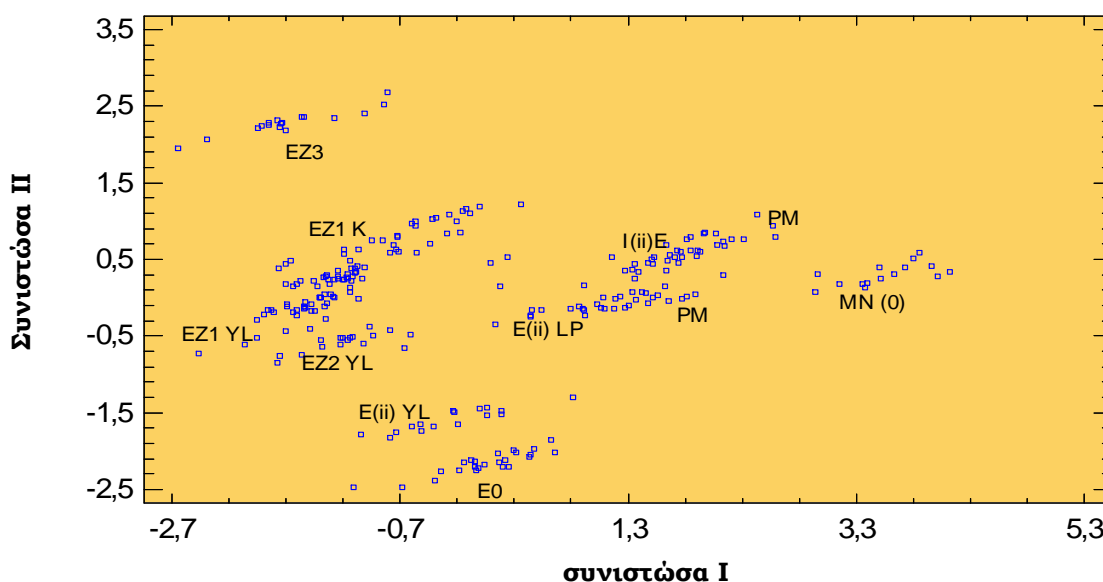
Διάγραμμα 3.26α: Διασπορά τιμών



Διάγραμμα 3.26β: Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης **Tukey HSD**

3.3.6. Ανάλυση βασικών συνιστωσών

Εφαρμόστηκε **ανάλυση βασικών συνιστωσών (Principal Components Analysis)**, για τις καταγεγραμμένες τιμές των σημαντικότερων μορφομετρικών και παραγωγικών παραμέτρων, προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα σχηματισμού ομοιογενών ομάδων των μελετούμενων ατόμων, με βάση τις διακυμάνσεις των παραμέτρων αυτών (**Διάγρ 3.27 α, β**). Οι παράμετροι που συμμετείχαν στην ανάλυση ήταν **α)** το χρώμα της προνύμφης, **β)** το χρώμα της αιμολέμφου, **γ)** το χρώμα του κουκουλιού, **δ)** το ποσοστό κελύφους, **ε)** το βάρος κλωρού κουκουλιού.



Διάγραμμα 3.27α: Δισδιάστατη απεικόνιση της διασποράς των τιμών των μετρήσεων για το σύνολο των μετρήσεων

$$\text{συνιστώσα I} = (0,360452 \times \text{χρώμα κουκουλιού}) - (0,444163 \times \text{χρώμα προνύμφης}) - (0,431376 \times \text{χρώμα αιμολέμφου}) + (0,501131 \times \text{\% κελύφους}) + (0,485362 \times \text{βάρος κλωρού κουκουλιού})$$

$$\text{συνιστώσα II} = (0,698586 \times \text{χρώμα κουκουλιού}) - (0,575323 \times \text{χρώμα προνύμφης}) - (0,343429 \times \text{χρώμα αιμολέμφου}) + (0,243394 \times \text{\% κελύφους}) + (0,0616144 \times \text{βάρος κλωρού κουκουλιού})$$

EZ1 YL: EZ1 (υπόλευκο κουκούλι)

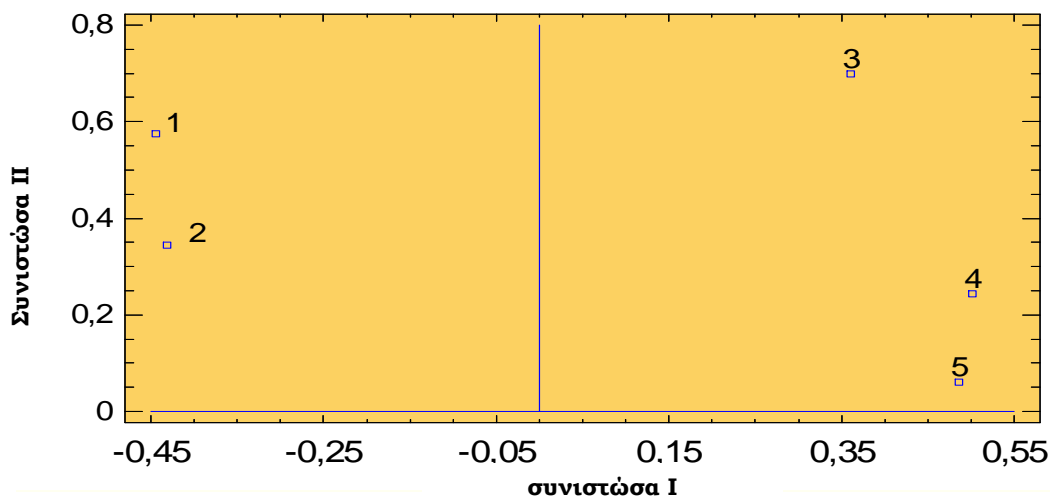
EZ1 K: EZ1 (κίτρινο κουκούλι)

EZ2 YL: EZ2 (υπόλευκο κουκούλι)

E(ii) LP: E(ii) (λευκοπράσινο κουκούλι)

E(ii) YL: E(ii) (υπόλευκο κουκούλι)

Από τη στατιστική ανάλυση προκύπτει ότι οι δύο βασικές συνιστώσες **I** και **II** ερμηνεύουν το **70,7697%** των διακυμάνσεων των παρατηρήσεων.



Διάγραμμα 3.27β: Δισδιάστατη απεικόνιση της βαρύτητας της επίδρασης των παραμέτρων στη διακύμανση των τιμών των παρατηρήσεων.

(1): χρώμα κουκουλιού (2): χρώμα προνύμφης (3): χρώμα αιμολέμφου
 (4): (%) κελύφους (5): βάρος κλωρού κουκουλιού

3.3.7 Μελέτη πολυμορφισμών του mtDNA

3.3.7.1. Γενικά

Από το ολικό DNA των υπό μελέτη καθαρών σειρών που απομονώθηκε, με την εφαρμογή αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) πολλαπλασιάστηκαν τα γονιδιακά τμήματα COI και 16srDNA του μιτοχονδριακού DNA και προσδιορίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 2%. Παράλληλα έγινε σύγκριση με μάρτυρα ο οποίος αποτελείται από θραύσματα γνωστού μεγέθους και υπολογίστηκε το μέγεθος κάθε θραύσματος. Το προϊόν της PCR για το γονιδιακό τμήμα 16srDNA βρέθηκε να έχει μέγεθος μεταξύ 950 και 1000 ζευγών βάσεων, ενώ για το γονιδιακό τμήμα COI βρέθηκε να έχει μέγεθος μεταξύ 1000 και 1100 ζευγών βάσεων σε όλους τους υπό μελέτη πληθυσμούς.

3.3.7.2. 16srDNA

Μελετήθηκαν 12 άτομα από κάθε πληθυσμό και τα ένζυμα που βρήκαν θέσεις αναγνώρισης ήταν τα **SspI**, **DraI**, **EcoRI** και **AluI**

a) **SspI**

Υπήρχαν πληθυσμοί που έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με μία θέση αναγνώρισης και δύο ζώνες μήκους 626 και 338 ζευγών βάσεων

αντίστοιχα. Οι υπόλοιποι πληθυσμοί επέδειξαν το περιοριστικό πρότυπο **B** με δύο θέσεις αναγνώρισης και τρεις ζώνες μήκους 516, 338 και 110 ζευγών βάσεων αντίστοιχα.

β) *DraI*

Όλοι οι πληθυσμοί έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με μία θέση αναγνώρισης και δύο ζώνες μήκους 563 και 401 ζευγών βάσεων αντίστοιχα

γ) *EcoRI*

Όλοι οι πληθυσμοί έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με μία θέση αναγνώρισης και δύο ζώνες μήκους 491 και 473 ζευγών βάσεων αντίστοιχα

δ) *AluI*

Όλοι οι πληθυσμοί έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με μία θέση αναγνώρισης και δύο ζώνες μήκους 570 και 394 ζευγών βάσεων αντίστοιχα

Πίνακας 3.29: Μέγεθος των θραυσμάτων, υπολογισμένο σε ζεύγη βάσεων (bp), όλων των προτύπων που παρατηρήθηκαν στο mtDNA 16srDNA γονιδιακό τμήμα στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν

<i>SspI</i>			<i>DraI</i>			<i>EcoRI</i>		<i>AluI</i>		
Bp	A	B	Bp	A		Bp	A	Bp	A	
626	—		563	—		491	—	570	—	
516		—	401	—		473	—	394	—	
338	—	—								
110		—								

Οι πληροφορίες που παρέχει ο **πίνακας 3.29** αναλύονται παραστατικά στον **πίνακα 3.30**, όπου παρουσιάζονται τα περιοριστικά πρότυπα που παρατηρήθηκαν, ανά άτομο και ανά πληθυσμό.

Πίνακας 3.30: Ένζυμα περιορισμού και περιοριστικά πρότυπα που παρατηρήθηκαν μετά από πέψεις στο γονιδιακό τμήμα 16srDNA, στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς.

16srDNA													
α/α δειγματος Πληθυσμός	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Περιοριστικό ένζυμο
E0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>
E(ii)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>
EZ1	A	A	A	B	B	A	B	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>
EZ2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>
EZ3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>
I(ii)E	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>
MN(0)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>
PM	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>DraI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>EcoRI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>AluI</i>

3.3.7.3. COI

Μελετήθηκαν 12 άτομα από κάθε πληθυσμό. Ένζυμα που βρήκαν θέσεις αναγνώρισης ήταν τα *NcoI*, *Sau3AI*, *BclII*, *SspI*, και *XhoI*

α) *NcoI*

Παρουσιάζονται δύο διαφορετικά περιοριστικά πρότυπα. Το πρότυπο **A** επιδεικνύει μία θέση αναγνώρισης και δύο ζώνες μήκους 591 και 437

ζευγών βάσεων αντίστοιχα. Οι υπόλοιποι πληθυσμοί επέδειξαν το περιοριστικό πρότυπο **B** όπου δεν παρατηρείται θέση αναγνώρισης, όποτε υπάρχει μία ζώνη με μήκος 1028 ζευγών βάσεων αντίστοιχα.

β) Sau3AI

Όλοι οι πληθυσμοί έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με τρεις θέσεις αναγνώρισης και τέσσερις ζώνες μήκους 371, 350, 275 και 32 ζευγών βάσεων αντίστοιχα

γ) BclII

Όλοι οι πληθυσμοί έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με δύο θέσεις αναγνώρισης και τρεις ζώνες μήκους 465, 326 και 237 ζευγών βάσεων αντίστοιχα

δ) SspI

Όλοι οι πληθυσμοί έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με δύο θέσεις αναγνώρισης και τρεις ζώνες μήκους 487, 277 και 264 ζευγών βάσεων αντίστοιχα

ε) XhoI

Όλοι οι πληθυσμοί έδωσαν το περιοριστικό πρότυπο **A** με μία θέση αναγνώρισης και δύο ζώνες μήκους 612 και 410 ζευγών βάσεων αντίστοιχα

Πίνακας 3.31: Μέγεθος των θραυσμάτων, υπολογισμένο σε ζεύγη βάσεων (bp), όλων των προτύπων που παρατηρήθηκαν στο mtDNA COI γονιδιακό τμήμα στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν

NcoI			Sau3AI		BclII		SspI		XhoI	
Bp	A	B	Bp	A	Bp	A	Bp	A	Bp	A
1028		—	371	—	465	—	487	—	612	—
591	—		350	—	326	—	277	—	416	—
437	—		275	—	237	—	264	—		
			32	—						

Με όμοιο τρόπο, οι πληροφορίες του **πίνακα 3.31** αναλύονται παραστατικά στον **πίνακα 3.32**, όπου παρουσιάζονται τα περιοριστικά πρότυπα που παρατηρήθηκαν, ανά άτομο και ανά πληθυσμό για το γονιδιακό τόπο, COI του μιτοχονδριακού DNA.

Πίνακας 3.32: Ένζυμα περιορισμού και περιοριστικά πρότυπα που παρατηρήθηκαν μετά από πέψεις στο γονιδιακό τμήμα COI, στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς.

COI													
α/α δειγματος Πληθυσμός	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Περιοριστικό ένζυμο
E0	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>
E(ii)	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>
EZ1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>
EZ2	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>
EZ3	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>
I(ii)E	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>
MN(0)	B	B	A	B	B	B	B	B	A	B	B	B	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>
PM	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>NcoI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>Sau3AI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>BclII</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>SspI</i>
	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<i>XhoI</i>

3.3.7.4. Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της ανάλυσης DNA

Συνδυάζοντας τις πληροφορίες των πινάκων **3.30** και **3.32** είναι δυνατή η σύνταξη του σύνθετου απλότυπου κάθε πληθυσμού, στον οποίο αποτυπώνεται το πρότυπο που παρουσιάζεται για κάθε ένζυμο (**Πίν. 3.33**).

Παράλληλα, από τη στατιστική επεξεργασία των παρατηρήσεων που αφορούν στην εμφάνιση των περιοριστικών προτύπων ανά πληθυσμό, προκύπτουν οι τιμές απλοτυπικής και νουκλεοτιδικής ποικιλότητας και οι τιμές της συχνότητας εμφάνισης των απλοτύπων (**Πίν. 3.33**).

Πίνακας 3.33: Απλότυποι, απλοτυπική ποικιλότητα, νουκλεοτιδική ποικιλότητα και συχνότητες εμφάνισης απλοτύπων στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς.

Πληθυσμός	Απλότυπος	Απλοτυπική ποικιλότητα (\pm τυπικό σφάλμα)	Νουκλεοτιδική ποικιλότητα	Συχνότητα απλοτύπων (%)
EO	AAAAAAAAAA	0	0	1
E(ii)	AAAAAAAAAA	0	0	1
EZ1	AAAAAAAAAA	0,4091 ($\pm 0,13325$)	0,004618	0,75
	B AAAAAAAAAA			0,25
EZ2	AAAAAAAAAA	0	0	1
EZ3	AAAAAAAAAA	0	0	1
I(ii)E	AAAAAAAAAA	0	0	1
MN(0)	AAAAAAAAAA	0,3030 ($\pm 0,14746$)	0,003421	0,17
	AAAA B AAAAA			0,83
PM	AAAAAAAAAA	0	0	1

Η τιμή της απλοτυπικής ποικιλότητας για τον πληθυσμό EZ1 είναι $0,4091 \pm 0,13325$ ενώ για τον πληθυσμό MN(0) είναι $0,3030 \pm 0,14746$. Αντίστοιχα οι τιμές της νουκλεοτιδικής ποικιλότητας για τους δύο αυτούς πληθυσμούς είναι 0,004618 για τον EZ1 και 0,003421 για τον MN(0).

Με βάση τα παραπάνω, φαίνεται ότι υπάρχουν περιοριστικά ένζυμα που μπορούν να χαρακτηριστούν ως διαγνωστικά, διότι δίνουν διαφορετικό πρότυπο σε κάποιους από τους πληθυσμούς που μελετήθηκαν.

Το ένζυμο **SspI** παρουσιάζει δύο περιοριστικά πρότυπα, ως προς το γονιδιακό τμήμα 16srDNA. Πιο συγκεκριμένα, σε όλους τους

πληθυσμούς πλην του MN(0) παρατηρήθηκε το περιοριστικό πρότυπο A. Από τα δείγματα του πληθυσμού MN(0) που μελετήθηκαν, εννέα παρουσίασαν το περιοριστικό πρότυπο A και τρία το περιοριστικό πρότυπο B.

Το ένζυμο **NcoI** παρουσιάζει επίσης δύο περιοριστικά πρότυπα, καθώς σε όλους του πληθυσμούς καταγράφεται το περιοριστικό πρότυπο A, ενώ ο πληθυσμός MN(0) επιδεικνύει με συχνότητα 83% το πρότυπο B

Πίνακας 3.34: Καθαρή νουκλεοτιδική απόκλιση στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς.

	EO	E(ii)	EZ1	EZ2	EZ3	I(ii)E	MN(O)	PM
EO	*							
E(ii)	0,0000000	*						
EZ1	0,0005131	0,0005131	*					
EZ2	0,0000000	0,0000000	0,0005131	*				
EZ3	0,0000000	0,0000000	0,0002566	0,0000000	*			
I(ii)E	0,0000000	0,0000000	0,0005131	0,0000000	0,0000000	*		
MN(O)	0,0001710	0,0001710	0,0002566	0,0001710	0,0002851	0,0001710	*	
PM	0,0000000	0,0000000	0,0005131	0,0000000	0,0000000	0,0000000	0,0001710	*

Η καθαρή νουκλεοτιδική απόκλιση (d_A), αφαιρώντας την ενδοπληθυσμιακή ποικιλότητα που προκύπτει μεταξύ των πληθυσμών που μελετήθηκαν παρουσιάζει χαμηλές τιμές (**Πίν. 3.34**) . Ωστόσο από τις τιμές αυτές μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα πως τη μεγαλύτερη διαφοροποίηση εμφανίζει ο πληθυσμός **EZ1** σε σχέση με τους υπόλοιπους πληθυσμούς καθώς ο συντελεστής d_A παρουσιάζει τις υψηλότερες τιμές.

Οι τρεις απλότυποι μεταξύ των πληθυσμών που μελετήθηκαν είχαν γενετική απόσταση η οποία αποτυπώνεται στις τιμές των συντελεστών νουκλεοτιδικών αποκλίσεων (d_{ij}) μεταξύ των απλοτύπων (**Πίν. 3.35**)

Πίνακας 3.35: Συντελεστές νουκλεοτιδικών αποκλίσεων μεταξύ των απλοτύπων.

	Απλότυπος I ΑΑΑΑΑΑΑΑΑ	απλότυπος II ΒΑΑΑΑΑΑΑΑ	Απλότυπος III ΑΑΑΑΒΑΑΑΑ
απλότυπος I ΑΑΑΑΑΑΑΑΑ	0,0000000		
απλότυπος II ΒΑΑΑΑΑΑΑΑ	0,0112886	0,0000000	
απλότυπος III ΑΑΑΑΒΑΑΑΑ	0,0056860	0,0168018	0,0000000

Ο **απλότυπος I** απαντάται σε όλους τους πληθυσμούς. Αντίθετα οι **απλότυποι II** και **III** εμφανίζονται σε διαφορετικά ποσοστά στους πληθυσμούς EZ1 και MN(0).

Κεφάλαιο 4^ο

Συζήτηση

αποτελεσμάτων

4. Συζήτηση

4.1. Εμπορικά υβρίδια

Όπως έχει αναφερθεί, μέχρι το 2009 για την κάλυψη των αναγκών σε αυγά μετασοκωλήκων γινόταν προμήθεια από το εξωτερικό που πραγματοποιούσε το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων. Στη συνέχεια ο μεταξόσπορος προωθείτο στους εκτροφείς σε συμβολική τιμή. Η παραπάνω διαδικασία άρχισε να εφαρμόζεται από τα μέσα της δεκαετίας του 1960 εποχή κατά την οποία η ντόπια σποροπαραγωγή ατόνησε και το τότε Υπουργείο Γεωργίας άρχισε την επιχορήγηση για την αγορά εισαγόμενων πολυυβριδίων μεταξόσπορου, με σκοπό τη διάδοσή τους και κατ' επέκταση τη διατήρηση και ως ένα βαθμό την ανάκαμψη της σηροτροφίας (Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 1965).

Φαίνεται πως η συνέχιση της παραπάνω πρακτικής στις μέρες μας παρουσίαζε έντονα προβλήματα καθώς **α)** δεν υπήρχε συγκεκριμένο θεσμικό πλαίσιο ούτε διοικητικές πράξεις από τις οποίες να προβλέπεται, **β)** υπήρχε ο κίνδυνος η χορήγηση του μεταξόσπορου σε συμβολική τιμή στους σηροτρόφους να χαρακτηριστεί ως έμμεση κρατική ενίσχυση, με ενδεχόμενη επιβολή κυρώσεων από την Ευρωπαϊκή Ένωση, **γ)** Η προμήθεια με γνώμονα τη χαμηλότερη τιμή δεν εξασφάλιζε πάντα και τη βέλτιστη ποιότητα, **δ)** δεν μπορούσε να γίνει παραγγελία συγκεκριμένου υβριδίου το οποίο να ανταποκρίνεται στις ανάγκες των σηροτρόφων και τις απαιτήσεις της αγοράς, καθώς κάτι τέτοιο αντιβαίνει στη Νομοθεσία περί προμηθειών, **ε)** συχνά παρατηρούνταν διοικητικές δυσχέρειες και καθυστερήσεις στην ολοκλήρωση της διαδικασίας, **στ)** δινόταν προβάδισμα στη χρήση του μεταξόσπορου που προμηθευόταν το ΥΠ.Α.Α.Τ., δημιουργώντας συνθήκες αθέμιτου ανταγωνισμού έναντι άλλων υβριδίων, **ζ)** δεν αξιοποιείτο η δυνατότητα για εγχώρια παραγωγή μεταξόσπορου, κάτι που δοκιμάστηκε με πολύ καλά αποτελέσματα το 2004, το 2005 και το 2006 (Νομαρχία Λέσβου, 2001; Νομαρχία Έβρου 2004, 2005; Σηροτροφικό

Εργαστήριο Αθηνών, 2005, 2006α, 2006β, 2006γ, 2006δ, Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων 2009)

Οι παραπάνω λόγοι ώθησαν το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων να καθορίσει τις διαδικασίες εισαγωγής, παραγωγής, διακίνησης και εμπορίας μεταξόσπορου εντός της Ελλάδας με την υπ' αριθμ. 337474/9-12-2009 (ΦΕΚ 2487/Β/2009) απόφαση. Στο σκεπτικό της παραπάνω απόφασης αναφέρεται ότι, για την έκδοσή της ελήφθη υπόψη, μεταξύ άλλων και **«η ανάγκη των παραγωγών σηροτρόφων να προμηθεύονται έγκαιρα την ποσότητα και τον τύπο του μεταξόσπορου που επιθυμούν οι ίδιοι και ο οποίος είναι απαραίτητος για την πραγματοποίηση των εκτροφών κάθε έτους, έτσι ώστε να διασφαλίζετε η επάρκεια και η βέλτιστη ποιότητα του παραγόμενου προϊόντος βάσει των απαιτήσεων της βιομηχανίας του μεταξιού»**

Η προαναφερθείσα εξέλιξη οδήγησε στην διάλυση ενός άτυπου μονοπωλίου που είχε εδραιωθεί εκ των πραγμάτων τα τελευταία χρόνια και οδηγούσε στην προμήθεια και χρήση μεταξόσπορου προερχόμενου αποκλειστικά από την Κίνα. Δόθηκε με αυτό τον τρόπο η δυνατότητα να εισαχθούν στην Ελλάδα και να δοκιμαστούν υβρίδια προερχόμενα και από άλλες χώρες, όπως η Τουρκία και η Βουλγαρία, ενώ παράλληλα μπορεί να βρει πρόσφορο έδαφος η αναβίωση της εγχώριας παραγωγής μεταξόσπορου.

Ύστερα από τα παραπάνω αναδεικνύεται η ανάγκη μελέτης και καταγραφής παραγωγικών χαρακτηριστικών υβριδίων μεταξοσκωλήκων. Τα αποτελέσματα της εν λόγω έρευνας μπορούν να αξιοποιηθούν από τους Έλληνες σηροτρόφους, βρίσκοντας άμεση εφαρμογή στην επιχειρηματική σηροτροφία. Κατά το πειραματικό μέρος της Διατριβής, που αφορούσε στη μελέτη χαρακτηριστικών των εμπορικών υβριδίων καταγράφηκαν δεδομένα **α)** του τουρκικού υβριδίου **M x N**, **β)** του κινεζικού υβριδίου **Qiufeng x Baiyu** και **γ)** του ελληνικού υβριδίου **X1 x K1**.

