



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΑΣ & ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ  
& ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Χρήση νανοσωματιδίων στη διατροφή του μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombyciidae) και αξιολόγηση απόδοσης και ιδιοτήτων στην παραγόμενη ίνα



**Μαρίνα Ν. Μπροκάκη**

Επιβλέπων καθηγητής:

Γεώργιος Γκόρας, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2024**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΣΗΡΟΤΡΟΦΙΑΣ & ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Χρήση νανοσωματιδίων στη διατροφή του μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombyciidae) και αξιολόγηση απόδοσης και ιδιοτήτων στην παραγόμενη ίνα

Use of nanoparticles in the diet of the silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombyciidae) and evaluation of yield and properties in the produced fiber

**Μαρίνα Ν. Μπροκάκη**

Εξεταστική Επιτροπή:

Γεώργιος Γκόρας, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Νικόλαος Καβαλλιεράτος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Γεώργιος Κολιόπουλος, Επίκουρος Καθηγητής ΓΠΑ

**Χρήση νανοσωματιδίων στη διατροφή του μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombyciidae) και αξιολόγηση απόδοσης και ιδιοτήτων στην παραγόμενη ίνα**

*ΠΜΣ Ολοκληρωμένα Συστήματα Φυτοπροστασίας & Διαχείρισης του Περιβάλλοντος  
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής  
Εργαστήριο Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας*

## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις 1% και 2% w/v νανοσωματιδίων (NPs) του μαγνητίτη ( $Fe_3O_4$ ) μέσω τροποποιημένης σίτισης των προνυμφών του μεταξοσκώληκα σε διαφορετικές ηλικίες, με στόχο τη μελέτη της επίδρασης στα βιολογικά χαρακτηριστικά σε όλα τα στάδια του βιολογικού κύκλου του εντόμου, καθώς και την αξιολόγηση της ενσωμάτωσης των νανοσωματιδίων στην παραγόμενη ίνα μεταξιού.

Η επίδραση των  $Fe_3O_4$  NPs στις προνύμφες του μεταξοσκώληκα έγινε εμφανής τόσο από εξωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, όσο και σε ανατομικά. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε αλλαγή στο χρώμα της επιδερμίδας των προνυμφών σε κάθε ηλικία, καθώς και τροποποίηση του χρώματος της αιμολέμφου και των μεταξογόνων αδένων και στις δύο δόσεις, που αποδεικνύει ότι τα NPs είναι δυνατό να εισέλθουν στον οργανισμό του μεταξοσκώληκα και να προκαλέσουν αλλαγές. Επιπλέον, στη δόση 1% w/v το βάρος των προνυμφών σε όλες τις πειραματικές ομάδες ήταν μεγαλύτερο συγκριτικά με τη δόση 2% w/v. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο Μάρτυρας κατείχε το μεγαλύτερο βάρος προνυμφών συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες και στις δύο δόσεις. Το ποσοστό της επιβίωσης των προνυμφών μεταβλήθηκε ιδιαίτερα στις νεαρές ηλικίες (L2, L3) όντας πιο ευαίσθητες σε σύγκριση με τις πιο ώριμες (L4, L5) και αποδείχθηκε ότι με την αυξημένη δόση των 2% οι προνύμφες παρουσιάζουν μεγαλύτερη θνησιμότητα. Η τροποποιημένη διατροφή με  $Fe_3O_4$  NPs μπορεί να επηρεάσει το κλάδωμα των προνυμφών του μεταξοσκώληκα δημιουργώντας διαφορετικούς τύπους πλέξης ανάλογα με την ποιότητα των παραγόμενων κουκουλιών.

Η χρήση αυξημένης δόσης 2% w/v  $Fe_3O_4$  NPs στη διατροφή του μεταξοσκώληκα μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τη φυσιολογική ανάπτυξη των εντόμων και συνεπώς την ικανότητα ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης των προνυμφών σε νύμφες, ιδιαίτερα στις πιο ευαίσθητες νεαρές ηλικίες (L2, L3), συγκριτικά με τη δόση 1% w/v. Επιπλέον, το βάρος των νυμφών ήταν μεγαλύτερο στη δόση 1% σε σύγκριση με τη 2% w/v, ενώ παρουσιάστηκαν και νύμφες οι οποίες δεν σχημάτισαν βομβύκιο. Το ποσοστό επιβίωσης των νυμφών ήταν μεγαλύτερο στη δόση 1% w/v και όταν η χρήση των  $Fe_3O_4$  NPs πραγματοποιήθηκε στις πιο ώριμες ηλικίες (L4, L5) σε σύγκριση με τις νεαρές. Επί προσθέτως, το ποσοστό ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης ήταν αυξημένο στη δόση 1% w/v και στις μεγαλύτερες ηλικίες σε σύγκριση με τη 2% w/v.

Τα παραγόμενα βομβύκια από τη χρήση  $Fe_3O_4$  NPs απέκλιναν από το Μάρτυρα στην εξωτερική τους μορφολογία και ειδικότερα ο χρωματισμός τους ήταν πιο σκούρος γκριζωπός με διάσπαρτα πορτοκαλί-κόκκινα μπαλώματα στην επιφάνεια. Το βάρος των χλωρών κουκουλιών ήταν μεγαλύτερο στη δόση 1% w/v συγκριτικά με τη 2% w/v

σε όλες τις πειραματικές ομάδες, εκτός από το Μάρτυρα, ενώ το βάρος του άδειου κελύφους δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές στις δύο δόσεις.

Τα ενήλικα άτομα του μεταξοσκώληκα που προέκυψαν από την τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs παρουσίασαν σημαντικές αποκλίσεις από το Μάρτυρα τόσο στην εξωτερική μορφολογία τους όσο και στη συμπεριφορά τους και στις δύο δόσεις. Επιπλέον, τόσο το βάρος των ακμαίων ατόμων, όσο και το ποσοστό επιβίωσης και φυλοκαθορισμού αποδείχθηκε ότι είναι ανεξάρτητα από τη χρήση  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs. Παρόλα αυτά, το ποσοστό συζεύξεων των αρσενικών φάνηκε να επηρεάζεται αναλόγως την έναρξη ηλικίας μεταχείρισης και στις δύο δόσεις σε σύγκριση με τα θηλυκά. Επί προσθέτως, η βιωσιμότητα των ενηλίκων αξιολογούμενη σε αριθμό ημερών ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στα θηλυκά άτομα σε όλες τις πειραματικές ομάδες και στις δύο δόσεις, συγκριτικά με τα αντίστοιχα αρσενικά.

Το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) που χρησιμοποιήθηκε στο πειραματικό μέρος είναι του εμπορικού υβριδίου μεταξοσκώληκα (Qiufeng x Baiyu). Επιπλέον, αξιολογήθηκαν και τα παραγόμενα ωά των θηλυκών που είχαν δεχτεί τροποποιημένη διατροφή με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs. Συγκεκριμένα, τόσο ο αριθμός όσο και το ποσοστό γονιμοποίησης των ωών ήταν σημαντικά μεγαλύτερα στη δόση 1% w/v και όσο αυξανόταν η ηλικία στην οποία έγινε η χρήση των NPs, σε σύγκριση με την αυξημένη δόση του 2% w/v. Ο Μάρτυρας κατείχε το μεγαλύτερο αριθμό παραγόμενων ωών συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες και στις δύο δόσεις.

Τέλος, για τη μελέτη της παραγόμενης ίνας δημιουργήθηκαν παρασκευάσματα τα οποία εξετάστηκαν τόσο σε στερεοσκόπιο όσο και σε μικροσκόπιο (οπτικό και αντίθετης φάσης). Μέσω της παρατήρησης των παρασκευασμάτων αποδείχθηκε ότι τόσο τα νανοσωματίδια από τη δόση 1% όσο και από τη 2% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  κατάφεραν να ενσωματωθούν στο παραγόμενο μετάξι τροποποιώντας μάλιστα την εξωτερική του μορφολογία ως προς το χρώμα και την υφή.

## **Επιστημονική περιοχή:** Σηροτροφία

**Λέξεις κλειδιά:** Νανοσωματίδια, σηροτροφία, μεταξοσκώληκας, απόδοση, ιδιότητες, ίνα

**Use of nanoparticles in the diet of the silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) and evaluation of yield and properties in the produced fiber**

*MSc Integrated Plant Protection & Environmental Management Systems  
Faculty of Crop Science  
Laboratory of Sericulture & Beekeeping*

**ABSTRACT**

In the present study, two different concentrations of 1% and 2% w/v nanoparticles (NPs) of magnetite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) were used through modified feeding of silkworm larvae at different ages, with the aim of studying the effect on biological characteristics in all stages of the biological cycle of the insect, as well as evaluating the incorporation of nanoparticles into the produced silk fiber.

The effect of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs on the silkworm larvae was evident both from external morphological characteristics and anatomical ones. In particular, a change in the color of the larvae's skin was observed at each age, as well as a modification of the color of the hemolymph and silk glands in both doses, which proves that the NPs are able to enter the silkworm organism and cause changes. In addition, at the dose of 1% w/v the larval weight in all experimental groups was higher compared to the dose of 2% w/v. It is worth noting that the Control possessed the highest weight of larvae compared to the other groups in both doses. The percentage of larval survival varied particularly in the young ages (L2, L3) being more sensitive compared to the more mature ones (L4, L5) and it was shown that with the increased dose of 2% the larvae show a higher mortality. The modified diet with  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs can affect the branching of silkworm larvae by creating different types of webbing depending on the quality of the cocoons produced.

The use of an increased dose of 2% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs in the silkworm diet may negatively affect the normal development of the insects and thus the ability to complete the metamorphosis of the larvae into pupae, especially in the more sensitive young instars (L2, L3), compared to dose 1% w/v. In addition, pupal weight was greater at the 1% dose compared to 2% w/v, and pupae that did not pupate were also produced. The survival rate of nymphs was higher at the dose of 1% w/v and when the use of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs was carried out at the most mature ages (L4, L5) compared to juveniles. In addition, the rate of metamorphosis completion was increased at the 1% w/v dose and at older ages compared to 2% w/v.

The cocoons produced using  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs deviated from the Control in their external morphology and in particular their coloring was darker grayish with scattered orange-red patches on the surface. Green cocoon weight was greater at 1% w/v dose compared to 2% w/v in all experimental groups, except Control, while empty shell weight did not show statistically significant differences in the two doses.

Silkworm adults resulting from modified larval feeding with  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs showed significant deviations from the Control both in their external morphology and behavior at both doses. In addition, both the weight of thriving individuals, the survival and sexing rate were shown to be independent of the use of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs. However, the mating rate of males appeared to be affected by age of initiation of treatment at both doses compared to females. Additionally, the viability of adults assessed in number of days

was significantly greater in females in all experimental groups and at both doses, compared to the corresponding males.

The material of use (silk seed) used in the experimental part is of the commercial hybrid silkworm (Qiufeng x Baiyu). In addition, the eggs produced by females fed a modified diet with Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs were also evaluated. In particular, both the number and fertilization rate of eggs were significantly higher at the 1% w/v dose and as the age at which NPs were applied increased, compared to the increased dose of 2% w/v. The Control possessed the highest number of produced eggs compared to the other groups in both doses.

Finally, for the study of the produced fiber, preparations were created which were examined both in a stereoscope and in a microscope (optical and phase contrast). Through the observation of the preparations, it was shown that both the nanoparticles from the dose of 1% and from the 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> were able to be incorporated into the produced silk, even modifying its external morphology in terms of color and texture.

**Scientific area:** Sericulture

**Keywords:** Nanoparticles, sericulture, silkworm, yield, properties, silk

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Επίκουρο Καθηγητή του εργαστηρίου Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, κύριο Γκόρα Γεώργιο για την εμπιστοσύνη και την αμέριστη βοήθειά του κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της παρούσας μελέτης. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Δημήτριο Λαζαράκη (ΕΔΙΠ) για τις πολύτιμες συμβουλές του και τη βοήθειά του αναφορικά με τις εκτροφές των μεταξοσκωλήκων καθώς και όλους τους συναδέλφους του εργαστηρίου Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Επί προσθέτως, ευχαριστώ θερμά τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς επιτροπής και συγκεκριμένα τον κ. Καβαλλιεράτο Νικόλαο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και τον κ. Κολιόπουλο Γεώργιο, Επίκουρο Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, τους οποίους γνώρισα κατά τη διάρκεια των σπουδών μου στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα «Ολοκληρωμένα Συστήματα Φυτοπροστασίας και Διαχείρισης του Περιβάλλοντος». Θα ήθελα να τους ευχαριστήσω για τις λεπτομερείς διορθώσεις και τις συμβουλές τους που συνέβαλαν στο τελικό αποτέλεσμα της παρούσας διπλωματικής μελέτης.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για όλη την στήριξή τους κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

---

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	3
<b>ABSTRACT</b> .....	3
<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> .....	5
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	11
1.1. Γενικά .....	11
1.2. Στοιχεία που αφορούν τη συστηματική και τη βιολογία του <i>B. mori</i> .....	12
1.2.1. Η συστηματική κατάταξη του <i>B. mori</i> L.....	12
1.2.2. Ο βιολογικός κύκλος του <i>Bombyx mori</i> L.....	15
1.2.3. Η Φυσιολογία αναπαραγωγής του <i>B. mori</i> L.....	17
1.2.3.1. Η μορφολογία του ωού.....	17
1.2.3.2. Η φυσιολογία του ωού, διάπαυση, διαχείμαση και βολτινισμός.....	21
1.3. Ιστορικά στοιχεία αναφορικά με τη σηροτροφία και το μετάξι.....	22
1.3.1. Γενικά .....	22
1.3.2. Η προϊστορία που αφορά το μετάξι.....	23
1.3.3. Η σηροτροφία ως ένα εξαιρετικά πολύτιμο μυστικό .....	24
1.3.4. Η σηροτροφία, το εμπόριο και ο πολιτισμός.....	26
1.4. Το μετάξι .....	28
1.4.1. Γενικά .....	28
1.4.2. Οι ιδιότητες του μεταξιού.....	30
1.4.2.1. Οι χημικές ιδιότητες του μεταξιού .....	31
1.4.2.1.1 Πρωτοταγής δομή της φιβροΐνης του μεταξιού.....	32
1.4.2.1.2 Δευτεροταγής δομή της φιβροΐνης του μεταξιού .....	35
1.4.2.2. Οι φυσικές ιδιότητες του μεταξιού.....	36
1.4.3. Το μετάξι στο χώρο του διεθνούς εμπορίου.....	39
1.4.3.1. Το μετάξι στον κόσμο .....	39
1.4.3.2. Το μετάξι σε Ευρώπη και Ελλάδα.....	41
1.5. Στήριξη και προώθηση του σηροτροφικού κλάδου .....	43
<b>2. ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ</b> .....	44
2.1. Γενικά .....	44
2.2. Ταξινόμηση των νανοσωματιδίων.....	45



2.3. Ιδιότητες των νανοσωματιδίων .....	47
2.4. Μέθοδοι σύνθεσης νανοσωματιδίων.....	48
2.4.1. Μέθοδος από «κάτω προς τα πάνω» (bottom-up method).....	49
2.4.2. Μέθοδος από «πάνω προς τα κάτω» (top-down method) .....	49
2.4.3. Χημική σύνθεση νανοσωματιδίων .....	52
2.4.4. Φυσικές μέθοδοι σύνθεσης νανοσωματιδίων.....	52
2.4.5. Φυσικοχημικές μέθοδοι σύνθεσης νανοσωματιδίων .....	52
2.4.5.1. Μηχανισμός βιοσύνθεσης βιολογικών νανοσωματιδίων .....	53
2.5. Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων.....	54
2.6. Εφαρμογές των νανοσωματιδίων .....	61
2.6.1. Εφαρμογές νανοσωματιδίων σε καλλυντικά και αντηλιακά .....	62
2.6.2. Βιοϊατρικές εφαρμογές των νανοσωματιδίων .....	62
2.6.3. Εφαρμογές νανοσωματιδίων στα τρόφιμα .....	63
2.6.4. Εφαρμογές νανοσωματιδίων στη γεωργία .....	64
2.6.4.1. Νανοσωματίδια ως εντομοκτόνα.....	64
2.6.4.2. Νανοσωματίδια ως μυκητοκτόνα.....	65
2.6.4.3. Τα νανοσωματίδια ως παροχή μικροθρεπτικών συστατικών.....	66
2.6.4.4. Νανοζιζανιοκτόνα .....	67
2.7. Νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου III (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> ) – Μαγνητίτης.....	68
2.7.1. Οι χημικές ιδιότητες του μαγνητίτη .....	71
2.7.2. Οι μαγνητικές ιδιότητες του μαγνητίτη.....	72
<b>3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....</b>	<b>74</b>
3.1. Γενικά.....	74
3.2. Πειραματική διαδικασία.....	75
3.3. Δειγματοληψία και ποιοτικός έλεγχος των κουτιών μεταξόσπορου .....	75
3.3.1. Καταμέτρηση των ωών ανά κουτί μεταξόσπορου και έλεγχος για ελαττωματικά ή αγονιμοποίητα ωά και διάφορα ξένα σώματα .....	76
3.3.2. Ο έλεγχος για την πιπερίτιδα ( <i>Nosema bombycis</i> ) .....	78
3.3.3. Επώαση και έλεγχος αναφορικά με το ποσοστό εκκολαπτικότητας.....	80
3.4. Οι εκτροφές των μεταξοσκωλήκων.....	84
3.4.1. Απολύμανση των εργαλείων και των χώρων .....	86
3.4.2. Εκτροφές προνυμφών 1ης έως 3ης ηλικίας.....	87
3.4.3. Εκτροφές προνυμφών 4ης και 5ης ηλικίας .....	89
3.4.4. Πραγματοποίηση της αραίωσης των προνυμφών .....	89

3.4.5. Η αφαίρεση των στρωμών.....	90
3.4.6. Εξίσωση των διαφόρων προνυμφικών ηλικιών.....	91
3.5. Δημιουργία διαλυμάτων με Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NPs.....	92
3.5.1. Η μέθοδος της εμβάπτισης των φύλλων σε διαλύματα με Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NPs.....	93
3.5.2. Επιλογή προνυμφών για χρήση «τροποποιημένης διατροφής» με Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> NPs .....	95
3.6. Κλάδωμα .....	97
3.7. Ξεκλάδωμα.....	98
3.8. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά προνυμφών .....	100
3.8.1. Το χρώμα της αιμολέμφου .....	101
3.8.2. Μετρήσεις βάρους προνυμφών .....	101
3.8.3. Ανατομή προνυμφών 5ης ηλικίας .....	102
3.9. Η καταγραφή των χαρακτηριστικών βομβυκίων, νυμφών και ακμαίων.....	103
3.9.1. Το χρώμα των βομβυκίων .....	104
3.9.2. Μετρήσεις βάρους βομβυκίων .....	104
3.9.3. Μετρήσεις βάρους και καθορισμός φύλου νυμφών .....	104
3.9.4. Το βάρος του κελύφους.....	105
3.9.5. Μετρήσεις βάρους ακμαίων .....	106
3.10. Μετρήσεις των χαρακτηριστικών γονιμότητας.....	106
3.10.1. Πραγματοποίηση ελεγχόμενων συζεύξεων.....	106
3.10.2. Αποκόλληση των ωών και πλύσιμο .....	109
3.10.3. Μετρήσεις αριθμού ωών .....	110
3.10.4. Μετρήσεις του βάρους των ωών .....	111
3.10.5. Η διατήρηση, φύλαξη και διαχείμαση των ωών.....	111
3.11. Παρασκευάσματα ίνας για παρατήρηση .....	112
3.12 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων .....	113
<b>4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>115</b>
4.1 Εισαγωγή.....	115
4.2 Προνύμφες.....	115
4.2.1 Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά προνυμφών .....	115
4.2.2 Χρώμα αιμολέμφου και μεταξογόνων αδένων.....	118
4.2.3 Βάρος προνυμφών 5 <sup>ης</sup> προνυμφικής ηλικίας.....	122
4.2.4 Ποσοστό (%) επιβίωσης προνυμφών .....	133
4.2.5 Ποσοστό (%) κλαδώματος και «Τύπος πλέξης» .....	139

