

***Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae):
Consumul hranei, creșterea și dezvoltarea larvelor
pe diete artificiale cu agar și fără agar**

Gheorghe STAN, Viorica CHIŞ, Mihaela Alexandra NICOLESCU, Georgeta STAN

Summary

***Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae): Diet consumption, larval growth and development on artificial diets with and without agar-agar.**

The paper presents the results of researches carried out during 1990-1994 concerning food consumption by *Mamestra brassicae*, larval growth and development on artificial diets with and without agar-agar. Data are a synthesis of all studies for 5 artificial diets (from 14 analysed), two diets with agar-agar (M-150, M-151) and three diets without agar (D-131, D-152M, D-152V). The composition of diets, specific ingredients, technics of preparation and rearing techniques are also presented. The following decreased order of the artificial diets quality was established: M-151, D-152M, D-152V, D-131, M-150. All these diets are reasonable for *M. brassicae* and the other 16 lepidoptera species mass-rearing in laboratory. The best results were obtained for M-151 and D-152M diets.

The following parameters were recorded: duration of larval instar, larval and pupal mortality, pupation, emergence, diapause, pupal and larval weight, survival, female fecundity. Analysis of growth and development with larval rate growth index, rearing index, pupation index and adequacy diet index have shown an approximate similar order of diet classification. A close correlation was evidenced among quantity of consumption diet, larval weight gain and values in both index of efficiency of conversion of assimilated and of ingested food to biomass. Relative growth rate, relative consumption rate and assimilation were also estimated. All obtained results confirmed the same classification of artificial diets.

These data and the other results in this field, about diet composition and the necessity of some important ingredients are analysed dependent on the purpose of researches.

Keywords: artificial diets, rearing, growth, development, diet consumption, diet ingestion and conversion, pupae quality, pupae and larvae weight, agar-agar, *Mamestra brassicae*.

Consumul de hrană la insecte (ingerarea și conversia) asigură energia și nutrienții (inclusiv apă) necesari derulării activităților vitale (creșterea și dezvoltarea, rezerve metabolice, activitatea locomotoare, reproducerea). Din acest punct de vedere hrănirea este unul dintre tipurile fundamentale de comportament cu implicații în strategia adaptativă și evoluție. Comportamentul de hrănire reprezintă o componentă cheie în strategia relațiilor cu mediul înconjurător, implicând o interacțiune permanentă cu calitatea hranei (apă, agenți de gelificare sau fibră celulozică, nutrienți, mediatori chimici, agenți patogeni), folosirea după ingerare (digestie, asimilație, creștere, acumulare, excreție) și activitatea sau comportamentul (survivă, mișcare, apărare, reproducere) (SLANSKY 1993).

Creșterea insectelor în condiții de laborator, în special a insectelor de importanță economică (folositoare și dăunătoare) sau a unor specii de insecte endemice sau foarte rare (în vederea cunoașterii ciclului biologic), s-a constituit într-o știință precis conturată. Ca urmare a aclimatizării și depășirii șocului

de colonizare în condiții controlate, prin eliminarea diapauzei și controlul creșterii, se obține material biologic permanent, utilizat apoi în studiile de biologie, ecologie, fiziologie, genetică și comportament. Dar pe lângă aspectele referitoare la colonizare și stabilirea celor mai optimi și specifici factori de creștere, un domeniu aparte îl constituie găsirea unor diete care să asigure întregul complex de substanțe nutritive pentru o bună dezvoltare a stadiilor ciclului biologic și obținerea, în generații succesive, a unui material biologic experimental cu însușiri fiziologice și comportamentale normale (BOLLER 1972; CHIPPENDALE 1972).

In literatura de specialitate există un număr impresionant de diete artificiale pentru creșterea insectelor, și în special a lepidopterelor în condiții de laborator (HOUSE et al. 1971; SINGH 1974). Am adoptat denumirea de dietă artificială pentru o sursă de hrană alta decât planta gazdă (în mod similar cu majoritatea autorilor). Dietele folosite în acest studiu intră în categoria dietelor artificiale oligidice (ceea ce înseamnă că în compoziție există materiale organice care înlocuiesc o parte din compoziții cu structură chimică cunoscută; dietele alcătuite numai cu asemenea compuși purificați și structură chimică binecunoscută se numesc holidice, iar dacă au un singur component cu structură necunoscută sunt diete meridice). Alți autori mai folosesc și alte denumiri ca diete semiartificiale, diete seminaturale (CHIPPENDALE 1972; HEUTTEL 1976).

Pe de altă parte, problematica creșterii cu aspectele sale de aclimatizare, optimizarea dietelor și controlul calității, constituie și astăzi o preocupare de bază a specialiștilor în domeniu având implicații deosebite, atât din punct de vedere teoretic cât și mai ales aplicativ (WALDBAUER & FRIEDMAN 1991; SLANSKY & WHEELER 1992a, b).

In ceea ce privește dietele artificiale și modul în care acestea influențează creșterea, dezvoltarea și comportamentul, cercetările au vizat aspecte diverse, cum sunt: compoziția și concentrația (VANDERZANT 1966; CHIPENDALE 1972), importanța unor componente de bază (vitamine, zaharuri, proteine) (BREWER & TIDWELL 1975; RAULSTON 1975), rolul apei, nivelul de umiditate și diluția dietei (WHEELER & SLANSKY 1991, CLANCY 1991; NAEEM et al. 1992a, b), proporția ingredientelor, cerințe calitative, cantitative și principiul "dietei universale" (SINGH 1983).

Agarul este un agent important în compoziția dietelor artificiale, având rol de a lega ingrediente, a reține umiditatea, a asigura textura și a asigura protecția împotriva acțiunii unor agenți patogeni. El este folosit singur sau în combinație cu alginatul de sodiu. Mulți cercetători au încercat o reducere sau chiar o înlocuire a acestuia, din rațiuni economice (RAULSTON & LINGREN 1972) sau numai științifice (VELCHEVA 1985). Se impune însă suplimentarea, respectiv înlocuirea, cu ingrediente cu valoare de nutrienți care pot asigura valoare nutritivă mai mare, dar se arătă în atenție păstrarea raportului dintre constituenți. Frecvent, pentru a nu modifica acest raport se folosesc compuși chimici sintetici, cum sunt celuloza, amidonul, gelatina, polimeri, ceruri, țesuturi rafinate de la plante, gume, pectine, albumine, etc. Testând comparativ cu agarul altii 4 compuși, metil-celuloza și amidonul s-au dovedit mai parțiale. Consistența acestor geluri poate fi influențată de tehnica de preparare, pH, reacții chimice între ingrediente, temperatură, concentrație.

In lucrare sunt prezentate datele obținute în studiul creșterii speciei *Mamestra brassicae* pe un număr de 5 diete artificiale (2 cu agar și 3 fără agar), experimentate în perioada 1990-1994. S-a urmărit mai puțin evidențierea rolului unor ingrediente, accentul fiind pus pe obținerea unui material biologic viguros, cu comportament normal, fără a fi afectați substanțial parametrii de zbor, reproducere și răspuns la mediatori chimici. In acest studiu sunt incluse datele referitoare la consumul și utilizarea hranei, creșterea și dezvoltarea larvelor.

Material și metode

Material biologic. Larvele și pupele de *Mamestra brassicae* au provenit din populațiile sușelor crescute în laborator, aclimatizate din fondul populațional natural al zonei Cluj (Transilvania), dar și din alte zone (STAN & CHIȘ 1995). Datele incluse în acest studiu reprezintă valori medii estimate pentru testele derulate în perioada 1990-1994, materialul biologic folosit provenind de la diferite generații. Au fost eliminate rezultatele extreme.

Pentru asigurarea calitativă a populațiilor din laborator și creșterea heterogenității sau folosit două metode: a). improprietatea anuală a linilor din laborator cu material biologic din natură; b). control dirijat al creșterii (selecția adulților viguroși, ponte mari provenite numai de la femele care au fost fertile,

excluderea pupelor anormale, excluderea primelor și ultimelor emergențe).

Compoziția și prepararea dietelor. Detalii asupra compoziției dietelor utilizate sunt prezentate în Tab. 1. Se observă existența a mai multor categorii de ingrediente. În alcătuirea dietelor s-a pornit în primul rând de la respectarea necesarului calitativ și cantitativ al unor ingrediente, dovedite absolut necesare pentru o creștere și dezvoltare, normale (VANDERZANT 1966; CHIPPENDALE 1972). De asemenea, s-a avut în vedere și rolul sau propriația unor ingrediente particulare (vitamine, ac. linoleic, agenți antimicrobieni) cu rol deosebit de important și care, în afara unui optim situat în limite înguste și chiar specifice, pot cauza efecte negative ireversibile.

Tehnica de preparare a dietelor a fost cea clasică, descrisă în lucrările de specialitate în domeniu (HOUSE et al. 1971; SINGH 1974, 1983). Calitatea acestora se asigură numai în condițiile în care se respectă tehnica de preparare, ordinea de adăugare a ingredientelor, conservarea, etc.

Tabelul 1

Compoziția unor noi diete cu agar și fără agar folosite în creșterea larvelor de *Mamestra brassicae* în condiții de laborator. Rezultate parțiale, privind creșterea larvelor pe alte 18 diete cu agar, au fost comunicate în alte studii (STAN et al. 1986; STAN 1993)

Ingrediente	Cantitatea (%)**				
	M-150	M-151	D-131	D-152M	D-152V
I. Apa distilată	74,50	70,00	80,00	69,00	70,55
Agar-agar	1,50	1,40	-	-	-
Pudră celuloză	-	1,00	0,80	-	-
II. Pudră lucernă	5,00	3,60	5,20	3,20	3,40
Germeni de grâu	5,00	3,90	4,00	3,50	2,60
Pudră soia	2,00	4,00	6,00	3,80	5,30
Drojdie de bere	2,00	-	0,80	-	-
Zahăr	2,00	3,60	1,05	3,10	-
Făină porumb	-	-	2,00	14,00	15,80
III. Săruri minerale	0,20 ^a	1,00 ^b	0,35 ^c	0,90 ^d	-
IV. Formalină 15%	-	0,10	-	0,09	0,09
KOH 0,4%	-	0,20	-	0,18	-
Ac. acetic glacial 25%	0,10	0,20	0,20	0,18	0,40
V. Vitamine (A +B +D +E)	-	0,07 ^e	-	0,040 ^f	0,040 ^f
Acid ascorbic (C)	0,25	0,35	0,20	0,30	0,30
Glucoză	-	0,50	-	0,45	0,45
VI. Amestec antibiotice	-	0,03 ^g	0,20 ^g	-	-
VII. Nipagin	0,25	-	0,20	-	-
Acid sorbic	0,13	-	-	-	-
SIC-5 ^h	-	0,30	-	0,20	0,20
VIII. Colesterol	-	0,05	-	0,040	-
Acid linoleic	-	0,35 ^m	0,20 ^k	0,30 ^m	0,40 ^k
Acid linolenic	-	0,06 ^l	-	0,040 ^l	-

* - Detalii asupra soluției SIC-5 - în anexele de la sfârșitul lucrării.