Τα δεδομένα για όλα τα υβρίδια αφορούν μετρήσεις που έγιναν σε περισσότερα από ένα έτη. Για το Τουρκικό υβρίδιο **MxN** η καταγραφή

έγινε κατά τις σηροτροφικές περιόδους 2010 και 2011, χρονιές στις οποίες το εν λόγω υβρίδιο εισήχθη στη Ελλάδα και διατέθηκε προς χρήση σε παραγωγούς κυρίως του νομού Έβρου (περιοχή Ορεσιτιάδας και Σουφλίου). Τα δεδομένα για το κινεζικό υβρίδιο **Qiufeng x Baiyu** αφορούν τα έτη 2009 και 2010 χρονιές κατά τις οποίες το υβρίδιο αυτό διατέθηκε σε παραγωγούς σε όλους τους νομούς της χώρας όπου εξασκείται η σηροτροφία. Τέλος τα δεδομένα για το ελληνικό υβρίδιο **X1 x K1** αφορούν στα έτη 2005 και 2006, χρονιές κατά τις οποίες έλαβε χώρα η παραγωγή του από Έλληνα μεταξοποροπαραγωγό και διατέθηκε προς χρήση, κυρίως στις περιοχές της Βοιωτίας, της Ευβοίας και της Λέσβου και σε μικρότερο βαθμό σε μονάδες του Σουφλίου και της Ορεσιτιάδας.

4.1.1. Παραλαβή φορτίου

Σε όλες τις περιπτώσεις των εξεταζόμενων παραληφθέντων φορτίων, διαπιστώθηκε ότι αυτά πληρούσαν τις ελάχιστες προδιαγραφές προκειμένου να γίνει η παραλαβή τους και να δοθεί η έγκριση για χρήση τους από τους Έλληνες σηροτρόφους. Οι ελάχιστες προδιαγραφές για την παραλαβή του φορτίου, έρχονται σε συμφωνία με Κοινοτικές και Εθνικές διατάξεις, προκειμένου η παραγωγική και η οικονομική απόδοση του προς χρήση μεταξόσπορου να είναι ικανοποιητική. Έτσι, σύμφωνα με τον **Κανονισμό (Ε.Κ.) 1234/2007** του Ευρωπαϊκού Συμβουλίου και τον **Κανονισμό (Ε.Κ.) 1744/2006** της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, προϋπόθεση για να λάβουν οι εκτροφείς μεταξοσκωλήκων την προβλεπόμενη Κοινοτική ενίσχυση είναι να χρησιμοποιήσουν κουτιά μεταξόσπορου των 20.000 αυγών το καθένα και να παράγουν 20 Kg κλωρά κουκούλια από κάθε κουτί. Επιπλέον, σύμφωνα με Εθνικές διατάξεις (**N. 513/194, ΦΕΚ 401/A/1914**), προκειμένου να είναι δυνατή η διακίνηση και χρήση του μεταξόσπορου, αυτός πρέπει να είναι απαλλαγμένος από πιπερίτιδα και το ποσοστό εκκολαπτικότητάς του να είναι τουλάχιστον 95%.

Η ποιότητα των κουτιών του μεταξόσπορου και η συγχρονισμένη και σε υψηλό ποσοστό εκκόλαψη είναι οι πρωταρχικοί παράγοντες για

μία επιτυχημένη εκτροφή, καθώς από αυτούς μπορεί να καθοριστεί σε μεγάλο βαθμό το οικονομικό αποτέλεσμα.

Θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι οι παράγοντες αυτοί είναι δύσκολο να παρουσιάζουν έντονες διακυμάνσεις και αποκλίσεις από τα αποδεκτά επίπεδα, αφού μπορούν να ελεγχθούν από τους οίκους παραγωγής των υβριδίων. Είναι εύκολο για έναν οίκο παραγωγής να ελέγξει την ποσότητα των αυγών που περιέχει κάθε κουτί και να προβεί στις απαραίτητες διορθωτικές κινήσεις, ενώ αντίστοιχα μπορεί να κάνει ελέγχους για την πιθανότητα προσβολής από πιπερίτιδα και το ποσοστό εκκολαπτικότητας, εφόσον θέλει να ικανοποιεί τους συνεργάτες του προσφέροντάς τους κανονικό και αποδοτικό προϊόν. Εντούτοις, η σημασία των παραπάνω ελέγχων αναδεικνύεται από το γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια καταγράφηκαν περιπτώσεις υβριδίων, τα οποία δεν πληρούσαν μία ή και περισσότερες από τις προαναφερθείσες προϋποθέσεις (Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 2011 προσωπική επικοινωνία).

Αξίζει να σημειωθεί ότι κατά την καταμέτρηση του περιεχομένου των κουτιών του τουρκικού υβριδίου, η ποσότητα των αυγών που περιέχονταν σε αυτά ήταν κατά πολύ μεγαλύτερη από την προβλεπόμενη, φτάνοντας σχεδόν στα 25.000 αυγά ανά κουτί. Η παρατήρηση αυτή μπορεί να έχει διπλή ανάγνωση. Από τη μία εξασφαλίζεται υψηλότερη απόδοση, καθώς η παραγόμενη ποσότητα κουκουλιών μπορεί να είναι αντίστοιχα αυξημένη και ως εκ τούτου, το οικονομικό αποτέλεσμα που μπορεί να προκύψει από την πώληση των παραγόμενων κουκουλιών μπορεί να είναι υψηλότερο.

Από την άλλη πλευρά, το γεγονός ότι για κάθε τέσσερα κουτιά μεταξόσπορου που παραλαμβάνει ο εκτροφέας, από τα επιπλέον αυγά που περιέχονται σε αυτά μπορεί να προκύψει περίπου ένα ακόμα κουτί των 20.000 αυγών, οδηγεί στο συμπέρασμα πως υπάρχει οικονομική απώλεια σε σχέση με την επιδότηση που λαμβάνει ο παραγωγός. Θα μπορούσε να ληφθεί Κοινοτική ενίσχυση περίπου κατά 1/4 μεγαλύτερη, αν ο επιπλέον αριθμός αυγών του κάθε κουτιού λαμβανόταν ως αντιστοίχως επιπλέον εκτρεφόμενα κουτιά μεταξόσπορου.

4.1.2. Εκτροφή εμπορικών υβριδίων

Η διάρκεια προνύμφης, το ποσοστό επιβίωσης και το ποσοστό κλαδώματος αποτελούν πολύ σημαντικές παραμέτρους σε σχέση με την οικονομική απόδοση των εκτρεφόμενων υβριδίων.

Στη διάρκεια προνύμφης αντικατοπτρίζεται ο συνολικός χρόνος που διαρκεί μία εκτροφή και κατά συνέπεια το κόστος της εκτροφής αναφορικά **α)** με την ποσότητα της χορηγούμενης τροφής, **β)** με τις απαιτούμενες εργατοώρες και **γ)** με την απαιτούμενη ενέργεια για θέρμανση ή δροσισμό των χώρων εκτροφής. Τα σύγχρονα πολυυβρίδια παρουσιάζουν διάρκεια προνύμφης αρκετά μικρότερη από τις καθарές φυλές ή τα υβρίδια που χρησιμοποιούνταν στο παρελθόν, μειώνοντας αρκετά το κόστος εκτροφής (Chen, 2002). Τα υβρίδια που μελετήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας είχαν διάρκεια προνύμφης η οποία κυμαινόταν περίπου μεταξύ 26 και 27 ημερών, με το ελληνικό **X1 x K1** να επιδεικνύει στατιστικά σημαντικά υψηλότερη διάρκεια από τα άλλα δύο υβρίδια, περίπου κατά μία ημέρα. Εντούτοις η διάρκεια προνύμφης και για τα τρία υβρίδια που εξετάστηκαν μπορεί να θεωρηθεί σχετικά χαμηλή και εντός των ικανοποιητικών ορίων. Σύμφωνα με τους Tzenon (2002) και Matei & Brasia (2005) έχουν καταγραφεί υβρίδια τα οποία επιδεικνύουν διάρκεια προνύμφης από 27 έως και 31 ημέρες. Σύμφωνα με τα συνοδευτικά έγγραφα του υβριδίου **Qiufeng X Baiyu** αναφέρεται από τον παραγωγό (**Zhejiang Huashen Silk Imp. & Exp. Co Ltd.**) ότι διάρκεια προνύμφης είναι 26-27 ημέρες, όμοια με αυτή που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη. Αντίστοιχα για το τουρκικό υβρίδιο **M X N** ο παραγωγός οίκος (**Kozabirlık Co.**) αναφέρει ως προβλεπόμενο χρόνο εκτροφής, δηλαδή διάρκεια προνύμφης, 26 – 28, διάρκεια η οποία έρχεται σε συμφωνία με τα ευρήματα της μελέτης.

Το ποσοστό επιβίωσης εκφράζει τον αριθμό των προνυμφών που παραμένουν ζωντανές κατά τη διάρκεια των δύο τελευταίων ηλικιών του προνυμφικού αναπτυξιακού σταδίου τους. Είναι ο πρωταρχικός παράγοντας από τον οποίο θα εξαρτηθεί η τελική απόδοση σε αριθμό παραγόμενων κουκουλιών. Η τιμή του ποσοστού επιβίωσης εξαρτάται

άμεσα από την προσαρμοστικότητα και την ανθεκτικότητα σε ασθένειες, διατροφικές – μεταβολικές διαταραχές ή σε διακυμάνσεις των περιβαλλοντικών συνθηκών.

Σύμφωνα με τους (Chen, 2002), το ποσοστό επιβίωσης εμπορικών υβριδίων προερχόμενων από την Κίνα κυμαίνεται από 80 έως 95 %, ενώ το υβρίδιο **Qiufeng X Baiyu** φαίνεται να επιδεικνύει ποσοστό επιβίωσης 95%, σύμφωνα με τον παραγωγό οίκο. Οι Aruga (1994), Tzenon (2002) και Ganga (2003) αναφέρουν εμπορικά υβρίδια με ποσοστά επιβίωσης από 75 έως 98 %

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων, φαίνεται ότι όλα τα μελετηθέντα υβρίδια παρουσίασαν ποσοστό επιβίωσης χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές το οποίο βρισκόταν μεταξύ του 90,69% και του 91,19% που είναι εντός των συνήθων ορίων που αναφέρονται διεθνώς για μονόγονα ή δίγονα υβρίδια προοριζόμενα για εκτροφή σε εύκρατα κλίματα, όπως είναι αυτό της χώρας μας. Επιπλέον, φαίνεται ότι το καταγεγραμμένο ποσοστό επιβίωσης για τα εισαγόμενα υβρίδια ήταν εντός των ορίων που δίνουν γι' αυτά οι παραγωγοί τους.

Το ποσοστό κλαδώματος αποτελεί την πρακτική αποτύπωση του ποσοστού επιβίωσης. Η τιμή του ποσοστού κλαδώματος είναι στενά συνδεδεμένη με το ποσοστό επιβίωσης, αφού όσο περισσότεροι μεταξοσκώληκες ολοκληρώσουν ζωντανοί το προνυμφικό τους στάδιο, τόσο περισσότεροι είναι πιθανόν να «κλαδώσουν», δηλαδή να πλέξουν κουκούλι προκειμένου να νυμφωθούν. Η σχέση αυτή όμως, δεν είναι πάντα αμφίδρομη ούτε αναλογική. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου ενώ οι προνύμφες ολοκληρώνουν το προνυμφικό τους στάδιο, για κάποιους λόγους δεν νυμφώνονται ακόμα και αν έχουν φτάσει ή ξεπεράσει κατά πολύ το όριο των ημερών της διάρκειας προνύμφης, ή νυμφώνονται χωρίς να πλέξουν κουκούλι (Παπανασούμ, 1950). Τα αίτια μπορεί να ποικίλουν (γενετικά, περιβαλλοντικά, διατροφικά κλπ.), η έκφραση τους όμως είναι πάντα η ίδια, αφού η τάση για μεταμόρφωση και πλοκή του κουκουλιού είναι ορμονικά εξαρτώμενη διαδικασία (Aruga, 1994; Ganga, 2003). Η έκκριση τις στεροειδούς ορμόνης εκδυσόνης, η οποία

παράγεται στους προθωρακικούς αδένες είναι αυτή που οδηγεί το μεταξοσκώληκα να ενηλικιωθεί και να δημιουργήσει κουκούλι.

Σύμφωνα με τους Tzenov (2002) και Matei (2005) το ποσοστό κλαδώματος υβριδίων προοριζόμενων για εύκρατα κλίματα, εφόσον οι συνθήκες εκτροφής είναι βέλτιστες και το επίπεδο διατροφής ικανοποιητικό, κυμαίνεται από 85% μέχρι 95%. Ειδικότερα το κινεζικό υβρίδιο **Qiufeng X Baiyu** αναφέρεται από τον παραγωγό οίκο με προβλεπόμενο ποσοστό κλαδώματος από 90 έως 95 %, το οποίο είναι υψηλότερο από αυτό το οποίο καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη.

Ο πίνακας 3.8 και το διάγραμμα 3.3 καταδεικνύουν ότι το τουρκικό υβρίδιο **M X N** παρουσιάζει στατιστικά σημαντικά υψηλότερο ποσοστό κλαδώματος από τα άλλα δύο υβρίδια που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή.

Ύστερα από τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων των μετρήσεων των ποιοτικών χαρακτηριστικών των κουκουλιών, δηλαδή του βάρους χλωρού κουκουλιού, του βάρους κελύφους και το ποσοστού κελύφους, διαπιστώθηκε και πάλι ότι για κάθε ένα από τα μελετηθέντα υβρίδια δεν παρουσιάζόταν στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικές χρονιές, για όλες της υπό μελέτη παραμέτρους. Έτσι, η στατιστική επεξεργασία επαναλήφθηκε, εισάγοντας προς επεξεργασία το σύνολο των τιμών όλων των ετών, λαμβάνοντας ως ανεξάρτητη μεταβλητή το υβρίδιο και συντελεστή συνδιακύμανσης το φύλο του μελετηθέντος εντόμου.

Από τους πίνακες **3.9, 3.10, 3.11** και τα διαγράμματα **3.4αβ, 3.5αβ, 3.6αβ** διαφαίνεται ότι υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μελετούμενων πληθυσμών.

Το βάρος κουκουλιού είναι ένα σημαντικό εμπορικό χαρακτηριστικό το οποίο χρησιμοποιείται για τον κατ' εκτίμηση αρχικό προσδιορισμό της παραχθησόμενης ποσότητας ακατέργαστης μέταξας και κατ' επέκταση του οικονομικού αποτελέσματος της εκτροφής (Aruga, 1993; Chen, 2002; Tzenov, 2002; Ganga, 2004). Επιπλέον, όσον αφορά στη χώρα μας και γενικότερα στην Ευρωπαϊκή Ένωση, είναι η παράμετρος που κατ' εξοχήν λαμβάνεται υπόψη για την χορήγηση ή μη

της προβλεπόμενης Κοινοτικής ενίσχυσης, αφού προκειμένου ο παραγωγός να εισπράξει **133,26 €**, ανά κουτί εκτρεφόμενου μεταξόσπορου, οφείλει να παράγει τουλάχιστον **20Kg** χλωρά κουκούλια (**Καν. Ε.Κ. 1234/2007**).

Ασφαλέστερη εκτίμηση της παραχθησόμενης ποσότητας μέταξας μπορεί να γίνει με την καταγραφή του βάρους κελύφους και κατ' επέκταση του ποσοστού κελύφους, αφού σε αυτή την περίπτωση μετριέται μόνο το τμήμα του κουκουλιού που αποτελεί το μετάξινο κλάσμα του, αφαιρώντας από το συνολικό βάρος, εκείνο της νύμφης και των περιεχόμενων εκδυμάτων. Το βάρος και το ποσοστό κελύφους εκφράζουν ποσοτικά την ικανότητα παραγωγής μεταξιού από μία προνύμφη, αφού μεγάλο και βαρύ κουκούλι δεν συνεπάγεται πάντα την ίδια ποσότητα μεταξιού. Υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες οι μεταξογόνοι αδένες της ώριμης προνύμφης μπορεί να μην έχουν ανάλογη ανάπτυξη με το υπόλοιπο σώμα του εντόμου. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιείται διαφορετική ποσότητα του περιεχομένου στο μεταξογόνο αδένια υλικού, για την παραγωγή του κουκουλιού, οδηγώντας σε διαφοροποιήσεις τόσο στο βάρος κελύφους όσο και στο ποσοστό κελύφους (Παπαναούμ, 1950).

Παρά το γεγονός ότι το βάρος και το ποσοστό κελύφους αποτελούν ασφαλέστερο μέτρο για τον προσδιορισμό της οικονομικής απόδοσης ενός πληθυσμού μεταξοσκωλήκων από το βάρος χλωρού κουκουλιού, δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην παραγωγική – επιχειρηματική σηροτροφία, καθώς απαιτείται η καταστροφή των παραχθέντων κουκουλιών. Έχει βρεθεί ότι η συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων είναι περίπου 70% (Gaviria *et al.*, 2006).

Το βάρος χλωρού κουκουλιού και το βάρος κελύφους ως παράμετροι, καθορίζουν σε σημαντικό βαθμό την απόδοση του υβριδίου που χρησιμοποιείται από τον εκτροφέα. Έχουν καταγραφεί υβρίδια τα οποία παράγουν κουκούλια με χλωρό βάρος που ποικίλει από περίπου **1 g** έως περίπου **2 g** (Νικολόπουκος, 1958; Mauchamp, 2002; Thangavelou, 2002; Chen, 2002; Tzenov, 2002), ενώ φαίνεται ότι τα

δίγωνα και τα πολύγωνα υβρίδια παρουσιάζουν κατά πολύ χαμηλότερα βάρη, από τα μέσα βάρη των μονόγονων υβριδίων (Thangavelou, 2002).

Σύμφωνα με τον Chen (2002), σε βάθος χρόνου παρατηρείται σταδιακή βελτίωση των αποδόσεων των υβριδίων αναφορικά με βάρος χλωρού κουκουλιού, από το 1924 μέχρι το 1990.

Το κινεζικό υβρίδιο **Qiufeng X Baiyu** έχει καταγραφεί ότι παράγει κουκούλια με χλωρό βάρος 1,57 g (Chen, 2002), χαμηλότερο από αυτό που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη.

Από τη στατιστική επεξεργασία των μετρήσεων που αφορούσαν στα υβρίδια που μελετήθηκαν και τη σύγκριση μεταξύ τους, φαίνεται ότι το τουρκικό υβρίδιο υπερέχει σε όλες τις παραμέτρους σε σχέση με το ελληνικό και το κινεζικό. Εντούτοις και τα τρία υβρίδια φαίνεται πως επιδεικνύουν τιμές αναφορικά με το βάρος χλωρού κουκουλιού, και το βάρος – ποσοστό κελύφους, αρκετά υψηλότερες από τον μέσο όρο των αντίστοιχων τιμών που έχουν καταγραφεί διεθνώς για υβρίδια προοριζόμενα για εύκρατα κλίματα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι το ελληνικό υβρίδιο και στις τρεις παραμέτρους παρουσιάζει τιμές υψηλότερες από το κινεζικό, ενώ οι τιμές του βάρους και του ποσοστού κελύφους είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερες από τις αντίστοιχες του κινεζικού υβριδίου.

Η αλλαγή του τρόπου προμήθειας του μεταξόσπορου και η αποδέσμευση της διαδικασίας από ενδεχόμενες καθυστερήσεις ή δυσχέρειες που παρουσιάζονταν κατά το παρελθόν, όταν η προμήθεια γινόταν κεντρικά από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων (πρώην Υπουργείο Γεωργίας), απελευθέρωσε την αγορά και έδωσε ώθηση στην εισαγωγή περισσότερων του ενός υβριδίων και από διαφορετικές χώρες, ενώ παράλληλα είναι πλέον δυνατή η παραγωγή και διάθεση στους Έλληνες σηροτρόφους και ελληνικού μεταξόσπορου. Επιπλέον, είναι πολύ πιθανή η βελτίωση της ποιότητας του διακινούμενου υλικού, καθώς ο ανταγωνισμός μεταξύ των προμηθευτών μπορεί να οδηγήσει στη βελτίωση του προϊόντος και την αύξηση της αποδοτικότητάς του.

Όπως διαπιστώνεται από τις παρατηρήσεις και της μετρήσεις, οι τιμές που επέδειξε τόσο το τουρκικό, όσο και το ελληνικό υβρίδιο σε

παραγωγικά χαρακτηριστικά, ήταν καλύτερες από αυτές του κινεζικού υβριδίου. Η διαπίστωση αυτή θα μπορούσε να αξιοποιηθεί δίνοντας τη δυνατότητα στους παραγωγούς ή τις οργανώσεις τους να επιλέξουν το καταλληλότερο για τις ανάγκες τους μεταξόσπορο, θέτοντας ως ζητούμενο όχι μόνο την χαμηλότερη τιμή, όπως γινόταν όταν αγοραστής ήταν το Δημόσιο, αλλά και άλλες παραμέτρους, οι οποίες καθορίζουν την απόδοση της εκτροφής και την αύξηση του εισοδήματος, ανεξάρτητα από Κοινοτικές ή Εθνικές ενισχύσεις.

4.2. Καθαρές σειρές

Έχει ήδη επισημανθεί ότι η επίτευξη του στόχου της βιώσιμης ανάπτυξης για τον κλάδο της σηροτροφίας και τα συναφή αντικείμενα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη δυνατότητα εξέλιξης και βελτίωσης των εκτρεφόμενων πληθυσμών μεταξοσκωλήκων. Σε πρακτικό επίπεδο, μέσω των προσπάθειών που κατέβαλλαν οι εκτροφείς του μεταξοσκώληκα στα χιλιάδες χρόνια κατά τα οποία εξασκείται η σηροτροφία από τον άνθρωπο, πολλές φυλές και πληθυσμοί του είδους έχουν επιλεγεί, και διατηρηθεί. Οι διαφορετικές ιδιότητες αυτών των επιλεγμένων και διατηρούμενων πληθυσμών, όπως το μήκος της ίνας, το βάρος του κουκουλιού, το βάρος κελύφους, το ποσοστό κελύφους, και το χρώμα του κουκουλιού, έχουν διακριτές εφαρμογές (Zhan *et al.*, 2009).

Οι χιλιάδες εκτρεφόμενοι πληθυσμοί οι οποίοι διατηρούνται σε εξειδικευμένα κυβερνητικά ινστιτούτα ή πανεπιστημιακά εργαστήρια σε μεταξοπαραγωγές χώρες, αποτελούν πολύ σημαντική πηγή, δυνητικά χρήσιμων γενετικών μεταλλάξεων (Li *et al.*, 2001; Kosegawa *et al.*, 2002; Soon & Hee, 2002). Αποτελούνται από αμιγείς γεωγραφικές φυλές (π.χ. Κινεζική, Ιαπωνική, Κορεατική, Ευρωπαϊκή, Τροπική) και γενετικά βελτιωμένους πληθυσμούς, οι οποίοι βελτιστοποιούνται με την εφαρμογή ελεγχόμενης εκτροφής και επιλογή βασισμένη σε οικονομικής σημασίας ποσοτικούς χαρακτήρες, όπως ο ρυθμός ανάπτυξης, το μέγεθος του κουκουλιού, η ποιότητα της ίνας (Li *et al.*, 2001) και η ανθεκτικότητα σε ασθένειες (Xu *et al.*, 2002). Στη συνέχεια πραγματοποιούνται οι

κατάλληλες διασταυρώσεις προκειμένου τα παραγόμενα υβρίδια να χρησιμοποιηθούν στην παραγωγική σηροτροφία (Yuan, 2002).

Με τη διασταύρωση μεταξύ δύο γενετικών στελεχών τα οποία επιδεικνύουν επιθυμητά χαρακτηριστικά και με διαδοχικές ομομικτικές συζεύξεις για επτά (7) ή περισσότερες γενεές και επιλογή των απογόνων με βάση τα χαρακτηριστικά τους, μπορεί να πραγματοποιηθεί η δημιουργία καθαρών σειρών. Τα διατηρούμενα γενετικά στελέχη λειτουργούν ως γονιδιακή τράπεζα, η οποία ουσιαστικά αποτελεί το καθαρό ομομικτικό απόθεμα μέσω του οποίου εκφράζονται ένα ή περισσότερα ποιοτικά χαρακτηριστικά (Jingade *et al.*, 2010).

Η διαχείριση και εκτροφή όλων των πληθυσμών έλαβε χώρα σε βάθος χρόνου τουλάχιστον επτά (7) γενεών, έτσι ώστε να είναι δυνατός ο χαρακτηρισμός τους ως νέες αμιγείς (καθαρές) σειρές, σύμφωνα με τους Jingade και συν. (2010).

4.2.1. Χαρακτηριστικά προνυμφών

Από όλα τα δεδομένα που αφορούσαν στη διάρκεια προνύμφης, στο ποσοστό επιβίωσης και στο ποσοστό κλαδώματος (**πιν. 3.12, 3.13, 3.14**) διαπιστώνεται πως οι υπό μελέτη πληθυσμοί παρουσιάζουν τιμές για τη διάρκεια προνύμφης και το ποσοστό επιβίωσης και κλαδώματος εντός των αναμενομένων ορίων, όπως αυτά έχουν καταγραφεί διεθνώς για διάφορους πληθυσμούς (Chen, 2002; Thangavelu, 2002; Mauchamp, 2002; Νικολόπουλος, 1958). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι πληθυσμοί 1 – 5 των οποίων οι εκτροφές έγιναν φθινόπωρο, παρουσίασαν ελαφρώς μεγαλύτερη διάρκεια προνύμφης, σε σχέση με τους υπόλοιπους πληθυσμούς των οποίων οι εκτροφές έγιναν άνοιξη. Είναι καταγεγραμμένο (Aruga, 1994; Ganga, 2003; Παπαναούμ, 1950) ότι πληθυσμοί οι οποίοι προορίζονται για φθινοπωρινές εκτροφές μπορεί να παρουσιάσουν μεγαλύτερη διάρκεια προνύμφης.