4.3 Νύμφες .....	146
4.3.1 Βάρος Νυμφών .....	151
4.3.2 Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο.....	160
4.3.3 Ποσοστό (%) επιβίωσης νυμφών .....	169
4.3.4 Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου νυμφών .....	174
4.3.5 Ποσοστό (%) ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης.....	183
4.4 Βομβύκια .....	188
4.4.1 Χρώμα βομβυκίων.....	188
4.4.2 Βάρος βομβυκίων .....	193
4.4.3 Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου .....	216
4.4.4 Βάρος άδειου κελύφους.....	224
4.5 Ακμαία.....	235
4.5.1 Μορφολογία ακμαίων.....	235
4.5.2 Βάρος ακμαίων .....	239
4.5.3 Ποσοστό (%) επιβίωσης ακμαίων .....	246
4.5.4 Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου ακμαίων .....	250
4.5.5 Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών.....	258
4.5.6 Ποσοστό (%) συζεύξεων ακμαίων .....	271
4.5.7 Αριθμός συζεύξεων αρσενικών .....	284
4.6 Ωά .....	291
4.6.1 Αναπαραγωγική ικανότητα και αριθμός ωών .....	291
4.6.2 Ποσοστό (%) αναπαραγωγικής ικανότητας .....	296
4.6.3 Ποσοστό (%) γονιμοποίησης ωών .....	297
4.6.4 Αριθμός ωών ανά γραμμάριο από υλικό χρήσης .....	299
4.6.5 Αγονιμοποίητα ωά από υλικό χρήσης.....	300
4.6.6 Ποσοστό (%) εκκολαπτικότητας ωών από υλικό χρήσης .....	301
4.7 Ίνα .....	302
4.7.1 Παρασκευάσματα ίνας προς παρατήρηση.....	302
<b>5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....</b>	<b>317</b>
5.1 Εισαγωγή .....	317
5.2 Προνόμφες.....	317
5.3 Νύμφες .....	320
5.4 Βομβύκια .....	324

5.5 Ακμαία.....	327
5.6 Ωά.....	331
5.7 Ίνα .....	332
5.8 Μελλοντικές προοπτικές χρήσης των νανοσωματιδίων στη σηροτροφία.....	333
<b>6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>335</b>
6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	335
6.2 Ελληνική βιβλιογραφία .....	341
6.3 Υπηρεσιακά Έγγραφα .....	342
6.4 Βιβλιογραφία εικόνων γενικού μέρους – πηγές από διαδίκτυο.....	342

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1. Γενικά

Η σηροτροφία αποτελεί κλάδο της γεωργίας που στη διάρκεια της επί αιώνων ιστορίας του έχει βρεθεί στην ακμή καθώς και στην παρακμή (Χαριζάνης & Τζιτζινάκης, 2011 α, β.) Το είδος *Bombyx mori* L. το οποίο είναι κοινώς γνωστό ως ο μεταξοσκώληκας της μουριάς, αποτελεί ένα από τα πιο παραγωγικά είδη όσον αφορά το μετάξι του. Επιπλέον, το μετάξι έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας υψηλής ραπτικής και των υφαντουργών για την παραγωγή υφασμάτων κομψοτεχνημάτων, λόγω της αντοχής και της λαμπρότητάς του (Tzitzinakis et al., 2008, Subramanya and Bishop, 2011).

Ανάλογα με το γενετικό στέλεχος ή τη φυλή του *B. mori* που χρησιμοποιείται επηρεάζεται τόσο η ποσότητα όσο και η ποιότητα του παραγόμενου μεταξιού (Tazima, 1984). Εξαιρετικά σημαντικές είναι οι επιδράσεις του φαινομένου της ετέρωσης ή υβριδικής υπεροχής καθώς και οι πραγματοποιούμενες διασταυρώσεις, οι οποίες μπορούν να αυξήσουν τόσο την προσαρμοστικότητα του είδους όσο και την παραγωγικότητα (Subramanya and Bishop, 2011).

Ο εκσυγχρονισμός και συνάμα οι βελτιώσεις ιδιαίτερων τεχνικών που χρησιμοποιούνται στις εκτροφές του μεταξοσκώληκα και στην καλλιέργεια της μουριάς αποτελούν καίρια σημεία για την οικονομικά βιώσιμη πρακτική της σηροτροφίας (Aruga 1994). Γι' αυτό το λόγο, η ορθή διαχείριση των γενετικών στελεχών του είδους, η διαφύλαξη και η όσο το δυνατό βελτίωσή τους συμβάλλουν στην επίτευξη της οικονομικά αποδοτικής εκμετάλλευσης του μεταξοσκώληκα (Τζιτζινάκης 2012).

Στο κεφάλαιο αυτό θα πραγματοποιηθεί εκτενής αναφορά στο Λεπιδόπτερο *B. mori*, που αποτελεί τη βάση της σηροτροφίας, μέσω αναφοράς στην προέλευση του είδους και στη συστηματική κατάταξη. Επιπλέον, θα αναφερθούν στοιχεία για τη βιολογία του οργανισμού τα οποία αφορούν το βιολογικό κύκλο και τη φυσιολογία της αναπαραγωγής που αποτελούν καθοριστικές παραμέτρους τόσο κατά τη διάρκεια μιας επιχειρηματικής εκτροφής όσο και για τη γενετική βελτίωσή του τόσο για εμπορικούς όσο και για ερευνητικούς σκοπούς. Επιπλέον, πραγματοποιείται μία βιβλιογραφική ανασκόπηση για την ιστορία της σηροτροφίας σε συνάρτηση με την ανάπτυξη των σχέσεων του εμπορίου μεταξύ αρχαίων πολιτισμών κατά την εποχή του «δρόμου του μεταξιού», προσέγγιση που αναδεικνύει την τεράστια ιδιαιτερότητα και

διαχρονικότητα του συγκεκριμένου κλάδου. Επί προσθέτως, γίνεται αναφορά στις ιδιότητες του μεταξιού ως προϊόν ζωικής προέλευσης και υλικό για ύφανση καθώς και στις θετικές επιδράσεις που παρέχει η χρήση του στην υγεία λόγω των χαρακτηριστικών του. Το ίδιο σημαντική θεωρήθηκε η αποτύπωση της τωρινής κατάστασης τόσο στην παγκόσμια αγορά του μεταξιού όσο και σε ευρωπαϊκό και εθνικό επίπεδο που αφορά τη σηροτροφία. Τέλος, αναφέρεται η ορθολογική διαχείριση και αξιοποίηση των υπαρχόντων γενετικών πόρων μεταξοσκώληκα καθώς και οι πιο πρόσφατες επιστημονικές εξελίξεις που αφορούν τον κλάδο και μέθοδοι που δύναται να χρησιμοποιηθούν σε σχέση με τον προσδιορισμό της ετεροζυγωτίας μεταξύ των διατηρούμενων πληθυσμών.

## **1.2. Στοιχεία που αφορούν τη συστηματική και τη βιολογία του *B. mori***

### **1.2.1. Η συστηματική κατάταξη του *B. mori* L.**

Το είδος *Bombyx mori* L., κοινώς μεταξοσκώληκας, αποτελεί τη βάση της σηροτροφίας. Αποτελεί ένα έντομο του οποίου η επίδραση και η σπουδαιότητα στην ιστορική πορεία της ανθρωπότητας είναι αδιαμφισβήτητη. Η εκμετάλλευση και η εξημέρωση του μεταξοσκώληκα έχει τις ρίζες της τουλάχιστον 5000 έτη πριν, ενώ η αξία του παραγόμενου προϊόντος συνεχίζει να είναι υψηλή στη σύγχρονη οικονομία (Xu et al., 2002).

Ο εξημερωμένος μεταξοσκώληκας της μουριάς *B. mori* ανήκει στην οικογένεια των Βομβυκιδών (Bombycidae) και η συστηματική του κατάταξη αναφέρεται στον παρακάτω **Πίνακα 1**.

**Πίνακας 1:** Συστηματική κατάταξη του μεταξοσκώληκα *B. mori* L.

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

Ένα λεπιδόπτερο του ίδιου γένους το οποίο βρίσκεται στην Ιαπωνία, την Κίνα και άλλες χώρες και θεωρείται ως ο «άγριος πρόγονος» του είδους είναι το *Bombyx (Theophila) mandarina* Butler (**Εικόνες 1, 2, 3**). Το είδος αυτό, όπως και ο κοινός μεταξοσκώληκας, τρέφεται με φύλλα μουριάς και γι' αυτό το λόγο αποτελεί εχθρό της καλλιέργειας (Aruga, 1994). Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι μεταλλάξεις έχουν μεταφερθεί από το *B. mandarina* στο εξημερωμένο πλέον *B. mori* μέσω του φαινομένου του εσδοχικού υβριδισμού, όπως η μετάλλαξη του «άγριου διάφανου μεταξοσκώληκα» (Wild translucent silkworm) (Nakamura et al., 1999). Το *B. mandarina* εξακολουθεί να υπάρχει σε μορεώνες και παραμένει πολύτιμη πηγή γενετικών σημαντών και μεταλλάξεων που υπόκεινται στο καθεστώς της φυσικής επιλογής (Goldsmith et al., 2005).



**Εικόνα 1:** Προνύμφη του *Bombyx (Theophila) mandarina* Butler. (Πηγή: <https://1.bp.blogspot.com/lwqkEpVd6JU/V0bT5IY32vI/AAAAAAAAAD0o/tmVilTh15I4TYQBti4Zb6vCiZH973lyggCKgB/s1600/P1280914.JPG>)

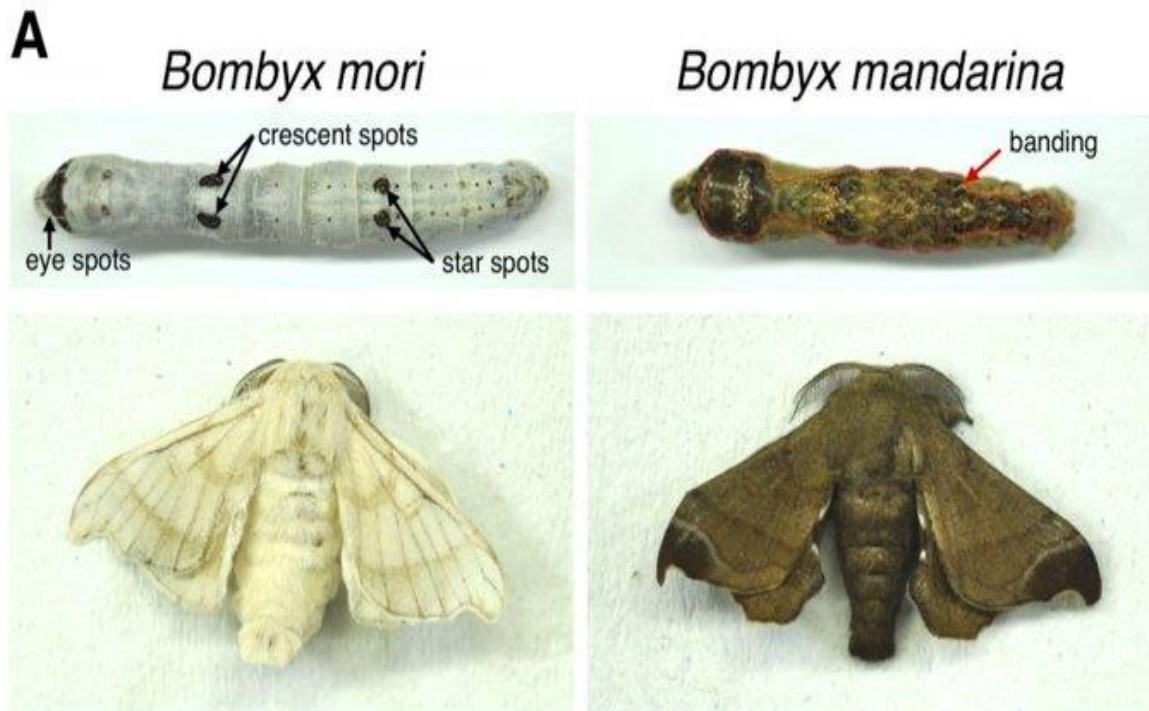
Αποδεικνύεται μέσω αρχαιολογικών ευρημάτων πως το είδος *B. mori* εξημερώθηκε στην Κίνα τουλάχιστον 5000 έτη πριν. Ο απλοειδής αριθμός των χρωμοσωμάτων ( $n$ ) από πληθυσμούς στην Κίνα του *B. mandarina* είναι  $n = 28$  όπως και του εξημερωμένου μεταξοσκώληκα *B. mori*. Εντούτοις, ο αντίστοιχος αριθμός χρωμοσωμάτων από ιαπωνικούς και κορεάτικους πληθυσμούς του *B. mandarina* είναι  $n = 27$  (Nakamura et al., 2001, Meng & Xu, 2000). Η προέλευση αυτών των

κυτταρογενετικών διαφοροποιήσεων είναι ακόμη υπό διερεύνηση, λαμβάνοντας υπόψη την επίδραση της χρωμοσωμικής συγχώνευσης (Maekawa et al., 1988, Shimada et al., 1995, Nakamura et al., 1999). Επιπλέον, σύμφωνα με τη μελέτη των Maekawa et al., 1988 σχετικά με τη γονιδιακή δομή των ριβοσωμάτων, μια γεωγραφική κατόπτευση των δύο καρυοτυπικών σχημάτων του *B. mandarina* υποδηλώνει πως υπήρξε διαχωρισμός των δύο πληθυσμών σε περιοχές που βρίσκονται βόρεια του κορεάτικου ισθμού (Nakamura et al., 1999). Με τη συνδρομή των μοριακών αναλύσεων σε επίπεδο νουκλεοτιδικών διαφορών στο μιτοχονδριακό γονίδιο NAD5, καταδεικνύεται πως ο διαχωρισμός πραγματοποιήθηκε πολύ νωρίτερα από την εποχή που χρονολογείται η εξημέρωση του *B. mori* (Yukuhiro et al., 2002) και αυτό ενισχύεται επιπλέον από φυλογενετικές αναλύσεις (Yamauchi et al., 2000, Goldsmith et al., 2005).



**Εικόνα 2:** Ακμαία θηλυκά άτομα του *Bombyx mori* L. (αριστερά) και *Bombyx mandarina* (δεξιά). (Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/bombyx-mandarina>)

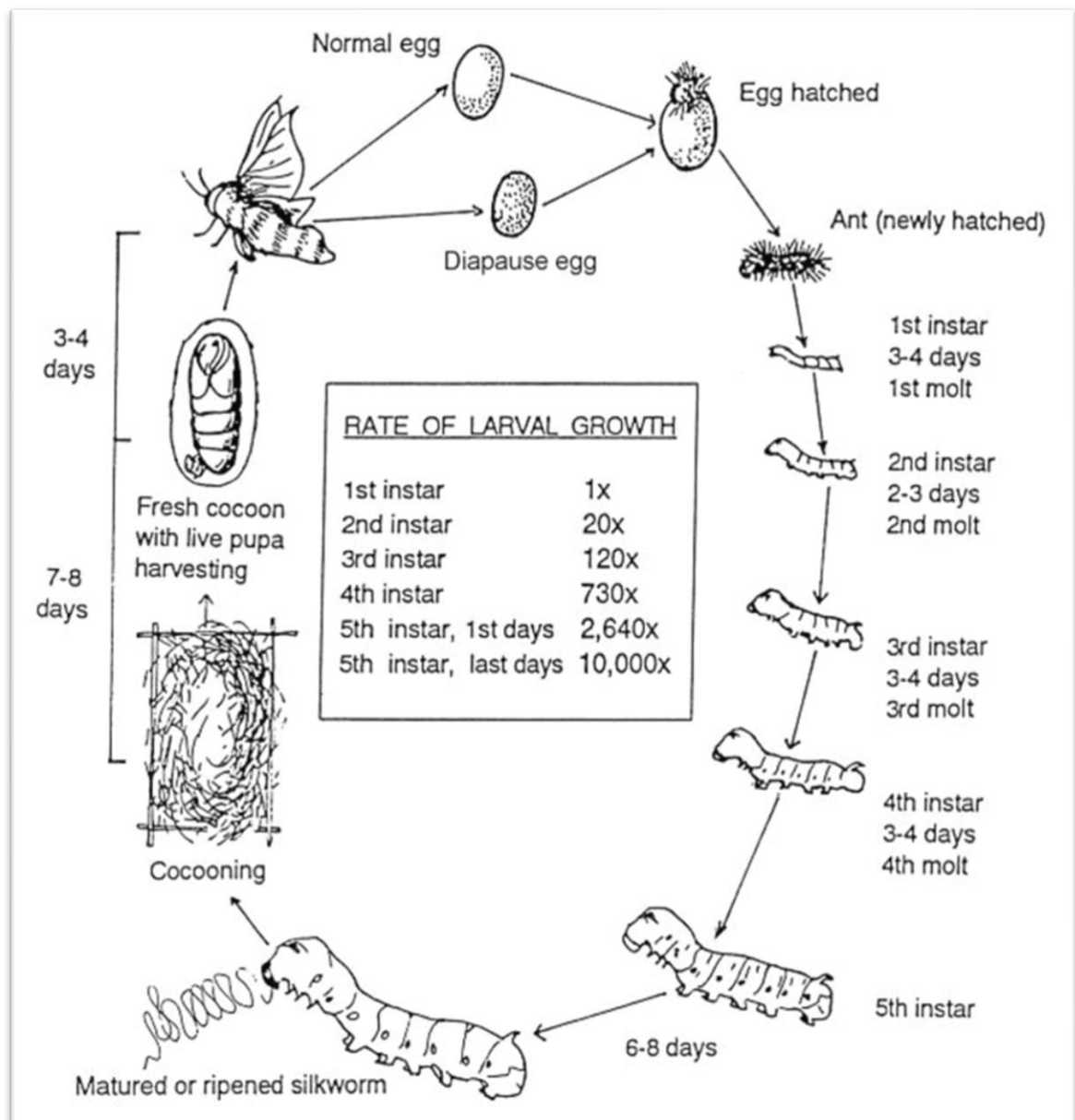




**Εικόνα 3:** Διαφορές μεταξύ προνυμφών και ακμαίων ατόμων του *Bombyx mori* L. (αριστερά) και *Bombyx mandarina* (δεξιά). Παρατηρούνται οι εξής επισημάνσεις στην προνύμφη του *B. mori* (πάνω αριστερά): eye spots = στίγματα στους οφθαλμούς, crescent spots = στίγματα σε σχήμα «ημισελήνου», star spots = στίγματα σε σχήμα άστρου. Στην προνύμφη του *B. mandarina* (πάνω δεξιά) παρατηρείται η επισήμανση banding = ζωνώσεις. (Πηγή: <https://pbs.twimg.com/media/FSesZHCWQAIy3Sy?format=jpg&name=small>)

### 1.2.2. Ο βιολογικός κύκλος του *Bombyx mori* L.

Το *Bombyx mori* L. αποτελεί ένα ολομετάβολο είδος εντόμου και κατά τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου διέρχεται από τα εξής αναπτυξιακά στάδια: 1) ωό, 2) προνύμφη, 3) νύμφη (ή χρυσαλίδα) και 4) ακμαίο (**Εικόνα 4**).