** - Detalii asupra preparării unei diete artificiale, conținutului și semnificației anumitor categorii de ingrediente (marcate în tabel cu litere) sunt prezentate în anexa de la sfârșitul lucrării.

Condiții de creștere controlată. Pentru fiecare experiment ca punct de pornire s-a folosit puncta,

provenită de la cele mai prolifice femele (> 1500 ouă), care s-a împărțit în serii de cca. 100 ouă, alcătuind minim 10 repetiții pentru fiecare variantă, iar media finală s-a estimat pentru valorile obținute de la 10 femele/generație. Pentru atenuarea unor erori asociate cu tehnica de lucru și precizia de cântărire, o altă valoare medie s-a evaluat pentru datele obținute între generațiile aceleiași linii de creștere și apoi între sușele folosite.

Înțial, o parte din pontă a fost dezinfecțată (1% CuSO₄; 2% bicromat de potasiu), iar după spălare și uscare s-a pus în laboratorul de creștere ($23 \pm 1^\circ\text{C}$; 16:8 ore, lumină:întuneric, cu existența unei perioade de 30 minute, la începutul și sfârșitul scotofazei, când intensitatea lumini a fost de 30 lx; în scotofază normală, intensitatea lumini a fost de 0,3 lx., iar în fotofază > 700 lx.; UR > 85%). Ponta (după ce culoarea a devenit brun-negricioasă) a fost pusă sub cutii Petri cu dietă artificială. Pentru experiențele referitoare la consumul alimentar și conversia hranei s-a adăugat aceeași cantitate cunoscută de mediu (înțial s-a făcut o cântărire și s-a estimat greutatea umedă, iar apoi s-a calculat greutatea uscată).

Pupile obținute au fost sexate și menținute în acest fel, la întuneric continuu și $22 \pm 1^\circ\text{C}$. În fiecare a două zile după împupare acestea s-au cântărit și s-a estimat lungimea (de la extremitatea anterioară până la partea terminală a conformatiei aripilor) și lățimea (la nivelul segmentului abdominal V), sub lupa binocular.

Analiza consumului și conversiei hranei. Pentru estimarea cantității de hrana mâncată de larve, s-a făcut diferența între greutatea inițială a hranei și greutatea rămasă. Excrementele au fost adunate pentru fiecare variantă iar greutatea uscată s-a raportat la vîrstă larvară și pentru întregul stadiu. Pentru a asigura un consum eficient și a evita formarea de drojdia sau mucegaiuri, la larvele proaspăt eclozate și de vîrstă I și II, estimarea consumului de grană/vârstă/individ s-a făcut prin împărțire la numărul de larve din cutie. În același mod s-a calculat și greutatea unei larve (exprimată în greutate umedă de data aceasta). Pe parcurs, larvele s-au rărit progresiv (5/cutie în vîrstă III, 2-3 în vîrstă IV, moment în care s-au trecut individuul în celule). Procesul de rărire al larvelor a fost însoțit de adăugare de mediu nou. În procesul de creștere și hrănirea în paralel a 6 variante, au apărut unele discontinuități asociate cu cantitatea inițială de hrana dată, intensitatea de hrănire și comportamentul individual, astfel că perioadele de experimentare au avut lungimi diferite.

Parametrii analizați. Indici ai consumului și calității dietelor. Creșterea și dezvoltarea larvelor a fost influențată și de calitatea dietelor utilizate. Dietele necorespunzătoare au fost eliminate, în lucrarea de față fiind introduse rezultate pentru cele considerate "bune și corespunzătoare", apreciate inițial după calitatea larvelor și pupelor dar și după comportamentul de hrănire, emergență sau reproducere. Pentru larve și pupe s-au analizat următorii parametrii: durata stadiului larvar și pupal, mortalitatea, împuparea, emergența, greutatea și mărimea larvelor și pupelor.

Modificările survenite la nivelul stadiilor de larvă și pupă au fost caracterizate cu ajutorul unor indici (ALLEGRET 1968; FATZINGER 1970; RAULSTON 1975), direct dependenți de calitatea dietelor artificiale:

- *indicele ratei de creștere larvară* (I_{RCL}), reprezentă raportul dintre greutatea pupelor (G_p) în mg și durata stadiului larvar (D_{L}) în zile;
- *indicele de eficiență al dietei* (I_e) este raportul dintre greutatea medie a pupelor (G_p) și media duratei (în zile) până la împupare (D_u) înmulțit cu procentul de emergență (E_m);
- *indicele de hrănire* (I_{HR}) ia în considerare capacitatea unei diete de a hrăni generații succesive, comparând parametrii reprezentativi ai tuturor stadiilor (indicele reprezintă produsul dintre proporția de indivizi care au supraviețuit pe intervalul ou - adult, înmulțit cu media numărului de ouă/femelă, raportat la durata în zile a acelei generații hrănite);
- *indicele de împupare* (I_{IMP}), echivalent cu *indicele de creștere* (I_{CRS}) reprezintă raportul dintre greutatea pupelor (proaspăt formate, la o zi după împupare) (GP_{IP}) și greutatea larvelor în ultima vîrstă (imediat după ultima năpădiri, înainte de prepupă) (GL_{UV}).

Pentru studiile cantitative asupra consumului de hrana și evoluția creșterii și dezvoltării, s-au folosit o serie de indici caracteristici (WALDBAUER 1968; WALDBAUER et al. 1984; SLANSKY & WHEELER 1991; SLANSKY & WHEELER 1992b):

- *rata relativă de creștere* (R_{CR}). Este raportul dintre sporul (în mg) în greutate uscată (S_{GU}) și durata de timp (în zile) și biomasa medie. Timpul se referă la durata perioadei de hrănire (D_{ph}) iar biomasa medie la media greutății larvelor (G_l) în perioada de hrănire (estimat inițial și la final); sporul în greutate sau câstigul în biosmasă, este diferența dintre biomasa finală și cea inițială. În condițiile în care s-au făcut

experimente cu larve pe vârste, pentru a determina rata de creștere (sau de consum) în funcția de vârstă larvară, căstigul în greutate a fost estimat ca diferența dintre greutatea pupei și greutatea larvei, la începutul experimentului (estimările se exprimă în greutate uscată);

- *rata relativă de consum* ($R_{C_{GU}}$). Este raportul dintre cantitatea (mg) de hrana consumată (C_{GU}) în greutate uscată și produsul dintre durata de timp (în zile) și biomasa medie (semnificația duratei de timp este aceeași ca la 4);

- *asimilația (digestibilitatea aproximativă)*(A). Reprezintă diferența dintre cantitatea de hrana consumată (C_{GU}) și greutatea uscată a excrementelor (E_{GU}) raportată la cantitatea de hrana consumată (C_{GU});

- *eficiența conversiei hranei digerate* (E_{CHD}). Reprezintă sporul în greutate uscată (S_{GU}) raportat la diferența dintre consumul de hrana uscată (C_{GU}) și greutatea uscată a exrementelor (E_{GU});

- *eficiența conversiei hranei îngereate* (E_{CHI_0}). Reprezintă raportul dintre sporul în greutate uscată (S_{GU}) și cantitatea de hrana consumată (C_{GU}).

Calitatea unei diete asupra creșterii și dezvoltării a fost estimată și prin studiul relației dintre hrana consumată și creșterea larvară sau între hrana larvară și greutatea pupelor, cu ajutorul ecuațiilor de regresie, după tehnica descrisă în literatura de specialitate (BAILEY 1976).

Măsurarea hranei consumată și utilizată. S-a folosit tehnica gravimetrică (WALDBAUER 1968). Larvele au fost cântărite iar apoi puse la uscat (48 ore la 60°C) după care s-au recântărit rapid pentru a stabili procentual greutatea uscată. Dieta artificială în fiecare variantă experimentală a fost de asemenea cântărită inițial, iar la sfârșitul experimentului s-a recântărit. Un cub de hrana similar și de aceeași greutate cu cel pus în hrăniș, s-a cântărit atât umed cât și uscat, iar cu hrana rămasă după terminarea experimentului s-a procedat în același mod.

Cantitatea de hrana consumată (în greutate uscată) s-a estimat prin diferența dintre greutatea inițială și greutatea rămasă. Ulterior, s-a introdus relația $GU_{HC} = [GP_H \cdot (GU_{HC}/GP_H)] - GU_R$ (GU_{HC} = greutatea uscată a hranei consumate; GP_H = greutatea hranei proaspete; GU_R = greutatea uscată a hranei rămase) (RAUSHER 1981). Excrementele au fost colectate zilnic sau la intervale de două zile (separat pe variante) și după ce s-a sfârșit perioada de experimentare s-au uscat și apoi s-au cântărit. Pupele s-au cântărit proaspete apoi s-au uscat și s-au recântărit pentru a înregistra greutatea finală uscată. Si pentru prepupe s-a procedat în mod similar ca și la larve.

Sporul în greutate (căstigul în greutate) a fost estimat ca diferența dintre greutatea uscată a pupei și greutatea larvei la începutul experimentului (WALDBAUER 1968).

Prelucrarea datelor. Datele obținute au fost prelucrate statistic, pentru analiza variației fiind folosit Duncan'sNMRT (STEEL & TORRIE 1960), cu transformarea inițială a sirului de date în log ($x+1$).