Ο αριθμός των εκδύσεων που πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου του μεταξοσκώληκα μπορεί να ποικίλει, ανάλογα με τη γενετική του ταυτότητα και τη φυλή στην οποία ανήκει, από τρεις, τέσσερις, πέντε ή και περισσότερες, χαρακτηριστικό το

οποίο είναι στενά συνδεδεμένο με τη συνολική διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου και την ποιότητα του παραγόμενου μεταξιού (Aruga, 1994). Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 3.3.1.4, όλοι οι υπό μελέτη πληθυσμοί παρουσίασαν 5 προνυμφικές ηλικίες, χαρακτηριστικό το οποίο είναι ο κανόνας σε πληθυσμούς που εκτρέφονται σε εύκρατα κλίματα.

Ο χρωματισμός της αιμολέμφου της προνύμφης συνδέεται συνήθως με το χρώμα του κουκουλιού που πρόκειται να παραχθεί. Συνήθως, οι χρωστικές που μπορεί να παρατηρηθούν στην αιμολέμφο είναι παρούσες και στους μεταξογόνους αδένες, επηρεάζοντας το χρώμα της παραγόμενης μετάξινης ίνας (Takashi et al, 2007; Harizuka M., 1953; Tamura *et al.*, 2002; Kurioka, A., Yamazaki, 2002). Το χρώμα της αιμολέμφου των πληθυσμών που μελετήθηκαν ήταν είτε κίτρινο, είτε λευκό όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 3.3.1.5, γνώρισμα το οποίο ήταν στενά συνδεδεμένο με το χρώμα του παραγόμενου κουκουλιού.

Η εικόνα του σώματος των ώριμων προνυμφών και τα χαρακτηριστικά που μπορεί να παρουσιάζει, όπως το χρώμα και η παρουσία ή όχι προσωπίδας, ραβδώσεων, ημισελίνου ή αστεροειδούς στίγματος, είναι από τα γνωρίσματα που μπορεί να ποικίλουν μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών μεταξοσκωλήκων (Παπανασούμ, 1950; Aruga, 1993). Όπως φαίνεται στον πίνακα 3.15, υπήρχαν πληθυσμοί με λευκό χρώμα και παντελή απουσία σχηματισμών στο σώμα τους (**EO**) ή πληθυσμοί οι οποίοι είχαν προσωπίδα, ημισέληνο και αστεροειδές στίγμα, ή πληθυσμοί με ραβδώσεις μαύρες ή σε αποχρώσεις του γκρι (γκρι ή γκριζοπράσινο).

4.2.2. Χαρακτηριστικά κουκουλιών

Τα κουκούλια του μεταξοσκώληκα μπορούν να εμφανιστούν σε ποικιλία φυσικών χρωμάτων και αποχρώσεων, χαρακτηριστικό το οποίο όπως αναφέρθηκε συνδέεται στενά με τις χρωστικές που μεταφέρονται στους μεταξογόνους αδένες μέσω της αιμολέμφου.

Τα λιποδιαλυτά καροτενοειδή που εμφανίζονται με κίτρινο χρώμα και τα πρασινόχρωμα φλαβονοειδή είναι οι δύο βασικοί τύποι χρωστικών

που είναι υπεύθυνες για το χρώμα των κουκουλιών, οι οποίες απορροφώνται κατά τη διατροφή και μεταφέρονται με την αιμολύμφο στους μεταξογόνους αδένες συσσωρευόμενες στη σερικίνη (Takashi et al, 2007; Harizukam M., 1953; Tamura et al, 2002; Kurioka, A., Yamazaki, 2002). Έχουν εντοπιστεί τουλάχιστον 15 γονίδια τα οποία συμμετέχουν στη ρύθμιση του χρώματος των κουκουλιών (Takashi et al., 2007; Tazima, Y., 1964; Banno, Y. et al., 1960). Το χρώμα των κουκουλιών που συλλέχθηκαν μετά την ολοκλήρωση των πειραμάτων, όπως καταγράφεται στον πίνακα 3.16, παρουσιάστηκε σε διάφορες διαβαθμίσεις του λευκού και του κίτρινου, ενώ υπήρχε και ένας πληθυσμός που σχημάτισε κουκούλια με υπόλευκο – λευκοπράσινο χρώμα. Στις περιπτώσεις που παρατηρήθηκαν κίτρινου χρώματος κουκούλια (πληθυσμοί EZ1 και EZ3), αυτά προέρχονταν από μεταξοσκόληκες που είχαν κίτρινες χρωστικές στην αιμολύμφο.

Σχετικά με το βάρος και τις διαστάσεις των παραγόμενων κουκουλιών, από τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των υπό μελέτη πληθυσμών (**πιν. 3.17, 3.18, 3.19, διαγρ. 3.7αβ, 3.8αβ, 3.9αβ**). Φαίνεται ότι όλοι οι φθινοπωρινής εκτροφής πληθυσμοί παρουσιάζουν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες τιμές αναφορικά με το βάρος και τις διαστάσεις του σχηματιζόμενου κουκουλιού. Επιπλέον, μεταξύ των εαρινής εκτροφής πληθυσμών, τις υψηλότερες τιμές εμφανίζει ο πληθυσμός **MN(O)**, ο οποίος προέρχεται από διασταυρώσεις και κατευθυνόμενες συζεύξεις του τουρκικού υβριδίου **M X N**. Φαίνεται πως η υπεροχή του τουρκικού υβριδίου και τα πολύ καλά παραγωγικά χαρακτηριστικά του, που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια της παρούσας διατριβής και των εκτροφών που έλαβαν χώρα στο εργαστήριο, αλλά και στην πράξη, συνεχίζουν να εμφανίζονται και στους απογόνους του, ακόμα και στην περίπτωση που αυτοί αποτελούν πλέον καθαρή – αμιγή σειρά, η οποία προέκυψε ύστερα από διαδοχικές συζεύξεις για πάνω από επτά γενεές.

Επιπλέον παρατηρείται ότι, οι καθαρές σειρές στις οποίες ενδέχεται να κάνει την εμφάνιση του το φαινόμενο της ομομικτικής υποβάθμισης, παρουσιάζουν σε γενικές γραμμές τιμές βάρους και διαστάσεων κουκουλιών χαμηλότερες από αυτές των υβριδίων που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή, κάτι το οποίο μπορεί να χαρακτηριστεί ως αναμενόμενο.

Προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα εξήγησης και προσδιορισμού των αναλογιών των διαστάσεων των κουκουλιών και κατ' επέκταση να δοθεί εκτίμηση πρόβλεψης του σχήματός τους, παράμετρος η οποία μπορεί να συμπεριληφθεί στην υπό διαμόρφωση σχετική βάση δεδομένων,

Από τα διαγράμματα 3.10 – 3.17, φαίνεται ότι υπάρχουν πληθυσμοί με ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των τιμών του βάρους κουκουλιού και μήκους κουκουλιού.

Για τον πληθυσμό **E0** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P=0,0000$. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο **διάγραμμα 3.10** και περιγράφεται από την εξίσωση: **$A=1/(-1,54793+73,1196/B)$ ($A=βάρους\ κλωρού\ κουκουλιού$, $B=μήκος\ κουκουλιού$)**, επεξηγεί το 73,2244% ($R^2 = 73,2244$) των διακυμάνσεων του **βάρους κλωρού κουκουλιού**, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r=0,855713$) υποδεικνύει την ύπαρξη μετρίως ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών.

Για τον πληθυσμό **EZ1** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P=0,0000$. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο διάγραμμα 3.11 και περιγράφεται από την εξίσωση: **$A=1/(-0,141285+39,085/B)$ ($A=βάρους\ κλωρού\ κουκουλιού$, $B=μήκος\ κουκουλιού$)**, επεξηγεί το 27,8799% ($R^2 = 27,8799$) των διακυμάνσεων του **βάρους κλωρού κουκουλιού**, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r=0,528014$) υποδεικνύει την ύπαρξη μετρίως ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών.

Για τον πληθυσμό **EZ2** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P=0,0041$. Η προσαρμοσμένη πρότυπη

καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο διάγραμμα 3.12 και περιγράφεται από την εξίσωση: $A = -0,0675069 + 0,0283692 \cdot B$ ($A = \text{βάρους χλωρού κουκουλιού}$, $B = \text{μήκος κουκουλιού}$), επεξηγεί το 20,6694% ($R^2 = 20,6694$) των διακυμάνσεων του **βάρους χλωρού κουκουλιού**, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r = 0,454636$) υποδεικνύει την ύπαρξη συσχέτισης χαμηλής ισχύος μεταξύ των μεταβλητών.

Για τον πληθυσμό **EZ3** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P = 0,0021$. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο διάγραμμα 3.13 και περιγράφεται από την εξίσωση: $A = 1 / (-1,1573 + 68,6675 / B)$ ($A = \text{βάρους χλωρού κουκουλιού}$, $B = \text{μήκος κουκουλιού}$), επεξηγεί το 45,6112% ($R^2 = 54,6112$) των διακυμάνσεων του **βάρους χλωρού κουκουλιού**, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r = 0,675361$) υποδεικνύει την ύπαρξη μετρίως ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών.

Για τον πληθυσμό **E(ii)** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P = 0,0000$. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο διάγραμμα 3.14 και περιγράφεται από την εξίσωση: $A = 1 / (-0,411514 + 44,7299 / B)$ ($A = \text{βάρους χλωρού κουκουλιού}$, $B = \text{μήκος κουκουλιού}$), επεξηγεί το 54,1142% ($R^2 = 54,1142$) των διακυμάνσεων του **βάρους χλωρού κουκουλιού**, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r = 0,735623$) υποδεικνύει την ύπαρξη μετρίως ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών.

Για τον πληθυσμό **MN(O)** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P = 0,0231$ σε επίπεδο σημαντικότητας 95%. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο διάγραμμα 3.15 και περιγράφεται από την εξίσωση: $A = 1 / (-0,399234 + 35,5304 / B)$ ($A = \text{βάρους χλωρού κουκουλιού}$, $B = \text{μήκος κουκουλιού}$), επεξηγεί το 33,7823% ($R^2 = 33,7823$) των διακυμάνσεων του **βάρους χλωρού κουκουλιού**, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r = 0,581225$) υποδεικνύει την ύπαρξη μετρίως ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών.

Για τον πληθυσμό **I(ii)E** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P = 0,0106$ σε επίπεδο σημαντικότητας

95%. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο διάγραμμα 3.16 και περιγράφεται από την εξίσωση: **$A=1,98185-29,8699$** (**$A=$ βάρος χλωρού κουκουλιού, $B=$ μήκος κουκουλιού**), επεξηγεί το 25,162% ($R^2 = 25,162$) των διακυμάνσεων του **βάρους χλωρού κουκουλιού**, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r= 0,501617$) υποδεικνύει την ύπαρξη μετριώς ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών.

Για τον πληθυσμό **PM** υπάρχει στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ των μεταβλητών αφού $P=0,0001$. Η προσαρμοσμένη πρότυπη καμπύλη όπως αυτή φαίνεται στο διάγραμμα 3.17 και περιγράφεται από την εξίσωση: **$A=3,40359/B$** (**$A=$ βάρος χλωρού κουκουλιού, $B=$ μήκος κουκουλιού**), επεξηγεί το 37,7486% ($R^2 = 37,7486$) των διακυμάνσεων του βάρους χλωρού κουκουλιού, ενώ ο συντελεστής συσχέτισης ($r=-0,61439$) υποδεικνύει την ύπαρξη μετριώς ισχυρής συσχέτισης μεταξύ των μεταβλητών.

Το βάρος και το ποσοστό κελύφους, όπως και το βάρος του κουκουλιού είναι πολύ σημαντικοί δείκτες της απόδοσης ενός εκτρεφόμενου πληθυσμού μεταξοσκωλήκων. Επιπλέον όπως αναφέρθηκε για τα υβρίδια, το βάρος και το ποσοστό κελύφους αποτελούν ασφαλέστερο δείκτη προσδιορισμού της παραγωγικότητας, κάτι το οποίο ισχύει και για τις καθарές σειρές.

Από τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας που φαίνονται στους πίνακες 3.20, 3.21 και τα διαγράμματα 3.18αβ, 3.19αβ καταδεικνύεται ότι οι διαφοροποιήσεις στις τιμές που αφορούν στο βάρος και το ποσοστό κελύφους ακολουθούν τις διαφοροποιήσεις που παρατηρήθηκαν για το βάρος και τις διαστάσεις των κουκουλιών.

4.2.3. Χαρακτηριστικά νυμφών

Οι διακυμάνσεις των παρατηρούμενων τιμών στην περίπτωση του βάρους και των διαστάσεων των νυμφών ακολουθούσαν τις διακυμάνσεις που παρατηρήθηκαν στις αντίστοιχες τιμές για το βάρος και τις διαστάσεις του κουκουλιού, όπως ήταν αναμενόμενο.

4.2.4. Χαρακτηριστικά γονιμότητας

Φαίνεται ότι οι υπάρχει μια διακύμανση σε σχέση με τον αριθμό των αυγών ανά ωοτοκία που παρατηρείται μεταξύ των πληθυσμών. Ο πληθυσμός **MN** παρουσιάζει και σε αυτή την περίπτωση την υψηλότερη τιμή σε σχέση με τους υπόλοιπους πληθυσμούς, ενώ οι πληθυσμοί 1 – 5 επιδεικνύουν τις χαμηλότερες τιμές. Από τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας που έλαβε χώρα σχετικά με τις διαστάσεις και τις αναλογίες των αυγών φαίνεται ότι οι πληθυσμοί 1 – 5 παράγαν αυγά των οποίων η αναλογία **μήκους / πλάτους** είναι μεγαλύτερη από τα αυγά που παράγαν οι υπόλοιποι πληθυσμοί.

4.2.5. Ομαδοποίηση - διαχωρισμός πληθυσμών

Στο διάγραμμα 3.27β απεικονίζεται ότι η **συνιστώσα I** και η **συνιστώσα II** που ερμηνεύουν το μεγαλύτερο ποσοστό των διακυμάνσεων (**70,7697%**), επηρεάζονται σε διαφορετικό βαθμό από τις παραμέτρους που συμμετείχαν στην ανάλυση βασικών συνιστωσών. Έτσι, η συνιστώσα I η οποία αντικατοπτρίζεται στον άξονα X επηρεάζεται σε μεγαλύτερο βαθμό από τους παράγοντες ποσοστό κελύφους (**4**) και βάρος χλωρού κουκουλιού (**5**). Ομοίως, η συνιστώσα II που αντικατοπτρίζεται στον άξονα Ψ επηρεάζεται περισσότερο από τους παράγοντες χρώμα προνύμφης (**3**) και χρώμα κουκουλιού (**1**). Οποιοσδήποτε διαχωρισμός μεταξύ των καταγεγραμμένων παρατηρήσεων, λαμβάνει χώρα κατά μήκος των δύο αξόνων, συνεπάγεται διαχωρισμό ο οποίος προκαλείται από τους παράγοντες που επηρεάζουν την αντίστοιχη συνιστώσα (άξονας X ή άξονας Ψ).

Μετά την ολοκλήρωση της στατιστικής επεξεργασίας και το σχηματισμό του διαγράμματος 3.27α έγινε ταυτοποίηση των τιμών οι οποίες απεικονίζονται στο διάγραμμα. Η εργασία αυτή οδήγησε στο συμπέρασμα ότι υπάρχει φανερός και σαφής διαχωρισμός μεταξύ των καταγεγραμμένων παρατηρήσεων, με βάση την ομάδα στην οποία άνηκαν τα υπό μελέτη έντομα, με σαφέστερη την οριοθέτηση των πληθυσμών **MN(0)**, **EO**, **I(ii)E**, **PM** και **EZ3 (Διάγρ. 3.27α)**. Ο διαχωρισμός αυτός γίνεται ως προς τους δύο άξονες που

αντιπροσωπεύουν τις δύο συνιστώσες της ανάλυσης βασικών συνιστωσών. Σε κάποιους πληθυσμούς φαίνεται ότι μεγαλύτερη συμμετοχή στο διαχωρισμό τους από τους υπόλοιπους παίζουν οι παράμετροι που επηρεάζουν περισσότερο τη **συνιστώσα I** (κατά μήκος του άξονα X), δηλαδή το **ποσοστό κελύφους** και το **βάρος κλωρού κουκουλιού** (διάγρ. 3.27β). Σε αυτή την κατηγορία συμπεριλαμβάνεται ο πληθυσμός **MN(O)** ο οποίος διαχωρίζεται από όλους τους υπόλοιπους πληθυσμούς **PM, I(ii)E, E(ii), EZ1, EZ2** και **EZ3** σαφώς κατά μήκος του **άξονα X**.

Ομοίως, ο πληθυσμός **EZ3** διαχωρίζεται πλήρως από τους άλλους πληθυσμούς. Ο διαχωρισμός του σε σχέση με τους πληθυσμούς **EZ1, EZ2** και **E(ii)** γίνεται κυρίως κατά μήκος του **άξονα Ψ** δηλαδή σε συνάρτηση με τη **συνιστώσα II**, η οποία επηρεάζεται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τους παράγοντες **χρώμα προνύμφης** και **χρώμα κουκουλιού** (διάγρ. 3.27β). Παράλληλα ο διαχωρισμός του πληθυσμού **EZ3** ως προς τους πληθυσμούς **MN(O), PM, I(ii)E, EO** και **E(ii)** συμβαίνει κυρίως κατά μήκος του άξονα X, δηλαδή οι παράγοντες που συμμετέχουν στο διαχωρισμό μεταξύ αυτών των πληθυσμών είναι κατά βάση το ποσοστό κελύφους και το βάρος κλωρού κουκουλιού.

Επιπλέον γίνεται σαφής διαχωρισμός των παρατηρήσεων οι οποίες προέρχονται από έντομα που άνηκαν στον πληθυσμό **EZ1**, με περαιτέρω χωροταξική τοποθέτησή τους πάνω στο διάγραμμα, σε δύο υποομάδες ανάλογα με το χρώμα του κουκουλιού **EZ1 YL (υπόλευκα)** και **EZ1 K (κίτρινα)**. Ο πληθυσμός **EZ1** φαίνεται να έχει τη μεγαλύτερη συνάφεια με τον πληθυσμό **EZ2**, καθώς τοποθετούνται χωροταξικά αρκετά κοντά, με σαφή όμως το διαχωρισμό μεταξύ τους ως προς και τους δύο άξονες. Τέλος ο πληθυσμός **E(ii)** και συγκεκριμένα τα άτομα που έδωσαν υπόλευκο (**YL**) κουκούλι, διαχωρίζονται με αρκετή σαφήνεια από τις υπόλοιπες ομάδες, ενώ κάποια άτομα του ίδιου πληθυσμού τα οποία έδωσαν κουκούλι χρώματος λευκοπράσινο (**LP**) τοποθετήθηκαν σε άλλο σημείο στο διάγραμμα, επιδεικνύοντας μεγαλύτερη συνάφεια με τους πληθυσμούς **PM** και **I(ii)E**.

4.2.6. Μελέτη πολυμορφισμών του DNA

Στο μεταξοσκώληκα *B. mori*, οι επαναλαμβανόμενες ομομικτικές συζεύξεις καθιστούν τον πληθυσμό κάθε γενετικού στελέχους περισσότερο ομοζυγωτό και οδηγούν στην απώλεια μοναδικών και πολύτιμων γονιδίων μέσω της διαδικασίας του ομομικτικού υποβιβασμού. Προκειμένου να αποφευχθούν οι προαναφερθείσες απώλειες και να επιτευχθεί η καλύτερη διαφύλαξη των γενετικών στελεχών, είναι θεμελιώδους σημασίας η διατήρηση ενός ελάχιστου βαθμού ετεροζυγωτίας εντός των πληθυσμών κάθε γενετικού στελέχους, ειδικότερα των παραδοσιακών τοπικών φυλών. Φαίνεται ότι ο ακριβής προσδιορισμός της γενετικής παραλλακτικότητας είναι σημαντικός στη διατήρηση των γενετικών αποθεμάτων του μεταξοσκώληκα (Jingade *et al.*, 2011). Σε αυτή την κατεύθυνση, οι *Jingade και συν.* (2011), συνόψισαν σε θεωρητικό και σε πρακτικό επίπεδο τη σημασία της ετεροζυγωτίας σε σχέση με την επίδραση του ομομικτικού υποβιβασμού και τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα διάφορων μοριακών δεικτών για τη μέτρηση τόσο της ετεροζυγωτίας όσο και του γενετικού υποβιβασμού στο μεταξοσκώληκα (Jingade *et al.*, 2011).

Όπως αναφέρθηκε, οι συνεχείς ομομιξίες μπορούν να επιφέρουν συσσώρευση επιβλαβών γονιδίων οδηγώντας στην ομομικτική διάβρωση των πληθυσμών, και κατά συνέπεια στην υποβάθμιση κάποιων οικονομικού ενδιαφέροντος χαρακτηριστικών. Εντούτοις, ο συνδυασμός προσοδοφόρων χαρακτήρων θα μπορούσε να επιτευχθεί με ορθολογικό τρόπο με την εφαρμογή ομομικτικών τεχνικών παράλληλα με επιλογή. Με κατάλληλη εκπαίδευση και εμπειρία, είναι δυνατόν να γίνει ο απαραίτητος χειρισμός του γενετικού υλικού προκειμένου να απομονωθούν νέες φυλές με τα επιθυμητά ποιοτικά γνωρίσματα για περαιτέρω επιχειρηματική αξιοποίησή τους (Raju & Krishnamurthy, 1993).

Η βελτίωση γηγενών πληθυσμών μπορεί να επιτευχθεί μέσω υβριδισμού τους με αξιοποίηση γονιδίων που προέρχονται από εξωτικές φυλές (Kovalon, 1970). Η διαδικασία της ομομικτικής αναπαραγωγής

υβριδίων με σκοπό την απομόνωση και σταθεροποίηση πληθυσμών μεταξοσκώληκων σε σχέση με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά τους έχει αναφερθεί από πολλούς βελτιωτές (Hirobe, 1968; Kovalon, 1970; Gamo, 1976). Η ανθρωπογενής επιλογή έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε προγράμματα βελτίωσης του μεταξοσκώληκα. Η επιλογή αυξάνει τη συχνότητα εμφάνισης ομοζυγωτιών και ισχυροποιεί τις επιδράσεις της ομοζυγοτίας (Whitlock, 2002; Pradeep *et al.*, 2005).

Το επίπεδο παραγωγικότητας και διάφορα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά όπως π.χ. το χρώμα των αυγών, η μορφή και το χρώμα της προνύμφης και του κουκουλιού, το χρώμα της αιμολέμφου κ.ά, ή φυσιολογικές παράμετροι όπως π.χ. η διάρκεια προνύμφης, και το ποσοστό επιβίωσης, μπορεί να επιδεικνύουν έντονη παραλλακτικότητα μεταξύ των διαφόρων γενετικών στελεχών και να τα χαρακτηρίζουν. Εντούτοις, ο συνδυασμός των παρατηρήσεων και των συμπερασμάτων αυτών με την ταυτοποίησή τους σε μοριακό επίπεδο, μπορεί να βοηθήσει για το σχηματισμό μίας πιο ολοκληρωμένης εικόνας για τον χαρακτηρισμό των πληθυσμών του μεταξοσκώληκα και την ορθή ανάλυση της γενετικής παραλλακτικότητας του γενετικού υλικού (Velu *et al.*, 2008; Jingade *et al.*, 2011)

Η εκτίμηση της ετεροζυγωτίας σε κάθε φυλή μεταξοσκώληκα είναι σημαντική για την αποτελεσματική διαχείριση και διατήρηση του γενετικού υλικού (Graner *et al.* 2004). Μέθοδοι οι οποίες προσεγγίζουν το θέμα βασιζόμενες στο γονότυπο μπορούν να χρησιμοποιηθούν προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν τα επίπεδα ομομιξίας και να γίνει καλύτερη κατανόηση της γενετικής αρχιτεκτονικής του ομομικτικού υποβιβασμού, μέσω της ανίχνευσης γονιδίων που τον επηρεάζουν. Παρόλο που δεν έχει γίνει μεγάλη πρόοδος στον προσδιορισμό της ετεροζυγωτίας σε διαφορετικά γενετικά στελέχη του μεταξοσκώληκα, από λίγες μελέτες που έχουν γίνει καταδεικνύεται ότι η γενετική παραλλακτικότητα εντός των γενετικών στελεχών είναι κατά πολύ χαμηλότερη από αυτήν που παρατηρείται μεταξύ των στελεχών (Jingade *et al.*, 2011).

Η Staykova (2008) χρησιμοποίησε ισοενζυμικά πρότυπα σε 480 άτομα προερχόμενα από 8 γενετικούς κλάδους του είδους για να εκτιμήσει την ετεροζυγωτία μεταξύ των πληθυσμών. Ο βαθμός ετεροζυγωτίας μεταξύ των πληθυσμών βρέθηκε να ποικίλει από 0,099 έως 0,238. Επιπλέον βρέθηκε ότι η παρατηρούμενη ετεροζυγωτία ήταν κατά πολύ χαμηλότερη από την αναμενόμενη, γεγονός το οποίο αποδόθηκε στην επίδραση των ομομικτικών συζευξεων.