**Εικόνα 4:** Ο βιολογικός κύκλος του *B. mori* L. και ο ρυθμός ανάπτυξης των προνυμφών. (Πηγή: [https://www.researchgate.net/figure/Stages-of-life-history-of-mulberry-silk-worm-Bombyx-mori\\_fig5\\_330924824](https://www.researchgate.net/figure/Stages-of-life-history-of-mulberry-silk-worm-Bombyx-mori_fig5_330924824))

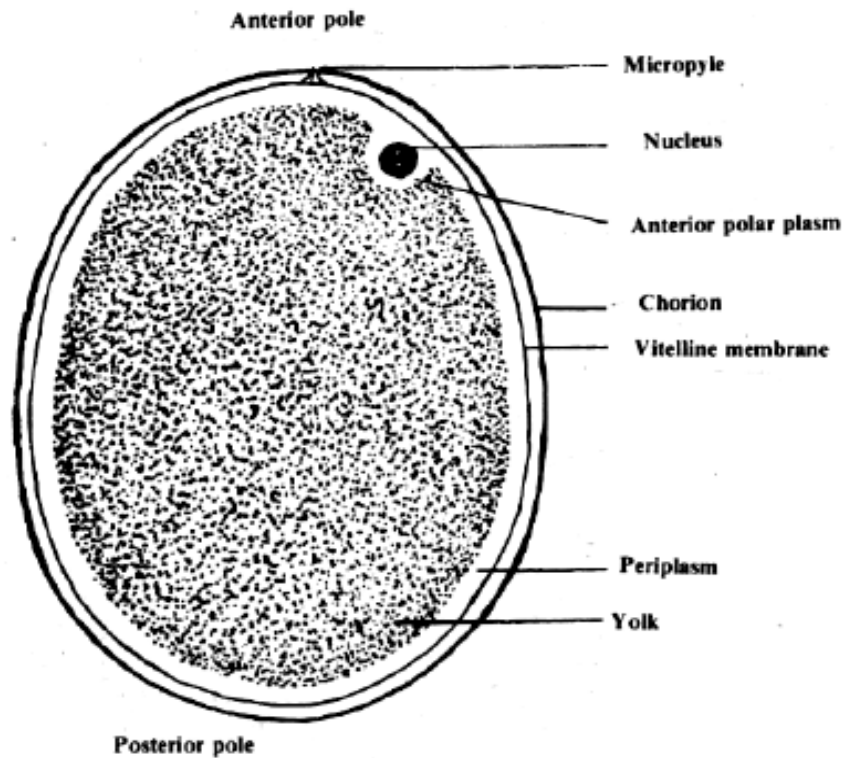
Το θηλυκό άτομο μετά τη σύζευξη εναποθέτει τα γονιμοποιημένα ωά στο υπόστρωμα. Το έμβryo αναπτύσσεται μέσω της κατανάλωσης των θρεπτικών συστατικών από τη λέκιθο μέχρι τη στιγμή της εκκόλαψης. Μετά τη διαδικασία της εκκόλαψης η νεαρή προνύμφη προσλαμβάνει τα θρεπτικά συστατικά που της είναι απαραίτητα από τα φύλλα της μουριάς. Η διάρκεια του σταδίου της προνύμφης είναι περίπου 25 – 30 ημέρες και κατά τη διάρκεια αυτή πραγματοποιούνται 4 εκδύσεις που μεσολαβούν των 5 ηλικιών από τις οποίες διέρχεται. Μόλις η προνύμφη ωριμάσει κατά τη διάρκεια της 5<sup>ης</sup> ηλικίας αρχίζει την παραγωγή νήματος με το οποίο δημιουργεί το

βομβύκιο (κοινώς κουκούλι) και περνάει στο στάδιο της νύμφης. Η δημιουργία του βομβυκίου διαρκεί 48 – 72 ώρες, ενώ η μεταμόρφωση σε νύμφη διαρκεί 2 – 3 ημέρες. Στο στάδιο της νύμφης τα όργανα που ήταν κυρίαρχα κατά το προνυμφικό στάδιο αντικαθίστανται από αυτά του ακμαίου, δηλαδή τα αναπαραγωγικά όργανα, καθώς η αναπαραγωγή αποτελεί βασική λειτουργία των ακμαίων. Δέκα ημέρες μετά το σχηματισμό της νύμφης εξέρχεται από το βομβύκιο το ώριμο ενήλικο άτομο. Τα ακμαία του είδους *B. mori* L. ζουν χωρίς την παροχή τροφής επιτελώντας μόνο τη σύζευξη κατά την αναπαραγωγική διαδικασία και της απόθεσης των ωών και στη συνέχεια ολοκληρώνουν με αυτόν τον τρόπο το βιολογικό τους κύκλο (Lim et al., 1990, Aruga 1994, Δούλιας 1995, Τζιτζινάκης 2012).

### **1.2.3. Η Φυσιολογία αναπαραγωγής του *B. mori* L.**

#### **1.2.3.1. Η μορφολογία του ωού**

Τα ωά του *B. mori* L. είναι μικρά σε μέγεθος με διαστάσεις 1 mm και βάρος 0,5 – 0,6 mg. Υπάρχουν διαφορές στο σχήμα των ωών ανάλογα με το γενετικό στέλεχος, αλλά κατά κανόνα είναι ελαφρώς ελλειψοειδές με τον ένα πόλο να είναι ελάχιστα στενότερος. Στο σημείο αυτό διακρίνεται η μικροπύλη από όπου πραγματοποιείται η είσοδος του σπερματοζωαρίου. Πλευρικά παρατηρούνται δύο ελαφρές κοιλότητες και έτσι το ωό μοιάζει να είναι πεπλατυσμένο νωτοκοιλιακά. Το χρώμα κυμαίνεται από γαλακτόχρωμο έως μέτρια κιτρινωπό. Επιπλέον, τα ωά διαθέτουν κέλυφος που τα επενδύει εξωτερικά, είναι ελαστικό και συνάμα σκληρό με ακανόνιστο ανάγλυφο, είναι κερατινοειδούς φύσεως και ονομάζεται χόριο. Στην επιφάνεια του χορίου, εκτός από την ύπαρξη της μικροπύλης που αποτελεί βασική δίοδο επικοινωνίας του εσωτερικού του ωού με το εξωτερικό περιβάλλον, υπάρχουν πολυπληθείς μικροί διάυλοι που κυμαίνονται σε αριθμό από 5000 – 10000. Οι διάυλοι χαρακτηρίζονται από κωνικό σχήμα και διαθέτουν τη μικρότερη βάση τους στραμμένη προς το εσωτερικό και λειτουργούν ως «αεραγωγοί» μέσω των οποίων εξασφαλίζεται η ανταλλαγή των αερίων του ωού και ταυτόχρονα η αναπνοή του εμβρύου. Η λέκιθος όσο και ο πυρήνας περιβάλλονται από τη λεκιθική μεμβράνη, που βρίσκεται στο εσωτερικό του χορίου του ωού (Otsuki 1997) **(Εικόνα 5)**.



**Εικόνα 5:** Σχηματική απεικόνιση της δομής του ωού του *B.mori* L. (Πηγή: Mahesha H. B., 2000)

Τα ωά τα οποία δεν γονιμοποιούνται διατηρούν το κιτρινωπό τους χρώμα (**Εικόνα 6**) και σε σύντομο χρονικό διάστημα αποξηραίνονται. Το χρώμα των ωών που έχουν γονιμοποιηθεί γίνεται πιο έντονο και αλλάζει σταδιακά από γαλακτόχρωο ή κιτρινωπό σε ροζ, βαθύ κόκκινο και τελικά τα ωά αποκτούν γκρι ή καφέ χρώμα (**Εικόνα 7**). Η μετατροπή του χρώματος των ωών αποτελεί μία απλή, εμφανής και ταυτόχρονα ασφαλής ένδειξη για την κατάσταση γονιμοποίησής τους (Aruga 1994, Δούλιας 1995, Otsuki 1997).



**Εικόνα 6:** Μη γονιμοποιημένα ωά χρώματος γαλακτόχρου – κιτρινωπού του *B. mori* L. (Πηγή: [https://imgc.artprintimages.com/img/print/bombyx-mori-common-silkmoth-eggs-on-mulberry-leaf\\_u-l-pzr13r0.jpg?artPerspective=n](https://imgc.artprintimages.com/img/print/bombyx-mori-common-silkmoth-eggs-on-mulberry-leaf_u-l-pzr13r0.jpg?artPerspective=n))



**Εικόνα 7:** Γονιμοποιημένα ωά χρώματος γκρι του *B. mori* L. (Πηγή: <https://www.sciencephoto.com/media/372813/view/silkworm-eggs>)

Το ωό γονιμοποιείται ακριβώς τη στιγμή της εναπόθεσής του από το ακμαίο θηλυκό άτομο, το οποίο διαθέτει αποθηκευμένα τα σπερματοζώαρια στη σπερματοθήκη του μετά από τη σύζευξη και εισέρχονται στο ωό μέσω της μικροπύλης (Εικόνα 8). Παρ' όλα αυτά, υπάρχει η πιθανότητα δημιουργίας του εμβρύου εντός του ωού χωρίς να ακολουθηθεί η παραπάνω διαδικασία μέσω της παρθενογένεσης και της μερογονίας (Τζιτζινάκης 2012).



**Εικόνα 8:** Εναπόθεση ωών από ακμαίο θηλυκό άτομο του *B. mori* L. (Πηγή: <https://i.ytimg.com/vi/IkcZHb0ErPE/maxresdefault.jpg>)

Στην περίπτωση της παρθενογένεσης υπάρχει σχηματισμός απλοειδούς εμβρύου, εντός μη γονιμοποιημένου ωού, που αναπτύσσεται και εκκολάπτεται. Η πιθανότητα της εμφάνισης αυτού του φαινομένου αυξάνεται με κατάλληλους χειρισμούς των ωών όπως είναι για παράδειγμα η εμβάπτισή τους σε ζεστό νερό ή υδροχλωρικό οξύ (Τζιτζινάκης 2012).

Κατά τη διάρκεια του φαινομένου της μερογονίας δεν λαμβάνει μέρος κατά το σχηματισμό του εμβρύου ο πυρήνας του ωού αλλά μόνο ο πυρήνας του αρσενικού γαμέτη καθώς και το κυτταρόπλασμα του ωού. Ως αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η εμφάνιση απογόνων που διαθέτουν κληρονομικά χαρακτηριστικά από τον πατέρα ακόμη και στην περίπτωση που αυτά είναι υπολειπόμενα συγκριτικά με τα κληρονομικά χαρακτηριστικά της μητέρας (Aruga 1994).

### 1.2.3.2. Η φυσιολογία του ωού, διάπαυση, διαχειμάση και βολτινισμός

Στα έντομα διακρίνονται διάφορες κατηγορίες που διαθέτουν ως χαρακτηριστικό τους το φαινόμενο της διάπαυσης όπου μέσω τροποποιήσεων της συμπεριφοράς και της φυσιολογίας τους αυξάνονται οι πιθανότητες επιβίωσής τους κατά τη διάρκεια δυσμενών περιβαλλοντικών συνθηκών (Denlinger 1985, Dedos et al., 2002). Η διάπαυση που προκαλείται από αλλαγές του περιβάλλοντος και γίνεται αντιληπτή από το νευρο – ενδοκρινικό σύστημα των εντόμων, έχει ως αποτέλεσμα τη μετάβαση του εντόμου σε μία κατάσταση αναπτυξιακού λήθαργου (Otsuki 1997, Dedos et al., 2002).

Στο είδος *B. mori* L. η εμφάνιση του φαινομένου της διάπαυσης κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης του εμβρύου αποτελεί συχνό φαινόμενο. Η διάπαυση εκδηλώνεται με την παύση της ανάπτυξης του εμβρύου το χειμώνα και την επανέναρξή της την άνοιξη καθώς πρέπει να αποφευχθούν δυσκολίες όπως η εύρεση τροφής και γενικότερα οι δυσμενείς κλιματολογικές συνθήκες. Αναφορικά με συνθήκες του περιβάλλοντος οι οποίες παραμένουν σταθερές, τότε τόσο η εμφάνιση όσο και η διάρκεια της διάπαυσης εξαρτώνται από την κληρονομικότητα του εκάστοτε γενετικού στελέχους που χρησιμοποιείται. Η διάρκεια του φαινομένου της διάπαυσης είναι περίπου 9 – 10 μήνες κατά τους οποίους ο μεταβολισμός του εμβρύου να είναι αρκετά χαμηλός με συνέπεια να μην πραγματοποιούνται κυτταροδιαιρέσεις σε κανέναν ιστό, ενώ η μόνη δραστηριότητα που παρατηρείται αφορά κάποιες αναπνευστικές ανταλλαγές αερίων (Aruga 1994, Δούλιας 1995).

Η ιδιότητα που είναι χαρακτηριστική του *B. mori* L. είναι πως μπορεί να εμφανίζεται ως μονόγονο, δίγονο ή πολύγονο είδος και αυτό αποτελεί ένα φυσιολογικό φαινόμενο το οποίο συνδέεται άμεσα με τη διάπαυση και ονομάζεται βολτινισμός. Στην περίπτωση του μονόγονου είδους τα ωά που έχουν γονιμοποιηθεί διαχειμάζουν εφόσον έχουν διέλθει από τη φάση της διάπαυσης, με αποτέλεσμα η εκκόλαψή τους να πραγματοποιείται την επόμενη σηροτροφική περίοδο παράγοντας με αυτόν τον τρόπο μόνο μία γενεά ανά έτος. Αντιθέτως, όταν τα ωά δεν διέλθουν από τη φάση της διάπαυσης και εκκολαφθούν αμέσως όμως τα ακμαία άτομα της επόμενης γενεάς παράγουν ωά που διαθέτουν διάπαυση, τότε υπάρχουν δύο γενεές ανά έτος και το είδος χαρακτηρίζεται ως δίγονο. Επιπλέον, είδη τα οποία δύναται να παρουσιάσουν περισσότερες των δύο γενεών ανά έτος χαρακτηρίζονται ως πολύγονα. Η εμφάνιση του φαινομένου του βολτινισμού και οι διάφορες μορφές του εξαρτώνται σε σημαντικό βαθμό από τις περιβαλλοντικές συνθήκες που αφορούν τη θερμοκρασία, τη

φωτοπερίοδο και την υγρασία, ενώ η ευαισθησία σε αυτές δύναται να ποικίλλει ανάλογα με το γενετικό στέλεχος του *B. mori* L. που χρησιμοποιείται (Aruga 1994, Δούλιας 1995).

Η διάπαυση ως φαινόμενο στα ωά του μεταξοσκώληκα καθορίζεται από την ορμόνη διάπαυσης που εκκρίνεται στα υποοισοφαγικά γάγγλια και έπειτα μεταφέρεται μέσω της αιμολέμφου στις ωοθήκες του ακμαίου θηλυκού ατόμου, όπου δρα καθοδηγώντας το παραγόμενο έμβρυο σε είσοδο στη διάπαυση σε καθορισμένο στάδιο της ανάπτυξής του. Ανάλογα με το γενετικό στέλεχος του *B. mori* L. και ανεξάρτητα από το βολτινισμό, τα υποοισοφαγικά γάγγλια έχουν την ικανότητα έκκρισης της ορμόνης διάπαυσης, όμως ο ρυθμός της έκκρισης βρίσκεται υπό τον έλεγχο του εγκεφάλου (Wang 1989, Otsuki 1997, Τζιτζινάκης 2012).

### **1.3. Ιστορικά στοιχεία αναφορικά με τη σηροτροφία και το μετάξι**

#### **1.3.1. Γενικά**

Η λέξη σηροτροφία διαθέτει ρίζες που προέρχονται τόσο από την κινεζική λέξη «Σε» όσο και από την κορεατική «Σιρ» που αμφότερα σημαίνουν μετάξι. Το ελληνικό «σηρ» και «σηρικόν» που σημαίνει μεταξωτό καθώς και η λατινική λέξη «sericum» προέρχονται από τις παραπάνω λέξεις. Εντούτοις σε απόλυτη μετάφραση σηροτροφία σημαίνει «η εκτροφή του μεταξιού». Όταν χρησιμοποιείται ο όρος σηροτροφία (sericulture) εννοείται ο κλάδος της γεωπονίας και της γεωργίας που στοχεύει στην εκτροφή του μεταξοσκώληκα της μουριάς (*B. mori* L.) με απώτερο σκοπό την παραγωγή βομβυκίων (κουκουλιών) και κατ' επέκταση του μεταξιού με στόχο την αύξηση του αγροτικού εισοδήματος (Σηροτροφικό Εργαστήριο 1947).

Κοιτίδα της σηροτροφίας αποτελεί η Κίνα σύμφωνα με την επικρατούσα άποψη. Παρ' όλα αυτά όπως αναφέρεται από το Ganga (2003) σε ένα βιβλίο της δυναστείας του Μωάμεθ κάποιος βασιλιάς της Ινδίας περί το 3870 π.Χ. εμφανίζεται να αποστέλλει μεταξωτά υφάσματα σαν δώρο στο βασιλιά της Περσίας, ενώ κατά τον Ινδό ιστορικό Mulkerji M. η πρώτη πατρίδα του μεταξοσκώληκα θεωρούνται οι ορεινές εκτάσεις των Ινδιών στα Ιμαλάια όπου κατά το 4000 π.Χ. ξεκίνησε η εκτροφή του. Από μία περσική παράδοση θεωρείται πως το πρώτο ζευγάρι μεταξοσκωλήκων αναπτύχθηκε στο σώμα του Ιώβ, παράλληλα με άλλους σκώληκες, που έβριθαν πάνω του (Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών 1947, Παπαναούμ 1950, Τζιτζινάκης 2012).



### 1.3.2. Η προϊστορία που αφορά το μετάξι

Ένα από τα αρχαιότερα αποδεικτικά στοιχεία που αφορά την ύπαρξη του μεταξιού βρέθηκε στην περιοχή Xia της Shanxi, που βρίσκεται εντός των περιοχών όπου υπήρχαν νεολιθικοί πολιτισμοί των Yangshao και τα όριά τους επεκτείνονταν κατά μήκος του κεντρικού τμήματος του Κίτρινου Ποταμού. Η απτή απόδειξη που ανακαλύφθηκε αφορούσε ένα μετάξινο βομβύκιο το οποίο ήταν κομμένο στη μέση από αιχμηρό εργαλείο και το οποίο χρονολογείται μεταξύ 4000 και 3000 π.Χ. Παράλληλα, υπέστη εφικτή και η ταυτοποίηση του εντόμου από το οποίο προήλθε το βομβύκιο και αυτό δεν ήταν άλλο από το είδος *B. mori* L. Επιπλέον, στην περιοχή Yuyao της Zhejiang όπου αναπτύχθηκε ο νεολιθικός πολιτισμός των Hemudu βρέθηκαν θραύσματα αργαλειού που χρονολογούνται περίπου στο 4000 π.Χ. Τέλος, στην περιοχή Qianshayang στη Huzhou της Zhejiang όπου υπήρξε ο πολιτισμός των Liangzhu καθώς και σε βασιλικό τάφο που ανήκε στη δυναστεία των Shang εντοπίστηκαν θρύμματα μεταξιού τα οποία χρονολογούνται από το 2700 π.Χ. (Τζιτζινάκης 2012).