Rezultate

Consumul și conversia hranei. Rezultatele obținute pentru larvele de *Mamestra brassicae* crescute pe două diete artificiale cu agar și 3 diete fără agar, sunt prezentate în Tab. 1. Diferențele obținute la nivelul parametrilor analizați este evident că nu sunt dependente numai de prezența sau absența agarului. Așa cum s-a prezentat la început, acest studiu reprezintă o primă evaluare a calității generale a dietelor, iar diferențele datorate rolului și importanței directe a agenților de gelificare sunt prezentate în alt studiu¹.

Datele obținute, în funcție de valoarea medie înregistrată pentru fiecare indice, evidențiază o ierarhizare a dietelor, rezultatele putând fi interpretate în special în funcție de conținutul în ingrediente. În sensul descreșător al valorilor medii ordinea dietelor este următoarea: M-151, D-152M, D-152V, M-131 și D-150. Se observă că dieta M-151 este practic cea mai completă, iar valorile medii ale proporției ingredientelor în dietă este în limitele optimului pentru lepidoptere (CHIPPENDALE 1972). Această dietă a fost folosită ca martor în multe alte experimente. Cel mai important aspect este însă prezența dietelor D-152 pe următoarele locuri. Acestea sunt diete fără agar, iar înlocuirea acestuia a impus adăugarea altor

¹ STAN G., CHIŞ V. Influența dietelor artificiale asupra calității populațiilor de larve și pupe de *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae). 2. Rolul agenților de gelificare. St. cerc. biol., Seria Biol. anim. (in press).

ingredientele care au modificat evident raportul între constituenții principali. În calculul intervalului de variație pentru diferite serii experimentate a fost semnificativ mai larg decât în cazul dietei M-151. De asemenea, sub aspect comportamental au existat unele diferențe în ceea ce privește acceptarea și ingerarea hranei. Trebuie precizat că larvele sunt cu atât mai sensibile cu cât sunt mai tinere, iar odată cu înaintarea în vîrstă comportamentul de hrănire decurge normal.

Tabelul 1

Cantitatea de hrână consumată, sporul în greutate și valorile indicilor de utilizare a hranei pentru larvele de ultima vîrstă ale speciei *Mamestra brassicae* hrânite pe diferite diete artificiale, cu agar și fără agar.

Weight diet consumption, weight gain and value of index for diet utilization of last instar *Mamestra brassicae* larvae, reared on artificial diets with and without agar-agar

Dieta Diets	CHC*	SGU**	Valoarea indicilor*** / Index values				
			R _{CoR}	R _{CR}	A	E _{CHD}	E _{CHIn}
M-150	348,32	111,48	1,88	0,70	47,26	19,87	26,44
M-151	386,44	134,84	2,48	0,92	54,68	25,44	38,12
D-131	354,22	118,12	1,78	0,73	48,64	22,48	28,86
D-152M	378,67	128,44	2,26	0,87	54,36	24,68	34,28
D-152V	372,82	124,88	2,14	0,84	52,22	24,31	35,84

- * - CHC - Cantitatea de hrână consumată (mg) / dry weight eaten (mg).
- ** - SGU - Sporul în greutate uscată (mg) / weight gain (mg); valoare medie pentru 200-220 larve de ultimă vîrstă/dietă (mean values for 200-220 larvae of last instar/diet).
- *** - R_{CR} - Rata relativă de creștere (mg/mg/day) / relative growth rate; R_{CoR} - rata relativă de consum (mg/mg/day) / relative consumption rate; A - asimilație (digestibilitate aproximativă (%)) / assimilation (approximative digestibility); E_{CHD} - eficiența conversiei hranei digerate (%) / efficiency of conversion of assimilated food to biomass (net growth efficiency); E_{CHIn} - eficiența conversiei hranei ingerate (%) / efficiency of conversion of ingested food to biomass (gross growth efficiency).

Comportamentul de hrănire este influențat de o dietă nu numai în funcție de vîrstă larvelor, dar și de alternanța dietelor de-a lungul mai multor generații crescute succesiv în laborator. Acest aspect se pare a fi deosebit de important deoarece pot exista două situații extreme: trecerea la o altă dietă prea mult modificată poate induce un comportament de respingere de către larvele tinere și în final moartea lor sau, utilizarea unei alte diete corespunzătoare poate avea un efect stimulativ. De altfel, alternanța dietelor, după un anumit număr de generații s-a constatat a avea efect stimulativ nu numai asupra comportamentului de hrănire ca atare ci și asupra caracteristicilor creșterii și dezvoltării larvelor și pupelor (ZAKHvatkin & MONASTYRSKYI 1986). Cel mai frecvent, materialul biologic obținut prin creșterea insectelor în laborator, s-a realizat prin folosirea aceleiasi diete, stabilită inițial ca eficiență (RAULSTON & LINGREN 1972). Treptat s-a insistat pe principiul "diетеi universale" (SINGH 1983). Pe de altă parte, pe lângă interesul pentru diferitele aspecte comportamentale au apărut și cele referitoare la rentabilitatea economică (LEPPA & FISHER 1989).

Rezultatele incluse în acest studiu, pentru *Mamestra brassicae*, prin valoarea indicilor estimaj, oferă o primă informație asupra valorii dietelor artificiale fără agar-agar, stabilind că ele au un conținut și o proporție a ingredientelor, relativ corespunzătoare cu o dietă completă, care conține agar ca agent de gelificare. Înlăturarea agarului și înlocuirea lui cu alte ingrediente (în special făină de porumb) într-o proporție corespunzătoare, a asigurat (în special pentru dietele D-152M și D-152V) o consistență, textură și nivel de umiditate similar sau apropiat de dieta martor. Toate dietele analizate au conținut 8 componente comune (lucernă, germenii de grâu, soia, zahăr, apă, ac, acetic, ac. ascorbic și nipagin). Valoarea mai mică a indicilor pentru dieta M-150, considerată ultima ca și valoare calitativă, este asociată atât cu numărul mai

mic de ingrediente cât mai ales cu absența unor componente esențiale în hrănire, creștere și dezvoltare (acid linoleic, complexul de vitamine B, cantitate redusă de săruri minerale, absența unor agenți inhibitori ai dezvoltării unor agenți patogeni - KOH și formalină - corelat cu prezența unui ingredient - drojdia - care favorizează dezvoltarea acestora). Scăderea cantității de hrănă consumată și ingerată este astfel dependentă de prezența sau absența unui ingredient cu semnificație importantă, dar și de schimbarea calității de atracțant sau stimulator în cea de deterent, repellent sau inhibitor.

La *M. brassicae*, între cantitatea de hrănă consumată și greutatea larvelor a existat o corelație strânsă ($r = 0,9372$).

Diete artificiale, durata stadiilor și calitatea larvelor. Datele obținute sunt prezentate în Tab. 2. La nivelul valorilor medii se evidențiază absența unor diferențe mari privind durata stadiilor de pupă, adult și ou, la *M. brassicae*, în relație cu dieta larvară. În schimb au existat asemenea diferențe, la nivelul stadiului larvar. Datele concordă cu cele obținute în studiul consumului și conversiei hranei. Astfel, durata cea mai lungă a stadiului larvar a fost pe dieta cea mai slab calitativă (D-150).

Tabelul 2

Durata stadiilor la specia *Mamestra brassicae*, în condiții de laborator, raportat la diferite diete artificiale (cu agar și fără agar) folosite în creșterea larvelor.

Duration of the *Mamestra brassicae* stages, as related to different artificial diets (with- and without agar-agar) used in larval rearing under laboratory conditions

Stadiile Stages	Durata medie a stadiilor (zile) ± eroarea standard*				
	Mean duration of the stages (days) ± ES				
	M-150	M-151	D-131	D-152M	D-152V
Ou / Egg	3,8±0,5a	4,2±0,4b	3,8±0,6a	4,0±0,2ab	3,7±0,2a
Larva / Larvae	29,1±5,2a	21,6±3,8b	27,8±5,6c	21,8±2,5b	20,2±1,8d
Pupa / Pupae	18,8±1,6a	18,4±2,2a	18,4±3,5ab	19,7±1,6b	18,8±2,4a
Adult / Adult	11,8±1,4a	12,6±3,6b	10,2±2,8c	12,3±2,4b	11,4±1,6ac
Total	63,5	56,8	60,2	57,8	56,1

* - Aceeași literă din dreptul valorilor, comparate pentru același stadiu, indică diferențe nesemnificative (Duncan'sNMRT; $P=0,05$).

The same letter for the same stage, indicates that means are not significantly different; (Duncan'sNMRT; $P=0,05$).

Rezultatele obținute evidențiază cele mai clare diferențe semnificative doar la nivelul stadiului de larvă, fenomen absolut explicabil, acesta fiind stadiul efectiv dependent de hrănă. Celelalte stadii au fost mai puțin afectate, dar au existat totuși și diferențe semnificative chiar la nivel populațional. Valorile absolute înregistrate sunt în concordanță cu cele privind consumul și utilizarea hranei. Pe de altă parte, se constată totuși că nu au existat diferențe mari pentru valorile obținute pe cele 5 variante. Rezultatele sugerează că în principiu toate cele 5 variante de diete folosite au fost corespunzătoare. Diferențele au apărut mai mult la nivelul duratei stadiilor, dependent de gradul de diluție a mediului dar, așa cum am arătat, și de prezența sau proporția unui anume ingredient.

Modificările survenite la nivelul stadiului larvar sunt prezentate în Tab. 3. În funcție de ierarhizarea obținută pentru diete, în ordinea descrescătoare a calității (pe linia M-151, D-152M, D-152V, D-131, M-150), s-a înscris și evoluția parametrilor privind durata stadiului, mortalitatea larvelor, prepupelor și nivelul de împupare. Intervalul 86-92% privind împuparea înscrise aceste diete în categoria celor cu eficacitate bună-foarte bună.

Modificările survenite la nivelul stadiului pupal au fost semnificativ ilustrate la nivelul greutății și mărimii pupelor și mai puțin în ceea ce privește mortalitatea, emergența sau diapauza acestora. Greutatea cea mai mare a pupelor a fost obținută pentru cele provenite de pe dietele cele mai complete (M-151, D-152M). Pentru aceste variante nu s-a înregistrat un comportament de intensificare al hrăririi (deci o

creștere a cantității de hrană ingerată), așa cum s-a evidențiat în cazul fenomenului de diluie al unei diete, ci a existat o diminuare a hrăririi dependentă de absența unor ingrediente cu rol important în hrărire. Din momentul în care cele mai bune două diete au fost una fără agar și una cu agenți sintetici de gelificare, s-a considerat că în variantele fără agar s-a găsit un echilibru corect între proporția ingredientelor de bază și cele prin care s-a substituit agarul.