Οι Gavrilia και συν. (2006) με τη χρήση μοριακών δεικτών όπως AFLPs σε 23 γενετικά στελέχη του μεταξοσκώληκα βρήκαν ότι ιαπωνικοί πληθυσμοί έχουν μεγαλύτερη ετερογένεια από κινεζικούς πληθυσμούς.

Μία πρόσφατη μελέτη με τρεις ιρανικούς και τρεις ιαπωνικούς πληθυσμούς αποκάλυψε χαμηλή γενετική ποικιλομορφία εντός των πληθυσμών και υψηλή γενετική παραλλακτικότητα μεταξύ των πληθυσμών (Dalirsefat *et al.*, 2007).

Οι Reddy και συν. (1999a), ανέπτυξαν έναν αριθμό SSR εκκινητών οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό του βαθμού απώλειας της ετεροζυγωτίας στις επακόλουθες γενεές.

Γενικά, ύστερα από την επεξεργασία των δεδομένων των παρατηρήσεων που αφορούσαν στη μελέτη πολυμορφισμών του mtDNA μεταξύ των υπό πληθυσμών που εξετάστηκαν, φαίνεται ότι δεν υπάρχει έντονη διαφοροποίηση στα περιοριστικά πρότυπα που επέδειξαν, τόσο για το γονιδιακό τμήμα 16srDNA του μιτοχονδριακού DNA, όσο και για το γονιδιακό τμήμα COI. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε πιθανή κοντινή γενετική σχέση μεταξύ των πληθυσμών. Είναι υπαρκτή η πιθανότητα, οι διαφοροποιήσεις στο φαινότυπο και στα παραγωγικά χαρακτηριστικά που παρατηρήθηκαν και καταγράφηκαν σε προηγούμενες παραγράφους, να μην οφείλονται απαραίτητα σε διαφοροποιήσεις στα συγκεκριμένα γονίδια. Σε κάθε περίπτωση, περαιτέρω διερεύνηση και άλλων γονιδιακών τμημάτων και αξιοποίηση περισσότερων μοριακών τεχνικών, θα μπορούσε να δώσει μία πιο πλήρη εικόνα της γενετικής συσχέτισης των μελετούμενων πληθυσμών.

Κεφάλαιο 5^ο

Συμπεράσματα

5. Συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα των παρατηρήσεων και των μετρήσεων που πραγματοποιήθηκαν, τα οποία παρουσιάστηκαν και σχολιάστηκαν νωρίτερα, μπορούν να εξαχθούν χρήσιμα συμπεράσματα με απολύτως άμεση εφαρμογή και θετική συνεισφορά στη βελτίωση της ελληνικής επιχειρηματικής σηροτροφίας. Επιπλέον, τα ευρήματα που προκύπτουν μπορούν να αξιοποιηθούν σε βάθος χρόνου, καθώς καθίσταται δυνατή η παραγωγή ελληνικών υβριδίων μετασοκωλήκων, μέσω της αξιοποίησης του γενετικού υλικού που μελετήθηκε και διατηρείται στο Εργαστήριο Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας, με απώτερο στόχο την παραγωγή ελληνικού μεταξόσπορου, οδηγώντας στην ανάκαμψη και αναβίωση της δραστηριότητας της σποροπαραγωγής.

Συνοψίζοντας, τα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι τα ακόλουθα:

- Η αλλαγή και απελευθέρωση του τρόπου προμήθειας του μεταξόσπορου ωφέλησε σημαντικά την ελληνική επιχειρηματική σηροτροφία και κατ' επέκταση τους Έλληνες σηροτρόφους, δίνοντας τη δυνατότητα δοκιμής και εκτροφής περισσότερων του ενός υβριδίων.
- Οι αποδόσεις του τουρκικού υβριδίου **MxN** είναι στατιστικά σημαντικά καλύτερες από τις αποδόσεις των άλλων υβριδίων που μελετήθηκαν (**X1xK1** και **Qiufeng x Baiyu**).
- Το ελληνικό υβρίδιο **X1xK1** σε ορισμένες πολύ σημαντικές παραμέτρους, όπως είναι το βάρος κελύφους και το ποσοστό κελύφους, παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντικά καλύτερο από το κινεζικό υβρίδιο **Qiufeng x Baiyu**.
- Τα παραγωγικά χαρακτηριστικά (βάρος χλωρού κουκουλιού, βάρος κελύφους, ποσοστό κελύφους) των υβριδίων **X1xK1**, **MxN** και **Qiufeng x Baiyu** παρουσίασαν τιμές αρκετά υψηλότερες από αυτές που καταγράφονται διεθνώς για υβρίδια προοριζόμενα για εύκρατα κλίματα.

- Είναι δυνατή η παραγωγή μεταξόπορου στην Ελλάδα, δραστηριότητα η οποία δοκιμάστηκε πρόσφατα με πολύ καλά αποτελέσματα.
- Για την παραγωγή και μελέτη ελληνικών υβριδίων είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί το γενετικό υλικό που μελετήθηκε και καταγράφηκε στην παρούσα διατριβή.
- Οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν, παρουσίασαν παρόμοιες τιμές αναφορικά με τη διάρκεια προνύμφης, με ελαφρώς χαμηλότερες αυτές των πληθυσμών εαρινής εκτροφής **I(ii)E**, **MN(O)** και **PM**.
- Το ποσοστό επιβίωσης για όλους τους πληθυσμούς ήταν αρκετά υψηλό και υψηλότερο για τους πληθυσμούς εαρινής εκτροφής **I(ii)E**, **MN(O)** και **PM**.
- Το χρώμα του κουκουλιού συνδέεται άμεσα με το χρώμα της αιμολέμφου σε όλους τους πληθυσμούς.
- Το βάρος και οι διαστάσεις των παραγόμενων κουκουλιών στους πληθυσμούς φθινοπωρινής εκτροφής είναι στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα από εκείνο που παρατηρείται τους πληθυσμούς εαρινής εκτροφής.
- Σε ορισμένους από τους πληθυσμούς υπάρχει μετρίως ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των τιμών του βάρους του κουκουλιού και του μήκους του κουκουλιού.
- Το βάρος και το ποσοστό κελύφους, καθώς και το βάρος και οι διαστάσεις των νυμφών ακολουθούν τις ίδιες διακυμάνσεις που καταγράφηκαν για το βάρος και τις διαστάσεις του χλωρού κουκουλιού. Έτσι, οι τιμές που καταγράφηκαν ήταν υψηλότερες για τους εαρινούς πληθυσμούς.
- Το μεγαλύτερο βάρος και ποσοστό κελύφους επιδεικνύει ο πληθυσμός **MN(O)**, με στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές ακόμα και από τους άλλους δύο εαρινούς πληθυσμούς, με τον πληθυσμό **PM** να βρίσκεται πλησιέστερα.
- Το μεγαλύτερο βάρος και διαστάσεις νύμφης επιδεικνύει επίσης ο πληθυσμός **MN(O)**, με στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές (για το βάρος και το μήκος) ακόμα και από τους άλλους δύο εαρινούς πληθυσμούς.

- Ο πληθυσμός **MN(O)** επιδεικνύει στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές από όλους τους άλλους πληθυσμούς αναφορικά με τον αριθμό των παραγόμενων αυγών, ενώ δεν παρατηρείται σαφής τάση ως προς αυτή την παράμετρο για τους υπόλοιπους πληθυσμούς.
- Λαμβάνοντας υπόψη τη συνέργια παραγόντων όπως, το χρώμα και η εμφάνιση της προνύμφης, το χρώμα της αιμολέμφου, το χρώμα του παραγόμενου κουκουλιού το ποσοστό κελύφους και το βάρος χλωρού κουκουλιού παρατηρείται σαφής διαχωρισμός μεταξύ των υπό μελέτη πληθυσμών.
- Ο διαχωρισμός των υπό μελέτη πληθυσμών μπορεί να οφείλεται σε μορφομετρικούς παράγοντες, όπως το χρώμα και η μορφή της προνύμφης ή το χρώμα της αιμολέμφου και σε ποιοτικά και ποσοτικά παραγωγικά χαρακτηριστικά όπως το χρώμα του κουκουλιού, το ποσοστό του κελύφους και το βάρος χλωρού κουκουλιού.
- Τα περιοριστικά ένζυμα **SspI**, **DraI**, **EcoRI** και **AluI** βρίσκουν θέσεις αναγνώρισης στο γονιδιακό τμήμα 16srDNA των 8 πληθυσμών που μελετήθηκαν.
- Τα περιοριστικά ένζυμα **NcoI**, **Sau3AI**, **BclI**, **SspI**, και **XhoI** βρίσκουν θέσεις αναγνώρισης στο γονιδιακό τμήμα COI των 8 πληθυσμών που μελετήθηκαν.
- Δεν υπάρχει έντονη διαφοροποίηση στα περιοριστικά πρότυπα που παρουσιάστηκαν, τόσο για το γονιδιακό τμήμα 16srDNA του μιτοχονδριακού DNA, όσο και για το γονιδιακό τμήμα COI. Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται σε πιθανή κοντινή γενετική σχέση μεταξύ των πληθυσμών.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abe, H.**, F., Ohbayashi, T., Sugasaki, M., Kanehara and T., Terada 2001. Two novel Pao-like retrotransposons (Kamikaze and Yamato) from the silkworm species *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina*: common structural features of Paolike elements. *Mol. Genet.* 263: 916-924
- Ahn, M.Y.**, K.S., Ryu, I., Kim, J.W., Kim, H.S., Lee, Y.K., Lee and E.S., Kim 2002. Pheophytin content and fibrinolytic activity of silkworm feces in the different larval stages of silkworms. *Int. J. Insect Entomol.*, 5: 195-199.
- Aruga, H.** 1994. Principles of sericulture. A.A. Balkema/Rotterdam.
- Banno, Y.**, Y., Kawaguchi, K., Yamamoto, K., Nishikawa A., Nishikawa, K. Tamura and S. Eguchi 2005. A guide to the silkworm mutants 2005-Gene Name and Gene. Silkwork Genetics Division, Institute of Genetic Resources, Kyushu University, Fukuoka, Japan.
- Beard, J.** 1992. Warding off bullets by a spider's tread. *New Scientist* 1847, 18
- Berbarsky, R.** and S.D. Tanksley 1989. Restriction fragment as molecular markers for germplasm evaluation and utilization in: The use of Plant Genetic Resources edited by A.H.D., Brown, O.H., Frankel, D.R., Marshall, J.T., Williams, Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Bhanoo, S.N.** 2011. Silk Production Takes a Walk on the Wild Side. *New York Times* 20 May 2011.

- Borror, D.J.**, Triplehorn, C.A., and N.F., Johnson 1986. An introduction to the study of insects, sixth Edition, Sanders College Publishing, Philadelphia 875 pp.
- Botstein, D.** R.L., White, M., Skolnick and R.W., Davis 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314-331.
- Bouga, M.** C.P., Harizanis, G., Kiliadis and S., Alahiotis 2005. Genetic divergence and phylogenetic relationship of honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) populations from Greece and cyprus using PCR-rfls analysis of three mtDNA segments. *Apidologie* 36:335-344.
- Cappellozza, L.**, Cappellozza, S., Saviane A., and G., Sbrenna 2005. Artificial diet rearing system for the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae): effect of vitamin C deprivation on larval and cocoon production.
- Charlesworth, D.** and B. Charlesworth 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18: 237-268
- Chatterjee, S.N.** and A.R., Pradeep 2003. Molecular markers (RAPD) associated with growth, yield and origin of the silkworm, *Bombyx mori* in India. *Russian Journal of Genetics* 39: 1612-1624
- Chatterjee, S.N.**, C.G.P., Rao, G.K., Chatterjee, S.K., Aswath and A.K., Patnai 1993. Correlations between yield and biochemical parameters in the mulberry silkworm *Bombyx mori* L. *Theoretical and Applied Genetics.* 87:385-391.
- Chen, Y.Y.** 2002. *Conservation Status of silkworm germplasm in China.* Paper contributed to Expert Consultation on Promotion of Global Exchange of Sericulture Germplasm Satellite Session of

XIX th ISC Congress, September 21st - 25th Bangkok, Thailand.
Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Currie, R. 1997, Global silk industry: Today and tomorrow. Indian silk, April 1997. pp. 5-7

Daliserfat, S.B. and S.Z., Mirhoseini 2007. Assessing genetic diversity in Iranian native silkworm (*bombyx mori* L.) strains and Japanese commercial lines using AFLP markers. Iranian Journal of Biotechnology 5: 25-33

Daliserfat, S.N., A., Meyer and S., Mirhoseini 2009. Comparison of similarity coefficients used for cluster analysis with amplified fragment length polymorphism markers in the silkworm, *Bombyx mori*. Journal of insect Science 9:71

Dayanandan, S., K.S., Bawa and I.R., Kessel 1997. Conservation of microsatellites among tropical trees (Leguminosae). American Journal of Botany 84:1658-1663.

Dedos, S.G., F., Szurdoki, A., Szekacs, A., Mizoguchi and H., Fugo 2002. Induction of dauer pupae by fenoxycarb in the silkworm, *Bombyx mori*. Journal of Insect Physiology 48: 857-865

Denlinger D.L. 2002. Regulation of diapause. Annual Review of Entomology 47: 93-122.

Denlinger D.L. 1985. Hormonal control of diapause. In: Kerkut, G.A. Gilbert, L.I. (eds.) Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Vol. 8, Pergamon Press, Oxford, pp. 353 - 412.

Falconer, D.S. 1981. Introduction to Quantitative Genetics. Longman Scientific and Technical.

Falconer, D.S. 1989. Introduction to Quantitative Genetics, 3rd ed. Longman Harlow.

- Fanourakis, N.**, H., Pavlikaki, C.P., Navaro 2004. Genetic relationships of different Greek landraces of cucumber. *Euphytica plant breeding* 136: 143-147.
- Fisher, R.A.** 1930. *The genetic Theory of Natural Selection*. Clarendon Press.
- Foelix, R.F.** 1996. *Biology of Spiders*, 2nd end. Oxford University Press, Georg. Thieme Verlag, New york.
- Folmer, O.**, M., Black, W., Hoeh, R., Lutz and R., Vrijenhoek 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnology* 3:294-299.
- Fujii, H.** 1998. *Genetical Stocks and Mutations of Bombyx mori: Important Genetic Resources*. Fukuoka, Jpn.: Kyushu Univ. 54pp.
- Gabrielsen, T.M.** and Brochman, C. 1998. Sex after all: High levels of diversity detected in thatric clonally saxifrage *cernua* using RAPD markers. *Molecular ecology* 10: 1701-1708.
- Gamo, T.** 1976. Recent concepts and trends in silkworm breeding. *Farming Japan* 10:11-12.
- Gamo, T.** and T., Haribayashi 1983. Genetic analysis of growth rate, population rate and some quntitative characters by diallel crosses in silkworm, *Bombyx mori* L. *Japanese Journal of Breeding* 3: 178-190.
- Ganga G.** 2003, *Comprehensive sericulture volume 2*. Science Publishers Inc.
- Garthwaite, G.R.** 2005. *The Persians*. Oxford & Carlton: Blackwell Publishing Ltd.

- Gaviria, D.A.**, E., Aguilar, H.J., Serrano and A.H., Alegria 2006. DNA fingerprinting using AFLP markers to search for markers associated with yield attributes in the silkworm, *Bombyx mori*. Journal of Insect Science 6: 15
- Gepts, P.** 1993. Linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in: O' Brien S.J. (ed), Genetic Maps. Coldspring Harbour Laboratory, Coldspring, N.Y.
- Goldsmith, M.R.**, T., Shimada and H., Abe 2005. The genetics and Genomics of the Silkworm *Bombyx mori*. Annual Reviews Entomology. 50:71-100.
- Graner, A.**, K.J., Dehmer, T., Thiel and A., Borner 2004. Plant genetic resources: benefits and implications of using molecular markers, In: de vicente M.C., editor. Issues in Genetic Resources No. 11, pp 26-32. IPGRI.
- Harada, C.** 1957. On the relation between commercial characters and their F₁hybrids *Bombyx mori*. Proceedings of International Genetics Symposium pp. 352-356.
- Harada, C.** 1961. On the heterosis of quantitative characters in the silkworm. Bulletin of Sericulture Experimental Station 17:50-52.
- Hardy, G.H.** 1908. Mendelian proportions in a mixed population, Science 28: 49-50
- Harizanis P.** and M., Bouga 2003. Genetic Structure of the bee from Crete island (Greece). Paper contributed to the Interantional Congress of the Apimondia Foundation.
- Harizukam, M.** 1953. Bulletin Seric. Exp. Japan 14:141-156.
- Hill, J.E.** 2009. Through the Jade Gate to Rome: A study of the Silk Routes during the Later Han Dynasty, 1st to 2nd Centuries CE. Booksurge, Charleston, South Carolina.

- Hirobe, T.** 1968. In:Proceedings of the Congress of Genetics, Tokyo 25-36.
- Hirobe, T.,** 1968. Evolution, differentiation and breeding of the silkworm the silk road, past and present genetics in Asian countries pp. 25-36 XII International Congress Genetics, Tokyo.
- Hollander, D. H.,** 1994.Intertitial cystitis and silk allergy. Med Hypothese 43, 155
- Jingade, A.H.,** K., Vijayan, P., Somasundaram, G.K., Srinivasababu and C.K., Kamble 2011. A review of the implications of heterozygosity and inbreeding on germplasm biodiversity and its conservation in the silkworm, *Bombyx mori*. Journal of Insect Science 11:8.
- Jolly, M.S.,** R.K., Datta, M.K.R., Noamani, M.N.S., Iyengar, C.J., Nagaraj, H.K., Basavaraj, G., Kshamarani, and P.R., Rao 1989. Studies on the genetic divergence in mulberry silkworm *Bombyx mori* L. Sericologia 29: 545-559.
- Kaplan, D.L.,** Lombardini S.J., Muller W.S. and S.A. Fossey 1991. Biomaterials: Novel materials from biological source (Ed. D. Byron) Stockton Press, New York.
- Knox, E.B.** and J.D. Palmer 1999. The chloroplast genome arrangement of *Lobelia thuliniana* (Lobeliaceae): Expression of inverted repeat in an ancestor of the campanulales. Plant Systematic Evolution 214:49-64.
- Kosegawa, E.** 2002. *Conservation Status of silkworm germplasm in Japan*. Paper contributed to expert consultataion on promotion of global exchange of sericulture germplasm satellite session of XIXth ISC Congress, September 21st-25th Bangkok, Thailand. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

- Kosegawa, E.**, M., Hirokawa and K.I., Tatematsu 2002. Preservation status of the genetic stock of the domesticated silkworm in NIAS. Presented at First Int. Workshop Lepid. Genomics, Tsukuba, Japan.
- Kovalov, P.A.**, 1970. Silkworm breeding technique. Translated and published by Central Silk Board. Bangalore, India.
- Krishnaswami, S.**, M.S., Jolly and R.S., Subba 1964. Diallel analysis of quantitative characters in multivoltine races of silkworm. Indian Journal of Genetics 24:213-222.
- Kumaresan, P.**, T.S., Mahadevamurthy, K., Thangavelou and R.K., Sinha 2003b. Further studies on the genetic divergence of multivoltine silkworm (*bombyx mori* L.) genotypes based on economic characters. Entomon 28: 193-198.
- Kumaresan, P.**, B., Mohan, P.R., Koundinya, R.K., Sinha and K., Thangavelou 2004a. Silkworm germplasm conservation-A perspective. Indian Silk 44: 4-9
- Kumaresan, P.**, R.K., Sinha, B., Mohan and K., Thangavelou 2004b. Conservation of multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) germplasm in India - An overview. International journal of industrial Entomology 9: 1-13.
- Kumaresan, P.**, R.K., Sinha and K., Thangavelou 2003a. Heterosis studies in some elite multivoltine silkworm (*Bombyx mori* L.) races with popular bivoltine NBD2. International Journal of Industrial Entomology 7: 221-229
- Lee Y.W.**, 1999. Silk Reeling and Testing Manual. FAO Agricultural Service Bulletin No 136. Food and Agricultural Organization of the United Nations Rome 1999.

- Li, M.**, Y., Qin, C., Hou, C., Lin and K., Chen 2001. Studies on some special characters in the silkworm (*Bombyx mori* L.) germplasms in China. *Sericologia* 41: 527-535.
- Li, M.W.**, L., Shen, A.Y., Xu, X.X., Miao, C.X., Hou, P.J., Sun, Y.H., Zang and Y.P., Huang 2005. Genetic diversity among the silkworm (*Bombyx mori* L., Lep, Bombycidae) germplasm revealed by microsatellites . *Genome* 48: 802-810.
- Lim, S.H.**, Y.T., Kim, S.P., Lee, I.J., Rhee, J.S., Lim and B.H., Lim 1990. *Sericulture Training Manual*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Agricultural Services Bulletin 80.
- Lin, C.Q.**, Y.D., Mi, Q., Yao, D.X., Wu and Z.J., Wei 1997. Discovery of the major dominant gene of fluoride resistance in *Bombyx mori* L. *Ada Serc. Sin.* 23:237-239.
- Lu, C.**, F.Y., Dai and Z.H., Xiang 2001. Studies on the mutant strains of the *Bombyx mori* gene bank. The Third Youth Symposium of Association of Sericulture of China, Chongqing, China: Southwest Agric. Univ. pp. 43-48.
- Lu, C.**, H.S., Yu and Z.H., Xiang 2002. Molecular systematic studies on Chinese mandarina silkworm (*Bombyx mandarina* M.) and domestic silkworm (*Bombyx mori* L.) *Sci. Agric. Sin.* 35 (1): 94-101.
- Lubec., G.**, J., Holaubek, C., Feldl, B., Lubec and E., Strouhal 1993. Use of silk in ancient Egypt. *Nature* 362(6415):25.
- Lynch, M.** and B., Walsh 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates
- Maekawa H.**, N., Takada, K., Mikitani, T., Ogura and N., Miyajima 1988. Nucleolus organizers in the wild silkworm *Bombyx*

mandarina and the domesticated silkworm *B. mori*.
Chromosoma 96: 263-269.

Mauchamp, B. 2002. *Conservation Status of (mulberry silkworm) genetic resources in France*. Paper contributed to Expert Consultation on Promotion of Global Exchange of Sericulture Germplasm; Bangkok, Thailand, Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.

Matei A. and A., Brasia 2005. The silkworm race "RG 90" Paper contributed to the 20th Congress of the International Sericultural Commission. Bangalore India 15-18 December 2005. I:168-172.

Matei A. 2008. Breeds Catalogue and eggs obtaining technology of silk moth *Bombyx mori* L. Editura Morosan. Romania.

McElroy, D., P., Moran, E., Bermingham and J., Komfield 1991. The Restriction Enzyme analysis Package, version 4.0 University of Maine, Orono, M.E.

Meng, Z. and J., Xu 2000. Studies on the chromosome structure and its variation of China mulberry wild silkworm. *Canye Kexue* 26: 5-9.

Meyer, E., P., Wiegand, S.P., Rand, D., Kuhlman and M., Brack 1995. Microsatelite polymorphisms reveal phylogenetic relationships in in primates. *J. Mol. Evol.* 41: 10-14.

Minoura, N., Aiba, S., Gotoh, Y., Tsukada, M. and Y., Mai 1995. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices. *J. Bromed Mater Res.*, 29 1215.

Mitton, J.B. 1994. Molecular approaches to population biology. *Annual review Ecology and Systematics* 25:45-69.

- Moy, R.L.**, Lee, A. and A., Zalka 1991. Commonly used suture materials in skin surgery .Am. Fam. Physician. 44, 2123
- Mulkerjee, P.**, S., Mukharjee and P., Kumaresan 1999. An analysis of genetic divergence in Indian (multivoltine silkworm *Bombyx mori*) germplasm. Sericologia 39: 337-347.
- Nagaraja, G.M.**, J., Nagaraju 1995. Genome fingerprinting in silkworm *Bombyx mori* using random arbitrary primers. Electrophoresis 16: 1633-1638.
- Nagaraju, J.** 1990. Studies on some genetic aspects of quantitative characters in tropical silkworm *Bombyx mori*. Ph.D. Thesis University of Mysore, India.
- Nagaraju, J.** 2000. Recent advances in molecular genetics of the silk moth, *Bombyx mori*. Curr. Sci. 78:151-161.
- Nagaraju, J.** 2002. Application of genetic principles for improving silk production. Current Science 83:409-414.
- Nagaraju, J.** and M.R., Goldsmith 2002. Silkworm genomics - Progress and Prospects. Current Science 83: 415-425.
- Nagaraju, J.**, K.D., Reddy G.M., Nagaraja and B.N., Sethuraman 2001. Comparison of multilocus RFLPs and PCR-base marker systems for genetic analysis of the silkworm *Bombyx mori*. Heridity 86:588-597.
- Nagaraju, J.**, V., Klimenko and C., Pierre 2001. *The silkworm, Bombyx mori: A model genetic system*. In: *Encyclopaedia of Genetics*. Edt. Eric C.R.Reeve. Fitzroy Dearborn Publishers, London. pp. 219-239. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Nakamura, T.**, Y., Banno and H., Fujii 2001. genetics of the "wild silkworm translucent" mutant (ows) discovered in the progenies

after the cross between the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, and the wild mulberry silkworm, *Bombyx mandarina*. *Int. J. Wild Silkmoth Silk* 6:7-10.