Οι αναφορές ωστόσο στο μετάξι υπάρχουν και στην Παλαιά Διαθήκη, καθώς η ύπαρξή του φαίνεται να ήταν γνωστή στις Δυτικές περιοχές της ασιατικής ηπείρου κατά την Βιβλική Εποχή (Encyclopedia Encarta: Hill 2009).

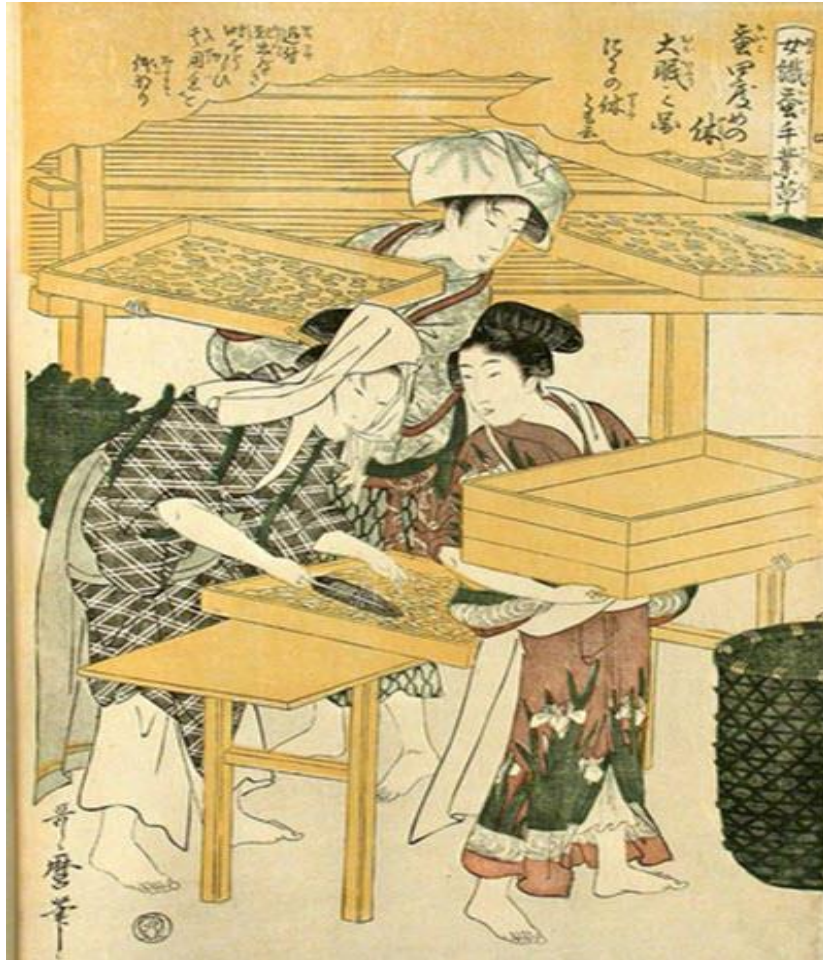
Σε χρονογραφήματα από την Κίνα αναφέρεται πως ο αυτοκράτορας Φου-Χι, που έζησε το 4000 π.Χ. δημιούργησε ένα μουσικό όργανο του οποίου οι χορδές ήταν από μετάξι (Μανιατάκης 1900, Παπαναούμ 1950, Τζιτζινάκης 2012). Επί προσθέτως, σε βιβλία του Κομφούκιου αναφέρεται πως η αυτοκράτειρα Σι-Λινγκ-Τσι ήταν η πρώτη που έκανε εκτροφές μεταξοσκώληκα περί το έτος 2697 π.Χ. ή σύμφωνα με άλλη εκδοχή κατά το 2658 π.Χ. (Μανιατάκης 1900, Παπαναούμ 1950, Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών 1947).



Εικόνα 9: Χρήση του μεταξιού για κλωστούφαντουργία στην αρχαία Κίνα. (Πηγή: <https://libraryexhibits.uvm.edu/omeka/exhibits/show/uvmtrees/whitemulberry/sericulture>)

### 1.3.3. Η σηροτροφία ως ένα εξαιρετικά πολύτιμο μυστικό

Οι εκτροφές των μεταξοσκωλήκων και συνάμα η παραγωγή από αυτούς μεταξιού αποτέλεσε για πολλούς αιώνες μυστικό της Κίνας και σε αρκετά μέρη ανά τον κόσμο θεωρείται ακόμη προϊόν φυτικής προέλευσης (Παπαναούμ 1950, Χαριζάνης και Τζιτζινάκης 2011α, Τζιτζινάκης 2012). Θεωρείται πως αρχικά αποτελούσε μυστικό μόνο της αυτοκρατορικής οικογένειας της Κίνας, αλλά με τον καιρό ξεκίνησε η εκτροφή του μεταξοσκώληκα και από τους αριστοκράτες της χώρας (Τζιτζινάκης 2012). Για μια εκτεταμένη χρονική περίοδο την παραγωγή του μεταξιού την κατείχαν αποκλειστικά ευγενείς κυρίες του κινεζικού κράτους, ενώ τόσο ο αυτοκράτορας όσο και η αυτοκράτειρα κατέβαλαν κάθε δυνατή προσπάθεια για την προστασία του έργου αυτού και παράλληλα διοργάνωναν θρησκευτικές ιεροτελεστίες με σκοπό να φαίνεται ως κάτι εξαιρετικά σπουδαίο στα μάτια του λαού. Ωστόσο, κοντά στο έτος 2200 π.Χ., η τεχνική της εκτροφής του μεταξοσκώληκα και η παραγωγή μεταξιού κατάφερε να γίνει γνωστή στην ευρύτερη κοινωνία της Κίνας και έτσι σε αρκετά μέρη του κράτους καλλιεργούνταν μουριές με σκοπό την εκτροφή των μεταξοσκωλήκων (Εικόνα 10) (Μανιατάκης 1900, Τζιτζινάκης 2012).



Εικόνα 10: Η σηροτροφία στην αρχαία Κίνα. (Πηγή: <http://www.silk-road.com/art/silkhistory.shtml>)

Οι κινέζοι αυτοκράτορες προσπάθησαν ισχυρά να διαφυλάξουν μυστική τη γνώση και τις τεχνικές που αφορούσαν τη σηροτροφία με σκοπό τη διατήρηση του κινεζικού μονοπωλίου στην παγκόσμια αγορά μεταξίου. Προκειμένου να το πετύχουν αυτό είχαν απαγορεύσει τις εξαγωγές μεταξοσκωλήκων και μεταξόσπορου, ενώ η αποκάλυψη των μυστικών της σηροτροφίας σε ξένους οδηγούσε τους παραβάτες σε θανατική ποινή. Παρά το γεγονός πως το μετάξι επεκτάθηκε σε όλη την Ευρασία, η παραγωγή του, εξαιρώντας την Ιαπωνία, παρέμεινε ένα από τα σημαντικότερα προνόμια των Κινέζων για τρεις χιλιετίες περίπου. Επιπλέον, τα μεταξωτά υφάσματα που εξάγονταν ανταλλάσσονταν με ίσο το βάρος τους σε χρυσό, κάτι που ήταν υψίστης σημασίας για την οικονομία της Κίνας και γι' αυτό το λόγο είχαν ληφθεί αυστηρότατα μέτρα ώστε η τεχνική της σηροτροφίας να παραμείνει μυστικό των Κινέζων (Παπαναούμ 1950, Τζιτζινάκης 2012).

Από την άλλη πλευρά, ένα μυστικό το οποίο κατείχαν εκατομμύρια έως τότε άνθρωποι δεν θα μπορούσε να παραμείνει ασφαλές για πάντα. Φαίνεται πως εξαιτίας

ενός πολέμου που ξέσπασε μεταξύ Ιαπωνίας και Κίνας και μέσω των αιχμαλώτων, η τεχνική της εκτροφής του μεταξοσκώληκα και η παραγωγή μεταξιού έγινε γνωστή και στη χώρα του ανατέλλοντος ηλίου και έκτοτε γνώρισε μεγάλη ανάπτυξη (Μανιατάκης 1900, Τζιτζινάκης 2012). Επί προσθέτως, η γνώση της σηροτροφίας αποκαλύφθηκε στην Κορέα περίπου στο 200 π.Χ., στο Khotan γύρω στο πρώτο μισό του 1<sup>ου</sup> μ.Χ. αιώνα, ενώ έφτασε και στην Ινδία το 140 μ.Χ. (Hill 2009).

Σύμφωνα με την παράδοση, το 551 μ.Χ. κατά την εποχή του Βυζαντίου, δύο μοναχοί από το Τάγμα του Αγίου Βασιλείου πραγματοποίησαν εισαγωγές μεταξόσπορου και σπόρων μουριάς, από την Ασία στο Βυζάντιο, κρυφά τοποθετώντας τους μέσα σε κούφια μαστούνια. Με αυτό τον τρόπο ξεκίνησε σιγά σιγά η ανάπτυξη της επιστήμης της σηροτροφίας η οποία αποτέλεσε πηγή πολιτισμού αλλά και πλούτου για τις επόμενες γενιές (Μανιατάκης 1900, Χαριζάνης και Τζιτζινάκης 2011 α, β, Τζιτζινάκης 2012). Τελικά, τόσο η σηροτροφία όσο και η τεχνική της παραγωγής του μεταξιού διαδόθηκαν από την Κωνσταντινούπολη σε όλη την Ελλάδα και έπειτα σε άλλες χώρες όπως η Ισπανία, η Ιταλία, η Πορτογαλία αλλά και η Ρωσία με συνέχεια της διάδοσης και σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες φέρνοντας παράλληλα πλούτο και πολιτισμό (Σταμπολής 1959, Τζιτζινάκης 2012).

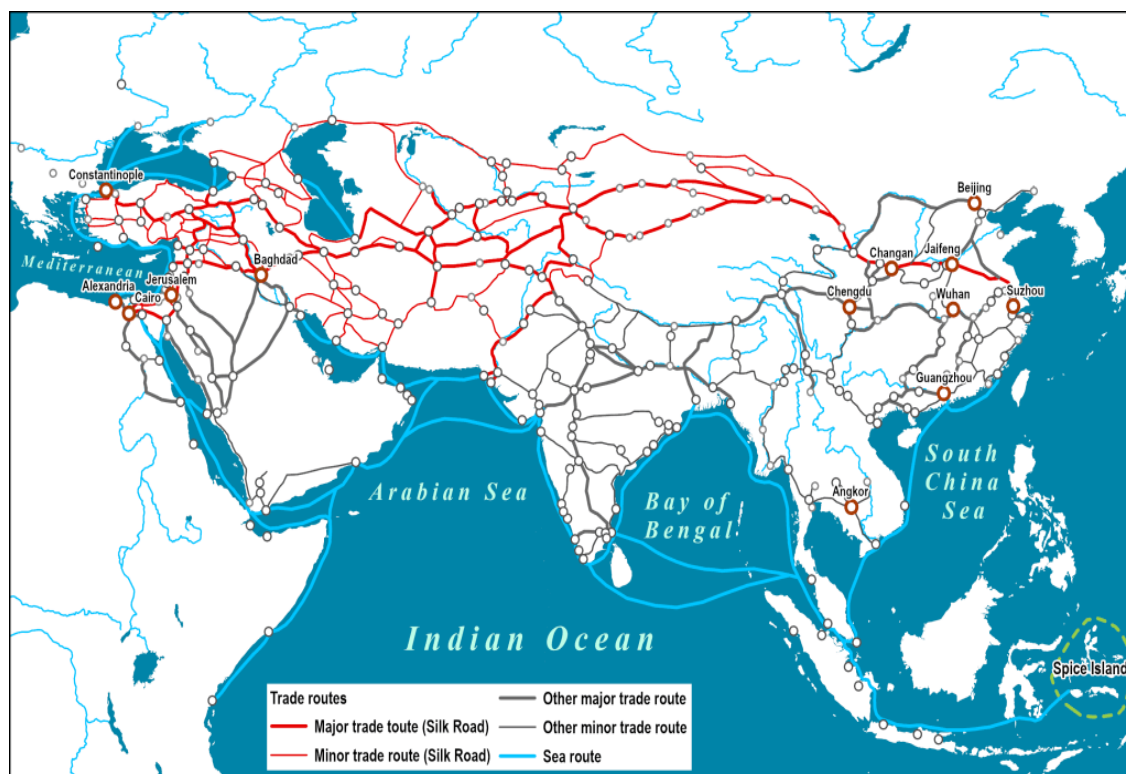
#### **1.3.4. Η σηροτροφία, το εμπόριο και ο πολιτισμός**

Οι Κινέζοι πραγματοποιούσαν εξαγωγές σε άλλους λαούς τόσο ακατέργαστου μεταξιού όσο και μεταξωτών υφασμάτων. Από τις πρώτες αποδείξεις αυτών των εξαγωγών αποτελεί η ανακάλυψη μεταξιού στην κόμη μιας μούμιας από την Αίγυπτο της 21<sup>ης</sup> Δυναστείας του 1070 π.Χ. (Lubec et al., 1993).

Κατά την ανάπτυξη της εμπορίας και της βιομηχανίας του μεταξιού είναι άρρηκτα συνυφασμένες θρησκευτικές και κοινωνικές παραδόσεις από ολόκληρους πολιτισμούς. Το μετάξι αποτελεί το μοναδικό κλωστοϋφαντουργικό προϊόν που κατά την εποχή του ανταλλακτικού εμπορίου καθώς και του «δρόμου του μεταξιού» κατείχε την αξία του βάρους του σε χρυσό (Ganga 2003). Μέσω του εμπορίου του μεταξιού καθιερώθηκαν οι πρώτες σχέσεις μεταξύ Δύσης και Ανατολής, ενώ τα πρώτα υφάσματα από μετάξι φαίνεται να μεταφέρθηκαν στην Ευρώπη κατά τον 3<sup>ο</sup> ή 2<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ. ίσως από την Περσία ή μέσω αυτής, καθώς οι αρχαίοι Έλληνες καλούσαν την μέταξα ως «μηδικήν». Υπάρχει η πεποίθηση πως κατά τον 2<sup>ο</sup> αιώνα π.Χ. οι Κινέζοι

δημιούργησαν ένα εμπορικό δίκτυο με στόχο την εξαγωγή του μεταξιού στη Δύση (Μανιατάκης 1900, Παπαναούμ 1950, Τζιτζινάκης 2012).

Το εμπόριο τόσο του μεταξιού όσο και των μεταξωτών υφασμάτων πέρασε στην Ινδία, τη Μέση Ανατολή, την Ευρώπη αλλά και τη Βόρεια Αφρική και ήταν τόσο σημαντικά εκτεταμένο έτσι ώστε οι κύριες οδοί που χρησιμοποιούνταν για το εμπόριο του μεταξιού μεταξύ Ασίας και Ευρώπης έμειναν γνωστές έως και σήμερα ως «ο δρόμος του μεταξιού» (The Silk Road). (Τζιτζινάκης 2012).



**Εικόνα 11:** «Ο δρόμος του μεταξιού» (The Silk Road). (Πηγή: <https://transportgeography.org/contents/chapter1/emergence-of-mechanized-transportation-systems/silk-road-arab-sea-routes-12th-century/>)

Αναφορικά με την Ελλάδα, το μετάξι ήταν γνωστό στους αρχαίους Έλληνες από τον 4<sup>ο</sup> π.Χ. αιώνα λόγω των εκστρατειών του Μεγάλου Αλεξάνδρου. Συγκεκριμένα όταν ο Μέγας Αλέξανδρος κατέκτησε την Περσική Αυτοκρατορία, φαίνεται πως χρησιμοποιούνταν ήδη μεταξωτά υφάσματα από τον Πέρση βασιλιά Δαρείο τον 3<sup>ο</sup> και τους αυλικούς του (Encyclopedia Encarta, Τζιτζινάκης 2012).

Κατά τους αρχαίους χρόνους το κινεζικό μετάξι ήταν το πλέον περιζήτητο είδος εμπορίου και πολυτελείας σε όλη την Ευρασία και αρκετοί πολιτισμοί της εποχής εκείνης όπως οι αρχαίοι Πέρσες επωφελήθηκαν ιδιαίτερα οικονομικά από το εμπόριο του (Garrthwaite 2005).

## 1.4. Το μετάξι

### 1.4.1. Γενικά

Το μετάξι είναι μία ινώδης ουσία πρωτεϊνικής φύσης και ζωικής προέλευσης που χρησιμοποιείται από τον άνθρωπο για ύφανση (Sutherland et al., 2010). Ειδικοί αδένες οι οποίοι ονομάζονται μεταξογόνοι εκκρίνουν το μετάξι το οποίο εξυπηρετεί διάφορες φυσιολογικές διεργασίες ανάλογα με το ζωικό οργανισμό από τον οποίο παράγεται όπως για παράδειγμα για την παγίδευση των θηραμάτων (π.χ. Αράχνες), την εγκατάσταση υδρόβιων οργανισμών στον πυθμένα της θάλασσας (π.χ. Δίθυρα), την απόκρυψη και προστασία (π.χ. Λεπιδόπτερα) κ.ά. (Ganga 2003). Οι ζωικοί οργανισμοί οι οποίοι παράγουν μετάξι ανήκουν στην πλειονότητά τους στις κλάσεις των Εντόμων και των Αραχνιδών (Foelix 1996, Τζιτζινάκης 2012).



**Εικόνα 12:** Η αράχνη *Argiope bruennichi* πάνω στον ιστό της. (Πηγή: <https://www.nhm.ac.uk/discover/what-are-spider-webs-made-of.html>)

Οι προνύμφες των ολομετάβολων ειδών των εντόμων συνήθως παράγουν μετάξι, κατά τη διάρκεια της μεταμόρφωσης από προνύμφη σε νύμφη και έπειτα από νύμφη σε ακμαίο. Είναι εφικτή όμως και η παραγωγή του μεταξιού από τα ενήλικα άτομα και παίζει σημαντικό ρόλο στην επιβίωση και την αναπαραγωγή αυτών των εντόμων. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα Εμβιόπτερα που χαρακτηρίζονται ως ημιμετάβολα είδη τα οποία διαβιούν στο έδαφος ή κάτω από πέτρες, εντός μετάξινων στοών που δημιουργούν σε όλα τα στάδια ανάπτυξής τους (Borror et al., 1986). Ένα

ακόμη παράδειγμα αφορά τα Υμενόπτερα (π.χ. μυρμήγκια, σφήκες κ.ά.) τα οποία χρησιμοποιούν το μετάξι για να κατασκευάσουν τις αποικίες τους (Ganga 2003).

Οι πρωτεΐνες που συνιστούν το μετάξι παράγονται στους ειδικούς μεταξογόνους αδένες και υφίστανται ημικρυστάλλωση κατά τη μορφοποίησή τους σε ίνες. Η σταθερότητα του μεταξιού καθώς και οι ασυνήθιστες μηχανικές του ιδιότητες οφείλονται στην κρυσταλλική του σύσταση (Sutherland et al., 2010).