Tabelul 3

Durata stadiului larvar, mortalitatea larvelor și prepupelor și împuparea la *Mamestra brassicae* crescută pe diferite diete artificiale cu agar și fără agar, în condiții de laborator.

Larval stage duration, larval and prepupal mortality and pupation in *Mamestra brassicae* reared on artificial diets with- and without agar-agar

Dietă Diets	Durată stadiu larvar ^a Larval stage duration	C _v ^b	Larve moarte ^{***} (%) Larval mortality	Prepupe moarte (%) Prepupal mortality	Impupare (%) Pupation
M-150	29,1 ± 5,2a	5,72	7,68	8,64	83,68
M-151	21,6 ± 3,8b	1,68	5,20	4,18	90,62
D-131	27,8 ± 5,6c	4,25	8,32	5,64	86,04
D-152M	21,8 ± 2,5b	2,10	4,24	3,88	91,88
D-152V	20,2 ± 1,8b	1,98	6,34	3,24	90,42

^a - (media ± ES; mean ± standard error). Aceeași literă indică diferențe nesemnificative între variante; D'sNMRT; P=0,05; The same letter indicates that means are not significantly different (Duncan'sNMRT; P=0,05).

^b - Coeficientul de variație / Coefficient of variation.

^{***} - Pentru toate vîrstele larvare / All larval instars.

Un alt aspect interesant în cazul dietelor artificiale este și cel referitor la compozitia în ansamblu. Se pare că importanță foarte mare nu prezintă numărul ingredientelor ci valoarea și proporția lor. Astfel se pot probabil explica rezultatele bune obținute pe M-151 cu 19 ingrediente și, la polul opus, D-152V cu 12 ingrediente. În ambele cazuri, cu excepția zahărului și sărurilor minerale, celelalte ingrediente au fost prezente. De altfel, în cercetările noastre am constatat că unele ingrediente (zahăr, drojdie, tărete, săru minerală) pot fi substituite prin altele, sau acești compuși pot fi obținuți din alte ingrediente.

Între greutatea și lungimea pupelor a existat o corelație pozitivă strânsă ($r = 0,9245$), la fel ca și între greutate și lățime ($r = 0,9482$). Între greutatea larvelor de ultimă vîrstă și greutatea pupelor corelația pozitivă a fost mai mică ($r = 0,88764$) probabil și dependent de cantitatea de hrană ingerată în momentul respectiv și intervalele diferite când s-au făcut evaluările.

Modalitatea de a ilustra calitatea unei diete artificiale cu ajutorul diferitelor indici (de hrărire, al ratei creșterii larvare, de eficiență al dietei, de impupare) reprezintă o modalitate deosebit de eficace deoarece aceștia iau în considerare aproape toți parametrii care caracterizează creșterea și dezvoltarea (durata stadiilor, greutatea larvelor și pupelor, emergență, supraviețuirea, fecunditatea). Datele obținute (Fig. 1) au ierarhizat mai mult sau mai puțin evident dietele artificiale, în funcție de indicele folosit. În acest studiu am inclus toți indicii pentru a evidenția unele diferențe, care apar tocmai din parametrii utilizati în cadrul relației, dar pentru fiecare specie se poate folosi acel indice care implică parametrii care pot fi modificăți cât mai mult, chiar la o variație slabă a modificărilor din dietă. Datele din Fig. 1 concordă cu rezultatele obținute în studiul consumului și conversiei hranei. Se observă unele inversiuni pentru primele două diete, dar și pentru ultimele două. Un fenomen similar a fost evidențiat și în alte studii (STAN et al. 1986; STAN et al. 1997; STAN 1993). Acest fapt este explicabil în condițiile în care cele 5 diete se înscriu într-un interval îngust de variație al calității lor, ele fiind selectate de la început doar pentru a remarcă în mare diferență semnificativa între dietele cu agar și cele fără agar. Inlocuirea agarului s-a făcut în special din considerente economice.

Tabelul 4

Greutatea, mortalitatea, emergența și diapauza pupelor de *Mamestra brassicae* provenite din creșterea larvelor pe diferite diete artificiale cu agar și fără agar.

Pupal weight, mortality, emergence and diapause of *Mamestra brassicae* reared on different artificial diets with- and without agar-agar

Dieta Diets	Greutatea pupelor (mg ± AS)* Pupal weight (mg ± ES)		Mortalitatea pupe (%) Pupal mortality		Emergența (%) Emergence		Pupal diapause \bar{x} (♂ + ♀)
	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂	♀ ♀	♂ ♂	♀ ♀	
M-150	374,34 ± 36,5a	394,68 ± 42,3a	2,86	4,32	96,14	95,68	3,59
M-151	437,26 ± 14,6bc	448,36 ± 11,9c	2,24	2,75	97,76	97,25	2,49
D-131	392,44 ± 27,8d	406,18 ± 34,8a	3,16	2,04	96,84	97,96	2,60
D-152M	422,89 ± 18,6b	431,72 ± 18,2bc	2,18	3,46	97,82	96,54	2,82
D-152V	424,15 ± 28,5bc	425,68 ± 26,6b	2,64	2,34	97,36	97,66	2,49

* Aceeași literă indică diferențe nesemnificative între variante (D'sNMRT; P=0,05). The same letter indicates that means are not significantly different (Duncan'sNMRT; P=0,05).

Discuții

Procesul de colonizare a insectelor din habitatele naturale într-unele artificiale în care factorii principali de mediu (lumină, temperatură, umiditate) pot fi controlați, reprezintă baza operațiunilor de hrărire în masă. Materialul biologic obținut trebuie să răspundă calitativ și cantitativ direcțiilor de cercetare în care este folosit. Pe lângă aspectele legate direct de influența hranei, sau a diferitelor componente ale acesteia, asupra creșterii, dezvoltării, reproducerei și comportamentului, un număr mare de studii în acest domeniu au arătat că o creștere eficientă implică cercetări privind contaminarea culturilor cu agenți patogeni, modificări ale variabilității genetice (heterozisul este una dintre marile cauze care afectează calitatea populațiilor). Diminuarea sau înălțarea multor asemenea cauze implică o serie de aspecte: o corectă monitorizare a insectelor în mediile lor naturale, o cunoaștere a comportamentului, precizarea ciclului de viață și evaluarea caracteristicilor dezvoltării, modificările interveniente la nivelul mecanismelor comportamentale legate de reproducere, relația complexă insectă - plantă gazdă. Procesele care decurg în timpul creșterii în masă a insectelor, în condiții de laborator, implică și cunoașterea aspectelor care privesc adaptarea sau selecția, aclimatizarea și domesticirea (OCHIENG-ODERO, 1994).

Coloniile de insecte din laborator, obținute prin creșterea de diferite linii în generații succese, constituie o sursă convenabilă pentru studiul ecologiei nutriției. Datorită selecției artificiale din timpul aclimatizării, colonizării și menținerii populației, comportamentul insectelor din laborator diferă față de cel al insectelor din câmp și se caracterizează prin: reducerea capacitatii de consum a hranei, alterarea comportamentului de împerechere și ovipozitare, reducerea comportamentului de zbor, scăderea variabilității genetice. La nivelul hrăririi comportamentul poate fi modificat într-o manieră compensatoare față de schimbarea calității hranei (SLANSKY 1993). Modificarea calității se realizează prin modificarea nivelului nutrientilor, a raportului, a reducerii apei sau a prezentei unor ingrediente nedigerabile ori cu proprietăți de mediatori chimici (produse efecte însemnante în cantități mici).

In principiu, relația dintre larve și dieta artificială poate fi comparată cu o relație dintre planta gazdă și insecta fitofagă. Cercetările au evidențiat existența a trei mecanisme de rezistență a plantei PAINTER 1951; KOGAN & ORTMAN 1978; aut. cit. in WISEMAN 1985) la acțiunea dăunătorului: nonpreferență = antixenoza (sursa de hrana neadecvată îndepărtează insecta și împiedică hrăirea, reproducerea sau adăpostirea), antibioza (se bazează pe mecanismul de rezistență al plantei inducând efecte adverse în biologia dăunătorului; efectele adverse sunt: mortalitatea, modificări ale mărimii și greutății, comportament anormal, rezerve sărare în hrană ce determină o lungime excesivă a unui stadiu,

mică sau redusă) și toleranță (hrana este acceptată parțial deci planta se poate dezvolta în măsură mai mică și este capabilă să suporte străciunile cauzate de dăunător; extrapolând la o dietă artificială relația se manifestă printr-un comportament de tipul celui indus de acțiunea simultană a unui atracant + deterrent).

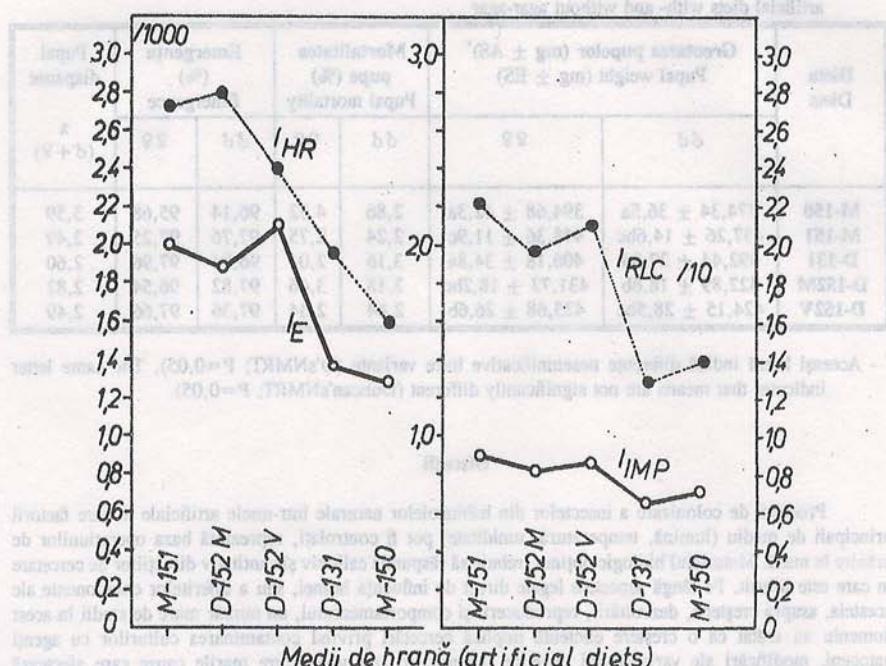


Fig. 1. Reprezentarea grafică a dinamicii valorilor unor indici de apreciere a creșterii și dezvoltării larvelor de *Mamestra brassicae* pe diferite diete artificiale cu agar și fără agar.