Nakamura, T., Y., Banno, T., Nakada, S.K., Nho and Xu 1999. Geographical dimorphism of the wild silkworm, *Bombyx mandarina*, in the chromosome number and the occurrence of a retroposon-like insertion in the arylphorin gene. *Genome* 42:1117-1120.

Nash, J.H.E. 1991. DNAfrag, program version 3.03, National Research Council of Canada, Ottawa, Ontario, Canada.

Natcheva, Y., N., Petkov, L., Ignatova, P., Tzenov, M., Braslavskii, M., Stostkii and J., Liushenko 2001. Correlations between some characters in silkworm outbred populations. *Sericulture (Ukraine)* 23: 29-43.

Nielsen, D., R.E.Jr., Page R.E. and M.W.J. Crosland 1994. Clinical variation and selection of MDH allozymes in honey bee populations. *Experientia* 50; 876-871.

Ogogyi, D.O., K. Kadono-Okuda, R., Eguchi, Y., Furuta and W., Hara 2003. Linkage and mapping analysis of a non-susceptibility gene to densovirus (nsd-2) in the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Mol. Biol.* 12:117-124.

Otsuki R., 1997. *Silkworm egg production*. Scienc Publisher, Inc. pp. 194 (Translated from Japanese).

Pradeep, A.R., S.N., Chatterjee, B., Sarathchandra and S. Raje Urs 2005. Allelic variants of a juvenile hormone responsive gene which connote genetic differentiation in strains of the silkworm *Bombyx mori*. *Journal of Genetics and Breeding* 59: 213-224.

- Prasad, M.D.**, M., Muthulakshmi and M., Madhu 2005. Survey and analysis of microsatellites in the silkworm, *Bombyx mori*: Frequency, distribution, mutation, marker potential and their conservation in heterologous species. *Genetics* 169: 197-214.
- Promboon, A.**, T., Shimada, H., Fujiwara and M., Kobayashi 1995. Linkage map of random amplified DNAs (RAPDs) in the silkworm, *Bombyx mori*. *Genet. Res.* 66:1-7.
- Qin, J.** and W.Z., Yi 1996. Genetic linkage analysis of nsd-Z, the nonsusceptibility gene of *Bombyx mori* to the Zhenjiang (China) strain densovirus. *Sericologia* 36:241-244.
- Ralls, K.**, J.D., Ballou and A., Templeton 1988. estimation of lethal equivalents and the cost of inbreeding in mammals. *Conservation Biology* 2: 185-193.
- Reddy, K.D.**, E.G., Abraham and J., Nagaraju 1999a. Microsatellites in the silkworm *Bombyx mori*: Abundance, polymorphism, and strain characterisation. *Genome* 42: 1057-1065.
- Reddy, K.D.**, J., Nagaraju and E.G., Abraham 1999b. Genetic characterization of the silkworm *Bombyx mori* by simple sequence repeat (SSR) anchored PCR. *Heredity* 83: 681-687.
- Roberts, A.**, McMillan, L., Wang, W., Parker, J., Rusyn, I. and D., Threagill 2007. Inferring missing genotypes in SNP panels using fast nearest-neighbour searches over sliding windows. *Bioinformatics* 23: i401 – i407.
- Ryu, K.S.**, I., Kim, M.Y., Ahn, H.S., Lee J.W., Kim and P., Lee 2003. Functionality research on silkworm and sericultural products. *Food Sci. Indust.* 36:15-24.
- Shi, J.**, Lua, S., Du, N., Liu X.-Y., and J., Song 2008. Identification, recombinant production and structural characterization of four

silk proteins from the Asiatic honeybee *Apis cerana*.
Biomaterials 29 2820

- Shi, J.**, D.G., Heckel and M.R., Goldsmith 1995. A genetic linkage map for the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, based on restriction fragment length polymorphisms. *Genet. Res.* 66:109-126.
- Shimada, T.**, Y., Kurimoto and M., Kobayashi 1995. Phylogenetic relationship of silk-moths inferred from sequence data of the arylphorin gene. *Mol. Phylogenetic Evol.*, 4:223-234.
- Shull, G.H.** 1952. Beginings of heterosis concept. In : Gowen, J.W., editor. *Heterosis*. Iowa State College Press.
- Sorita, S.** 1991. Preservation and Utilization of the Silkworm Genetic Resouces. Tsukuba, Jpn.: Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci. 68 pp.
- Staykova, T.** 2008. Genetically-determined polymorphism of nonspecific esterases and phosphoglucomutase in eight introduced breeds of the silkworm, *Bombyx mori*, raised in Bulgaria. *Journal of insect Science* 8:18.
- Subramanya, G.** and C., Bishop 2011. Analysis of heterosis and recombination loss for fitness and productivity in different hybrids of mulberry silk moth *Bombyx mori*. *Entomological Research* 41: 18-23.
- Subramanya, G.**, C., Bishop 2009. A novel procedure for estimating inbreeding coefficient (F) in the inbred populations of mulberry silkworm *Bombyx mori* L. *Proccedings of national workshop pn Seribiodiversity Conservation*, 7-8 March 2009 .
- Sutherland, T.D.**, J.H., Young, S., Weisman, C.Y., Hayashi and Merritt, D.J. 2010. Insect silk: one name, many materials. *Annual Review of Entomology* 55: 171-188.

- Takashi, S.,** S., Hideki, N., Takeharu, K., Isao, F., Hirofumi, U., Keiro, B., Yutaka, I., Hidetoshi, M., Hideaki, T., Toshiki, K., Hiroshi and K., Tsuchida 2007. Carotenoid silk coloration is controlled by a carotenoid-binding protein, a product of the Yellow blood gene. *Genetics*. 104 (21) 8941-8946.
- Tamura, T.,** C., Thibert, C., Royer, T., Kanda and E., Abraha 2000. Germline transformation of the silkworm *Bombyx mori* L. using a piggyBac transposon-derived vector. *National Biotechnology* 18:81-84.
- Tamura, Y.,** K., Nakajima, K., Nagayasu and C., Takabayashi 2002. *Phytochemistry* 59: 275-278
- Tan, Y.D.,** C., Wan, Y., Zhu, C., Lu, Z., Xiang and H.W., Deng 2001. An amplified fragment length polymorphism map of the silkworm. *Genetics* 157:1277-1284.
- Tautz, D.** 1989. Hypervariability of simple sequence as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucleic Acids Res.* 17: 6463-6471.
- Tazima, Y.** 1964. *The Genetics of the Silkworm* (Logos Press, London).
- Tazima, Y.** 1984. Silkworm moths. In: Mason IL (ed.) *Evolution of Domesticated Animals*, pp. 416- 424. Longman, London.
- Tazima, Y.,** 1994. Genetic analysis of polyphagous mutant strains of the silkworm, *Bombyx mori*. *Sericologia* 34: 601-617.
- Thangavelou, K.** 1998. Silkworm breeding in India-at a cross road. In: Subramanya G, editor. *Silkworm Breeding*. Oxford&IBH publishing Co. Pvt, Ltd.
- Thangavelu, K.** 2002. *Conservation Status of silkworm genetic resources in India*. Paper contributed to Expert Consultation on

Promotion of Global Exchange of Sericulture Germplasm: Bangkok, Thailand, Food and Agriculture Organization, Rome.

Tomita, M. H., Munetsuma, T., Sato, T., Adachi and R., Hino 2003. Transgenic silkworms produce recombinant human type III procollagen in cocoons. *National Biotechnology*. 21:52-56.

Tzenov, P.I. 2002. *Conservation Status of silkworm germplasm in Bulgaria*. Paper contributed to Expert Consultation on Promotion of Global Exchange of Sericulture Germplasm Satellite Session of XIX th ISC Congress, September 21st - 25th Bangkok, Thailand. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Tzitzinakis M., P., Harizanis and A., Perdikaris 2008 “Sericulture in Greece and in the European Union Facts of today and Prospects for tomorrow”. Proceedings of the 21st International Sericultural Congress. 3-6 November 2008, Athens-Greece, pp 246-250.

Tsumura, Y., K., Ohba and S.H., Strauss 1996. Diversity and inheritance of intersimple sequence repeat inheritance of intersimple sequence repeat polymorphisms in Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) and sugi (*Cryptomeria japonica*). *Theoretical and Applied Genetics* 92: 40-45.

Ullal S.R. and M.N., Narasimhanna 1977. Handbook of practical sericulture, Central Silk Board, Bombay. India.

Velou, D., K.M., Ponnuvel, M., muthulakshmi, R.K., Sinha and S.M.H., Qardi 2008. Analysis of genetic relationship in mutant silkworm strains of *Bombyx mori* using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Journal of Genetics and Genomics*. 35: 1-7.

Vos, P., R., Hogers, M., Bleeker, M., Reijans and V.T.D., Lee 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.

- Wang, S.M., 1989.** *Silkworm Egg Production Volume III*, translated by Li, Ping-yi, Pan, Runshi, Ou, Bing-sen. Food and Agriculture Organization, Rome. Agricultural Services Bulletin 73/3.
- Whitlock, M.C., 2002.** Selection, load, and inbreeding depression in a large metapopulation. *Genetics* 160: 1191-1202.
- Williams, J.G.K., M.K., Hanafey, J.A., Rafalski and S.V., Tingey 1990.** DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18: 6531-6535.
- Wills, J.H., A.S., Wikins and M.R., Goldsmith 1995.** A brief history of Lepidoptera as model systems. In: Goldsmith M.R., Wikins A.S., editors. *Molecular Model Systems in the Lepidoptera* pp. 1-20. Cambridge University Press.
- Wolfe, A., Q., Xiang and S., Kephart 1998.** Assessing hybridization in natural populations of *Peustemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable inter-simple sequence repeat (ISSR) bands. *Molecular Ecology* 7:1107-1125.
- Wright, S. 1977.** *Evolution and Genetics of populations Vol. 3 Experimental Results and evolutionary Deductions.* University of Chicago Press.
- Xia, Q.Y., Y., Guo, Z., Zhang, D., Li, Z., Xuan, Z., Li and F., Dai 2009.** Complete resequencing of 40 genomes reveals domestication events and genes in silkworm (*Bombyx*), *Science* 326:433-436.
- Xia, Q.Y., Z.Y., Zhou, C., Lu and Z.H., Xiang 1998.** Molecular Phylogenetic study on the racial differentiation of *Bombyx mori* by random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Acta Entomologica Sinica* 41:32-40.
- Xiang W. 2010.** Physical mechanism of silk strength and design of ultra strong silk. A thesis submitted for the degree of Doctor of

Philosophy. Department of Physics. National University of Singapore.

- Xu, M.K.**, Y.Y., Chen and Y.H., Jiang 2002. A brief report on the breeding of special silkworm varieties "Xinmiao" and "Mingri". *Sericologia* 42: 425-429.
- Xu, Y.**, Fu, Q., Li, S., and N., He 2011. Silkworm egg proteins at the germ-band formation stage and a functional analysis of BmEP80 protein. *Insect Biochem Mol. Biol.* 41 572 – 581.
- Yamauchi, Y.**, C., Hoffer, A., Yamamoto, H., Takeda and R., Ishihara 2000. cDNA and deduced amino acid sequences of apolipoprotein-III from *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 43:16-21.
- Yasukochi, Y.**, 1998. A dense genetic map of the silkworm, *Bombyx mori*, covering all chromosomes based on 1018 molecular markers. *Genetics* 150: 1513-1525.
- Yokoyama, T.**, 1979. In: Hoy MA, McKelvey JJ Jr., editors. *Genetics in Relation to Insect Management*. The Rockefeller Foundation Press.
- Yuan, Z.**, 2002. Progress of silkworm breeding in China. *Sericologia* 42: 1-11.
- Yukuhiro K.**, H., Sezutsu, M., Itoh, K., Shimizu and Y., Banno 2002. Significant levels of sequence divergence and gene rearrangements have occurred between the mitochondrial genomes of the wild mulberry silkworm, *Bombyx mandarina*, and its close relative, the domesticated silk-moth, *Bombyx mori*. *Mol. Biol. Evol.* 19:1385-1389.

Zietkiewicz, E., A., Rafalski and D., Labuda 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics* 20: 176-183.

Ελληνική Βιβλιογραφία:

Δούλιας, Κ., 1995. *Σηροτροφία. Εκτροφή Μεταξοσκωλήκων, καλλιέργεια μουριάς.* Εκδόσεις Γαρταγάνη, Θεσσαλονίκη

Μανιατάκης, Ι., 1900, Σηροτροφικά, «Πραγματεία περί καλλιέργειας της μορέας, Ανατροφής του μεταξοσκώληκος και κατεργασίας της μετάξης». Βιβλιοθήκη της βιομηχανικής και εμπορικής ακαδημίας

Νικολόπουλος Ν.Χ., 1954. Επί μίας νέας λευκής φυλής μεταξοσκώληκος (*Bombyx mori* L.). Διατριβή επί Διδακτορία υποβληθείσα εις την Φυσικομαθηματικήν σχολήν του Πανεπιστημίου Αθηνών.

Νικολόπουλος Ν.Χ., 1958. Πενταετές πρόγραμμα παραγωγής και διαδόσεως των υβριδικών μεταξόσπορων εν Ελλάδι (*Bombyx mori* L.) Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών.

Παπαναούμ, Γ. 1950. Σηροτροφία. Υπουργείο Γεωργία Γενική Διεύθυνση Γεωργίας.

Πελεκάσης, Κ. 1992. *Μαθήματα γεωργικής εντομολογίας.* Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα

Αποστολοπούλου, Μ., Μ., Θεσσαλού-Λεγάκη, Σ., Κουσουλάκος, Α., Λεγάκις και Α., Νικολαΐδου 1996. *Γενικές έννοιες ζωολογίας ασπόνδυλων.* Εκδόσεις Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα.

Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 1965. Αρχεία Εργαστηρίου.

Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, 1947. Σημειώσεις Εργαστηρίου

Σταμπολής Γ.Κ., 1959, «Η σηροτροφία και τα προϊόντα μετάξης». Βιβλιοθήκη Ελληνικής Λαϊκής Τέχνης.

Τζίτζινάκης Μ., Περδικάρης Α., 2008, «Ο τομέας της σηροτροφίας σήμερα». Γεωργία – Κτηνοτροφία, τεύχος 3/2008 σελ. 26-27

Χαριζάνης Π. και Μ., Τζίτζινάκης 2011α. Εγχειρίδιο Σηροτροφίας, η εκτροφή του μεταξοσκώληκα, στοιχεία καλλιέργειας της μουριάς. Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων. Διεύθυνση Ζωικής Παραγωγής & ΑΠΑ. Τμήμα Μελισσοκομίας – Σηροτροφίας. Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών.

Χαριζάνης Π. και Μ., Τζίτζινάκης 2011β. Ελληνική Σηροτροφία. Παρελθόν, παρόν και μέλλον του κλάδου. Γεωργία –Κτηνοτροφία 9:66-72.

Εγκυκλοπαίδειες:

Encyclopedia Encarta

Εγκυκλοπαίδεια Χάρη Πάτση

Ηλεκτρονικές Πηγές:

<http://www.bombyx-mandarina.blogspot.com>

<http://www.daily-parasite.blogspot.com>

<http://www.silk-road.com/art1/silkhistory.shtml>

http://en.wikipedia.org/wiki/History_of_silk

<http://faostat.fao.org>

<http://news.bbc.co.uk/2/hi/science/nature/379338.stm>

(BBC News 1999)

Υπηρεσιακά Έγγραφα:

Το υπ' αριθμ. 10573/16-7-2001 έγγραφο της Νομαρχίας Λέσβου

Το υπ' αριθμ. Ζ/9134/20-7-2004, Έγγραφο της Νομαρχίας Έβρου.

Το υπ' αριθμ. 7/30-1-2006, Έγγραφο του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών.

Το υπ' αριθμ. Ζ/10073/12-7-2005 Έγγραφο της Νομαρχίας Έβρου

Το υπ' αριθμ. 44/24-30-2005 έγγραφο του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών.

Το υπ' αριθμ. 80/25-10-2006 έγγραφο του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών.

Το υπ' αριθμ. 87/13-12-2006 έγγραφο του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών.

Υπ' αριθμ. 88/13-12-2006 έγγραφο του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών.

Το από 18/11/2009 Υπηρεσιακό Σημείωμα της Διεύθυνσης Ζωικής Παραγωγής & ΑΠΑ.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι (Χαρακτηριστικά πληθυσμών)

1. Πληθυσμός Ε0



<u>Χαρακτηριστικά προνυμφών</u>	
Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	28
Ποσοστό επιβίωσης (%)	82
Ποσοστό κλαδώματος (%)	90
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	Φθινόπωρο
Χρώμα αιμολέμφου	Λευκό
Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	χρώμα σώματος λευκό, παντελής απουσία σχηματισμών (απουσία προσωπίδας, ημισελήνου, αστεροειδούς στίγματος, ραβδώσεων)
<u>Χαρακτηριστικά κουκουλιών - νυμφών</u>	
Χρώμα κουκουλιού	Λευκό
Βάρος κλωρού κουκουλιού (g)	0,80 ± 0,030
Μήκος κουκουλιού (mm)	25,92 ± 0,391
Πλάτος κουκουλιού (mm)	15,45 ± 0,272
Σχήμα κουκουλιού	επίμηκες $a=1/(-1,54793+73,1196/\beta)$ α: βάρος κλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
Βάρος κελύφους (g)	0,09 ± 0,006
Ποσοστό κελύφους (%)	11,41 ± 0,365
Βάρος νύμφης (g)	0,71 ± 0,022
Μήκος νύμφης (mm)	21,02 ± 0,232
Πλάτος νύμφης (mm)	8,10 ± 0,087
<u>Χαρακτηριστικά γονιμότητας</u>	
Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωοτοκία	213 ± 27
Μήκος αυγού (mm)	1,23 ± 0,012
Πλάτος αυγού (mm)	1,01 ± 0,010
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,22 ± 0,011

2. Πληθυσμός Ε (ii)



<u>Χαρακτηριστικά προνυμφών</u>	
Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	28
Ποσοστό επιβίωσης (%)	85
Ποσοστό κλαδώματος (%)	89
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	Φθινόπωρο
Χρώμα αιμολέμφου	Λευκό
Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	χρώμα σώματος λευκό, παρουσία προσωπίδας, ακνή εμφάνιση ημισελήνου (απουσία αστεροειδούς στίγματος, ραβδώσεων)
<u>Χαρακτηριστικά κουκουλιών - νυμφών</u>	
Χρώμα κουκουλιού	Υπόλευκο
Βάρος χλωρού κουκουλιού (g)	0,77 ± 0,030
Μήκος κουκουλιού (mm)	26,14 ± 0,384
Πλάτος κουκουλιού (mm)	15,61 ± 0,267
Σχήμα κουκουλιού	<u>επίμηκες - ζωνωτό</u> $\alpha = 1 / (-0,411514 + 44,7299 / \beta)$ α: βάρος χλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
Βάρος κελύφους (g)	0,10 ± 0,006
Ποσοστό κελύφους (%)	13,05 ± 0,367
Βάρος νύμφης (g)	0,67 ± 0,022
Μήκος νύμφης (mm)	20,62 ± 0,233
Πλάτος νύμφης (mm)	8,08 ± 0,087
<u>Χαρακτηριστικά γονιμότητας</u>	
Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωοτοκία	236 ± 25
Μήκος αυγού (mm)	1,27 ± 0,008
Πλάτος αυγού (mm)	1,02 ± 0,007
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,24 ± 0,008

3. Πληθυσμός EZ1



Χαρακτηριστικά προνυμφών	
Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	29
Ποσοστό επιβίωσης (%)	85
Ποσοστό κλαδώματος (%)	89
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	φθινόπωρο
Χρώμα αιμολέμφου	κίτρινο
Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	μέλανες ζωνωτοί σκώληκες επί των δακτυλίων σκούρου χρώματος (γκρι - πράσινο) υπάρχει λευκή ζώνη, παρουσία προσωπίδας
Χαρακτηριστικά κουκουλιών - νυμφών	
Χρώμα κουκουλιού	Υπόλευκο - κίτρινο
Βάρος χλωρού κουκουλιού (g)	0,81 ± 0,017
Μήκος κουκουλιού (mm)	26,89 ± 0,213
Πλάτος κουκουλιού (mm)	14,79 ± 0,148
Σχήμα κουκουλιού	επίμηκες $\alpha = 1 / (-0,141285 + 39,085 / \beta)$ α: βάρος χλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
Βάρος κελύφους (g)	0,09 ± 0,003
Ποσοστό κελύφους (%)	11,75 ± 0,203
Βάρος νύμφης (g)	0,67 ± 0,012
Μήκος νύμφης (mm)	20,91 ± 0,128
Πλάτος νύμφης (mm)	7,66 ± 0,048
Χαρακτηριστικά γονιμότητας	
Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωοτοκία	247 ± 16
Μήκος αυγού (mm)	1,21 ± 0,006
Πλάτος αυγού (mm)	0,98 ± 0,005
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,23 ± 0,005

4. Πληθυσμός EZ2



Χαρακτηριστικά προνυμφών

Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	29
Ποσοστό επιβίωσης (%)	86
Ποσοστό κλαδώματος (%)	87
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	Φθινόπωρο
Χρώμα αιμολέμφου	Λευκό

Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	μέλανες ζωνωτοί σκώληκες επί των δακτυλίων σκούρου χρώματος (γκρι) υπάρχει λευκή ζώνη, παρουσία προσωπίδας
---	--

Χαρακτηριστικά κουκουλιών – νυμφών

Χρώμα κουκουλιού	Υπόλευκο
Βάρος χλωρού κουκουλιού (g)	0,72 ± 0,025
Μήκος κουκουλιού (mm)	26,89 ± 0,313
Πλάτος κουκουλιού (mm)	14,68 ± 0,224

Επίμηκες

Σχήμα κουκουλιού	$\alpha = -0,0675069 + 0,0283692 * \beta$ α: βάρος χλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
------------------	--

Βάρος κελύφους (g)	0,09 ± 0,005
Ποσοστό κελύφους (%)	12,07 ± 0,307
Βάρος νύμφης (g)	0,63 ± 0,019
Μήκος νύμφης (mm)	20,90 ± 0,195
Πλάτος νύμφης (mm)	7,70 ± 0,073

Χαρακτηριστικά γονιμότητας

Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωοτοκία	169 ± 26
Μήκος αυγού (mm)	1,25 ± 0,010
Πλάτος αυγού (mm)	1,03 ± 0,008
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,22 ± 0,009

5. Πληθυσμός EZ3



Χαρακτηριστικά προνυμφών	
Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	29
Ποσοστό επιβίωσης (%)	89
Ποσοστό κλαδώματος (%)	88
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	Φθινόπωρο
Χρώμα αιμολέμφου	κίτρινο
Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	μέλανες ζωνωτοί σκώληκες επί των δακτυλίων σκούρου χρώματος (μαύρο) υπάρχει λευκή ζώνη, παρουσία προσωπίδας
Χαρακτηριστικά κουκουλιών - νυμφών	
Χρώμα κουκουλιού	κίτρινο
Βάρος χλωρού κουκουλιού (g)	0,69 ± 0,037
Μήκος κουκουλιού (mm)	25,96 ± 0,469
Πλάτος κουκουλιού (mm)	13,94 ± 0,326
Σχήμα κουκουλιού	επίμηκες $\alpha = 1 / (-1,1573 + 68,6675 / \beta)$ α: βάρος χλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
Βάρος κελύφους (g)	0,08 ± 0,007
Ποσοστό κελύφους (%)	12,01 ± 0,448
Βάρος νύμφης (g)	0,60 ± 0,027
Μήκος νύμφης (mm)	20,29 ± 0,284
Πλάτος νύμφης (mm)	7,45 ± 0,106
Χαρακτηριστικά γονιμότητας	
Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωοτοκία	231 ± 35
Μήκος αυγού (mm)	1,21 ± 0,011
Πλάτος αυγού (mm)	0,99 ± 0,009
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,22 ± 0,009

6. Πληθυσμός I(ii)E



Χαρακτηριστικά προνυμφών	
Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	27
Ποσοστό επιβίωσης (%)	90
Ποσοστό κλαδώματος (%)	91
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	Άνοιξη
Χρώμα αιμολέμφου	λευκό
Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	χρώμα σώματος λευκό, παρουσία προσωπίδας, έντονη εμφάνιση ημισελήνου, ακνότερο αστεροειδές στίγμα χρώματος καφέ, σκούρες αποχρώσεις στα τελευταία τμήματα
Χαρακτηριστικά κουκουλιών - νυμφών	
Χρώμα κουκουλιού	λευκό
Βάρος χλωρού κουκουλιού (g)	0,92 ± 0,033
Μήκος κουκουλιού (mm)	27,56 ± 0,419
Πλάτος κουκουλιού (mm)	15,49 ± 0,291
Σχήμα κουκουλιού	επίμηκες - ωσειδές $a=1,98185-29,8699/\beta$ α: βάρος χλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
Βάρος κελύφους (g)	0,17 ± 0,006
Ποσοστό κελύφους (%)	18,61 ± 0,400
Βάρος νύμφης (g)	0,75 ± 0,025
Μήκος νύμφης (mm)	21,43 ± 0,254
Πλάτος νύμφης (mm)	8,46 ± 0,095
Χαρακτηριστικά γονιμότητας	
Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωτοκία	227 ± 29
Μήκος αυγού (mm)	1,24 ± 0,008
Πλάτος αυγού (mm)	1,05 ± 0,006
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,18 ± 0,007