Υπάρχουν περίπου 400 – 500 γνωστοί ζωικοί οργανισμοί οι οποίοι παράγουν μετάξι, όμως ελάχιστοι είναι οικονομικά αξιοποιήσιμοι από τον άνθρωπο (Ganga 2003). Επιπλέον, τα διαφορετικά παραγόμενα είδη μεταξιού ενδέχεται να εμφανίζουν μεγάλη ποικιλομορφία ως προς τη χημική τους σύσταση, τις μηχανικές ιδιότητες καθώς και τα ποιοτικά τους γνωρίσματα (Shi et al., 2008, Sutherland et al., 2010, Τζιτζινάκης 2012). Ο πιο γνωστός τύπος μεταξιού προέρχεται από βομβύκια της προνύμφης του μεταξοσκώληκα της μουριάς *B. mori* L. (Sutherland et al., 2010). Γι' αυτό το λόγο, όταν γίνεται αναφορά στο μετάξι χωρίς περαιτέρω προσδιορισμούς εννοείται πως πραγματοποιείται αναφορά στο εν λόγω προϊόν ή όπως ονομάζεται διεθνώς «mulberry silk» (Ganga 2003, Τζιτζινάκης 2012). Παρόλα αυτά, έχουν διεξαχθεί έρευνες σχετικά με άλλους τύπους μεταξιών που διαφέρουν σε μοριακό επίπεδο. Αυτού του είδους τα μετάξια που προέρχονται από προνύμφες άλλων ειδών συνήθως χαρακτηρίζονται ως «μετάξια αγρίου τύπου» (wild silks) και έχουν χρησιμοποιηθεί από τους αρχαίους χρόνους. Εν αντιθέσει, η ποσότητα της παραγωγής αυτών των «μεταξιών αγρίου τύπου» βρισκόταν πολύ χαμηλότερα από αυτή του «καλλιεργούμενου» (Bhanoo 2011).



**Εικόνα 13:** Βομβύκια από μετάξι «αγρίου τύπου» (wild silks). (Πηγή: <https://trc-leiden.nl/trc-needles/materials/fibres/wild-silk>)

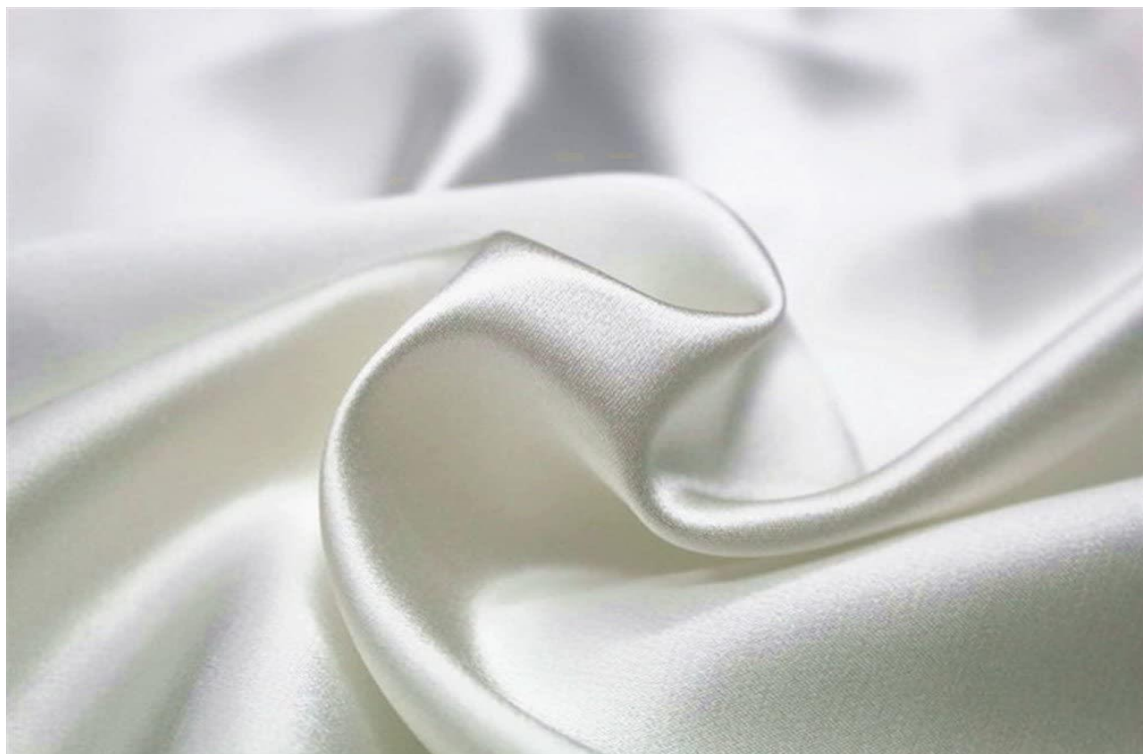
#### 1.4.2. Οι ιδιότητες του μεταξιού

Το μετάξι είναι μία υφαντική ίνα που χαρακτηρίζεται από εξαιρετικές ιδιότητες. Πρόκειται για ένα πολύτιμο νήμα και μάλιστα είναι το μοναδικό φυσικό συνεχές νήμα που το μήκος του είναι δυνατό να φτάσει μέχρι τα 1500 μέτρα χωρίς να διακόπτεται. Το μετάξι ήταν, είναι και θα είναι καθ' όλη τη διάρκεια των ετών ένα μοναδικό «κόσμημα» γι' αυτό και οι αναφορές σε αυτό διεθνώς πραγματοποιούνται με τον όρο «η βασίλισσα των υφασμάτων» (Queen of textiles) (Ganga 2003, Τζιτζινάκης 2012). Οι χαρακτηριστικές και πιο ελκυστικές ιδιότητες του μεταξιού είναι η υφή και η λάμψη του που οφείλονται στη συμφή μοριακή δομή της ίνας και που δεν υφίστανται σε καμία άλλη τεχνητή ή φυσική ίνα (Currie 1997, Xiang 2010).

Επιπλέον, το μετάξι αποτελεί ίσως την πλέον πολυτιμότερη κλωστοϋφαντουργική ίνα. Το κάθε διαφορετικό είδος ίνας που χρησιμοποιείται για ύφανση διαθέτει ορισμένα ιδιαίτερα γνωρίσματα που αφορούν την ευκολία στη χρήση και τη φροντίδα, την άνεση, την αντοχή στη φθορά και το τσαλάκωμα κλπ. (Τζιτζινάκης 2012). Σε ορισμένα από αυτά τα τεχνικά χαρακτηριστικά κάποιες άλλες ίνες ίσως αποδεικνύονται ανώτερες του μεταξιού, όμως το μετάξι σύμφωνα με τον



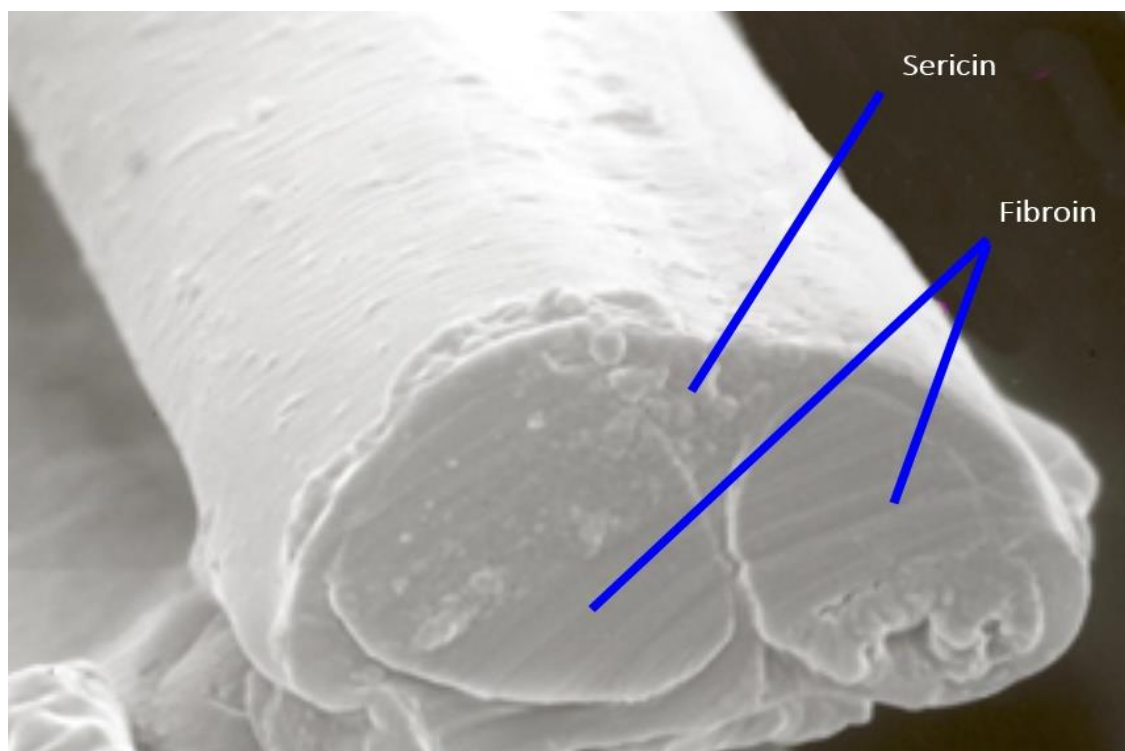
Currie (1997) είναι η μοναδική ίνα που διαθέτει λάμψη, μεγαλοπρέπεια, στιλπνότητα και υφή που μόνο ως «μαγική» μπορεί κανείς να τη χαρακτηρίσει.



Εικόνα 14: Ύφασμα από μετάξι. (Πηγή: [https://superoxy.life/product\\_tag/52428698\\_.html](https://superoxy.life/product_tag/52428698_.html))

#### 1.4.2.1. Οι χημικές ιδιότητες του μεταξίου

Οι πρωτεΐνες σερικίνη (sericin) και φιβροΐνη (fibroin) αποτελούν τις κύριες συνιστώσες του μεταξίου το οποίο παράγεται από τον μεταξοσκώληκα της μουριάς. Ειδικότερα, το κλάσμα της φιβροΐνης είναι υπεύθυνο για το δομικό χαρακτήρα στο κεντρικό τμήμα της ίνας, ενώ το κλάσμα της σερικίνης είναι το συνδετικό κολλώδες υλικό που περιβάλλει τη φιβροΐνη (Εικόνα 15) (Sutherland et al., 2010). Επιπλέον, στο μετάξι βρίσκονται σε πολύ μικρότερο ποσοστό και άλλοι παράγοντες όπως κηροί, λιπίδια, μέταλλα ή χρωστικές (Aruga 1994, Lee 1999, Τζιτζινάκης 2012).



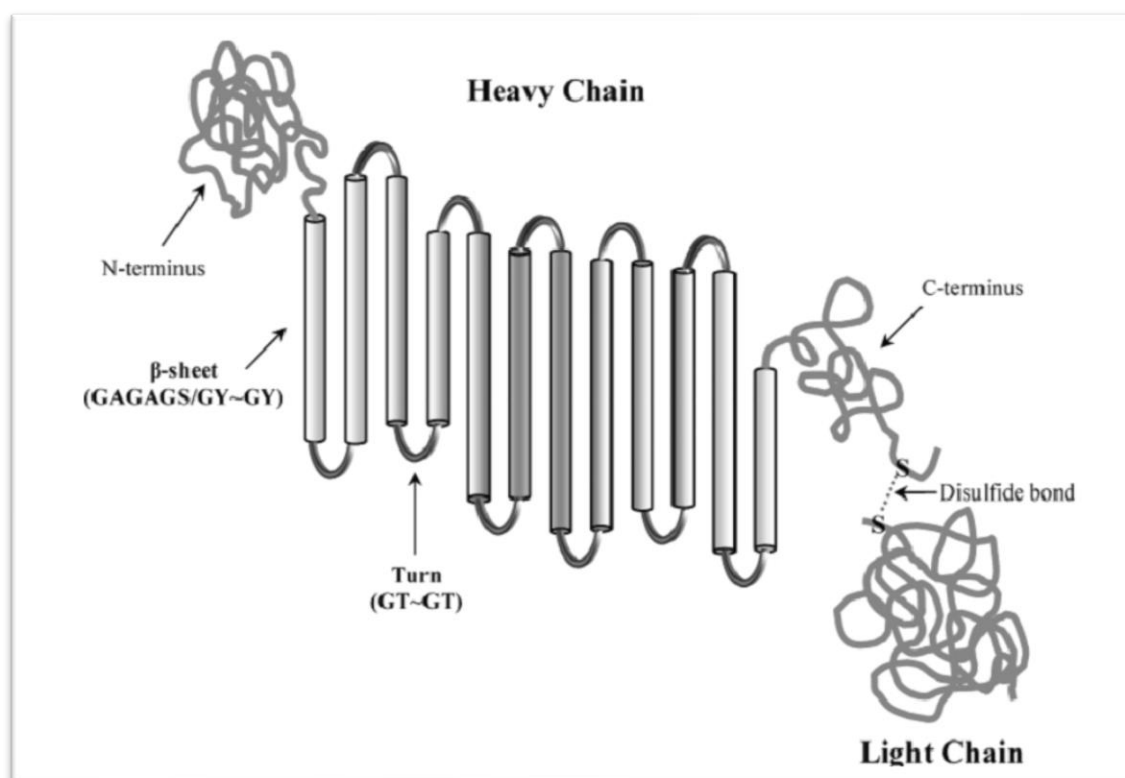
**Εικόνα 15:** Ίνα μεταξιού από Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο Σάρωσης (SEM). (Πηγή: [http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal\\_Fibres.html](http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal_Fibres.html))

Το μετάξι είναι ανθεκτικό στα περισσότερα από τα οργανικά οξέα με εξαίρεση το θειικό οξύ στο οποίο διαλύεται, ενώ μπορεί να κιτρινίσει μέσω της χρήσης του από την εφίδρωση (Σταμπολής 1959, Τζιτζινάκης 2012).

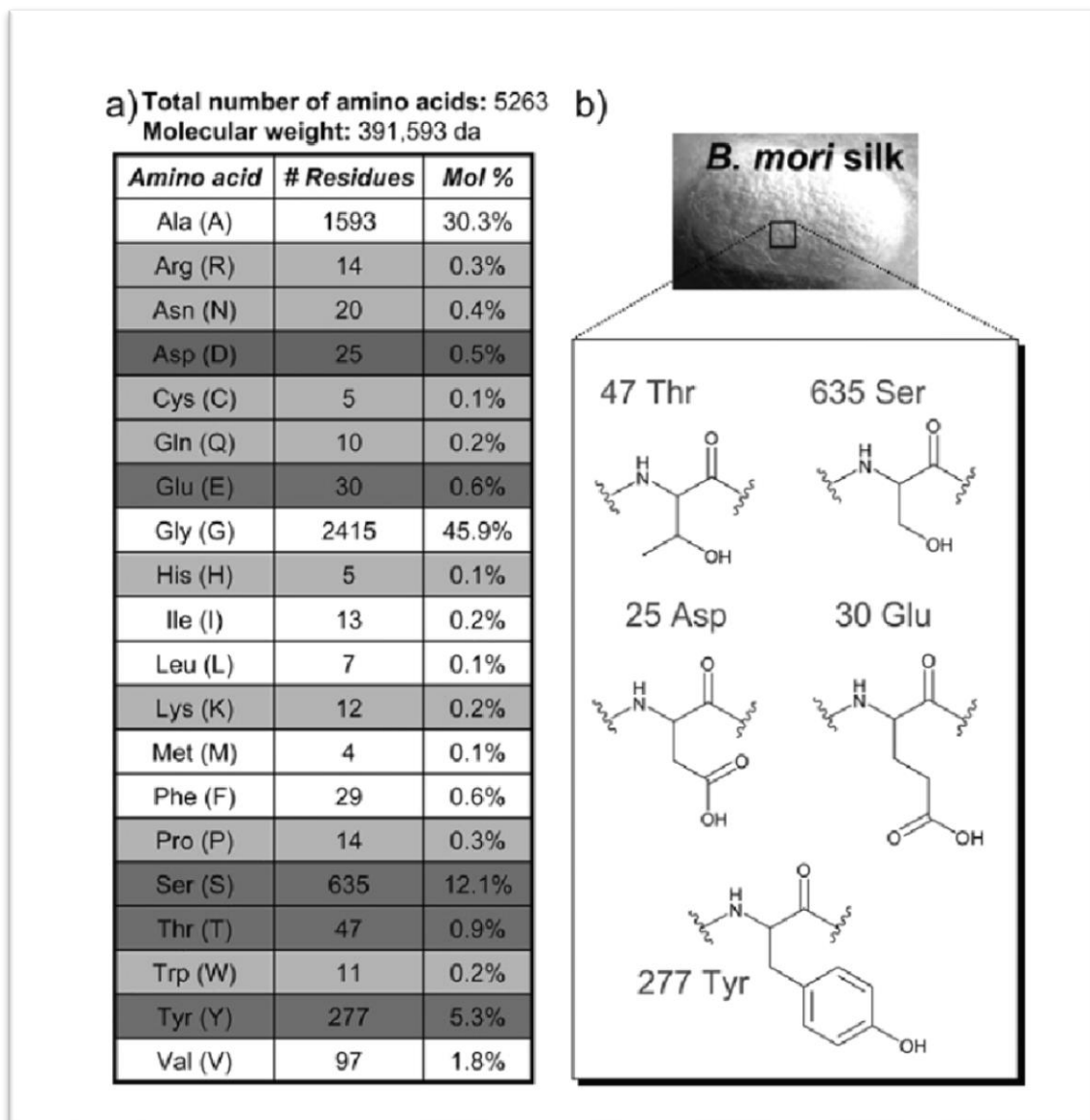
#### 1.4.2.1.1 Πρωτοταγής δομή της φιβροΐνης του μεταξιού

Η φιβροΐνη του μεταξιού αποτελείται από μια ελαφριά αλυσίδα (~27 kDa) και μια βαριά αλυσίδα (~391 kDa) που συνδέονται μέσω ενός απλού δισουλφιδικού δεσμού στο C-άκρο των δύο υπομονάδων (Inoue et al. 2004). Επιπλέον, μια πρωτεΐνη που ονομάζεται P25 συνδέεται με το σύμπλεγμα βαριάς αλυσίδας - ελαφριάς αλυσίδας κυρίως με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Η σχηματική απεικόνιση ενός μορίου φιβροΐνης του μεταξιού φαίνεται στην **Εικόνα 16**. Η βαριά αλυσίδα αποτελείται από 5.263 αμινοξέα που αποτελούνται από 45,9% γλυκίνη, 30,3% αλανίνη, 12,1% σερίνη, 5,3% τυροσίνη, 1,8% βαλίνη και 4,7% άλλα αμινοξέα. Η δομή της βαριάς αλυσίδας μπορεί να χωριστεί σε τέσσερις διαφορετικές περιοχές με βάση τη χημεία και την αλληλουχία των αμινοξέων: το N-άκρο (Αμινοτελικό-άκρο), το C-άκρο (Καρβοξυτελικό-άκρο), 11 περιοχές διαχωρισμού και 12 μεγάλες επαναλαμβανόμενες μαζικές περιοχές. Οι περιοχές του N-άκρου, C-τελικού άκρου και του 11 διαχωριστικού

είναι υδρόφιλες και σχηματίζουν τις λιγότερο κρυσταλλικές περιοχές των συναρμολογούμενων πρωτεϊνών και οι 12 μεγάλες ογκώδεις περιοχές είναι υδρόφοβες και σχηματίζουν τις κυρίαρχες κρυσταλλικές περιοχές β-φύλλων που δημιουργούν τους φυσικούς δεσμούς που διασταυρώνονται κατά τη διάρκεια του σχηματισμού υδρογέλης (hydrogel). Κάθε υδρόφοβη κρυσταλλική περιοχή που συνδέεται μέσω των 11 σχεδόν πανομοιότυπων διαχωριστών αποτελείται από διπεπτιδικές μονάδες με τη μορφή Γλυκίνη-X (GX), όπου το X μπορεί να είναι αλανίνη (A), σερίνη (S), τυροσίνη (Y), βαλίνη (V), ή θρεονίνη (T). Μέσα σε αυτές τις υδρόφοβες περιοχές, τα εξαπεπτίδια -GAGAGS- υπάρχουν σε 433 αντίγραφα και το -GAGAGY- σε 120 αντίγραφα, αντιπροσωπεύοντας το 72% των επαναλαμβανόμενων περιοχών. Αυτές οι περιοχές σχηματίζουν τους φυσικά διασταυρούμενους κρυστάλλους ή β-φύλλα, με αποτέλεσμα την αντοχή και τη σταθερότητα των μεταξωτών υλικών (Inoue et al., 2004, Nguyen A. T., 2014).