Graphic representation of dynamics values for 4 indices for growth and development estimation of *Mamestra brassicae* larvae reared on different artificial diets with and without agar-agar.

I_{RLC} - indicele ratei de creștere larvară / larval growth rate index; I_E - indicele de eficiență

al dietei / adequacy diet index; I_{HR} - indicele de hrănire / rearing index; I_{IMP} - indicele de impupare / pupation index.

In acest prim studiu, pe baza datelor obținute pentru *Mamestra brassicae*, vom face unele referiri doar la diferențele care au fost remarcate în evoluția unor parametrii ai calității larvelor și pupelor, prin creșterea speciei pe diete artificiale cu agar și fără agar. Evident, au fost selectate dietele dovedite "eficiente". În analiza unor parametrii reprezentativi ai calității ne-am referit și asupra rolului altor ingrediente, acestea fiind evaluate în parte în alte studii.

Datele din studii de specialitate au analizat valoarea dietelor în funcție de ingredientele nutritive și nenutritive dintr-o dietă. Dacă primele apar esențiale pentru că oferă necesarul în lipide, glucide și proteine, cele din categoria a doua au o altă semnificație. Din aceste motive cercetători de seamă în domeniul creșterii insectelor susțin existența a 7 categorii de ingrediente absolut necesare într-o dietă: proteine, lipide carbohidrați, săruri minerale, vitamine, celuloză și agar (VANDERZANT 1966). Celuloza

și agarul apar ca cerințe care asigură calitățile fizice ale unei diete (consistență, textură, formă, natura suprafetei de contact). Cantitatea de hrănă consumată se pare că este în funcție de nutrienții care asigură aporțul de substanțe nutritive (proteine, lipide, glucide), iar adăugarea de celuloză determină o diluare a dietei, fenomen care la rândul lui induce o creștere a cantității de hrănă ingerată.

Studiile privind consumul și conversia hranei sunt însoțite practic și de cercetări privind comportamentul de hrănire. Valorile indicilor analizați pentru *Mamestra brassicae* se încadrează în limitele obținute și pentru alte specii de noctuide, cu comportament sau un statut relativ similar (WALDBAUER et al. 1984; NAEEM et al. 1992 a,b; SLANSKY & WHEELER 1992). Un optim de informație în acest sens, pentru o anumită specie se poate obține numai în condițiile în care se compară căte două diete, iar în una dintre ele doar un singur parametru este variabil. În cazul speciei *Mamestra brassicae* în acest studiu datele nu se bazează pe o asemenea metodă. Referitor la hrănire, speciile fitofage pot avea un spectru foarte îngust sau foarte larg de plante gazdă. S-a constatat însă că o anumită specie măncă una sau mai multe din aceste plante într-o proporție care îi asigură cea mai favorabilă balanță a nutrienților, iar autori au introdus o serie de terminologii adecvate ("autoselectie", "optimizarea amestecului de nutrienți", "dieta amestecată") (WALDBAUER et al. 1984). Pe baza datelor se poate presupune că în natură insectele prezintă oportunitatea și capacitatea de a autoselecta un amestec favorabil de nutrienți, deci de diferite plante în natură. Probabil așa se explică faptul că o anumită plantă este bază trofică preferențială dar în absență ei insecta se adaptează la o nouă sursă de hrănă. Se consideră că autoselectarea dietei prezintă o dimensiune semnificativă pentru înțelegerea comportamentului de hrănire și lămurirea unor aspecte ale fiziologiei nutriției.

Modificările induc la nivelul numărului de ingrediente, a calității acestora sau a raportului dintre constituenți, induc și modificări la nivelul creșterii, dezvoltării și comportamentului. De exemplu, la specia *Heliothis zea* larvele de ultima vârstă au prezentat un comportament de auto-selectie a unui raport 80:20 cazeină:sucroză, în condițiile în care larvelor li s-au oferit două diete identice și complete, doar că una nu avea cazeină iar cealaltă nu avea sucroză (WALDBAUER et al. 1984). La specia *Heliothis zea* s-a studiat hrănirea comparând efectul indus de o dietă standard cu cel indus de o aceeași dietă dar diluată prin descreșterea conținutului în nutrienți și creșterea cantității de apă. Datele au evidențiat o intensificare a comportamentului de căutare și tatonare. În plus a existat și o intensificare a hrănirii ilustrată de valorile indicilor prezențați în Tab. 1 (NAEEM et al. 1992b). La *Anicarsia gemmatalis* diluția dietei artificiale cu apă sau celuloză a determinat o creștere a consumului și a greutății proaspete și uscate (SLANSKY & WHEELER 1991). În ciuda acestei creșteri nivelul absolut și relativ al ratei nutrientului ingerat de larvă, descrește odată cu creșterea diluției, iar proporția de hrănă consumată (exceptând celuloza) nu a fost influențată de creșterea celulozei. La această specie o diluare a dietei a indus și o creștere a digestiei, absorbiției și a consumului de până la 2,5 ori mai mare decât în cazul unei diete nediluate, dar la o diluție prea mare greutatea pupelor s-a diminuat (WHEELER & SLANSKY 1991). La *Manduca sexta* s-a constatat o stabilitate a valorilor acestor indici, în condițiile în care a existat un exces de hrănă (STAMP 1991). În diferitele experimente efectuate pe insecte, datele au evidențiat existența unei corelații pozitive între cantitatea de hrănă consumată și sporul în greutate. La specia *Mamestra configurata* o relație similară a existat atât între hrana consumată și creștere sau între consumul de hrănă și greutatea pupelor (BAILEY 1976).

Substituirea unor ingrediente din dietă modifică de asemenea atât calitatea populațiilor de larve sau pupe cât și valoarea unor indici care caracterizează consumul de hrănă. Astfel, la două sușe de *Spodoptera frugiperda* modificările au fost diferențiate. În principiu însă rata de creștere a crescut atunci când a lipsit sucroza sau drojdia din dietă (WHITFORD et al. 1992).

Pornind de la lămurirea unor aspecte fundamentale, rezultatele obținute pot constitui o bază de date pentru conceperea unor metode prin care se poate evalua și controla hrănirea ca rezultat al relației dintre insecte și planta gazdă, aceasta având implicații în monitorizarea populațiilor diferitelor specii și predicția tendinței de evoluție a nivelului populațiilor.

Datele obținute pentru cele 5 diete incluse în acest studiu evidențiază eficacitatea lor în creșterea speciilor de lepidoptere pe diete artificiale. Cu sau fără agar, aceste diete au corespuns creșterii și dezvoltării larvelor și pupelor de *Mamestra brassicae*, pentru diferite linii de creștere. Două din aceste linii au avut 64 și 52 de generații. Rezultatele au arătat necesitatea că o dietă artificială să conțină toate ingredientele necesare, atât nutritive cât și nenutritive, acestea conferind proprietățile necesare pentru o inducere un comportament atrăgător și stimulator. Alături de *M. brassicae* și următoarele specii au fost

crescute pe aceste variante (în special M-151 și D-152M): *Xestia c-nigrum*, *Lacanobia oleracea*, *L. suasa*, *Discestra trifolii*, *Ochropleura plecta*, *Apamea monoglypha*, *Polia bombycina*, *Autographa gamma*, *Mythimna pallens*, *Neuronia decimalis*, *Helicoverpa armigera*, *Xilena exoleta*, *Phragmatobia fuliginosa*, *Spilosoma luteum*, *Eilema complana*, *Yponomeuta malinellus*.

Eficacitatea ridicată a dietelor incluse în acest studiu poate fi corelată și cu specificul comportamentului de hrănire al speciei *M. brassicae*. Deși este un dăunător la crucifere și în special la varză, nu este absolut necesar ca în compozitia dietelor artificiale să fie inclusă de exemplu o pudră care să provină din frunzele acestei plante (sau ale altor specii de plante găzdă preferențiale). Pentru speciile mono- și oligofage "factorul frunză" este deosebit de important, iar prezența plantei găzdă sau a extractelor din aceasta induc un comportament atracționant și stimulator specific. Cercetările au evidențiat acest efect și pentru speciile polifage. Chiar la *M. brassicae* (PORTOUT & BUES 1974) adăugarea de pudră de frunze de varză în dieta artificială a stimulat hrănirea. Fenomenul este caracteristic atât la lepidoptere cât și la alte grupe de insecte (HURPIN 1962). Este interesant că la multe specii de lepidoptere un rol important l-a avut prezența făinii de porumb, a pudrei de lucernă sau a uleiului de porumb. Nu este exclus ca și la *M. brassicae* să fi existat o combinație reușită în raport optim a ingredientelor din variantele de mediu fără agar.

In ceea ce privește agarul, el a fost substituit cu succes și în alte cercetări anterioare (mediile S-101 și S-103) (STAN 1993), dietele fiind folosite tot în creșterea speciei *M. brassicae* dar și altor specii de noctuide. În condițiile în care se stabilește o compoziție corectă și un raport optim între componenți, creșterea și dezvoltarea larvelor pe diete artificiale fără agar poate fi optimă. Fenomenul a fost remarcat tot la *M. brassicae* pe o dietă relativ simplă (VELCHEVA 1985). Este interesant că din numărul extrem de mare de diete artificiale descrise în literatura de specialitate în acest secol (aut. cit. în HURPIN 1962), la lepidoptere 99,4% au folosit agarul ca și agent de gelificare. Pentru alte grupe de insecte acest ingredient a fost folosit în cantitate redusă (Heteroptera, Hymenoptera), sau a fost absent (Neuroptere, Homoptere, Elateridae, Dermestidae, Anobiidae, Tenebrionidae).