7. Πληθυσμός MN(0)



Χαρακτηριστικά προνυμφών	
Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	27
Ποσοστό επιβίωσης (%)	90
Ποσοστό κλαδώματος (%)	89
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	Άνοιξη
Χρώμα αιμολέμφου	Λευκό
Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	χρώμα σώματος λευκό, παντελής απουσία σχηματισμών (απουσία προσωπίδας, ημισελήνου, αστεροειδούς στίγματος, ραβδώσεων)
Χαρακτηριστικά κουκουλιών - νυμφών	
Χρώμα κουκουλιού	λευκό
Βάρος χλωρού κουκουλιού (g)	1,52 ± 0,038
Μήκος κουκουλιού (mm)	33,47 ± 0,485
Πλάτος κουκουλιού (mm)	20,43 ± 0,337
Σχήμα κουκουλιού	επίμηκες – κονδρό $\alpha = 1 / (-0,399234 + 35,5304 / \beta)$ α: βάρος χλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
Βάρος κελύφους (g)	0,33 ± 0,007
Ποσοστό κελύφους (%)	21,85 ± 0,463
Βάρος νύμφης (g)	1,25 ± 0,028
Μήκος νύμφης (mm)	24,43 ± 0,294
Πλάτος νύμφης (mm)	9,68 ± 0,110
Χαρακτηριστικά γονιμότητας	
Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωτοκία	405 ± 24
Μήκος αυγού (mm)	1,25 ± 0,011
Πλάτος αυγού (mm)	1,07 ± 0,009
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,16 ± 0,010

8. Πληθυσμός ΡΜ



Χαρακτηριστικά προνυμφών	
Διάρκεια προνύμφης (ημέρες)	27
Ποσοστό επιβίωσης (%)	92
Ποσοστό κλαδώματος (%)	93
Αριθμός προνυμφικών ηλικιών	5
Αριθμός γενεών ανά έτος	1
Περίοδος εκτροφής	Άνοιξη
Χρώμα αιμολέμφου	Λευκό
Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ώριμης προνύμφης 5 ^{ης} ηλικίας	χρώμα σώματος λευκό, παρουσία προσωπίδας, έντονη εμφάνιση ημισελήνου και αστεροειδούς στίγματος χρώματος καφέ
Χαρακτηριστικά κουκουλιών - νυμφών	
Χρώμα κουκουλιού	υπόλευκο - λευκοπράσινο
Βάρος χλωρού κουκουλιού (g)	1,13 ± 0,025
Μήκος κουκουλιού (mm)	30,52 ± 0,322
Πλάτος κουκουλιού (mm)	14,70 ± 0,224
Σχήμα κουκουλιού	επίμηκες - ωσειδές α=3,40359-69,8893/β α: βάρος χλωρού κουκουλιού β: μήκος κουκουλιού
Βάρος κελύφους (g)	0,17 ± 0,005
Ποσοστό κελύφους (%)	15,54 ± 0,307
Βάρος νύμφης (g)	0,94 ± 0,019
Μήκος νύμφης (mm)	22,12 ± 0,198
Πλάτος νύμφης (mm)	9,29 ± 0,074
Χαρακτηριστικά γονιμότητας	
Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωοτοκία	299 ± 23
Μήκος αυγού (mm)	1,31 ± 0,008
Πλάτος αυγού (mm)	1,13 ± 0,007
Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγού	1,16 ± 0,007

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ (Θεωρητικά Υπομνήματα)

Στο παρόν παράρτημα παρατίθενται υπό μορφή ανεξάρτητων θεωρητικών υπομνημάτων, θεωρητικά στοιχεία που σχετίζονται άμεσα και αιτιολογούν την επιλογή των εφαρμοζόμενων μεθόδων και διαδικασιών, κυρίως αναφορικά με τις εκτροφές και τις μετρήσεις που έλαβαν χώρα. Τα στοιχεία αυτά είτε δεν έχουν αναφερθεί στο κεφάλαιο της εισαγωγής, ή αναφέρθηκαν άλλα κρίνεται σκόπιμο να παρατεθούν με τον τρόπο αυτό, για λόγους σαφέστερης τεκμηρίωσης και καλύτερης σύνδεσης της πειραματικής διαδικασίας με τη θεωρία και τις πραγματοποιούμενες ενέργειες.

Θεωρητικό Υπόμνημα(1) ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΡΟΜΗΘΕΙΑΣ ΜΕΤΑΞΟΣΠΟΡΟΥ

- Μέχρι και τη σηροτροφική περίοδο 2009 οι ανάγκες των Ελλήνων σηροτρόφων σε μεταξόσπορο καλύπτονταν από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων.
- Η προμήθεια του μεταξόσπορου γινόταν κεντρικά από την αρμόδια υπηρεσία του Υπουργείου, σύμφωνα με τις προβλεπόμενες ανάγκες, όπως αυτές είχαν ανακοινωθεί μέσω σχετικής αλληλογραφίας με τις κατά τόπους Διευθύνσεις Αγροτικής Ανάπτυξης.
- Ύστερα από την ολοκλήρωση των απαραίτητων διαδικαστικών διοικητικών ενεργειών, οι οποίες όφειλαν να βρίσκονται σε πλήρη εναρμόνιση με την ισχύουσα νομοθεσία περί προμηθειών του δημοσίου, η συνολική ποσότητα του μεταξόσπορου παρεδίδετο στο Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών.
- Μετά την καταμέτρηση των κουτιών και τη λήψη τυχαίου δείγματος από την αρμόδια τριμελή επιτροπή, πραγματοποιούνταν οι απαραίτητοι έλεγχοι και ο μεταξόσπορος διανέμετο στους ενδιαφερόμενους σηροτρόφους μέσω των οικείων Διευθύνσεων Αγροτικής Ανάπτυξης.
- Κατά τις σηροτροφικές περιόδους 2010 και 2011, η προμήθεια του μεταξόσπορου έγινε απευθείας από τους ενδιαφερόμενους σηροτρόφους, σε εφαρμογή της υπ' αριθμ. 337474/9-12-2009 (ΦΕΚ 2487/Β/2009) Απόφασης του Υφυπουργού Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων.

Θεωρητικό Υπόμνημα (2)

ΙΔΡΥΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΚΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΑΘΗΝΩΝ

- Το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών ιδρύθηκε με το Νόμο 513/1914 (ΦΕΚ401/Α/1914) «περί παραγωγής της σηροτροφίας και οργανώσεως της σηροτροφικής υπηρεσίας», ενώ την ευθύνη για την εύρυθμη λειτουργία του έχει το Τμήμα Μελισσοκομίας – Σηροτροφίας της Δ/νσης Ζωικής Παραγωγής & ΑΠΑ του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (πρώην Υπουργείο Γεωργίας).
- Η έδρα του βρίσκεται στο χώρο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και συγκεκριμένα στο Εργαστήριο Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας με το οποίο συστεγάζεται και συνεργάζεται αρμονικά. Είναι το αρμόδιο θεσμοθετημένο εργαστήριο για την επιστημονική εξυπηρέτηση του κλάδου της Σηροτροφίας στην Ελλάδα.
- Σκοπός της ύπαρξης του Σηροτροφικού Εργαστηρίου είναι η στήριξη του κλάδου μέσα από τη διερεύνηση και τη διάδοση νέων τεχνικών εκτροφής, την αντιμετώπιση ασθενειών, την προώθηση προσαρμοσμένων και αποδοτικών φυλών μεταξοσκωλήκων και ποικιλιών μωριάς και την αύξηση της οικονομικής αποδοτικότητας της σηροτροφίας γενικότερα.

Θεωρητικό Υπόμνημα (3)
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

- Μέχρι και το 2009, οπότε ο μεταξόσπορος παρεδίδετο απ' ευθείας στο Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, οι τριμελείς επιτροπές παραλαβής και επιτόπιου ελέγχου αποτελούνταν από υπαλλήλους της κεντρικής υπηρεσίας του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων, οι οποίοι κατά τη μετάβασή τους στο χώρο αποθήκευσης ήλεγχαν τα συνοδευτικά έγγραφα και καταμετρούσαν τον αριθμό των παραδοθέντων κιβωτίων και ένα προς ένα τα κουτιά μεταξόσπορου που βρισκόνταν σε κάθε κιβώτιο. Κατά τη διάρκεια της καταμέτρησης γινόταν και η λήψη των κουτιών που θα αποτελούσαν το τυχαίο δείγμα. Στη συνέχεια, τα κουτιά του δείγματος παραδίδονταν στο εργαστήριο για τους περαιτέρω ελέγχους. Από τη σηροτροφική περίοδο 2010 και εφεξής, οπότε και η διαδικασία διάθεσης του μεταξόσπορου στους ενδιαφερόμενους σηροτρόφους άλλαξε, η καταμέτρηση των προοριζόμενων για εμπορική χρήση κουτιών μεταξόσπορου και η λήψη του δείγματος πραγματοποιείται στην έδρα του εισαγωγέα, παρουσία του τελευταίου ή εκπροσώπου του, από Επιτροπή η οποία αποτελείται από τρεις υπαλλήλους της αρμόδιας περιφερειακής υπηρεσίας.
- Το μέγεθος του δείγματος και ο τρόπος της δειγματοληψίας καθορίζεται σε συνεργασία με το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών. Κατά την καταμέτρηση των κουτιών και τη δειγματοληψία υπογράφεται από την αρμόδια Επιτροπή σχετικό πρακτικό το οποίο προσυπογράφεται και από τον εισαγωγέα ή τον εκπρόσωπό του, ενώ σφραγίζονται όλα τα κουτιά με τη σφραγίδα της αρμόδιας υπηρεσίας. Στη συνέχεια, το δείγμα ελέγχου αποστέλλεται στο Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών, συνοδευόμενο από ένα αντίτυπο του σχετικού πρακτικού και τα επίσημα έγγραφα που συνοδεύουν το μεταξόσπορο.

Το σχετικό πρακτικό σύμφωνα με την υπ αριθμ. 337474/9-12-2009 (ΦΕΚ 2487/Β/2009) Απόφαση του Υφυπουργού Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων έχει την ακόλουθη μορφή:

**ΠΡΑΚΤΙΚΟ ΚΑΤΑΜΕΤΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ
ΕΙΣΑΓΟΜΕΝΩΝ ΚΟΥΤΙΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΠΟΡΟΥ**

Σήμερα στ... οι κάτωθι υπογεγραμμένοι που αποτελούμε την επιτροπή καταμέτρησης και δειγματοληψίας κουτιών μεταξόσπορου, η οποία συστάθηκε με την υπ' αριθ. απόφαση της Νομαρχίας καταμετρήσαμε και σφραγίσαμε (αριθμητικά και ολογράφως) κουτιά μεταξόσπορου τα οποία εισήγαγε ο (ονοματεπώνυμο ή επωνυμία νομικού προσώπου) για χρήση κατά τη σηροτροφική περίοδο (έτος). Η προέλευση των κουτιών μεταξόσπορου είναι από (χώρα προέλευσης).

Κατά την καταμέτρηση διαπιστώθηκε ότι ο μεταξόσπορος είναι τοποθετημένος σε κατάλληλα κουτιά συσκευασίας τα οποία φέρουν ετικέτα ή σφραγίδα, όπου αναφέρονται: **α)** το περιεχόμενο του κουτιού (αυγά μεταξοσκώληκα προς χρήση κατά τη σηροτροφική περίοδο (έτος) **β)** η επωνυμία του παραγωγού οίκου, **γ)** το υβρίδιο ή πολυυβρίδιο, **δ)** ο αριθμός των αυγών, **ε)** η κατάλληλη εποχή εκτροφής, **στ)** το χρονικό όριο αντοχής σε διαχείριση.

Ο μεταξόσπορος συνοδεύεται από επίσημα έγγραφα του οίκου παραγωγής, με επίσημη μετάφραση στην ελληνική γλώσσα, όπου αναφέρονται τα εξής:

- η επωνυμία του παραγωγού οίκου:
- η ονομασία του υβριδίου ή του πολυυβριδίου:
- η χώρα καταγωγής των γεννητόρων:
- η χώρα εκτροφής των γεννητόρων:
- το χρονικό όριο αντοχής σε διαχείριση:
- η καταλληλότητα για εαρινή-θερινή ή φθινοπωρινή εκτροφή:
- το ποσοστό εκκολαπτικότητας κατά την προβλεπόμενη περίοδο χρήσης:
- ότι ο μεταξόσπορος και οι γεννητόρές του είναι απαλλαγμένοι από πιπερίτιδα (*Nosema bombycis*)
- οδηγίες συντήρησης και επώασης των αυγών μέχρι την εκκόλαψή τους.

Η υγιεινή κατάσταση του μεταξόσπορου και των γεννητόρων του σε σχέση με την πιπερίτιδα (*Nosema bombycis*), βεβαιώνεται επιπλέον και από επίσημο πιστοποιητικό του αρμόδιου φορέα της χώρας προέλευσης του μεταξόσπορου με επίσημη μετάφραση στην ελληνική γλώσσα, το οποίο συνοδεύει το μεταξόσπορο.

Έγινε δειγματοληψία σύμφωνα με τις οδηγίες του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών.

Παρατηρήσεις:
.....
.....

Ο ΕΙΣΑΓΩΓΕΑΣ

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1.
2.
3.

Θεωρητικό Υπόμνημα(4)

ΕΠΩΑΣΗ ΑΥΓΩΝ, ΕΚΚΟΛΑΨΗ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ

- Γενικά, η επώαση των αυγών πραγματοποιείται σε ειδικούς χώρους (επωαστικοί θάλαμοι), όπου δημιουργούνται οι κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας, φωτισμού και αερισμού. Εάν η επώαση των αυγών δε γίνει σε επωαστικό θάλαμο, τότε θα πρέπει να διαμορφωθεί ένας χώρος (μικρό δωμάτιο) όπου να μπορούν να διατηρηθούν κατά το δυνατόν οι επιθυμητές θερμοϋγρομετρικές συνθήκες.
- Η θερμοκρασία θεωρείται ο πιο σημαντικός παράγοντας στην επώαση των αυγών. Επηρεάζει τη διάρκεια της επώασης, το ποσοστό και την ομοιομορφία της εκκόλαψης, και κατ' επέκταση την ποιότητα των κουκουλιών. Τις 3 πρώτες ημέρες από την έναρξη της επώασης η θερμοκρασία πρέπει να είναι από 15 - 20 °C, ενώ τις υπόλοιπες ημέρες η θερμοκρασία του χώρου πρέπει να κυμαίνεται περί τους 25 °C.
- Η επώαση των αυγών πρέπει να ξεκινήσει παράλληλα με την εμφάνιση των πρώτων φύλλων της μουριάς. Αν οι νεαροί μετασοκώληκες αρχίσουν το βιολογικό τους κύκλο πολύ νωρίς θα υπάρχει ανεπάρκεια τροφής, ενώ αν βγουν από τα αυγά πολύ αργά δε θα αναπτυχθούν σωστά γιατί η τροφή θα είναι ακατάλληλη για τα πολύ μικρά στοματικά τους μόρια, καθώς τα φύλλα θα είναι πολύ σκληρά.
- Η εκκόλαψη των προνυμφών πρέπει να είναι συγχρονισμένη (μέσα σε 2-3 μέρες) και σε ποσοστό τουλάχιστον 95 %.
- Η σχετική υγρασία επηρεάζει επίσης την εκκολαπτικότητα. Φυσιολογικά, πολύ στεγνό ή πολύ υγρό περιβάλλον είναι επιβλαβές για τα έμβρυα. Για παράδειγμα, σε πολύ ξηρές συνθήκες τα αυγά χάνουν την υγρασία τους με αποτέλεσμα, να έχουμε χαμηλή εκκόλαψη και αυξημένο ποσοστό νεκρών εμβρύων, ενώ σε πολύ υγρές συνθήκες (σχετική υγρασία μεγαλύτερη από 90%) παράγονται μεγάλες προνύμφες, που είναι όμως πολύ αδύναμες. Σε όλη τη διάρκεια της επώασης απαιτείται υψηλή σχετική υγρασία (75-80 %)
- Σε μερικές περιπτώσεις η θερμοκρασία και το φωτοπερίοδο έχουν αθροιστική επίδραση στην επώαση των αυγών και την εκκόλαψη των προνυμφών. Για την εξασφάλιση ομοιόμορφης εκκόλαψης, τα αυγά πρέπει να εκτίθενται στο φως μέχρι την εμφάνιση των πρώτων προνυμφών. Πρακτικά ο φωτισμός πρέπει να είναι 18 ώρες φως, 6 ώρες σκοτάδι.

Θεωρητικό Υπόμνημα(5)
ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ, ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ
ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΞΟΣΠΟΡΟΥ

Το πρωτόκολλο ποιοτικού ελέγχου και το πιστοποιητικό καταλληλότητας μεταξόσπορου έχουν την ακόλουθη μορφή:

ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΚΟΥΤΙΩΝ ΜΕΤΑΞΟΣΠΟΡΟΥ

Χώρα προέλευσης:

Ονομασία υβριδίου ή καθαρής σειράς:

Ονοματεπώνυμο ή

Επωνυμία παραγωγού/εισαγωγέα:

Μέγεθος φορτίου

(αριθμός κουτιών αριθμητικά & ολογράφως):

Τόπος – Υπηρεσία λήψης δείγματος:

Ημερομηνία λήψης του δείγματος:

Μέγεθος δείγματος

(αριθμητικά & ολογράφως):

1. Έλεγχος για την πιπερίτιδα

Υπεύθυνος ελέγχου:

Μέθοδος ελέγχου:

Ημερομηνία ελέγχου:

Αποτέλεσμα ελέγχου:

Αριθμός δείγματος			
1	Θετικό	<input type="checkbox"/>	Αρνητικό <input type="checkbox"/>
2	Θετικό	<input type="checkbox"/>	Αρνητικό <input type="checkbox"/>
3	Θετικό	<input type="checkbox"/>	Αρνητικό <input type="checkbox"/>
4	Θετικό	<input type="checkbox"/>	Αρνητικό <input type="checkbox"/>
5	Θετικό	<input type="checkbox"/>	Αρνητικό <input type="checkbox"/>
6	Θετικό	<input type="checkbox"/>	Αρνητικό <input type="checkbox"/>

2. Έλεγχος για την ποσότητα των αυγών ανά κουτί

Υπεύθυνος ελέγχου:

Μέθοδος ελέγχου:

Ημερομηνία ελέγχου:

Αποτέλεσμα ελέγχου:

Αριθμός δείγματος	Βάρος αυγών ανά κουτί (g)	Αριθμός αυγών ανά γραμμάριο	Αριθμός σκάρτων αυγών ανά γραμμάριο	ποσοστό σκάρτων αυγών ανά κουτί	Αριθμός καλών αυγών ανά κουτί
1					
2					
3					
4					
5					
6					
ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ					

3. Έλεγχος για την εκκολαπτικότητα

Υπεύθυνος ελέγχου:

Ημερομηνία εισαγωγής στον επωαστικό θάλαμο:

Συνθήκες επώασης: Θερμοκρασία Σχετική υγρασία

Ημερομηνία εκκόλαψης:

Διάρκεια εκκόλαψης:

Αποτέλεσμα ελέγχου:

Αριθμός δείγματος	Αριθμός αυγών	Αριθμός ανεκκόλαπτων αυγών	Αριθμός εκκολαφθέντων αυγών	Ποσοστό εκκολαπτικότητας
1				
2				
3				
4				
5				
6				



**ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ
ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ & ΤΡΟΦΙΜΩΝ
ΓΕΝ. Δ/ΝΣΗ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Δ/ΝΣΗ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ & ΑΠΑ
ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

Αθήνα, ..-..-

Αρ. Πρωτ.:

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΜΕΤΑΞΟΣΠΟΡΟΥ

Το **Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών**, σε εφαρμογή της παρ. 2.2.3 της υπ' αριθμ. 337474/9-12-2009 (ΦΕΚ 2487/Β/2009) απόφασης του ΥΠΑΑΤ, αφού έλαβε υπόψη:

- το από Πρακτικό Καταμέτρησης και Δειγματοληψίας..... (.....) κουτιών εισαγόμενου μεταξόσπορου τα οποία εισήγαγε ο κ. από τ... .., για χρήση κατά τη σηροτροφική περίοδο **20.....**, το οποίο μας διαβιβάστηκε από την Δ/νση Αγροτικής Οικονομίας & Κτηνιατρικής με το υπ' αριθμ. έγγραφο.
 - τα αναγραφόμενα επί των κουτιών,
 - τα συνοδευτικά έγγραφα του φορτίου,
- εξέτασε τυχαίο δείγμα (.....) κουτιών μεταξόσπορου, προερχόμενο από το ίδιο ως άνω φορτίο.

Η εξέταση του δείγματος αφορούσε:

α) τον αριθμό των αυγών ανά κουτί, **β)** τη μη ύπαρξη σπορίων του πρωτόζωου *Nosema bombycis*, **γ)** την μη ύπαρξη ξένων ουσιών ή σωμάτων, **δ)** την εκκολαπτικότητα του μεταξόσπορου.

Διαπιστώθηκε ότι:

- ο μεταξόσπορος είναι τοποθετημένος σε κατάλληλα κουτιά συσκευασίας επί των οποίων αναγράφονται όλες οι προβλεπόμενες πληροφορίες και συνοδεύεται από τα απαραίτητα έγγραφα,
- από τη μικροσκοπική εξέταση που πραγματοποιήθηκε βρέθηκε ότι είναι απαλλαγμένος από το πρωτόζωο *Nosema bombycis* που προκαλεί την κληρονομική ασθένεια πιπερίτιδα.
- από την καταμέτρηση με τη μέθοδο του βάρους βρέθηκε ότι τα κουτιά περιέχουν κατά μέσο όρο αυγά, με διακύμανση από έως αυγά ανά κουτί,
- τα κουτιά δεν περιέχουν ξένες ουσίες ή σώματα, εκτός από το μεταξόσπορο,
- η εκκόλαψη των αυγών ήταν κανονική και συγχρονισμένη με μέσο όρο% και διακύμανση από% έως και% .

**Ύστερα από τα παραπάνω
πιστοποιείται ότι:**

Το φορτίο των (.....) κουτιών μεταξόσπορου του υβριδίου **X....., προερχόμενο από τ... .., το οποίο εισήγαγε ο κ. για χρήση κατά τη σηροτροφική περίοδο **20.....**, πληροί τις προβλεπόμενες προϋποθέσεις και είναι κατάλληλο για χρήση από τους Έλληνες σηροτρόφους κατά την φθινοπωρινή εκτροφή του 20..... .**

Ο ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ

Θεωρητικό Υπόμνημα(6)
ΑΠΟΛΥΜΑΝΣΗ ΧΩΡΩΝ ΚΑΙ ΕΡΓΑΛΕΙΩΝ

- Λίγες μέρες πριν από την έναρξη της εκτροφής είναι απαραίτητο να γίνει απολύμανση του χώρου και των σκευών που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν, καθώς υπάρχουν παθογόνοι μικροοργανισμοί που μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές ασθένειες στο μεταξοσκώληκα και απώλειες στην παραγωγή. Η σωστή απολύμανση είναι βασική αρχή για την επιτυχία της εκτροφής.
- Η εφαρμογή χημικών απολυμαντικών μέσων γίνεται είτε με ψεκασμό της επιφάνειας, είτε με υποκαπνισμό. Η πρώτη περίπτωση εφαρμόζεται σε κλειστούς ή ανοικτούς χώρους εκτροφής ενώ στη δεύτερη περίπτωση χρησιμοποιούνται πτητικές ουσίες ή ουσίες σε μορφή αερίων και εφαρμόζονται σε ερμητικά κλειστούς χώρους. Η αποτελεσματικότητα του υποκαπνισμού εξαρτάται από το πόσο καλά διαχέονται οι ατμοί σε όλα τα μέρη του χώρου.
- Πριν από την εφαρμογή κάθε χημικής ουσίας, είναι απαραίτητος ο υπολογισμός με ακρίβεια του όγκου του σηροτροφείου, για να γίνει μετέπειτα ο σωστός υπολογισμός της απαιτούμενης δόσης του φαρμάκου.