**Εικόνα 16:** Σχηματική απεικόνιση (2D) της βαριάς και ελαφριάς αλυσίδας της φιβροΐνης του μεταξίου. (Πηγή: Nguyen A. T., 2014)



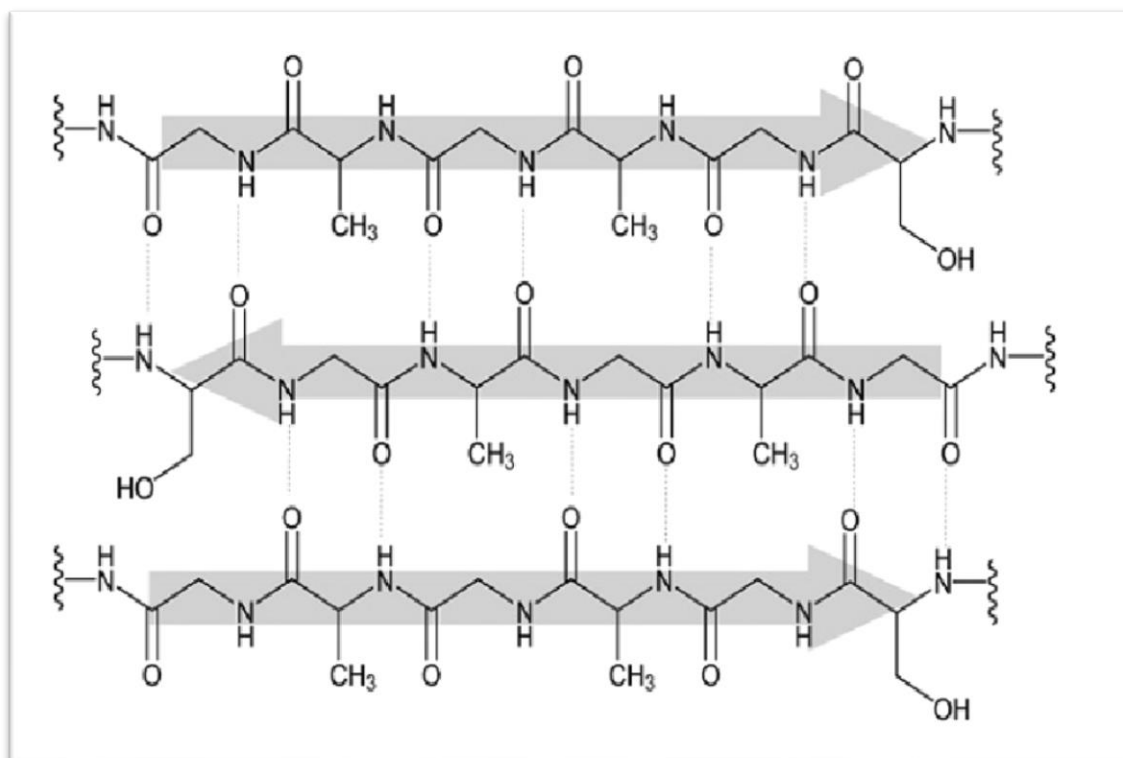
**Εικόνα 17:** a) Σύνθεση αμινοξέων της βαριάς αλυσίδας της φιβροΐνης του μεταξιού. b) Χημικές δομές των πιο άφθονων δραστικών αμινοξέων στη φιβροΐνη του μεταξιού. (Πηγή: Nguyen A. T., 2014)

Η φιβροΐνη του μεταξιού περιγράφεται επίσης ως ένα φυσικό συμπολυμερές συστάδων που συνδυάζει υδρόφοβα και υδρόφιλα τμήματα (Kerkam et al., 1991). Η βαριά αλυσίδα της φιβροΐνης περιλαμβάνει δύο μεγάλα υδρόφιλα τμήματα ένα στα άκρα της αλυσίδας (το C-τελικό και το N-τελικό άκρο), έξι μικρότερα εσωτερικά υδρόφιλα τμήματα και επτά διάσπαρτα υδρόφοβα τμήματα. Το N-τελικό άκρο είναι κατά μέσο όρο αρνητικά φορτισμένο (PI = 4,6), ενώ το C-τελικό άκρο είναι θετικά φορτισμένο (PI = 10,5). Αυτά τα δύο φορτισμένα τερματικά άκρα διαχωρίζονται από έναν δισουλφιδικό δεσμό στο C-τελικό άκρο. Επειδή η αρνητικά φορτισμένη ελαφριά αλυσίδα της φιβροΐνης είναι πολύ μεγαλύτερη από το C-τελικό άκρο, συνολικά το μόριο φιβροΐνης εμφανίζει αρνητικό φορτίο με ισοηλεκτρικό pH 3,9-4,0. Εκτός από τη

φορτισμένη φύση, η φιβροΐνη του μεταξιού περιέχει επίσης αρκετές αντιδραστικές πλευρικές ομάδες όπως φαίνεται στην **Εικόνα 17** (Kerkam et al., 1991, Nguyen A. T., 2014).

#### 1.4.2.1.2 Δευτεροταγής δομή της φιβροΐνης του μεταξιού

Η φιβροΐνη του μεταξιού θεωρείται ότι είναι ημι-κρυσταλλικό φυσικό πολυμερές δύο φάσεων που περιέχει τόσο κρυσταλλικές όσο και μη κρυσταλλικές περιοχές. Για την ακρίβεια, η φιβροΐνη του μεταξιού μπορεί να περιγραφεί ως φυσικό συμπολυμερές κατά συστάδες, που συνδυάζει πολλά υδρόφοβα (κρυσταλλικά) με λιγότερο υδρόφοβα (μη κρυσταλλικά) τμήματα. Οι κρυσταλλικές περιοχές έχουν αναγνωριστεί από πολλούς συγγραφείς ως άκαμπτες, σφιχτά συσκευασμένες αντιπαράλληλες βήτα (β) – πτυχωτές δομές φύλλων (**Εικόνα 18**) (Xu and Lewis 1990, Parkhe et al., 1997, Asakura et al., 2002, Nguyen A. T. 2014, Zhong et al., 2014).



**Εικόνα 18:** Αντιπαράλληλη δομή β-φύλλων της φιβροΐνης του μεταξιού. (Πηγή: Nguyen A. T., 2014)

Τα β-φύλλα μπορούν εύκολα να σχηματιστούν από τμήματα poly-Ala, ή τμήματα poly-GAGAGS (μείζονα συμβολή στην πρωτεΐνη φιβροΐνη του μεταξιού), που συμπλέκονται με γειτονικές αλυσίδες μέσω δεσμών υδρογόνου (Asakura et al., 2002). Όπως είναι ευρέως γνωστό, υπάρχουν δύο τύποι δομών β-φύλλου στις φυσικές

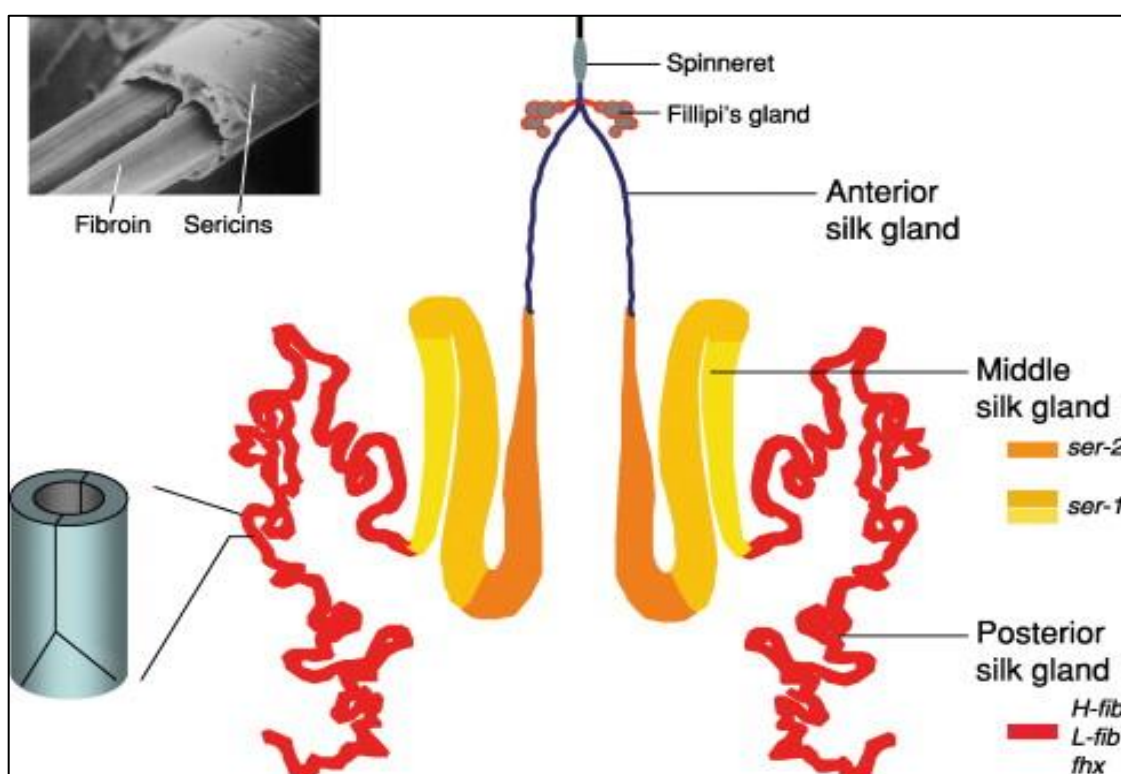
πρωτεϊνικές δομές: τα παράλληλα και τα αντιπαράλληλα β-πτυχωτά φύλλα. Οι κρυσταλλικές περιοχές της φιβροΐνης του μεταξιού έχουν αποδειχθεί ότι είναι αντιπαράλληλη δομή β-φύλλων με πολλές διαφορετικές μεθόδους (Searle and Ciani 2004). Οι αντιπαράλληλες δομές β-φύλλων στη φιβροΐνη του μεταξιού είναι ασύμμετρες. Η μία πλευρά καταλαμβάνεται με πλευρικές αλυσίδες υδρογόνου από γλυκίνη και η άλλη με τις μεθυλικές πλευρικές αλυσίδες από τις αλανίνες που βρίσκονται σε πληθώρα στις υδρόφοβες περιοχές. Τα β-φύλλα είναι διατεταγμένα έτσι ώστε οι ομάδες μεθυλίου και οι ομάδες υδρογόνου των αντίθετων φύλλων να αλληλεπιδρούν για να σχηματίσουν τη στοίβα μεταξύ των φύλλων στους κρυστάλλους. Ισχυροί δεσμοί υδρογόνου μεταξύ και εντός της αλυσίδας και οι δυνάμεις van der Waals μπορούν να δημιουργήσουν μια θερμοδυναμικά σταθερή δομή, η οποία είναι κάθετη στον άξονα των αλυσίδων του μεταξιού (Nguyen A. T. 2014).

#### 1.4.2.2. Οι φυσικές ιδιότητες του μεταξιού

Η γλυκίνη (Gly) πρόκειται για ένα αμινοξύ με μικρό μοριακό βάρος και μέγεθος. Επί προσθέτως, αυτό το γεγονός σε συνδυασμό με την υψηλή αναλογία της γλυκίνης στη σύσταση της φιβροΐνης επιτρέπει τη στενή επιστοίβαση των β-πτυχωτών επιφανειών, δημιουργώντας ίνες τόσο ισχυρές όσο και ανθεκτικές στη θραύση. Η παρατηρούμενη υψηλή αντοχή εφελκυσμού της ίνας του μεταξιού οφείλεται στο μεγάλο πλήθος διάσπαρτων υδρογονικών δεσμών. Το χαρακτηριστικό αυτό επιτρέπει στο υλικό, όταν του ασκείται τάση τότε αυτή να καταμερίζεται στους πολυάριθμους δεσμούς υδρογόνου, καθιστώντας με αυτό τον τρόπο δύσκολη τη θραύση τους (**Εικόνα 20**). Ο συνδυασμός ανθεκτικότητας και σταθερότητας καθιστούν το μετάξι ένα υλικό το οποίο διαθέτει εφαρμογές σε διάφορους τομείς πέρα από τη δημιουργία υφασμάτων, όπως στην ιατρική για κατασκευή χειρουργικών ραμμάτων (Moy et al., 1991, Holander 1994), τη δημιουργία βιοϊατρικών υλικών με εφαρμογές σε κλινικές επιδιορθώσεις και την *in vitro* χρήση τους σε ιστοκαλλιέργειες ως στηρικτικό υπόστρωμα (Minoura et al., 1995), ή στην κατασκευή υλικών θωράκισης για στρατιωτικές εφαρμογές (Beard 1992).

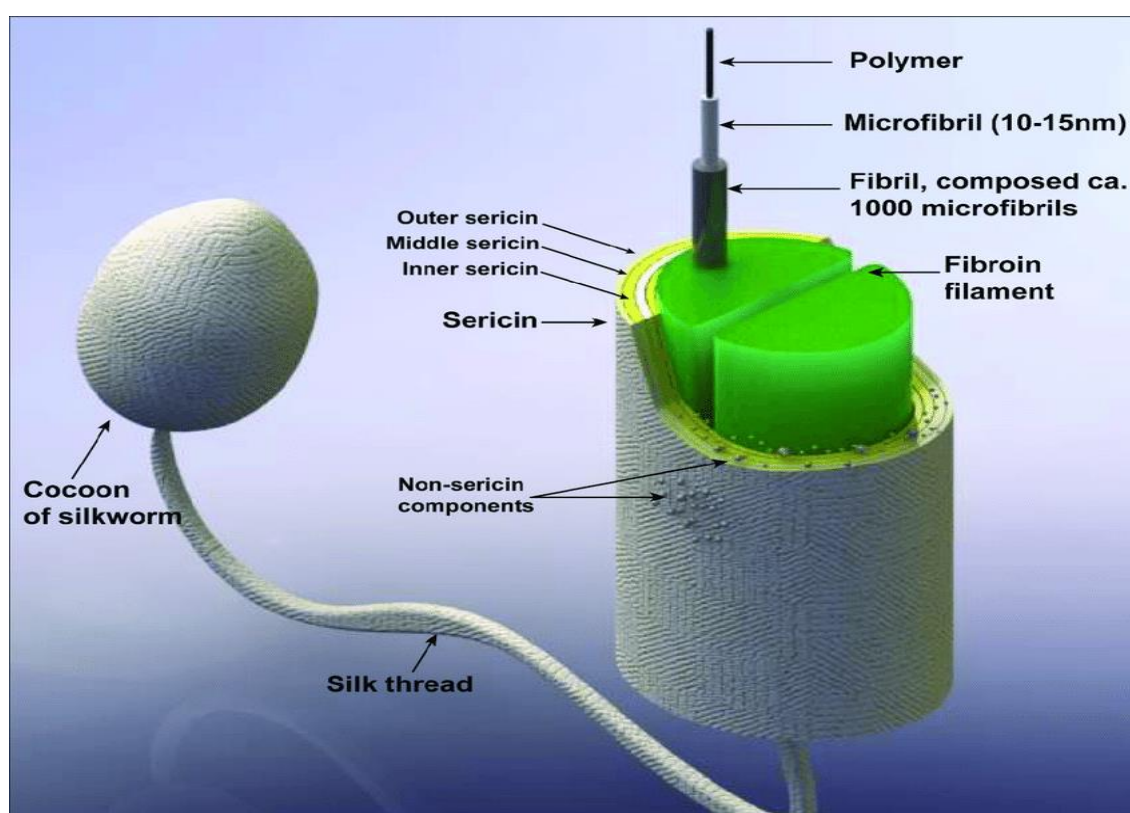
Μία ίνα μεταξιού του *B. mori* L. έχει διάμετρο από 10 έως 20 μm και αποτελείται από έναν αριθμό νανοϊνιδίων. Επιπλέον, οι ίνες μεταξιού του έχουν διάμετρο 10-20 μm και έχουν τριγωνικό σχήμα. Πριν από το σχηματισμό ινών, οι πρωτεΐνες μεταξιού του

*B. mori* αποθηκεύονται σε σταθερή διαλυτή κατάσταση σε υψηλή συγκέντρωση (~ 30 wt %) στους μεταξογόνους αδένες. Ο αδένας του μεταξοσκώληκα αποτελείται κυρίως από τρεις διακριτές περιοχές, δηλαδή την οπίσθια, τη μέση και την πρόσθια (Εικόνα 19). Η φιβροΐνη, το κύριο συστατικό που καταλαμβάνει έως και 70% κ.β. των πρωτεϊνών του μεταξιού, συντίθεται αποκλειστικά στην οπίσθια περιοχή και μεταφέρεται μέσω περισταλισμού στη μεσαία περιοχή του αδένος. Η δεύτερη πρωτεΐνη του μεταξιού, η σερικίνη, παράγεται στα τοιχώματα της μεσαίας περιοχής του μεταξογόνου αδένος. Κατά τη διάρκεια της φυσικής διαδικασίας κλώσης, οι πρωτεΐνες μεταξιού μετακινούνται στην πρόσθια περιοχή και περιστρέφονται στον αέρα στα κλωστρίδια για να σχηματίσουν την τελική ίνα μεταξιού που αποτελείται από δύο πυρήνες φιβροΐνης επικαλυμμένους με ένα στρώμα σερικίνης, την «κολλητική» πρωτεΐνη. Η δημιουργία του μεταξιού είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που περιλαμβάνει διάφορες αλλαγές των χημικών και φυσικών παραμέτρων των πρωτεϊνών, όπως το pH, η ιοντική συγκέντρωση, η συγκέντρωση πρωτεΐνης και ο ρυθμός διάτμησης. Μέχρι σήμερα, ο μηχανισμός σχηματισμού ινών δεν είναι πλήρως κατανοητός (Nguyen A. T. 2014).