Referitor la numărul de ingrediente incluse într-o dietă predomină intervalul 12-18. Numărul total al ingredientelor semnalate fiind de 45, dar nici o dietă nu le-a folosit pe toate (STAN 1993). Pentru lepidoptere dietele artificiale s-au impus după 1982. În 1978 există cca. 480 diete pe care s-au crescut peste 90 specii de lepidoptere, dar și alte specii, din alte grupe, s-au crescut în laborator: în 1980 sunt semnalate 360 diete pentru 210 specii de coleoptere; în 1982 sunt cotate 1200 diete pentru 400 specii din alte ordine. Astăzi se apreciază un număr total de 12.564 diete pe care s-au crescut (sau au fost făcute încercări de creștere) cca. 1460 specii de insecte.

Cercetările au arătat că organismele vii folosesc în nutriție cam 150 de substanțe chimice. Evident acest lucru este valabil pentru diferite grupe (nevertebrate, vertebrate, alge, bacterii, ciuperci), stabilindu-se că în cadrul cerințelor nutritive intră: 32 elemente minerale, 12 lipide și steroli, 20 aminoacizi, 22 baze purinice și pirimidinice, 79 vitamine și compuși derivați, 25 alți factori de creștere. În culturile de celule și țesuturi numărul acestora se poate reduce la 50, iar în creșterea pe diete artificiale la 25. Se înțelege că este vorba de substanță pură ca atare. Mai sus am afirmat că dietele noastre au avut în conținutul lor 12-18 ingrediente, dar este evident că numărul elementelor nutritive este mult mai mare. Încă există și azi puncte de vedere divergente referitor la creșterea pe diete artificiale. Normal, este extrem de important să fie cunoscute toate componentele unei diete deoarece prin modificări cantitative se poate stabili rolul precis al fiecărei în creșterea și dezvoltarea unei anumite specii (SINGH & CHARLES 1977; SINGH 1983). Din păcate, majoritatea dietelor conțin grupul II de ingrediente unde intră și componente naturale (lucernă, soia, germeni de grâu, porumb, tărăje) la care nu se cunoaște aportul și numărul precis în compuși particulari inclusi. Chiar dacă se poate stabili prin analiza (raportat la doză) apar modificări în timp prin alterarea sau modificarea compoziției ca urmare a condițiilor de păstrare a ingredientelor. Este evident că o tehnică de creștere este în funcție de scopul cercetărilor, o asemenea rigurozitate științifică fiind necesară în cercetări de fiziologia nutriției.

Analiza comparativă a necesarului de elemente pentru creșterea insectelor a evidențiat că specii din grupe diferite manifestă o cerință nutritivă similară. S-a deschis astfel ideea "dietei universale".

Eficacitatea dietelor artificiale în hrănirea diferitelor specii de insecte în condiții controlate de laborator depinde aşadar în special de conținutul și proporția ingredientelor (nutritive și nenutritive), care trebuie să asigure o dezvoltare optimă și un comportament de hrănire nemodificat. Cercetările în domeniul s-au axat însă și pe alte aspecte colaterale, evaluând importanța preparării unei diete, păstrarea, tehnica de

creștere, corelația dintre valoarea factorilor care controlează creșterea și ecologia speciei în natură, comportamental caracteristic de zbor, hrănire, reproducere, kairomonal și allomonal, în funcție de care se apreciază spațiul vital optim. Direcția cercetărilor efectuate în laborator este absolut obligatoriu să înălțe scopul studiilor.

BIBLIOGRAFIE

- ALLEGRET P. 1968. Action de l'alimentation larvaire sur le fonctionnement ovarien chez un Lépidoptère, *Galleria melonella* L. (Pyralidae). C. r. Sci. Soc. Biol., **162** (4): 971-975.
- BAILEY C.G. 1976. A quantitative study of consumption and utilization of various diets in the bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). Can. Entomol., **108**: 1319-1326.
- BOLLER E.F. 1972. Behavioral aspects of mass-rearing of insects. Entomophaga, **17** (1): 9-25.
- BREWER F.D., TIDWELL A.L., JR. 1975. Supplemental B-vitamins necessary to rear *Heliothis zea* on a wheat germ-based diet. Ann. Entomol. Soc. Amer., **68** (2): 365-366.
- CHIPPENDALE G.M. 1972. Composition of meridic diets for rearing plant-feeding lepidopterous larvae. Proceed. North Centr. Branch, ESA, **27**: 114-121.
- CLANCY K.M. 1991. Western spruce budworm response to different moisture levels in artificial diets. Forest Ecol. Manag., **39**: 223-235.
- FATZINGER C.W. 1970. Rearing successive generations od *Dioryctria abietella* (Lepidoptera: Pyralidae, Phycitinae) on artificial media. Ann. Entomol. Soc. Amer., **63** (3): 809-814.
- HEUTTEL M.D. 1976. Monitoring the quality of laboratory-reared insects: a biological and behavioral perspective. Environ. Entomol., **5** (5): 807-814.
- HOUSE H.L., SINGH P., BATSCHE W.W. 1971. Artificial diets for insects: a compilation of references with abstracts. Res. Branch Ca. Dept. Agric. Inf. Bul. (7), 157 pp.
- HURPIN B. 1962. Alimentation, développement et fécondité chez les insectes. Ann. Nutr. Alim., **16 A**: 153-200.
- LEPPLA N.C., FISHER W.R. 1989. Total quality control in insect mass production for insect pest management. J. Appl. Entomol., **108**: 452-461.
- NEEEM M., WALDBAUER G.P., FRIEDMAN S. 1992a. Self-selection and utilization efficiency of *Heliothis zea* larvae feeding on seeds and the walls of snap bean pods. Entomol. exp. appl., **62**: 211-219.
- NEEEM M., WALDBAUER G.P., FRIEDMAN S. 1992b. *Heliothis zea* larvae respond to diluted diets by increased searching behavior as well as by increasing feeding. Entomol. Exp. Appl., **65**: 95-98.
- OCHIENG-ODERO J.P.R. 1994. Does adaptation occur in insect rearing systems, or is it a case of selection, acclimatization and domestication. Insect Sci. Appl., **15** (1): 1-7.
- POITOUT S., BUES R. 1974. Elevage de chenilles de vingt-huit espèces de Lépidoptères Noctuidae et de deux espèces d'Arctiidæ sur milieu artificiel simple. Particularités de l'élevage selon les espèces. Ann. Zool. Ecol. Anim., **6** (3): 431-441.
- RAULSTON J.R. 1975. B-vitamin supplements required for soy flour-wheat germ diet used in rearing tobacco budworm. Ann. Entomol. Soc. Amer., **68** (2): 387-388.
- RAULSTON J.R., LINGREN P.D. 1972. Methods for large-scale rearing of the tobacco budworm. ARS, USDA, Prod. Res. Rep. (145), 10 p.
- RAUSHER M.D. 1981. Host plant selection by *Battus philenor* butterflies: the roles of predation nutrition and plant chemistry. Ecol. Monograph., **51** (1): 1-20.
- SINGH P. 1974. Artificial Diets for Insects. N.Z. Dep. Sci. Ind. Res., Bull. 214, 96 pp.
- SINGH P. 1983. A general purpose laboratory diet mixture for rearing insects. Insect Sci. Appl., **4** (4): 357-362.
- SINGH P., CHARLES J.G. 1977. An artificial diet for larvae of the potato tuber moth. N. Z. J. Zool., **4**: 449-451.
- SLANSKY F.JR. 1993. Nutritional ecology: the fundamental quest for nutrients. Pp. 29-91. In: STAMP N.E., CASEY T.M. (Eds.). Ecological and Evolutionary Constraints on Foraging of Caterpillars. Chapman & Hall, New-York.
- SLANSKY F.JR., WHEELER G.S. 1991. Food consumption and utilization responses to dietary dilution with cellulose and water by velvetbean caterpillars, *Anticarsia gemmatalis*. Physiol. Entomol., **16**: 99-116.

- SLANSKY F.JR., WHEELER G.S. 1992a. Feeding and growth responses of laboratory and field strains of velvetbean caterpillars (Lepidoptera: Noctuidae) to food nutrient level and allelochemicals. *J. Econ. Entomol.*, **85** (5): 1717-1730.
- SLANSKY F.JR., WHEELER G.S. 1992b. Caterpillars' compensatory feeding response to diluted nutrients leads to toxic allelochemical dose. *Entomol. Exp. Appl.*, **65**: 171-186.
- STAMP N.E. 1991. Stability of growth and consumption rates and food utilization efficiencies when insects are given an excess of food. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **84** (1): 58-60.
- STAN G. 1993. Mass-production and rearing procedures on artificial diets of the phytophagous insects used as basis support for entomophagous. Cap. VIII. Pp: 193-237. In: CIOCHIA V., ISAC G., STAN G. Technologies of industrial mass-production in the some auxiliary insect species used in biological control of the pests. Ed. Ceres (Bucureşti)(in romanian).
- STAN G., CHIŞ V. 1995. Studies on reproductive capacity in *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae): Evaluation of the spermatophores and the eggs number for different laboratory strains and generations, and for females collected in light trap during 1986-1991. *Bul. Inf. Soc. Lepid. Rom.*, **6** (3-4): 247-265.
- STAN G., COROIU I., CHIŞ V., TOMESCU N. 1986. Creșterea și reproducerea speciei *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae) în condiții de laborator în relație cu dietele artificiale. Pp. 233-240. In: *Lucr. A III-a Conf. Natl. Entomol.*, 20-22 Mai 1983, Iași.
- STAN G., NICOLESCU M.A., CHIŞ V. 1997. Growth and development of the *Mamestra brassicae* L. (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and pupae on artificial diets with addition of *Spirulina platensis* GEITL. (Cyanophyta: Oscillatoriaceae). *Bul. Inf. Soc. Lepid. Rom.*, **8** (3-4): 101-116 (in romanian).
- STEEL R.G.D., TORRIE J.H. 1960. Principles and Procedures of Statistics. McGraw Hill Book Co. Inc., New-York-Toronto-London, 433 pp.
- VANDERZANT E.S. 1966. Defined diets for phytophagous insects. Pp. 273-304. In: SMITH N.C. (Ed.). *Insect Colonization and Mass Production*. Acad. Press., New York.
- VELCHEVA N. 1985. Semisynthetic nutritive diet for laboratory rearing of *Mamestra brassicae* L. whiyout using an agar-agar. *Soil Sci. Agrochem. Plant Prot. (Sofia)*, **XX** (3): 155-160 (in bulgarian).
- WALDBUER G.P. 1968. The consumption and utilization of food by insects. *Adv. Insect Physiol.*, **5**: 229-288.
- WALDBAUER G.P., FRIEDMAN S. 1991. Self-selection of optimal diets by insects. *Annu. Rev. Entomol.*, **36**: 43-63.
- WALDBAUER G.P., COHEN R.W., FRIEDMAN S. 1984. Self-selection of an optimal nutrient mix from defined diets by larvae of the corn earworm, *Heliothis zea* (BODDIE). *Physiol. Zool.*, **57** (6): 590-597.
- WHEELER G.S., SLANSKY F.JR. 1991. Compensatory responses of the fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) when fed water-and cellulose-diluted diets. *Physiol. Entomol.*, **16**: 361-374.
- WHITFORD F., QUISENBERY S.S., MOELLENBECK D.J. 1992. Nutritional response by rice and corn fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) strains to dietary component substitution in artificial diets. *J. Econ. Entomol.*, **85** (4): 1491-1496.
- WISEMAN B.R. 1985. Types and mechanisms of host plant resistance to insect attack. *Insect Sci. Appl.*, **6** (3): 239-242.
- ZACHVATKIN Y.U.A., MONASTYRSKIY A.L. 1986. Opty dilitel'nogo kul'tivirovanya kapustnoi sovki (*Mamestra brassicae* L.) na iskusstvennykh pitatel'nykh sredakh. *Zashch. Rast.*, **2**: 129-138.