Θεωρητικό Υπόμνημα(7)

DALCO - 100

- Σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει συνήθως, ο μηχανισμός δράσης του ClO_2 ως βακτηριοκτόνο είναι αντίδραση οξειδώσεως και όχι αντίδραση χλωρίωσης. Αυτό απαλλάσσει από αρκετές μη επιθυμητές δράσεις της χλωρίωσης, όπως η παραγωγή τριχλωρομεθανίου, του οποίου η παρουσία απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή και μπορεί να αποβεί επιβλαβής για ζωντανούς οργανισμούς.
- Αν και στο χημικό τύπο της δραστικής ουσίας περιέχεται το χημικό στοιχείο χλώριο, το DALCO-100 ουδεμία σχέση έχει με τη δράση του υποχλωριώδους νατρίου. Το μεγάλο του πλεονέκτημα, αλλά και διαφορά τους είναι ότι δεν ενώνεται με τους αρωματικούς δακτυλίους, αλλά απλά τους διασπά.
- Όσο αυξάνεται η χρήση του ClO_2 η παραγωγή χλωριωμένων οργανικών πέφτει δραματικά, με αποτέλεσμα την αποφυγή ύπαρξης χλωριωμένων αρωματικών δακτυλίων.
- Η αντιβακτηριακή δράση του διαλύματος ClO_2 ελέγχεται και ρυθμίζεται πολύ εύκολα, όταν απαιτείται αντιμετώπιση συγκεκριμένων προβλημάτων. Αυξομειώνοντας το pH του διαλύματος προ της χρήσης του επιτυγχάνεται έλεγχος του ποσοστού του ελευθερωμένου αερίου του ClO_2 προσδίδοντας απόλυτο έλεγχο της βακτηριοστατικής του δράσης. Μειώνοντας αισθητά το pH, αναμιγνύοντας το διάλυμα με όξινο προϊόν επιτυγχάνεται η λεγόμενη ενεργοποίηση του ClO_2 . Εναπομένον ClO_2 παραμένει αρκετά μετά την αρχική επέμβαση, εκτείνοντας έτσι το χρόνο δραστικής επαφής.

Θεωρητικό Υπόμνημα(8)
ΠΡΩΤΕΣ ΗΛΙΚΙΕΣ

- Στις τρεις πρώτες ηλικίες οι ανάγκες σε επιφάνεια εκτροφής διατηρούνται περιορισμένες και έτσι δεν είναι απαραίτητη η μεταφορά τους στον κυρίως χώρο εκτροφής του σηροτροφείου, ο οποίος έχει μεγαλύτερη επιφάνεια και όγκο.
- Σε αυτά τα αναπτυξιακά στάδια οι μεταξοσκώληκες είναι πολύ πιο ευαίσθητοι σε πιθανές διακυμάνσεις των συνθηκών εκτροφής, όπως η υγρασία και η θερμοκρασία, οι οποίες μπορούν πιο αποτελεσματικά να ελεγχθούν και να ρυθμιστούν σε ένα δωμάτιο μικρότερου όγκου.
- Είναι αποτελεσματικότερος ο έλεγχος και η πρόληψη μετάδοσης παθογόνων στις ευαίσθητες προνύμφες των πρώτων ηλικιών, ενδεχόμενη προσβολή των οποίων θα μπορούσε να αποβεί μοιραία για την επιτυχία της εκτροφής.

Θεωρητικό Υπόμνημα(9)

ΑΝΑΓΚΕΣ ΣΕ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ ΚΑΙ ΣΧΕΤΙΚΗ ΥΓΡΑΣΙΑ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΣ ΗΛΙΚΙΕΣ

- Η θερμοκρασία έχει άμεση επίδραση στη φυσιολογία του μεταξοσκώληκα επηρεάζοντας λειτουργίες όπως η πέψη, η απορρόφηση των θρεπτικών συστατικών, η κυκλοφορία της αιμολέμφου, η αναπνοή κ.α..
- Στις τρεις πρώτες ηλικίες απαιτείται υψηλή θερμοκρασία (25 °C). Στις επόμενες όμως δύο ηλικίες, η θερμοκρασία του χώρου μπορεί να μειωθεί (23–25 °C).
- Η σχετική υγρασία παρεμβαίνει στην ομαλή ανάπτυξη των προνυμφών με δύο τρόπους:
 - Άμεσα επηρεάζοντας τη φυσιολογία της προνύμφης καθώς καθορίζει το ποσοστό ύδατος που υπάρχει στο σώμα της και την ποσότητα που αποβάλλεται από αυτό με εξάτμιση. Αυτός ο παράγοντας παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος.
 - Έμμεσα επηρεάζοντας το χρόνο διατήρησης της φρεσκότητας των μορεόφυλλων και κατ' επέκταση τη διαθεσιμότητα της τροφής ανάμεσα σε δύο γεύματα. Η άριστη σχετική υγρασία για τις 3 πρώτες ηλικίες πρέπει να κυμαίνεται γύρω στο 80 %, ενώ κατά τις δύο τελευταίες ηλικίες γύρω στο 75 %.

Θεωρητικό Υπόμνημα(10)
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΙΣ ΠΡΩΤΕΣ ΗΛΙΚΙΕΣ

- Οι μεταξοσκώληκες διατρέφονται πρακτικά συνεχώς και μόνο στη διάρκεια των ύπνων δε λαμβάνουν τροφή. Γι' αυτό θα πρέπει να έχουν στη διάθεσή τους συνέχεια φρέσκα φύλλα για να μην καθυστερήσει η ανάπτυξή τους.
- Στις επιχειρηματικές εκτροφές, στις τρεις πρώτες ηλικίες τα φύλλα χορηγούνται κατά κανόνα τεμαχισμένα σε τεμάχια επιφάνειας από 1 έως 5 cm². Ο κύριος λόγος του τεμαχισμού των φύλλων είναι η αύξηση της ελεύθερης επιφάνειας και η διευκόλυνση διατροφής των νεαρών προνυμφών, των οποίων τα στοματικά μόρια είναι ακόμα πολύ μικρά.

Θεωρητικό Υπόμνημα(11)

ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΣΤΗΝ 4^Η ΚΑΙ 5^Η ΗΛΙΚΙΑ

- Οι ανάγκες των μεταξοσκωλήκων σε μορεόφυλλα πολλαπλασιάζονται, όσο αυτοί αυξάνονται σε μέγεθος. Στην τελευταία ηλικία κορηγείται το 70% περίπου της συνολικής ποσότητας μορεόφυλλων που χρειάζονται για την εκτροφή τους. Στην 4^η ηλικία κορηγούνται ολόκληρα φύλλα και στην 5^η ηλικία η τροφοδότηση ενδείκνυται να γίνεται με ολόκληρα κλαδιά.
- Η αναγκαία ποσότητα των μορεόφυλλων για την εκτροφή ενός κουτιού μεταξόσπορου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως είναι η ποικιλία των χρησιμοποιούμενων μορεόδεντρων, το έδαφος, οι περιποιήσεις του εδάφους και των δένδρων, οι κλιματολογικές συνθήκες και κυρίως οι συνθήκες που επικρατούν κατά την περίοδο της εκτροφής, ο τρόπος κορήγησης της τροφής κατά τις δύο τελευταίες ηλικίες (φύλλα ή κλαδιά), η φυλή ή το υβρίδιο των μεταξοσκωλήκων που χρησιμοποιείται, ο αριθμός των αυγών ανά γραμμάριο, ο αριθμός των επιζώντων μεταξοσκωλήκων από την εκκόλαψη μέχρι την πλοκή του κουκουλιού, αλλά κυρίως η ικανότητα του σηροτρόφου.
- Με επιμελή εκτροφή και κορήγηση ολόκληρων κλαδιών κατά την πέμπτη ηλικία, είναι δυνατόν οι ποσότητες φύλλων που παραμένουν ακρησιμοποιητές στη στρωμή να είναι μηδαμινές. Έτσι μπορούμε να έχουμε μεγάλη εξοικονόμηση μορεόφυλλων όχι μόνο χωρίς ζημία, αλλά και προς όφελος της υγείας των μεταξοσκωλήκων.
- Με τη κορήγηση ολόκληρων κλαδιών αντί για φύλλα κατά την 5^η ηλικία επιτυγχάνουμε: α) μεγάλη οικονομία σε εργατώρες για τη συλλογή και κορήγηση της τροφής μέχρι και 75% κατά την 5^η ηλικία και μέχρι 50% συνολικά, β) οικονομία σε μορεόφυλλα, καθώς υπάρχουν αναφορές ότι έχει παρατηρηθεί εξοικονόμηση στα κορηγούμενα φύλλα που μπορεί να φτάσει περίπου στο 40%, γ) οικονομία στην απαιτούμενη επιφάνεια εκτροφής, καθώς με τη χρήση ολόκληρων κλαδιών η χρησιμοποιούμενη από τους προνύμφες επιφάνεια αυξάνεται, δ) καλύτερες συνθήκες υγιεινής για τους μεταξοσκώληκες, οι οποίοι δεν κινούνται πάνω στα μορεόφυλλα, αλλά πάνω στα κλαδιά τα οποία αερίζονται καλύτερα, ενώ τα περιττώματά τους πέφτουν προς το βάθος της στρωμνής και τα παθογόνα και οι νεκροί μεταξοσκώληκες παραμένουν στα κατώτερα στρώματα, χωρίς να έρχονται σε επαφή με τους υγιείς για να τους μολύνουν.

Θεωρητικό Υπόμνημα(12)
ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΕΚΤΡΟΦΗΣ ΑΡΑΙΩΣΗ

- Από όλα τα αναπτυξιακά στάδια του βιολογικού κύκλου του μεταξοσκώληκα, τα προνυμφικό είναι εκείνο κατά το οποίο παρατηρείται έντονη αύξηση του σωματικού του βάρους. Η συνολική αύξηση σε βάρος από την εκκόλαψη μέχρι το τέλος της πέμπτης ηλικίας είναι από 7.000 έως 10.000 φορές
- Για την επίτευξη του βέλτιστου βαθμού ανάπτυξης των εκτρεφόμενων μεταξοσκωλήκων, πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα όχι μόνο για την ικανοποίηση των ολοένα και αυξανόμενων διατροφικών τους αναγκών, αλλά και των απαιτήσεων τους σε διαθέσιμο χώρο.
- Το αραιώμα είναι από τις βασικές φροντίδες της εκτροφής, καθώς δίνεται η δυνατότητα στις προνύμφες να μετακινούνται, να διατρέφονται, να αναπνέουν και να αποδερματώνονται, χωρίς να συνωστίζονται και να δημιουργούνται συνθήκες όχλησης μεταξύ τους, γεγονός το οποίο έχει ως θετικό επακόλουθο τη φυσιολογική ανάπτυξή τους και τον περιορισμό της πιθανότητας εμφάνισης επιζωτιών.
- Η πολύ υψηλή πυκνότητα εκτροφής και η υπερβολικά αυξημένη βιομάζα ανά μονάδα επιφανείας μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση ιογενούς φύσεως προσβολών, ενώ σε περίπτωση εμφάνισης μεταδοτικών νοσημάτων, ακόμα και οι υγιείς προνύμφες έρχονται σε άμεση επαφή με τους προσβεβλημένους μεταξοσκώληκες και τα παθογόνα, αυξάνοντας την πιθανότητα ολικής προσβολής

Θεωρητικό Υπόμνημα(13) ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΣ, ΑΛΛΑΓΗ ΤΩΝ ΣΤΡΩΜΝΩΝ

- Οι συνθήκες που επικρατούν εντός του σηροτροφείου, αναφορικά με την πυκνότητα της βιομάζας την υγρασία, τον αερισμό και την πιθανότητα ανάπτυξης μεταδοτικών νόσων είναι δυσμενέστερες από αυτές που ισχύουν στην ύπαιθρο, όπου από τη φύση του ήταν προορισμένος να διαβιεί ο μεταξοσκώληκας.
- Σε μία εκτροφή οι μεταξοσκώληκες συνήθως δεν καταναλώνουν όλη την ποσότητα της τροφής που τους παρέχεται και κατά συνέπεια ένα μέρος της παραμένει στις επιφάνειες εκτροφής. Ταυτόχρονα, τα περιττώματά των εκτρεφόμενων ατόμων αναμιγνύονται με τα υπολείμματα της τροφής σχηματίζοντας τις στρωμνές. Εάν οι στρωμνές παραμείνουν για μεγάλο διάστημα στην επιφάνεια εκτροφής αποσυντίθενται, ενώ παράλληλα πραγματοποιούνται ζυμώσεις, αυξάνοντας με ταχείς ρυθμούς την υγρασία.
- Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών και οι συντελούμενες από αυτούς ζυμώσεις δημιουργούν θερμότητα, καταστρέφουν το οξυγόνο και οδηγούν στην έκλυση διοξειδίου του άνθρακα, διοξειδίου του θείου και άλλων επικίνδυνων αερίων, μεταβάλλοντας το μικροπεριβάλλον, καθιστώντας το επιβλαβές για τους μεταξοσκώληκες και ευνοϊκό για τα ίδια τα παθογόνα.
- Οι συνθήκες αυτές μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά τη φυσιολογία των εκτρεφόμενων προνυμφών. Για το λόγο αυτό είναι πολύ σημαντική η κατά περιόδους απομάκρυνση των υλικών αυτών από τις επιφάνειες εκτροφής.
- Για την επίτευξη ιδανικών συνθηκών εκτροφής οι επιφάνειες εκτροφής θα έπρεπε να καθαρίζεται και οι στρωμνές να απορρίπτονται πριν από κάθε τάισμα. Σε επιχειρηματική κλίμακα μία τέτοια πρακτική είναι αντιοικονομική, όχι μόνο λόγω της αύξησης των απαιτούμενων εργατοωρών, αλλά και λόγω της αύξησης της πιθανότητας απόρριψης και ζωντανών προνυμφών μαζί με τις απορριπτόμενες στρωμνές, ειδικά στις πρώτες ηλικίες.
- Η αλλαγή των στρωμνών μπορεί να επιτευχθεί, με τη χρήση διάτρητου χαρτιού, το μέγεθος των οπών του οποίου είναι ανάλογο του μεγέθους των προνυμφών για τις οποίες προορίζεται. Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί δίχτυ από νάιλον, βαμβάκι ή άλλο υλικό. Το διάτρητο χαρτί ή το δίχτυ απλώνεται πάνω στις εκτροφές στις οποίες πρόκειται να γίνει καθαρισμός και φρέσκα μορεόφυλλα απλώνονται από πάνω. Οι μεταξοσκώληκες στην προσπάθειά τους να προσεγγίσουν τη φρέσκια τροφή διαπερνούν το διάτρητο υλικό, αφήνοντας από κάτω τις στρωμνές και όλες τις ακαθαρσίες, μαζί με πιθανά παθογόνα και άρρωστους, ασθενικούς ή νεκρούς μεταξοσκώληκες.
- Η αφαίρεση των στρωμνών έχει ως σκοπό την απομάκρυνση της υγρασίας, τυχόν ασθενών ή νεκρών μεταξοσκωλήκων, των περιττωμάτων, των εκδυμάτων και γενικώς κάθε στοιχείου που μπορεί να επιφέρει την ανάπτυξη επιβλαβών συνθηκών και την εμφάνιση μικροοργανισμών και ασθενειών.
- Παράλληλα με την αφαίρεση των στρωμνών εξυπηρετείται και η επιτυχής εφαρμογή της εξίσωσης των εκτρεφόμενων μεταξοσκωλήκων, με την τοποθέτηση σε χωριστές επιφάνειες εκτροφής, όσων προνυμφών έχουν καθυστερήσει σε σχέση με τις υπόλοιπες. Για το λόγο αυτό η αφαίρεση των στρωμνών πρέπει να γίνεται όσο το δυνατόν συχνότερα.

Θεωρητικό Υπόμνημα(14)

ΕΞΙΣΩΣΗ ΗΛΙΚΙΩΝ, ΟΜΟΙΟΜΟΡΦΕΣ ΕΚΤΡΟΦΕΣ

- Σε μία σωστά οργανωμένη εκτροφή είναι ζητούμενο να λαμβάνεται μέριμνα ώστε οι μετασοκώληκες σε κάθε επιφάνεια εκτροφής να βρίσκονται όλοι στην ίδια ηλικία. Πρέπει να εισέρχονται όσο το δυνατόν πιο συγχρονισμένα στο στάδιο του ύπνου, να αποδερματώνονται ταυτόχρονα και να αρχίζουν να διατρέφονται όλοι μαζί.
- Αν δεν υπάρχει αυτός ο συγχρονισμός, κάποιες προνύμφες βρίσκονται στο στάδιο του ύπνου, ενώ κάποιες άλλες συνεχίζουν να διατρέφονται, με αποτέλεσμα οι τελευταίες κατά την μετακίνησή τους προς αναζήτηση τροφής να διαταράσσουν τις «κοιμώμενες», κόβοντας τα μετάξινα νημάτια με τα οποία έχουν προσδέσει το παλιό δερμάτιό τους, δυσκολεύοντας ή αποτρέποντας με αυτό τον τρόπο την ολοκλήρωση της αποδερμάτωσης.
- Η σωστή εξίσωση των εκτροφών είναι πολύ σημαντική όχι μόνο για την ομαλή ανάπτυξη των προνυμφών, αλλά και για την επιτυχημένη ολοκλήρωση του κλαδώματος. Το κλάδωμα και η δημιουργία ποιοτικών κουκουλιών είναι το τελικό ζητούμενο μίας εκτροφής μετασοκωλήκων και μπορεί να χαρακτηριστεί αποδοτικό και επιτυχημένο εάν όλες οι προνύμφες ωριμάζουν και αρχίζουν να πλέκουν τα κουκούλια τους ταυτόχρονα.
- Με γνώμονα το συγχρονισμό σε όλες τις φάσεις της εκτροφής και διατροφής των προνυμφών, την ομαλή και ομοιόμορφη ανάπτυξη τους, αλλά και το ταυτόχρονο κλάδωμα σε κάθε επιφάνεια εκτροφής, προκειμένου η διαχείριση των σχηματισθέντων κουκουλιών να γίνεται πιο αποδοτική, λαμβάνεται μέριμνα ώστε το πρώτο τάισμα σε κάθε ηλικία να γίνεται αφού όλες οι προνύμφες έχουν αποδερματωθεί και εξέλθει από το στάδιο του ύπνου. Σε περίπτωση που αυτό δεν είναι δυνατό να συμβεί λόγω έντονης ανομοιομορφίας στην ανάπτυξη των προνυμφών, αυτές διαχωρίζονται ανάλογα με το βαθμό ανάπτυξής τους σε ομοιόμορφες ομάδες οι οποίες εκτρέφονται ξεχωριστά από την αρχή της 4^{ης} ηλικίας και μετά, πρακτική που μπορεί να εξασφαλίσει την ύπαρξη εξισωμένων ομάδων μετασοκωλήκων στην 5^η ηλικία, οι οποίες θα λάβουν το πρώτο τάισμα ταυτόχρονα και θα συνεχίσουν να αναπτύσσονται συγχρονισμένα μέχρι και το κλάδωμα.
- Σε μία εκτροφή επιχειρηματικής κλίμακας, η ύπαρξη διαφορετικών επιφανειών εκτροφής στις οποίες έχουμε μετασοκώληκες 2 ή 3 διαφορετικών μεγεθών (αλλά πάντα το ίδιο μέγεθος στην ίδια επιφάνεια εκτροφής), μπορεί να θεωρηθεί πλεονέκτημα, γιατί κατά τη φάση του κλαδώματος, αλλά και του ξεκλαδώματος, μπορούν ευκολότερα να καλυφθούν οι ανάγκες σε χειρονακτική εργασία που θα εμφανιστούν σταδιακά σε 2 ή 3 ημέρες και όχι όλες μαζί την ίδια ημέρα

Θεωρητικό Υπόμνημα(15)

ΩΡΙΜΑΝΣΗ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΚΛΑΔΩΜΑ

- Όταν οι προνύμφες του μεταξοσκώληκα φθάσουν στην πλήρη ανάπτυξή τους, γίνονται ανήσυχες, σταματούν να διατρέφονται, αποβάλλουν μεγάλες σταγόνες γαστρικών υγρών και τέλος το σώμα τους συρρικνώνεται και γίνεται σχεδόν διαφανές.
- Είναι οι ενδείξεις ότι οι μεταξοσκώληκες ολοκλήρωσαν το προνυμφικό αναπτυξιακό στάδιο του βιολογικού τους κύκλου και πρόκειται να νυμφωθούν (Εικ. 2.25). Έτσι αρχίζει η φάση του «κλαδώματος», δηλαδή η έναρξη πλοκής του κουκουλιού.
- Σε εκείνη τη φάση τοποθετούνται στις επιφάνειες εκτροφής κατάλληλα υλικά που χρησιμεύουν ως θέσεις για τη στήριξη και το πλέξιμο των κουκουλιών). Στην πράξη τα παλιότερα χρόνια, ως υλικά κλαδώματος χρησιμοποιούνταν ξερά κλαδιά βρούβας, ρεικιού, θυμαριού ή άλλων θάμνων, αρκεί να μην είχαν αγκάθια. Γι' αυτό το λόγο η διαδικασία ονομάστηκε «κλάδωμα». Στις μέρες μας χρησιμοποιούνται κυρίως τεχνητά υλικά κλαδώματος, όπως πλαστικές σήτες, χάρτινες κυψελίδες, πλαστικές βούρτσες κλπ..
- Στη διάρκεια του κλαδώματος η θερμοκρασία του χώρου θα πρέπει να κυμαίνεται στους 23-25 °C και η σχετική υγρασία στο 70%
- Συνήθως το κλάδωμα αρχίζει μετά την 8^η ημέρα της πέμπτης ηλικίας. Σε κανονικές συνθήκες και σε εξισωμένες εκτροφές που εξελίσσονται ομαλά, χωρίς ασθένειες και άλλα προβλήματα, το 90% των προνυμφών ξεκινούν να κλαδώνουν συγχρονισμένα, μέσα σε δύο - τρεις το πολύ ημέρες, ενώ χρειάζονται περίπου τρεις ημέρες για την ολοκλήρωση της πλοκής κάθε κουκουλιού, από τη στιγμή που ο μεταξοσκώληκας θα αρχίσει να τοποθετεί τα πρώτα στηρικτικά γνάφαλα. Έτσι, έξι ημέρες μετά την έναρξή του, θεωρείτο ότι το κλάδωμα είχε ολοκληρωθεί.

Θεωρητικό Υπόμνημα(16)
ΒΑΡΟΣ ΚΟΥΚΟΥΛΙΟΥ, ΒΑΡΟΣ ΚΕΛΥΦΟΥΣ

Το βάρος κουκουλιού είναι ένα σημαντικό εμπορικό χαρακτηριστικό και χρησιμοποιείται για τον κατ' εκτίμηση προσδιορισμό της παραχθησόμενης ποσότητας ακατέργαστης μέταξας. Το βάρος κελύφους δίνει ένα ασφαλέστερο μέτρο, αλλά δεν μπορεί να υπολογιστεί στην παραγωγική - εμπορική σηροτροφία, καθώς απαιτείται η καταστροφή του κουκουλιού. Η διαφορά μεταξύ των δύο αυτών δεικτών είναι το βάρος της νύμφης που βρίσκεται μέσα στο κουκούλι. Με τη χρήση AFLPs η συσχέτιση μεταξύ αυτών των δύο παραμέτρων βρέθηκε να είναι 70%.

Θεωρητικό Υπόμνημα(17)

ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΤΟΥ ΜΕΤΑΞΟΣΚΩΛΗΚΑ

- Έχοντας ως ζητούμενο τη βιώσιμη ανάπτυξη της σηροτροφίας, την προοδευτική αύξηση της παραγωγικότητας και τη βελτίωση της ποιότητας του παραγόμενου μεταξιού, απαιτείται συνεχής εξέλιξη, δημιουργία και διατήρηση πληθυσμών μεταξοσκωλήκων υψηλών αποδόσεων, με μεγιστοποίηση επιθυμητών χαρακτηριστικών, όπως μικρή διάρκεια προνύμφης, υψηλό ποσοστό επιβίωσης, υψηλή γονιμότητα, υψηλή απόδοση σε μέταξα, υψηλή αναπηνισιμότητα κλπ., χωρίς να παραγνωρίζεται η σημασία της προσαρμογής στις κλιματολογικές συνθήκες της περιοχής για την οποία προορίζονται, της ανεκτικότητας σε ενδεχόμενες δυσμενείς κλιματολογικές διακυμάνσεις και της ανθεκτικότητας σε ασθένειες. Προκειμένου να εκπληρωθούν οι παραπάνω επιδιώξεις, απαιτείται ουσιαστική εκμετάλλευση της διαθέσιμης γενετικής ποικιλότητας του είδους.
- Ένα από τα πλέον σημαντικά στάδια στην προσπάθεια διατήρησης του γενετικού υλικού του μεταξοσκώληκα και αποτελεσματικής αξιοποίησης του υλικού αυτού, τόσο στην επιχειρηματική σηροτροφία όσο και στη βασική έρευνα στον τομέα της γενετικής, είναι η μελέτη σε σχέση με την ποικιλότητα των γονιδιακών αποθεμάτων του είδους.
- Βασικός στόχος σε μια προσπάθεια διαφύλαξης του γενετικού υλικού του μεταξοσκώληκα είναι η διατήρηση της συνάφειας των χαρακτήρων των πληθυσμών που μας ενδιαφέρουν, με τα καταγεγραμμένα και επισήμως δηλωμένα για τον κάθε πληθυσμό χαρακτηριστικά. Επομένως, η επιλογή πραγματοποιείται κατά βάση, λαμβάνοντας υπόψη τα ποιοτικά χαρακτηριστικά, αλλά παράλληλα εξετάζονται και οι τιμές των κύριων ποσοτικών χαρακτήρων.
- Πρέπει να σημειωθεί ότι, η μοναδικότητα της κάθε φυλής μπορεί να διατηρηθεί μόνο μέσω συστηματικών και επιστημονικών χειρισμών του γενετικού υλικού. Σε αντίθετη περίπτωση, σε βάθος χρόνου υπάρχουν αυξημένες πιθανότητες το υλικό αυτό να εκφυλιστεί, με αποτέλεσμα να καθούν τα πρωτότυπα χαρακτηριστικά του, τόσο σε γενετικό - μοριακό επίπεδο, όσο και σε επίπεδο οικονομικής απόδοσης. Επιπλέον, υπάρχει η πιθανότητα το εν λόγω υλικό να καθεί εξαιτίας δραστηκής μείωσης της γονιμότητας σε τέτοιο βαθμό, ώστε να είναι αδύνατη η παραγωγή βιώσιμων απογόνων.
- Η συλλογή, η ταξινόμηση, η ταυτοποίηση, η διατήρηση και η δημιουργία πληθυσμών που αποτελούν ή πρόκειται να αποτελέσουν τις συνιστώσες μιας τράπεζας γενετικού υλικού, ακολουθούν συγκεκριμένους κανόνες.