**Εικόνα 19:** Σχηματική απεικόνιση των μεταξογόνων αδένων του *B. mori* L. (Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/silk-glands>)

Η τριγωνική πρισματοειδής δομή της μετάξινης ίνας προσδίδει τη λάμψη στην εμφάνιση του μεταξιού, καθώς και στα μεταξωτά υφάσματα τα οποία διαθλούν τις προσπίπτουσες ακτίνες του φωτός προς διάφορες κατευθύνσεις, δημιουργώντας έτσι ποικίλους χρωματικούς τόνους και ιριδισμούς, αναλόγως με τη γωνία θέασης του υλικού. Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε παραπάνω το πρωτεϊνικό κλάσμα της φιβροΐνης συντίθενται από επαναλαμβανόμενες αλυσίδες αμινοξέων με δομή β-πτυχωτής επιφάνειας, και με αυτό τον τρόπο η επίπεδη επιφάνεια των ινιδίων που δημιουργείται αντανακλά το φως σε πολλές γωνίες προσδίδοντας τη φυσική λάμψη στο μετάξι (Kaplan et al., 1991, Xiang 2010, Sutherland et al., 2010, Τζιτζινάκης 2012).



**Εικόνα 20:** Σχηματική απεικόνιση (3D) της δομής του μεταξένιου νήματος στο κουκούλι του *B. mori* L. (Πηγή: [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-structure-of-a-silk-thread-in-the-silkworm-cocoon-Image-modified-from\\_fig1\\_332303637](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-structure-of-a-silk-thread-in-the-silkworm-cocoon-Image-modified-from_fig1_332303637))

Το μετάξι χαρακτηρίζεται από ελαστικότητα, είναι ευέλικτο και μονωτικό, ενώ θεωρείται η πιο μαλακή ίνα από τις φυσικές υφαντικές ίνες. Διαθέτει υγροσκοπικότητα και είναι δυσθερμαγωγό, που του δίνει την ιδιότητα συγκράτησης υγρασίας μέχρι και 11% υπό κανονικές συνθήκες, ενώ μόλις η σχετική υγρασία φτάσει στο 100% τότε αυξάνεται η απορροφητική του ικανότητα μέχρι και 35%, καθώς το νερό απορροφάται από όλη τη μάζα της ίνας και ταυτόχρονα η ίνα διογκώνεται. Ως αποτέλεσμα αυτού, στα μεταξωτά υφάσματα δεν εμφανίζεται εύκολα υγρασία. Επί προσθέτως, οι



υγροσκοπικές ιδιότητες του μεταξιού το καθιστούν ικανό να απορροφά τον ιδρώτα από την επιφάνεια του δέρματος και να επιτρέπει έπειτα την εξάτμισή του ανάμεσα από τις ίνες του (Kaplan et al., 1991, Ganga 2003, Xiang 2010, Χαριζάνης & Τζιτζινάκης 2011α).

Τόσο οι ιδιότητες όσο και ο τρόπος που υφαίνεται το μετάξι κάνουν αδύνατη σχεδόν τη συγκράτηση από αλλεργιογόνες ουσίες, ακάρεα της σκόνης και ανάπτυξη μυκήτων δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο το τέλειο υλικό προς χρήση από άτομα με ευαισθησίες στους ανωτέρω παράγοντες. Επιπλέον, τα υφάσματα από μετάξι δύναται να διατηρούν σταθερή τη θερμοκρασία του σώματος έχοντας ως αποτέλεσμα να παραμένουν ζεστά κατά τη διάρκεια του χειμώνα αλλά και δροσερά το καλοκαίρι (Kaplan et al., 1991, Xiang 2010).

### **1.4.3. Το μετάξι στο χώρο του διεθνούς εμπορίου**

#### **1.4.3.1. Το μετάξι στον κόσμο**

Το μετάξι στο σύνολο της παγκόσμιας παραγωγής υφαντουργικών ινών κατέχει ένα μικρό ποσοστό. Ειδικότερα, αντιπροσώπευε το 0,5% της συνολικής παραγωγής προπολεμικά, ενώ κατέβηκε σε ποσοστό και μέχρι 0,16 – 0,18% κατά τη διάρκεια του 2<sup>ου</sup> Παγκοσμίου πολέμου το οποίο από την άποψη του όγκου διαθέτει μέχρι και σήμερα (Τζιτζινάκης 2012). Από οικονομικής απόψεως κυριαρχεί μία πλήρως διαφορετική εικόνα που βασίζεται στην υψηλή τιμή του προϊόντος στις διεθνείς αγορές (Currie 1997).

Από το έτος 1961 μέχρι και το 2008 η εισαγωγή της ακατέργαστης μέταξας ανά τον κόσμο σχεδόν διπλασιάστηκε και αυξήθηκε από 7000 σε περίπου 15000 τόνους με ταυτόχρονη αύξηση της αξίας της παγκόσμιας εισαγωγής από περίπου 65,5 εκατομμύρια δολάρια σε 424,3 εκατομμύρια δολάρια (Τζιτζινάκης & Περδικάρης 2008).

Αντίστοιχα κυμαίνεται και η αύξηση για την ευρωπαϊκή αγορά ακατέργαστης μέταξας. Στην Ευρώπη οι εισαγωγές από περίπου 3000 τόνους το 1961 αυξήθηκαν σε περίπου 5000 τόνους (1/3 των εισαγωγών παγκοσμίως) και ταυτόχρονα οι αντίστοιχοι αριθμοί για την αξία των εισαγωγών από περίπου 3 εκατομμύρια δολάρια το 1961 ανήλθαν σε 162 εκατομμύρια δολάρια το 2008 (Τζιτζινάκης 2012).

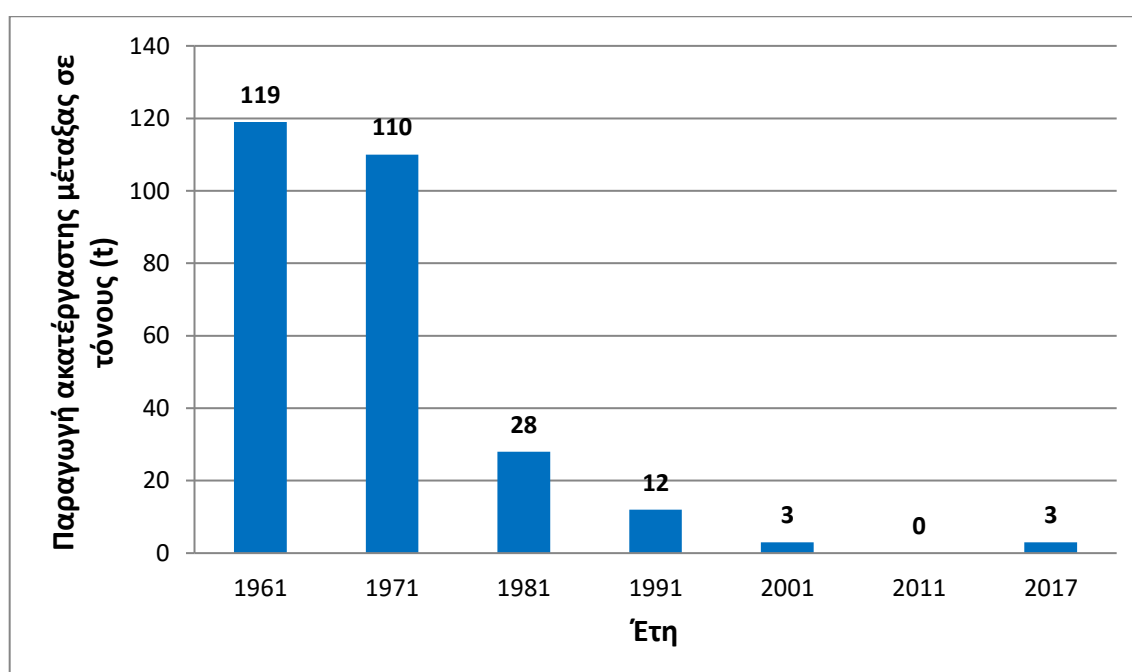
Υπάρχουν περισσότερες από 30 χώρες παραγωγής μεταξιού στον κόσμο σήμερα. Σύμφωνα με στοιχεία του FAO η παγκόσμια παραγωγή της ακατέργαστης μέταξας ανήλθε σε 155000 τόνους το 2008. Η Κίνα κατέχει το μεγαλύτερο μέρος της παγκόσμιας παραγωγής πλησιάζοντας τους 112000 τόνους με εξαγωγές που φτάνουν περίπου τους 11000 τόνους, ενώ ακολουθεί η Ινδία ως δεύτερη παραγωγός χώρα φτάνοντας τους 17500 τόνους παραγωγής και απορροφώντας ένα μεγάλο ποσοστό του μεταξιού που παράγει για χρήση στις δικές της βιομηχανίες. Υπάρχουν και άλλες χώρες με αξιοσημείωτες παραγωγές μεταξιού όπως το Βιετνάμ με 13000 τόνους, το Τουρκμενιστάν με 4500 τόνους και έπειτα ακολουθούν και άλλα κράτη με λιγότερη δυναμικότητα (Ganga 2003).

Στις περισσότερες χώρες παραγωγής μεταξιού πραγματοποιείται ταυτόχρονα και σημαντική χρήση αυτού αλλά και εισαγωγές σε ακατέργαστη μέταξα. Από τις κυριότερες χώρες εξαγωγής είναι η Κίνα που εξάγει περίπου το 90% της ποσότητας από μετάξι το οποίο διακινείται παγκοσμίως σε Ιαπωνία, Ευρώπη, Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής κ.τ.λ. (Currie 1997, Τζιτζινάκης 2012).

Παρόλα αυτά, η σηροτροφία τα τελευταία έτη τείνει να εξαφανίζεται από τις βιομηχανικά ανεπτυγμένες χώρες καθώς το εργατικό κόστος αυξάνεται δεδομένου ότι η παραγωγή του μεταξιού με τον παραδοσιακό τρόπο είναι μια απασχόληση υψηλά χειρωνακτική. Στην Ευρώπη έχει σχεδόν εγκαταλειφθεί από χώρες οι οποίες παλαιότερα παρήγαγαν μετάξι όπως η Ισπανία, Γαλλία, Ιταλία, ενώ ακολουθούν η Κορέα και η Ιαπωνία. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στην Ελλάδα από όταν το βιοτικό επίπεδο της χώρας ξεκίνησε να αυξάνεται (Currie 1997, Ganga 2003, Tzitzinakis et al., 2008, Τζιτζινάκης 2012). Παρόμοια όμως εξέλιξη φαίνεται να υπάρχει και στην Κίνα όπου οι παραγωγικές περιοχές της χώρας που ήταν συνήθως παραλιακές, μετατρέπονται σε βιομηχανικές με ταχείς ρυθμούς. Με αυτό τον τρόπο οι περιοχές παραγωγής του μεταξιού στην Κίνα συρρικνώνονται και μετατοπίζονται κυρίως προς το εσωτερικό της χώρας, χωρίς να αποκλείεται το γεγονός ότι στο μέλλον θα υπάρξει αισθητή μείωση της παραγωγής μεταξιού και συνάμα αύξηση τόσο της ζήτησης όσο και της τιμής του προϊόντος στη διεθνή αγορά (Currie 1997, Ganga 2003, Τζιτζινάκης 2012).

### 1.4.3.2. Το μετάξι σε Ευρώπη και Ελλάδα

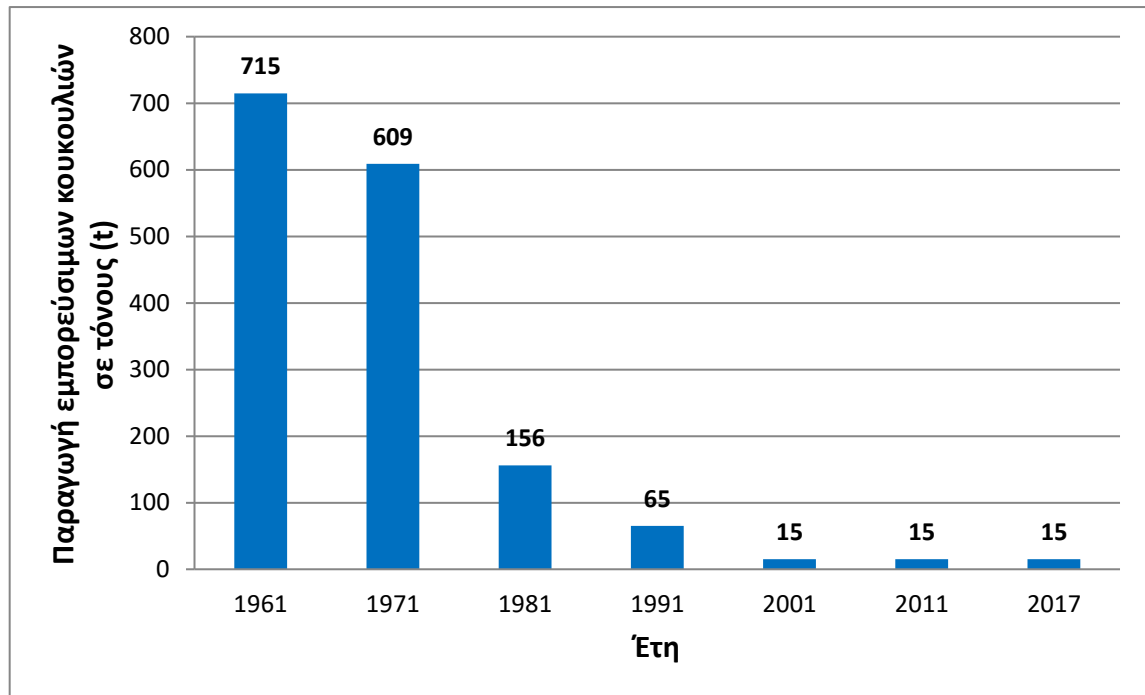
Στην Ελλάδα η σηροτροφία έγκειται ως μια αγροτική κυρίως δραστηριότητα. Ανοδικές τάσεις έχουν παρατηρηθεί τα τελευταία έτη αναφορικά με την παραγωγή κουκουλιών και ταυτόχρονα έντονο ενδιαφέρον για τη σηροτροφία υπάρχει σε περιοχές όπως η Καβάλα, οι Σέρρες, η Εύβοια και η Βοιωτία όπου έχουν πραγματοποιηθεί επενδύσεις κυρίως λόγω των Κοινοτικών ενισχύσεων. Παρόλα αυτά, λόγω του ότι υπάρχει η παραγωγή κουκουλιών στην Ελλάδα αλλά όχι η αξιοποίησή τους, παρατηρείται μία στασιμότητα σε μηδενικά σχεδόν επίπεδα σχετικά με την παραγωγή του μεταξιού. (Tzitzinakis et al., 2008, Τζιτζινάκης & Περδικάρης 2008).



**Διάγραμμα 1:** Παραγωγή ακατέργαστης μέταξας σε τόνους (t) στην Ελλάδα. (Πηγή: <http://faostat.fao.org/>)

Ειδικότερα, οι κύριοι στόχοι αφορούν την εμπορευματοποίηση των κουκουλιών, την αξιοποίησή τους και τελικά την παραγωγή του ελληνικού μεταξιού, καθώς η ύπαρξη ενός προϊόντος δίχως εμπορική αξία καθίσταται μη βιώσιμο (Τζιτζινάκης 2012). Από τις μεγαλύτερες δυσκολίες που έχει να αντιμετωπίσει τόσο η ελληνική όσο και η ευρωπαϊκή σηροτροφία είναι οι πολύ χαμηλές τιμές των προϊόντων μεταξιού και του νήματος από μετάξι, τα οποία εισάγονται από διάφορες ασιατικές χώρες και ιδιαίτερα την Κίνα, λόγω του χαμηλού κόστους εργασίας που παρέχεται στις συγκεκριμένες χώρες. Οι δυσκολίες αυτές μπορούν να αντισταθμιστούν βελτιώνοντας την ποιότητα των μεταξωτών προϊόντων ευρωπαϊκής προέλευσης, όπως επιβάλλεται από τις ανάγκες της βιομηχανίας υφασμάτων και της υψηλής ραπτικής. Για τον σκοπό

αυτό, η εκμετάλλευση και αξιοποίηση βελτιωμένων και προσαρμοσμένων πληθυσμών μεταξοσκωλήκων και η χρήση αποδοτικών υβριδίων κυρίως ποιοτικά και όχι μόνο ποσοτικά, δύναται να βοηθήσουν στη βελτίωση όχι μόνο του μεταξιού αλλά ευρύτερα και της σηροτροφίας (Tzitzinakis et al., 2008, Νομαρχία Λέσβου 2001, Νομαρχία Έβρου 2004, 2005, Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών 2005, 2006α, 2006β, 2006γ, 2006δ, Τζιτζινάκης 2012).



**Διάγραμμα 2:** Παραγωγή εμπορεύσιμων κουκουλιών σε τόνους (t) στην Ελλάδα. (Πηγή: <http://faostat.fao.org/>)

Μόλις πρόσφατα αναπτύχθηκε ενδιαφέρον για την αναβίωση της παραγωγής του ελληνικού μεταξόσπορου για εμπορικούς λόγους που αποτελεί μια δραστηριότητα που είχε εγκαταλειφθεί για αρκετά χρόνια. Εντούτοις, η δυσκολία αναφορικά με την προσαρμοστικότητα των εισαγόμενων υβριδίων σε συνδυασμό με τις διοικητικές δυσκολίες στη διαδικασία της εισαγωγής, οδήγησαν στην ανάγκη για παραγωγή «ντόπιου» πολλαπλασιαστικού υλικού. Αξιοσημείωτη προσαρμοστικότητα και χαρακτηριστικά κατά τις ελληνικές συνθήκες εκτροφής είχαν παρατηρηθεί με τη χρήση του ελληνικού υβριδίου X1 x K1 το οποίο είχε διατεθεί προς χρήση από το 2004 έως και το 2006 σε Έλληνες σηροτρόφους. Επί προσθέτως, κατά τη διάρκεια των σηροτροφικών περιόδων που πραγματοποιήθηκε η χρήση του X1 x K1 από παραγωγούς, στην πλειονότητά τους αυτοί παρέμειναν αρκετά ικανοποιημένοι αναφορικά με το ύψος της παραγωγής, την προσαρμογή του στις κλιματικές συνθήκες της Ελλάδας και την ανθεκτικότητά του σε ασθένειες (Νομαρχία Λέσβου 2001,

Νομαρχία Έβρου 2004, 2005, Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών 2005, 2006α, 2006β, 2006γ, 2006δ, Tzitzinakis et al., 2008, Τζιτζινάκης 2012).

### **1.5. Στήριξη και προώθηση του σηροτροφικού κλάδου**

Υπάρχουν ορισμένοι που υποστηρίζουν πως στο μετάξι η προώθηση δεν είναι απαραίτητη διότι είναι καλά γνωστό για την υπόστασή του και πως δεν βρίσκεται πραγματικά σε σύγκρουση με άλλες ίνες συνθετικές και τεχνικές. Παρόλα αυτά, στο τμήμα της αγοράς που του αντιστοιχεί, το μετάξι βρίσκεται αντιμέτωπο με αρκετό ανταγωνισμό, όχι μόνο από συνθετικές ίνες αλλά και από διαφορετικά πολυτελή προϊόντα. Ειδικότερα ο πραγματικά έντονος ανταγωνισμός αναφορικά με το μετάξι προέρχεται από κοσμήματα, αρώματα, δερμάτινα είδη, γούνες κ.ά. προϊόντα που όλα απευθύνονται κυρίως στο ίδιο καταναλωτικό κοινό. (Currie 1997, Ganga 2003, Τζιτζινάκης 2012).