Gheorghe STAN
Georgeta STAN
Inst. Cercetări Biologice
Str. Republicii, 48
3400 CLUJ-NAPOCA

Viorica CHIŞ
Institutul de Chimie
"Ralucă Ripan"
Str. Fântânele, 30
3400 CLUJ-NAPOCA

Mihaela Alexandra NICOLESCU
BAYER - Romania
Str. Gh. Moceanu, 9A
71282 BUCURESTI - 1

1. Principii generale privind prepararea unei diete artificiale.

A. Varianta de dietă artificială cu agar, alginat, celuloză. Cu o zi înainte de preparare, în vasul folosit special pentru aceasta, în funcție de varianta de mediu, se pun ingredientele din grupa I (vezi Tab. 1) (se folosesc mixer-blendere, vase sub presiune, care sunt închise și în acest fel nu se modifică nivelul cantității de apă ceea ce ar duce la modificarea raportului între ingrediente și deci a consistenței mediului). A doua zi vasul se pune la foc. După dizolvarea completă se adaugă ingredientele din grupa II (initial mixate bine). Se fierb 20 min. Se adaugă apoi sărurile minerale (gr. III) (cel mai corect, dizolvate separat într-o cantitate cunoscută de apă, parte componentă a procentului total al apei din dietă). Se fierbe la aceeași intensitate timp de 5 min. Se adaugă apoi grupul IV (se amestecă continuu 5 min. până la dispariția miroslui ingredientului folosit). La aceeași intensitate de fierbere se adaugă ingredientele din gr. VIII. Din acest moment există două variante:

- dacă mediu se prepară într-un blender special în care se realizează și autoclavare, se oprește focul și se lasă să se răcească la 60°C;
- dacă mediu se prepară într-un vas sub presiune mai simplu, mediu se poate autoclava (120°C/102 k PA/20 min.).

După răcire la 60°C se adaugă grupul VI și VII și se amestecă continuu până la evaporarea completă a alcoolului. Se răcește în continuare la 50°C când se adaugă ingredientele din gr. V (vitaminele), amestecând continuu (3-5 min.). În continuare mediu se toarnă (sub iluminare UV) în vase speciale sau cutii Petri (initial dezinfecțate și sterilizate), și se lasă 5 min. sub expunere la UV. În final se acoperă și se poate folosi doar după 60-120 min. Se poate păstra și în cabinete termostatație la o temperatură în jur de 10°C (păstrarea la temperaturi de îngheț sau congelare afectează consistența, iar în momentul în care mediu este adus în laboratorul de creștere (23-25°C) acesta se fărâmitează (fenomen foarte evident la dietele fără agar).

B. Variante de diete artificiale fără agar (sau alți agenți chimici de gelificare). Se respectă aceleași sevențe procedurale doar că nu mai este nevoie de timpul în plus în care agarul este înmuiat în apă. De asemenea, în procedura de preparare trebuie respectată o tehnică căt mai corectă deoarece în absența agarului și prin modificarea nivelului apei din compozиție, consistența mediului poate să difere de fiecare dată. Pe de altă parte, aceste variante de diete artificiale este recomandat a se folosi prin păstrare în cutii Petri mari (2000 ml) până la răcire, după care, cu ajutorul unei spatule este pus în cutii Petri mici (apăsând pentru a adera de perete și a pune cutiile în poziția răsturnată). În studiile cantitative se pot folosi și cubulete de hrană.

C. Recomandări privind hrănirea. Creșterea larvelor se poate face deci sub cutii Petri mici schimbă progresiv în cutii mari (odată cu creșterea). În studiile noastre, din vîrstă 3-4 creșterea s-a făcut în sistem celular, în ultima vîrstă fiind o singură larvă/celulă. Această tehnică se recomandă tuturor speciilor, dar în special acelor care manifestă un comportament canibalistic. De asemenea, în funcție de specie și de comportamentul larvelor față de lumină (în funcție de evoluția vîrstei) se va folosi și metoda adecvată de administrare a mediului. Speciile de lepidoptere cu comportament nocturn au larve fototrope că sunt tinere. Din acest motiv mediu se pune în cutii răsturnate, iar larvele se deplasează, urcând pe mediu (această poziție este și în avantajul pontei care nu se pune direct pe mediu).

In timpul schimbării mediului larvele trebuie foarte puțin sau deloc atinse. Din acest punct de vedere metoda cutiilor Petri (sau a altor vase cu dimensiuni standard - cutii de smântână, cutii de înghețată, etc) este ajantajoasă deoarece în momentul administrării de mediu nou, operațiunea se face prin răsturnarea și suprapunerea cutiilor.

In timpul creșterii, umiditatea nu trebuie să fie excesivă, mai ales la larvele adulte. In acest caz sistemul celular trebuie să fie astfel conceput încât să permită o bună aerisire. Un ansamblu de celule are 40-48 celule (cu volum de 50-100 ml), iar în cabinetele termostatație acestea se pun suprapuse. Creșterea individuală a larvelor adulte elimină canibalismul sau transmiterea unor egenți patogeni de la unele larve sau pupe infestate. Pe de altă parte, procedeul prezintă avantaje în condițiile în care împupare este eșalonată în timp și larvele nu distrug pupele proaspăt formate. In felul acesta se evită malformarea pupelor (care se vor aduna numai a două zi după împupare, atunci când culoarea lor a devenit roșcat-brună). Pentru primele generații este nevoie de a adăuga un cub de mediu și în fază de la ultima vîrstă larvară la prepupă deoarece larvele devenind fotofobe caută să se adâncească în pământ pentru împupare și își vor forma

lăcașul de împupare în acest mediu. În condițiile creșterii în masă însă, nu este rentabilă o risipă de mediu, ca în care ansamblurile cu celule se vor pune la întuneric sau vor fi protejate de pereți speciali de culoare închisă (în situația în care creșterea se face în laboratoare mari termostatate).

O atenție specială trebuie acordată vaselor și dispozitivelor de creștere (și în general tuturor suprafețelor car vin în contact cu mediu) pentru a fi spălate și dezinfecțiate la timp pentru a elibera o eventuală contaminare cu diferiți agenți patogeni.

Referitor la toate aspectele care privesc creșterea controlată pe diete artificiale a insectelor (sau a altor grupe), un rol esențial îl prezintă structura și organizarea unui laborator de creștere. Compartimentarea și utilizarea spațiilor sale utilitare trebuie să aibă în vedere atât aspectele științifice cât și cele economice. În acest caz se folosesc spații mici și multe, în detrimentul termostatării unor spații prea mari. În literatura de specialitate există astăzi o serie de asemenea "modele" (RAULSTON & LINGREN 1972; LEPPA & ASHLEY 1989; STAN 1993).

2. Soluții și complexe de vitamine

S-au folosit atât amestecuri de substanțe sintetice pure cât și complexe vitaminice existente în farmacii. Vitaminele nu se adaugă direct în mediu ci se prepară sub formă unei soluții în apă bidistilată. Din aceasta se ia cantitatea care % corespunde datelor din Tab. 1, iar restul se păstrează special (condiții axenice, întuneric continuu, +5°C) până la o nouă folosire. Cantitatea preparată este în funcție de mărimea populației ce trebuie hrănita.

Combinățiile originale folosite în dietele experimentate pentru acest studiu sunt prezentate în tabelul următor:

Vitamine	Cantitatea (mg) necesară / 1000 ml dietă*				
	e	f	f-1	f-2	f-3
A (retinol; β-caroten)	0,78	3,00	5,00	1,55	-
D ₂ (calciferol)	0,02	0,05	0,08	0,04	-
E (tocoferol)	22,50	18,00	2,00	35,00	-
B ₁ (tiamină)	3,00	11,75	4,00	3,00	5,00
B ₂ (riboflavină)	3,00	8,00	2,00	3,00	5,00
B ₃ (ac. panthotenic)	4,50	10,00	2,00	3,00	5,00
B ₄ (colină)	255,00	-	-	170,00	50,00
B ₅ (PP) (Nicotinamida; niacină)	16,50	22,00	20,00	23,00	25,00
B ₆ (pyridoxină; adermină)	4,75	7,00	1,00	6,50	5,00
B ₇ (H; X) (biotina; ac. p-aminobenzoic; bios-2)	-	-	-	-	1,00
B ₈ (inozitol; bios-1)	75,00	-	-	-	50,00
B ₁₂ (cobalamina; cyanocobalamină)	0,0075	0,005	-	0,008	0,005
Ac. folic	-	-	-	-	3,00
Metionină	37,50	-	-	25,00	-
C (ac. ascorbic)**	30,00	80,00	60,00	60,00	-
Glucoză	-	-	-	5,00	-

- Literele e și f corespund cu marcarea din Tabelul 1. Celelalte abrevieri (f-1, f-2, f-3) indică alte variante folosite ca înlocuitori. Combinățiile de vitamine utilizate anterior au fost prezentate în lucrările publicate (STAN et al. 1986; STAN 1993).