Θεωρητικό Υπόμνημα(18)
ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΚΔΥΣΕΩΝ - ΗΛΙΚΙΩΝ

Υπάρχουν φυλές οι οποίες κατά τη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου πραγματοποιούν τρεις, τέσσερις, πέντε ή και περισσότερες εκδύσεις. Οι μετασοσκώληκες που παρουσιάζουν τέσσερις εκδύσεις και αντιστοίχως πέντε ηλικίες κατά την προνυμφική φάση (εξαιρούμενης της έκδυσης που συμβαίνει μέσα στο κουκούλι κατά τη μεταμόρφωση από προνύμφη σε νύμφη) είναι αυτοί των οποίων η εκτροφή είναι ευρύτερα διαδεδομένη. Οι μετασοσκώληκες με τρεις εκδύσεις έχουν βραχύτερο βιολογικό κύκλο και παράγουν λεπτές ίνες μεταξιού, ενώ εκείνοι που παρουσιάζουν πέντε εκδύσεις έχουν μακρύτερο βιολογικό κύκλο και το μετάξι που παράγουν είναι παχύτερο.

Θεωρητικό Υπόμνημα(19)

ΦΑΙΝΟΤΥΠΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ

- Ένα από τα φαινοτυπικά μακροσκοπικά γνωρίσματα το οποίο μπορεί να χαρακτηρίζει κάποιο πληθυσμό είναι και η εμφάνιση του σώματος των προνυμφών. Έτσι μπορεί να υπάρχουν προνύμφες των οποίων το σώμα έχει λευκή, κίτρινη ή πιο σκούρα απόχρωση ή μπορεί να παρουσιάζουν διαφάνεια στο σώμα τους, ενώ επιπλέον μπορεί στο σώμα των προνυμφών να παρατηρείται ή όχι η εμφάνιση διαφόρων σημαδιών.
- Άλλοτε όλη η προνύμφη εμφανίζεται να είναι «μελαμψή» («Moricaud»), με σκουρόχρωμες χρωστικές διάσπαρτες σε όλο το σώμα, ακόμα και στις μεμβράνες που ενώνουν τους δακτυλίους. Ένα χαρακτηριστικό των «μελαμψών» πληθυσμών είναι η παρουσία σκουρόχρωμων στιγμών στην κεφαλή της προνύμφης.
- Υπάρχουν πληθυσμοί με προνύμφες που εμφανίζουν σκούρες «ζώνες» στη ραχιαία επιφάνεια κάθε δακτυλίου τους, παράλληλα με την εμφάνιση μαύρων κηλίδων στην κοιλιακή χώρα των δακτυλίων. Υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες επί κάθε δακτυλίου λευκού χρώματος παρατηρείται εγκάρσια σκούρα ζώνη (σκώληκες λευκοί ζωνωτοί) ή επί των δακτυλίων μέλανος χρώματος υπάρχει λευκή ζώνη (σκώληκες μέλανες ζωνωτοί). Μια παραλλαγή αυτής της περίπτωσης είναι η «ζεβροειδής» σχηματισμοί, οι οποίοι εμφανίζονται ως πολύ λεπτές μαύρες ρίγες σε κάθε δακτύλιο.
- Υπάρχουν πληθυσμοί οι προνύμφες των οποίων παρουσιάζονται με ομοιόμορφο χρωματισμό χωρίς σημάδια ή πληθυσμοί στο σώμα των προνυμφών των οποίων παρατηρούνται σχηματισμοί, οι συνηθέστεροι των οποίων είναι η «προσωπίδα» στον πρώτο δακτύλιο, η «ημισέληνος» στον πέμπτο δακτύλιο και το «αστεροειδές στίγμα» στον όγδοο δακτύλιο. Οι προαναφερθέντες σχηματισμοί κατά κανόνα εμφανίζονται σε ζεύγη κείμενα συμμετρικώς εκατέρωθεν της μέσης ραχιαίας γραμμής.

Θεωρητικό Υπόμνημα(20)

ΧΡΩΜΑ ΑΙΜΟΛΕΜΦΟΥ

- Ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα το οποίο κατά κανόνα επηρεάζει και το χρωματισμό του παραγόμενου κουκουλιού είναι το χρώμα της αιμολέμφου. Αιμολέμφος είναι η λέξη που χρησιμοποιείται συνήθως, όταν γίνεται αναφορά στο αίμα ασπόνδυλων οργανισμών όπως είναι τα αρθρόποδα ή τα μαλάκια. Σε αντίθεση με το αίμα των ανώτερων ζωικών οργανισμών, η αιμολέμφος των προνυμφών του μεταξοσκώληκα δεν έχει κόκκινο χρώμα, αλλά συνήθως είναι άχρωμη.
- Σε κάποιους πληθυσμούς η αιμολέμφος μπορεί να έχει κίτρινο χρώμα. Το χρώμα της αιμολέμφου οφείλεται στον χρωματισμό του πλάσματος και όχι στα οργανίδια που περιέχονται σε αυτό. Κατά κανόνα όταν παρατηρούνται χρωστικές στην αιμολέμφο αυτές εμφανίζονται και στους μεταξογόνους αδένες και κατ' επέκταση και στη σερική του σχηματιζόμενου κουκουλιού, ενώ οι μεταξοσκώληκες που έχουν άχρωμη αιμολέμφο συνήθως σχηματίζουν λευκά κουκούλια.
- Ένας πολύ απλός αλλά αποτελεσματικός και αναιμακτος τρόπος καταγραφής του χρώματος της αιμολέμφου είναι η παρατήρηση των ψευδοποδίων της προνύμφης. Σε περίπτωση που οι προνύμφη έχει κίτρινη αιμολέμφο ο χρωματισμός αυτός είναι ορατός στις αποφύσεις του σώματος τις προνύμφης, όπως είναι τα ψευδοπόδια τα οποία εμφανίζονται με κίτρινη απόχρωση (Εικ. 2.36). Σε αντίθετη περίπτωση, όταν η αιμολέμφος είναι άχρωμη, τότε και τα ψευδοπόδια των προνυμφών εμφανίζονται στο βασικό χρωματισμό που έχει το υπόλοιπο σώμα της προνύμφης.

Θεωρητικό Υπόμνημα(21)
ΧΡΩΜΑ ΚΟΥΚΟΥΛΙΩΝ

- Τα κουκούλια του μεταξοσκώληκα μπορούν να εμφανιστούν σε ποικιλία φυσικών χρωμάτων και αποχρώσεων.
- Παρατηρούνται κουκούλια σε διάφορες αποδώσεις του λευκού με εμφάνιση σκιάσεων (λευκά, υπόλευκα).
- Επίσης υπάρχουν φυλές μεταξοσκωλήκων που παράγουν κουκούλια κίτρινα, «χρυσοκίτρινα» (golden yellow), «αχυροκίτρινα» (straw), πράσινα, σε αποχρώσεις του ροζ (salmon) ή πορτοκαλί. (Εικ. 2.37).
- Οι δύο βασικοί τύποι χρωστικών που είναι υπεύθυνες για το χρώμα των κουκουλιών είναι τα λιποδιαλυτά κίτρινόχρωμα καροτενοειδή και τα πρασινόχρωμα φλαβονοειδή. Οι χρωστικές αυτές απορροφώνται από τα καταναλωθέντα μορεόφυλλα κατά τη διατροφή των μεταξοσκωλήκων, μεταφέρονται από τον πεπτικό σωλήνα στους μεταξογώνους αδένες μέσω της αιμολέμφου και συσσωρεύονται στην μετάξινη ίνα.
- Έχουν εντοπιστεί τουλάχιστον 15 γονίδια τα οποία συμμετέχουν στη ρύθμιση του χρώματος των κουκουλιών

Θεωρητικό Υπόμνημα(22)

ΓΟΝΙΜΟΠΟΙΗΣΗ ΑΥΓΩΝ

- Περίπου 20 – 24 ώρες μετά την απόθεση των αυγών δημιουργείται η εμβρυακή ταινία. Μέχρι αυτό το στάδιο η ανάπτυξη των εμβρύων των διαχειμαζόντων και μη αυγών, δεν παρουσιάζει διαφοροποιήσεις. Από αυτό το στάδιο και μετά γίνονται εμφανείς διαφορές η σημαντικότερη εκ των οποίων και ευκολότερα αντιληπτή με γυμνό οφθαλμό είναι το χρώμα, το οποίο στα αυγά που διαχειμάζουν γίνεται ελαφρώς καφέ, ενώ ο ρυθμός της αναπνοής και του μεταβολισμού του εμβρύου πέφτει αισθητά.
- Τα γονιμοποιημένα αυγά διακρίνονται από τα μη γονιμοποιημένα, καθώς λίγες ημέρες (2-3) μετά την απόθεση αλλάζει ο χρωματισμός τους και από κίτρινα που είναι κατά την ωοτοκία σκουραίνουν και γίνονται γκρι ή καφέ σκούρα.

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ
(ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΕΙΚΟΝΩΝ)**

	σελίδα
Εικόνα 1.1: Ο άγριος πρόγονος του μεταξοσκώληκα <i>Bombyx (Theophila) mandarina.</i>	6
Εικόνα 1.2: Ο βιολογικός κύκλος του μεταξοσκώληκα.	7
Εικόνα 1.3: Αυγά μεταξοσκώληκα σε μεγέθυνση X 200	9
Εικόνα 1.4: Σχηματική απεικόνιση του αυγού του μεταξοσκώληκα	9
Εικόνα 1.5: γονιμοποιημένα αυγά αμέσως μετά την απόθεση	10
Εικόνα 1.6: Η εκτροφή του μεταξοσκώληκα στην αρχαία Κίνα	14
Εικόνα 1.7: Οι κύριοι δρόμοι του μεταξιού μεταξύ 500π.Χ. και 500 μ.Χ.	17
Εικόνα 1.8: (α) Εγκάρσια διατομή της ίνας του μεταξιού σε μεγέθυνση X 1.700. (β) Η οκτώσχημη πορεία της ίνας κατά την πλοκή του κουκουλιού	20
Εικόνα 1.9: Η πρωτοταγής δομή της φιβροΐνης	20
Εικόνα 1.10: Τριγωνική διατομή της μετάξινης ίνας	21
Εικόνα 2.1: Κουτιά μεταξόσπορου εμπορικών υβριδίων	51
Εικόνα 2.2: Ψηφιακός ζυγός ακρίβειας 3 δεκαδικών ψηφίων της εταιρείας Kern	52
Εικόνα 2.3: Καταμέτρηση αυγών με τη βοήθεια μεταλλικής ράβδου	53
Εικόνα 2.4: Προετοιμασία παρασκευάσματος για τον έλεγχο της πιπερίτιδας	54
Εικόνα 2.5: Μικροσκοπική παρατήρηση παρασκευάσματος. (α): καθαρό δείγμα, (β): ήπια προσβολή διακρίνεται το σπόριο του παρασίτου	54
Εικόνα 2.6: Μεταξοσκώληκες προσβεβλημένοι από <i>πιπερίτιδα (N. Bomycis)</i>	54
Εικόνα 2.7: Δωμάτιο που χρησιμοποιείται ως επωαστικός θάλαμος και θάλαμος εκτροφής πρώτων ηλικιών	55
Εικόνα 2.8: Υγραντήρας χώρου HR-15 της εταιρείας Aquaculture hydroponics	55

Εικόνα 2.9	Διαβαθμισμένος αισθητήρας υγρασίας συνδεδεμένος με τον υγραντήρα χώρου	55
Εικόνα 2.10:	Υγρόμετρο υγρού – ξηρού θερμομέτρου	56
Εικόνα 2.11:	Ηλεκτρονικός καταγραφέας δεδομένων τύπου HOBO® RH/Temp/Light/External Data Logger – H08-004-02	56
Εικόνα 2.12:	Τριβλία με μεταξόσπορο έτοιμο για εκκόλαψη	58
Εικόνα 2.13:	Νεοεκκολαφθείσες προνύμφες κατά το πρώτο τους γεύμα, άδεια κελύφη και ανεκκόλαπτα αυγά, μαζική εκκόλαψη	58
Εικόνα 2.14:	Μεταφορά νεοεκκολαφθεισών προνυμφών σε λεκάνη εκτροφής	58
Εικόνα 2.15:	Προσδιορισμός ποσοστού εκκολαπτικότητας με μεγενθυντικό φακό	59
Εικόνα 2.16:	Το απολυμαντικό σκεύασμα DALCO – 100	61
Εικόνα 2.17:	Προστατευτική μάσκα και ρούχα κατά τον ψεκασμό	61
Εικόνα 2.18:	Ψεκαστήρα πίεσεως και αεροσυμπιεστή	61
Εικόνα 2.19:	Πλαστική λεκάνη εκτροφής	63
Εικόνα 2.20:	Μεταφορά νεαρών προνυμφών με χρήση πινέλου no 2	63
Εικόνα 2.21:	Λεπτομέρεια τροχήλατης εταζέρας	65
Εικόνα 2.22:	Μεταλλικές τροχήλατες εταζέρες	65
Εικόνα 2.23:	Συνθήκες συνωστισμού	66
Εικόνα 2.24:	Χορήγηση τροφής περιφερειακά γύρω από τις εκτρεφόμενες προνύμφες για την επίτευξη της αραίωσης	67
Εικόνα 2.25:	Αλλαγή της στρωμνής	68
Εικόνα 2.26:	Πλοκή κουκουλιού	70
Εικόνα 2.27:	Υλικά κλαδώματος (φυσικά –τεχνητά)	70
Εικόνα 2.28:	καλά κουκούλια	72
Εικόνα 2.29:	Ελαττώματικά κουκούλια.	72
Εικόνα 2.30:	Κλωβοί εκτροφής	77
Εικόνα 2.31:	Διάφοροι φαινότυποι των ώριμων προνυμφών	79

Εικόνα 2.32:	Προνύμφες με κίτρινη (α) και άχρωμη (β) αιμολέμφο και αντίστοιχα ψευδοπόδια.	79
Εικόνα 2.33:	Μέτρηση διαστάσεων κουκουλιών με ψηφιακό παχύμετρο Mutitoyo	81
Εικόνα 2.34:	Μέτρηση διαστάσεων νυμφών με ψηφιακό παχύμετρο Mutitoyo	81
Εικόνα 2.35:	Προσδιορισμός του φύλλου της νύμφης με παρατήρηση του 8 ^{ου} κοιλιακού τμήματος	82
Εικόνα 2.36:	Διαχωρισμός των νυμφών με τη χρήση ουροσυλλεκτών	83
Εικόνα 2.37:	α) μεταμόρφωση νύμφης σε ενήλικο, (β) σύζευξη ενηλίκων	83
Εικόνα 2.38:	Σάκοι ωοτοκίας	84
Εικόνα 2.39:	Απόθεση Αυγών	84
Εικόνα 2.40:	Ψηφιακό ηλεκτρονικό μικροσκόπιο Dinolite	86
Εικόνα 2.41:	Λογισμικού DinoCapture 2.0 Version 1.3.5. , μέτρηση διαστάσεων αυγών	86
Εικόνα 2.42:	Ψηφιακός ζυγός ακριβείας 4 δεκαδικών ψηφίων, ζύγιση αυγών	87
Εικόνα 2.43:	Εργαστηριακός ψυκτικός θάλαμος τύπου Gram BioCompact II RR400	88
Εικόνα 2.44:	Kit απομόνωσης ολικού DNA (DNeasy® Blood & Tissue Kit QIAGEN)	89
Εικόνα 2.45:	Συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν κατά την απομόνωση DNA	90
Εικόνα 2.46:	Συσκευή PCR Peltier Thermal Cycle	92
Εικόνα 2.47:	Στατιστικό πακέτο Statgraphics Plus 4.0	94

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV
(ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΠΙΝΑΚΩΝ)**

	σελίδα
Πίνακας 1.1: Συστηματική κατάταξη του μεταξοσκώληκα της μουριάς	5
Πίνακας 2.1: Συνθήκες επώασης αυγών των εμπορικών υβριδίων.	57
Πίνακας 2.2: Θερμοϋγρομετρικές συνθήκες εκτροφής πρώτων ηλικιών εμπορικών υβριδίων	63
Πίνακας 2.3: Θερμοϋγρομετρικές συνθήκες εκτροφής 4 ^{ης} – 5 ^{ης} ηλικίας εμπορικών υβριδίων	65
Πίνακας 3.1: Αριθμός αυγών ανά κουτί (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)	99
Πίνακας 3.2: Ποσοστό εκκολαπτικότητας (μέσες τιμές ± τυπικό σφάλμα)	99
Πίνακας 3.3: Μετρήσεις (διάρκεια προνύμφης, ποσοστό επιβίωσης, ποσοστό κλαδώματος) ανά εκτρεφόμενη ομάδα και ανά έτος για το 2005 και το 2006 για το ελληνικό υβρίδιο X1 x K1 .	100
Πίνακας 3.4: Μετρήσεις (διάρκεια προνύμφης, ποσοστό επιβίωσης, ποσοστό κλαδώματος) ανά εκτρεφόμενη ομάδα και ανά έτος για το 2009 και το 2010 για το κινεζικό υβρίδιο Qiufeng x Baiyu .	100
Πίνακας 3.5: Μετρήσεις (διάρκεια προνύμφης, ποσοστό επιβίωσης, ποσοστό κλαδώματος) ανά εκτρεφόμενη ομάδα και ανά έτος για το 2010 και το 2011 για το κινεζικό υβρίδιο M x N .	100
Πίνακας 3.6: Διάρκεια προνύμφης σε ημέρες για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN	102
Πίνακας 3.7: Ποσοστό επιβίωσης % για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN	102
Πίνακας 3.8: Ποσοστό κλαδώματος % για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN	103
Πίνακας 3.9: Βάρος χλωρού κουκουλιού σε g για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN	104
Πίνακας 3.10: Βάρος κελύφους σε g για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN	105
Πίνακας 3.11: Ποσοστό κελύφους % για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN	106

Πίνακας 3.12:	Διάρκεια προνύμφης σε ημέρες, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	107
Πίνακας 3.13:	Ποσοστό επιβίωσης (%), των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	108
Πίνακας 3.14:	Ποσοστό κλαδώματος (%), των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	108
Πίνακας 3.15:	Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά των προνυμφών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	110
Πίνακας 3.16:	Χρώμα και σχήμα κουκουλιών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	111
Πίνακας 3.17:	Βάρος κλωρού κουκουλιού σε g, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	113
Πίνακας 3.18:	Μήκος κουκουλιού σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	114
Πίνακας 3.19:	Πλάτος κουκουλιού σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	115
Πίνακας 3.20:	Βάρος κελύφους σε g, σε κουκούλια των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	124
Πίνακας 3.21:	Ποσοστό κελύφους % σε κουκούλια των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	125
Πίνακας 3.22:	Βάρος νυμφών σε g, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	126
Πίνακας 3.23:	Μήκος νυμφών σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	127
Πίνακας 3.24:	Πλάτος νυμφών σε mm, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	128
Πίνακας 3.25:	Αριθμός αυγών ανά ωοτοκία, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	129
Πίνακας 3.26:	Μήκος αυγών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	130
Πίνακας 3.27:	Πλάτος αυγών, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	131
Πίνακας 3.28:	Αναλογία μήκος/πλάτος αυγών, των 8 υπό μελέτη πληθυσμών	132
Πίνακας 3.29:	Μέγεθος των θραυσμάτων, υπολογισμένο σε ζεύγη βάσεων (bp), όλων των προτύπων που παρατηρήθηκαν στο mtDNA 16srDNA γονιδιακό τμήμα στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν	135
Πίνακας 3.30:	Ένζυμα περιορισμού και περιοριστικά πρότυπα που παρατηρήθηκαν μετά από πέψεις στο γονιδιακό τμήμα 16srDNA, στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς	136
Πίνακας 3.31:	Μέγεθος των θραυσμάτων, υπολογισμένο σε ζεύγη βάσεων (bp), όλων των προτύπων που παρατηρήθηκαν στο mtDNA COI γονιδιακό τμήμα στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν	137
Πίνακας 3.32:	Ένζυμα περιορισμού και περιοριστικά πρότυπα που παρατηρήθηκαν μετά από πέψεις στο γονιδιακό τμήμα COI, στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς	138
Πίνακας 3.33:	Απλότυποι, απλοτυπική ποικιλότητα, νουκλεοτιδική ποικιλότητα και συχνότητες εμφάνισης απλοτύπων στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς	139
Πίνακας 3.34:	Καθαρή νουκλεοτιδική απόκλιση στους 8 υπό μελέτη πληθυσμούς	140
Πίνακας 3.35:	Συντελεστές νουκλεοτιδικών αποκλίσεων μεταξύ των απλοτύπων	141

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V
(ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ)**

		σελίδα
Διάγραμμα 1.1:	Εισαγωγές ακατέργαστης μέταξας 1961- 2008 (τόννοι)	23
Διάγραμμα 1.2:	Αξία εισαγωγών ακατέργαστης μέταξας 1961- 2008 σε χιλιάδες δολάρια	23
Διάγραμμα 1.3:	Παγκόσμια παραγωγή ακατέργαστης μέταξας (2008)	24
Διάγραμμα 1.4:	Μερίδιο στην παγκόσμια παραγωγή ακατέργαστης μέταξας (2008)	25
Διάγραμμα 3.1:	Διάρκεια προνούμφης για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN. Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης	102
Διάγραμμα 3.2:	Ποσοστό επιβίωσης (%) για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN. Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης	102
Διάγραμμα 3.3:	Ποσοστό κλαδώματος (%) για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN. Μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης	103
Διάγραμμα 3.4:	Βάρος κλωρού κουκουλιού σε g για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης	104
Διάγραμμα 3.5:	Βάρος κελύφους σε g για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης	105
Διάγραμμα 3.6:	Ποσοστό κελύφους για τα τρία εμπορικά υβρίδια X1xK1, Qiufeng x Baiyu, MxN. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95% διαστήματα εμπιστοσύνης	106
Διάγραμμα 3.7:	Βάρος κλωρού κουκουλιού σε g των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	113
Διάγραμμα 3.8:	Μήκος κουκουλιού σε mm των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	114
Διάγραμμα 3.9:	Πλάτος κουκουλιού σε mm των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	115

Διάγραμμα 3.10:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό E0	116
Διάγραμμα 3.11:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό EZ1	117
Διάγραμμα 3.12:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό EZ2	118
Διάγραμμα 3.13:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό EZ3	119
Διάγραμμα 3.14:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό E(ii)	120
Διάγραμμα 3.15:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό MNO	121
Διάγραμμα 3.16:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό I(ii)E	122
Διάγραμμα 3.17:	Ανάλυση παλινδρόμησης. Πρότυπη καμπύλη συσχέτισης μεταξύ μήκους και βάρους κουκουλιού για τον πληθυσμό PM	123
Διάγραμμα 3.18:	Βάρος κελύφους των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	124
Διάγραμμα 3.19:	Ποσοστό κελύφους των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	125
Διάγραμμα 3.20:	Βάρος νυμφών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	126
Διάγραμμα 3.21:	Μήκος νυμφών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	127
Διάγραμμα 3.22:	Πλάτος νυμφών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	128
Διάγραμμα 3.23:	Αριθμός καλών γονιμοποιημένων αυγών ανά ωτοκία των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	129
Διάγραμμα 3.24:	Μήκος αυγών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	130

Διάγραμμα 3.25:	Πλάτος αυγών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	131
Διάγραμμα 3.26:	Αναλογία μήκος/ πλάτος αυγών των 8 υπό μελέτη πληθυσμών. α) Διασπορά τιμών, β) μέσες τιμές και 95 % διαστήματα εμπιστοσύνης	132
Διάγραμμα 3.27α:	Ανάλυση βασικών συνιστωσών. Δισδιάστατη απεικόνιση της διασποράς των τιμών των μετρήσεων για το σύνολο των μετρήσεων	133
Διάγραμμα 3.27β:	Ανάλυση βασικών συνιστωσών. Δισδιάστατη απεικόνιση της βαρύτητας της επίδρασης των παραμέτρων στη διακύμανση των τιμών των παρατηρήσεων	134