Pentru stabilitate chimică, o anumită vitamina se află prezentă sub formă (s.f.) unui derivat sau combinație stabilă (ex. B₄ s.f. colihidrogenatar; clorură de colină; B₁ s.f. clorură de tiamină; B₆ s.f. clorură de piridoxină; E s.f. alfa-tocoferol acetat; B₃ s.f. panthotenat de calciu).

** - Cantitatea de vitamina C care se adaugă în complexul de vit. A+B+D+E. Această cantitatea se va scădea din vit. C care se adaugă separat (vezi Tab. 1). La fel se procedează și în cazul adăugării glucozei, de care se va ține cont la cantitatea de zahăr necesară la 1000 ml mediu.

Prepararea soluției de vitamine. Așa cum s-a precizat, complexul de vitamine se prepară într-o cantitate mai mare (cu posibilitate de folosire la 3-5 diete, pe un interval de 7-10 zile. Până la folosire se păstrează în condiții speciale descrise, pentru a evita contaminarea sau alterarea. Vitaminele, ca și substanțe pure se păstrează în condiții speciale (sticle de culoare brună, închidere ermetică, păstrare la rece). În momentul în care se prepară soluția, se lucrează în nișe sterile (cu UV). Etapele de preparare a unei asemenea soluții sunt următoarele:

- se ia apă bidistilată (50 ml, dacă se prepară o soluție pentru 1000 ml mediu; de această cantitate de apă se ține cont pentru % de apă din dietă; dacă se prepară o cantitate mai mare, se multiplică atât necesarul de apă cât și ceilalți constituienți);
- se adaugă acidul ascorbic și se agită până la dizolvare (se poate adăuga chiar și cantitatea care de obicei se adaugă separat - 0,20-0,35%); - se adaugă și glucoza (unde este cazul);
- se adaugă vitaminele din complexul B (fiecare se adaugă după dizolvarea celei anterioare);
- în final soluția se filtrează și se pună într-o sticlă de culoare cât mai închisă.

Inainte de fiecare folosire sticla se agită foarte bine.

3. Amestecuri de săruri minerale

In literatura de specialitate există o multitudine de asemenea "mixuri", uneori furnizate de firme strict specializate. Compoziția acestor este mai mult sau mai puțin sofisticată și evident se ține cont de rentabilitatea economică corelată cu necesarul pentru o anumită specie. Cercetările au evidențiat rolul unor asemenea săruri minerale pentru o dezvoltarea normală a larvelor. Combinăriile folosite pentru dietele incluse în această lucrare sunt prezentate în tabelul următor:

Substanță	Cantitatea (%) / amestec / variantă*			
	a (Sarea Wesson)	b (Sarea Debolt)	c (original)	d (original)
Acetat de zinc $[\text{CH}_3\text{COO}]_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	-	0,50	-
Clorură de potasiu (KCl)	12,00	-	10,00	16,00
Clorură de cobalt (CoCl_2)	-	0,90	-	1,00
Clorură de sodiu (NaCl)	10,50	6,30	10,00	18,00
Carbonat de calciu (CaCO_3)	21,00	-	24,00	22,00
Iodură de potasiu (KI)	0,005	-	-	-
Florură de sodiu (NaF)	0,06	-	-	0,005
Fosfat de calciu (CaHPO_4)	-	-	14,00	-
Fosfat tricalcic $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$	14,90	-	-	-
Fosfat de sodiu (Na_2HPO_4)	-	25,20	-	-
Fosfat de fier (FePO_4)	1,47	-	1,50	1,80
Fosfat monopotasic (KH_2PO_4)	-	50,00	-	30,00
Fosfat de potasiu (K_2HPO_4)	31,00	-	30,00	-
Sulfat de cupru ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0,04	0,10	0,30	0,05
Sulfat de mangan ($\text{MnSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)	0,02	0,80	0,10	0,02
Sulfat de magneziu (MgSO_4)	9,00	15,70	8,60	22,00
Sulfat de zinc (ZnSO_4)	-	0,70	-	0,02
Sulfat de Al și K $[\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4]$	0,009	-	0,005	0,009
Sulfat de fier $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$	-	-	1,00	-

In ceea ce privește utilizarea în dietă, se recomandă prepararea unei soluții separate, într-o anumită cantitate de apă bidistilată (de care se va ține cont în stabilirea % de apă din dietă), fiecare substanță fiind adăugată după dizolvarea celei anterioare. Din soluția finală se va lua % indicat în Tab. 1.

4. Soluții și metode de dezinfecțare a pontei, pupelor și dispozitivelor de creștere. In tehnologia de creștere dirijată (cu posibilitatea de control a calității populațiilor), în condiții de laborator sunt necesare prezenta condițiilor axenice. Pe lângă un laborator special (termostatat, cu aer steril sau condiționat) sunt

necesare și o serie de operații de dezinfecție sau sterilizare, pentru eliminarea sau atenuarea contaminării. Iată câteva posibilități (datele originale sau preluate și combinate din literatura de specialitate):

A. Pentru celule de creștere, vase, pupe, instalații:

- a. spălare cu soluție bicromat de potasiu 0,2%;
- b. spălare cu hipoclorit de calciu 20%, timp de 60 min.;
- c. atmosferă cu oxid de etilen, atmosferă cu sulf sau formaldehidă 5%;
- d. soluții concentrate speciale (ex. GOLDEN Producții, Fenosept, etc).

B. Soluții pentru pontă. Acestea sunt cele mai frecvente, ponta fiind "sursa primară" care introduce un agent patogen în cultura de laborator și care se va multiplică masiv datorită condițiilor oferite de ingrediente din dietă. Ponta se ia sub formă de rondele de pe hârtie de filtru pe care s-a depus, apoi aceste rondele se pun pe o bucată de tifon (deasupra unui vas) și peste ale se toarnă soluțiile de dezinfecție. Se lucrează cu atenție deoarece ouăle se desprind și se împărtășie. După terminarea operațiunilor de spălare, ouăle se pun la uscat într-un spațiu axenic, iar pe mediu se pun numai în momentul în care culoare devine brun-negricioasă. În condițiile în care există posibilitatea de a lucra în condiții axenice, se poate "sărî" pesta faza aceasta deoarece este greoaie și în absență unei îndemânări corespunzătoare, ponta poate fi afectată. Din experiență proprie s-a observat că fiecare substanță are un moment favorabil când metodă nu afectează calitatea pontei (în funcție de vîrstă ouului dar și de concentrația soluției în funcție de specia de la care provine ponta). Totuși, iată câteva metode mai frecvent folosite în acest caz și cele mai multe metode se referă la dezinfecțarea acestui stadiu:

- a. spălare în sol hipoclorit de sodiu 3%;
- b. spălare în hipoclorit de sodiu 5% (10 minute) și apoi spălare cu apă de robinet (30 min.);
- c. spălare cu hipoclorit de Na 0,2-0,4% (2 min.), spălare cu apă și uscare rapidă (aer Cald steril);
- d. spălare cu hidroxid de sodiu 2% (10 min.), spălare apoi cu apă, urmăză spălare cu formalină 2% (10 min.), și final, spălare cu apă și uscare;
- e. spălare cu sol hidroxid de sodiu 1% (5 min.), spălare cu apă distilată, reimersie în formaldehidă 15% (45 min.), spălare cu apă distilată, uscare la aer călduță;
- f. menținere (6 ore) într-un vas cu hârtie umectată cu 0,2 ml. soluție formaldehidă 5%;

5. Soluții împotriva agenților patogeni (ciuperci, bacterii, virusi, drojdi). Soluția SIC-5^{*} este un amestec original dintre nipagin (15 g) și ac benzoic (20 g), dizolvate în alcool etilic 95% (175 ml), din care se iau 20 sau 30 ml la 1000 ml dietă. Experimental au fost testate în alte variante și alte soluții SIC, constând în amestecuri dintre nipagin și acid sorbic (SIC-1), benzoat de sodiu și acid benzoic (SIC-2), acid benzoic și ac. salicilic (SIC-3), benzoat de sodiu, ac. benzoic și ac. salicilic (SIC-4). Cele mai corespunzătoare au fost SIC-1 și SIC-5 (aceleași cantități, dar ac. benzoic este mult mai rentabil economic decât ac. sorbic).

Antibioticele ^(*) s-au folosit foarte puțin, constând în tetraciclina + penicilină, ampicilină sau altele cu spectru mai larg. Utilizarea lor în cantități inadecvate influențează negativ calitatea dietei (determină diminuarea creșterii, apariția malformațiilor la adulții și în special determină diminuarea fecundității și creșterea sterilității)

6. Particularități specifice unor anumite ingrediente din diete. Colesterolul înainte de adăugare în dietă se dizolvă numai în alcool etilic 95% la cald. Nipaginul (metil-pară hidroxibenzoatul de sodiu), ac. sorbic sau alte amestecuri descrise mai sus, se dizolvă inițial numai în alcool etilic și în mediu se adaugă la sfârșitul perioadei de fierbere și autoclavare (în jur de 95-100°C) omogenizând dieta foarte bine până la dispariția alcoolului (prezența lui în dietă determină mortalitatea larvelor tinere). Tot în această perioadă se adaugă și ac. acetic glacial, formalina sau KOH. Sărurile minerale se dizolvă de asemenea separat în apă distilată din care se va lua % necesar și corespunzător cantității preparate. Prezența lipidelor în dieta artificială este deosebit de importantă deoarece înălătură malformarea aripilor și asigură o dezvoltare și reproducere, normale. Se folosește acidul linoleic ^(**) și ac. linolenic ^(*), individual sau în combinație. Cel mai frecvent se folosește primul. În lipsa substanței sub formă pură, pentru ac. linoleic se poate folosi uleiul de soia sau, cel mai bine, uleiul de floarea soarelui, iar pentru ac. linolenic se folosește uleiul de in fierb.