Εκτός από την προσέγγισή του όμως ως ένα απλό είδος πολυτελείας, το ύφασμα από μετάξι χαρακτηρίζεται και ως ένα προϊόν που δύναται να προστατεύσει την υγεία του χρήστη από διάφορους παθογόνους παράγοντες όπως μύκητες, ακάρεα, και υγρασία λόγω των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών και ιδιοτήτων του και έτσι να χαρίζει ευεξία όπως έχει ήδη αναφερθεί ανώτερα. (Kaplan et al., 1991, Ganga 2003, Τζιτζινάκης 2012).

Η Ελλάδα αποτελεί μία χώρα η οποία διαθέτει αρκετές από τις συνθήκες οι οποίες έχουν την ιδιότητα να οδηγήσουν σε μια εκ νέου «άνθηση της σηροτροφίας», όπως είχε πραγματοποιηθεί και στο παρελθόν, αφού αποτελούσε μία από τις πιο ισχυρές δυνάμεις του κλάδου παγκοσμίως καθώς κατείχε αυτάρκεια τόσο στην παραγωγή μεταξιού αλλά και μεταξόσπορου και συνάμα βρισκόταν σε θέση να εξάγει σημαντικές ποσότητες. Ειδικότερα, σύμφωνα με δεδομένα από το F.A.O. είναι φανερό πως μέχρι και τις αρχές της δεκαετίας του '80 γινόταν εξαγωγή από ακατέργαστη μέταξα (<http://faostat.fao.org/>). Επιπλέον, έχοντας υπόψη δεδομένα τα οποία προέρχονται από τη διάρκεια της ακμής του κλάδου της σηροτροφίας στην Ελλάδα, είναι σαφές πως πληρούνται όλες οι προϋποθέσεις ώστε να πραγματοποιηθεί η παραγωγή αρκετά αξιολογών ποσοτήτων από μετάξι και με υψηλά ποιοτικά επίπεδα προϊόντος (Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών 1965), που θα έχει τη δυνατότητα ανταγωνισμού των οικονομικότερων προϊόντων μεταξιού τα οποία εισάγονται τόσο στην Ελλάδα όσο και στην Ευρωπαϊκή Ένωση από ασιατικές κυρίως χώρες (Τζιτζινάκης 2012).

## 2. ΝΑΝΟΣΩΜΑΤΙΔΙΑ

### 2.1. Γενικά

Η νανοτεχνολογία (nanotechnology) αποτελεί ένα σημαντικό πεδίο σύγχρονης έρευνας που ασχολείται με το σχεδιασμό, τη σύνθεση και το χειρισμό δομών σωματιδίων που κυμαίνονται από περίπου 1-100 nm. Η λέξη «νάνο» προέρχεται από τα ελληνικά και σημαίνει εξαιρετικά μικρός. Η νανοβιοτεχνολογία περιλαμβάνει έρευνα της τεχνολογίας σε διάφορους τομείς της επιστήμης όπως η βιοτεχνολογία, η νανοτεχνολογία, η φυσική, η χημεία και η επιστήμη των υλικών (Rai et al., 2008).

Η νανοτεχνολογία περιλαμβάνει παρέμβαση νέων στρατηγικών με τη βοήθεια των οποίων χειρίζονται άτομα και μικρά σωματίδια. Η πρόοδος στον τομέα της νανοτεχνολογίας ήταν ταχεία με αποτέλεσμα την ανάπτυξη καινοτόμων πρωτοκόλλων σύνθεσης και τεχνικών χαρακτηρισμού (Sharma et al., 2009). Όμως οι περισσότερες από τις μεθόδους σύνθεσης περιορίζονται στη σύνθεση νανοσωματιδίων (Nanoparticles - NPs) σε μικρές ποσότητες και φτωχή μορφολογία (Sau and Rogach, 2010).

Οι μέθοδοι χημικής και φυσικής σύνθεσης συχνά καταλήγουν στη σύνθεση ενός μείγματος νανοσωματιδίων με φτωχή μορφολογία και αυτές οι μέθοδοι αποδεικνύονται επίσης επικίνδυνες για το περιβάλλον λόγω της χρήσης τοξικών χημικών ουσιών και των υψηλών θερμοκρασιών κατά τη διαδικασία σύνθεσης (Birla et al., 2009).

Η βιοσύνθεση των NPs έχει προταθεί ως μια οικονομικά αποδοτική και ως μια γρήγορη, φιλική προς το περιβάλλον εναλλακτική λύση στις χημικές και φυσικές μεθόδους. Τα νανοσωματίδια μετάλλων που παράγονται με χρήση μικροοργανισμών και φυτικών εκχυλισμάτων είναι σταθερά και μπορούν να μονοδιασπαρθούν ελέγχοντας συνθετικές παραμέτρους, όπως το pH, η θερμοκρασία, η περίοδος επώασης και η αναλογία ανάμειξης. Από την άλλη πλευρά, η φυτική σύνθεση NPs είναι μια προσέγγιση πράσινης χημείας που συνδέει τη νανοτεχνολογία με τα φυτά. Μεταξύ των βιολογικών εναλλακτικών λύσεων, τα φυτά και τα φυτικά εκχυλίσματα φαίνεται να είναι η καλύτερη επιλογή γιατί όπως είναι γνωστό τα φυτά αποτελούν τα «χημικά εργοστάσια» της φύσης (Parveen et al., 2016).

Πρόσφατα, τα βιολογικά NPs βρέθηκαν να είναι πιο φαρμακολογικά δραστικά από τα φυσικοχημικά συντιθέμενα νανοσωματίδια. Μεταξύ των διαφόρων βιολογικών NPs, αυτά που παράγονται από φαρμακευτικά φυτά έχει βρεθεί ότι είναι τα πιο ενεργά,

πιθανώς λόγω της προσκόλλησης αρκετών φαρμακολογικά ενεργών υπολειμμάτων όπως οι δευτερογενείς μεταβολίτες (Singh et al., 2016).

## 2.2. Ταξινόμηση των νανοσωματιδίων

Τα νανοσωματίδια μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τα ακόλουθα κριτήρια. Από την άποψη της προέλευσης, τα NPs μπορεί να είναι φυσικά και ανθρωπογενή. Από την άλλη πλευρά, ταξινομούνται ευρέως ανάλογα με τη διάσταση:

- Μονοδιάστατο σύστημα (λεπτό φιλμ ή κατασκευασμένες επιφάνειες) χρησιμοποιείται εδώ και δεκαετίες. Οι λεπτές μεμβράνες (μεγέθη 1–100 nm) ή η μονοστοιβάδα είναι πλέον κοινές θέσεις στον τομέα των ηλιακών κυψελών που προσφέρουν διαφορετικές τεχνολογικές εφαρμογές (χημικοί και βιολογικοί αισθητήρες, οπτικές συσκευές, συστήματα οπτικών ινών)
- Νανοσωματίδια δύο διαστάσεων όπως νανοσωλήνες άνθρακα (carbon nanotubes)
- Τρισδιάστατα νανοσωματίδια όπως δενδριμερή, κβαντικές τελείες (quantum dots), φουλερένια (fullerenes) (Carbon 60) (Hett, 2004).

Μια άλλη ταξινόμηση των νανοσωματιδίων είναι ανάλογα με τη χημική σύνθεση σε οργανικά, ανόργανα και με βάση τον άνθρακα.

### *Οργανικά νανοσωματίδια*

Τα δενδριμερή, τα μικκύλια, τα λιποσώματα, η φερριτίνη, κ.λπ. είναι κοινώς γνωστά ως οργανικά νανοσωματίδια ή πολυμερή. Αυτά τα νανοσωματίδια είναι βιοδιασπώμενα, μη τοξικά και ορισμένα όπως τα μικκύλια και τα λιποσώματα έχουν κοίλο πυρήνα (**Εικόνα 21**) γνωστά και ως νανοκάψουλες και είναι ευαίσθητα στη θερμική και ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία όπως η θερμότητα και το φως (Tiwari et al., 2008).

### *Ανόργανα νανοσωματίδια*

Τα ανόργανα νανοσωματίδια είναι σωματίδια που δεν αποτελούνται από άνθρακα. Τα νανοσωματίδια με βάση το μέταλλο και τα οξείδια μετάλλων κατηγοριοποιούνται γενικά ως ανόργανα νανοσωματίδια (Ortica et al., 2019).

### *Με βάση το μέταλλο*

Αυτά τα νανοσωματίδια συντίθενται από μέταλλα σε νανομετρικά μεγέθη. Σχεδόν όλα τα μέταλλα μπορούν να συντεθούν στα νανοσωματίδια τους, αλλά τα

μέταλλα που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι το αλουμίνιο (Al), το κάδμιο (Cd), το κοβάλτιο (Co), ο χαλκός (Cu), ο χρυσός (Au), ο σίδηρος (Fe), ο μόλυβδος (Pb), το ασήμι (Ag) και ο ψευδάργυρος (Zn). Από την άλλη πλευρά, η διμεταλλική λίστα περιλαμβάνει τα νανοσωματίδια Fe–Co, Fe–Ni, Fe–Cu, Cu–Ni και Fe–Pt. Τα νανοσωματίδια έχουν χαρακτηριστικές ιδιότητες όπως μεγέθη από 10 έως 100 nm, χαρακτηριστικά επιφάνειας όπως υψηλή αναλογία επιφάνειας προς όγκο, μέγεθος πόρων, επιφανειακό φορτίο και επιφανειακή πυκνότητα φορτίου, κρυσταλλικές και άμορφες δομές, σχήματα όπως σφαιρικά και κυλινδρικά και χρώμα, αντιδραστικότητα και ευαισθησία σε περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως ο αέρας, η υγρασία, η θερμότητα και το ηλιακό φως κ.λπ. (Orpica et al., 2019).

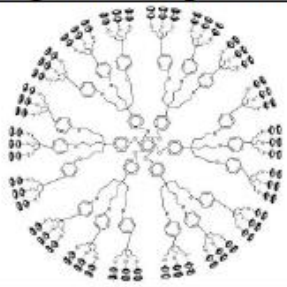
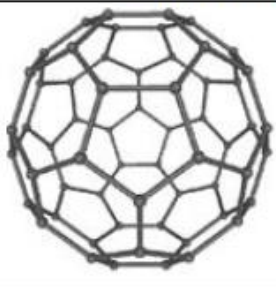


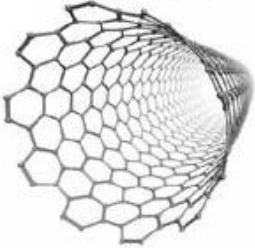
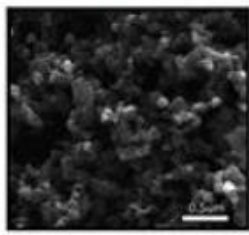

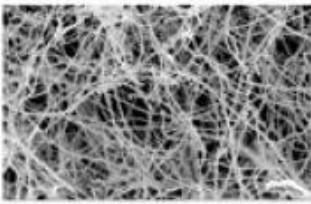
#### *Με βάση οξείδια μετάλλων*

Τα νανοσωματίδια που βασίζονται σε οξείδια μετάλλων συντίθενται για να τροποποιήσουν τις ιδιότητες των αντίστοιχων νανοσωματιδίων με βάση το μέταλλο. Τα νανοσωματίδια οξειδίων των μετάλλων συντίθενται κυρίως λόγω της αυξημένης αντιδραστικότητας και αποτελεσματικότητάς τους (Tai et al., 2007). Τα κοινά συντιθέμενα είναι οξείδιο του αργιλίου ( $Al_2O_3$ ), οξείδιο του δημητρίου ( $CeO_2$ ), οξείδιο του σιδήρου ( $Fe_2O_3$ ), μαγνητίτης ( $Fe_3O_4$ ), διοξείδιο του πυριτίου ( $SiO_2$ ), οξείδιο του τιτανίου ( $TiO_2$ ), οξείδιο του ψευδαργύρου (ZnO). Αυτά τα νανοσωματίδια έχουν εξαιρετικές ιδιότητες σε σύγκριση με τα αντίστοιχα μεταλλικά τους. Μερικά από τα NPs έχουν μαγνητικές ιδιότητες όπως  $Fe_3O_4$ , Co– $Fe_2O_4$  και Mn– $Fe_2O_4$  (McNamara and Tofail, 2017).

#### *Με βάση τον άνθρακα*

Τα νανοσωματίδια που είναι κατασκευασμένα εξ ολοκλήρου από άνθρακα είναι γνωστά ως βασισμένα στον άνθρακα (Bhaviripudi et al., 2007). Μπορούν να ταξινομηθούν σε φουλερένια, γραφένιο, νανοσωλήνες άνθρακα (CNT), νανοϊνές άνθρακα και αιθάλη και μερικές φορές ενεργό άνθρακα σε νανο-μεγέθη (**Εικόνα 21**).



Organic nanoparticles	Carbon based nanoparticles:	
		
<b>Dendrimers</b>	<b>Fullerenes</b>	<b>Graphene</b>
		
<b>Liposomes</b>	<b>Carbon Nanotubes</b>	<b>Carbon Black</b>
		
<b>Micelles</b>	<b>Carbon nanofiber</b>	

**Εικόνα 21:** Οργανικά νανοσωματίδια (δενδριμερή, λιποσώματα και μικκύλια) και νανοσωματίδια με βάση τον άνθρακα (φουλερένια, γραφένιο, νανοσωλήνες άνθρακα, νανοϊνες άνθρακα και αιθάλη) (Πηγή: Ealias and Saravanakumar, 2017)

### 2.3. Ιδιότητες των νανοσωματιδίων

Τα νανοσωματίδια έχουν διαφορετικό σχήμα, μέγεθος και δομή. Είναι σφαιρικό, κυλινδρικό, σωληνωτό, κωνικό, κοίλο πυρήνα, σπειροειδές, επίπεδο κ.λπ. ή ακανόνιστο και διαφέρει σε μέγεθος από 1 nm έως 100 nm. Η επιφάνεια μπορεί να είναι ομοιόμορφη ή ακανόνιστη με επιφανειακές παραλλαγές. Ορισμένα νανοσωματίδια είναι κρυσταλλικά ή άμορφα με μονοκρυσταλλικά στερεά είτε χαλαρά είτε συσσωματωμένα (Machado et al., 2015). Για τον χαρακτηρισμό νανοσωματιδίων υπάρχουν απαραίτητες ταυτοποιήσεις πολλών παραμέτρων (**Πίνακας 2**).

Οι ιδιότητες των νανοσωματιδίων κατηγοριοποιούνται γενικά σε φυσικές και χημικές. Οι ιδιότητες ορισμένων κοινών νανοσωματιδίων δίνονται στον **Πίνακα 3**.

**Πίνακας 2.** Διαφορετικές παράμετροι για τον χαρακτηρισμό των νανοσωματιδίων.

<b>Παράμετροι</b>	<b>Όργανο που χρησιμοποιείται</b>
<b>Μέγεθος σωματιδίων και κατανομή μεγέθους</b>	Zetasizer, Φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων, Πορομετρία υδραργύρου, Περιθλασιμετρία λέιζερ
<b>Μορφολογία Σωματιδίων</b>	Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM), Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (TEM), Μικροσκόπιο Ατομικής Δύναμης (AFM)
<b>Προσδιορισμός αποθήκευση ηλεκτρικής ενέργειας</b>	Ανεμόμετρο Laser droplet, Ποτενσιόμετρο Zeta
<b>Μεταλλική φύση</b>	Ανάλυση περίθλασης ακτίνων X (XRD)
<b>Προσδιορισμός λειτουργικών ομάδων</b>	Φασματοσκοπία Υπερύθρου Μετασχηματισμού Fourier (FTIR).
<b>Χημική ανάλυση επιφάνειας</b>	Φασματομετρία μάζας στατικού δευτερογενούς ιόντος (SIMS)
<b>Προφίλ έκδοσης</b>	Χαρακτηριστικό <i>in-vitro</i> απελευθέρωσης υπό φυσιολογικές συνθήκες και συνθήκες sink

## 2.4. Μέθοδοι σύνθεσης νανοσωματιδίων

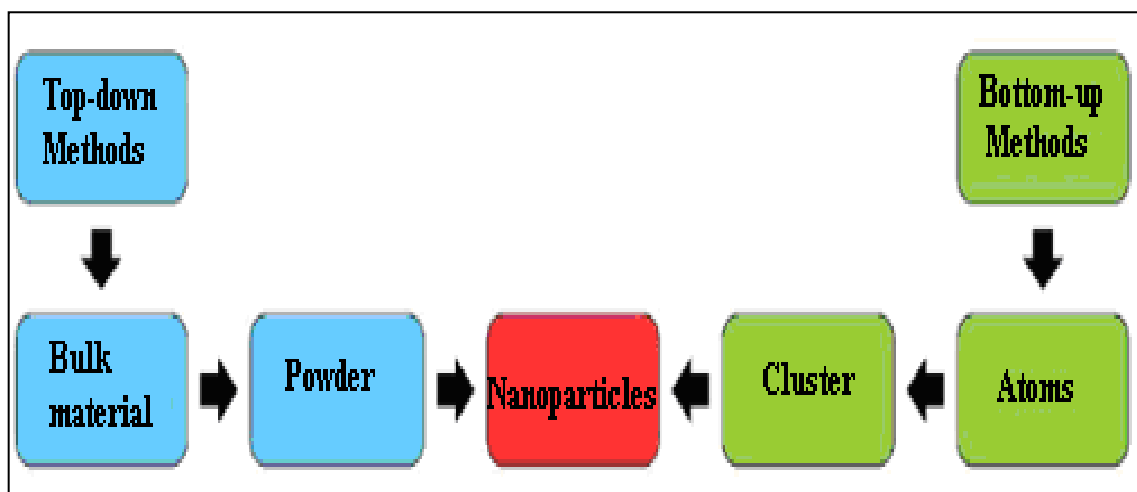
Τα νανοσωματίδια μπορούν να συντεθούν με διάφορα πρωτόκολλα χρησιμοποιώντας την από «πάνω προς τα κάτω» (top-down method) (φυσική) προσέγγιση που ασχολείται με μεθόδους όπως θερμική αποσύνθεση, διάχυση, ακτινοβολία, αφαίρεση με λέιζερ, εκκένωση τόξου κ.λπ., και από «κάτω προς τα πάνω» (bottom-up method) (χημική και βιολογική) προσέγγιση που περιλαμβάνει μέθοδο ανάπτυξης «σπόρων» (seeded growth method), μέθοδο σύνθεσης πολυόλης, ηλεκτροχημική σύνθεση, χημική αναγωγή, συμπύκνωση και βιολογικές οντότητες για την κατασκευή νανοσωματιδίων (**Εικόνα 22**). Διαφορετικές μέθοδοι σύνθεσης περιλαμβάνουν τη χρήση διαφορετικών τύπων χημικών, φυσικών και βιολογικών παραγόντων για την απόδοση νανοσωματιδίων σε διαφορετικά μεγέθη και σχήματα (Oprica et al., 2019).

#### 2.4.1. Μέθοδος από «κάτω προς τα πάνω» (bottom-up method)

Η μέθοδος από «κάτω προς τα πάνω» (ή εποικοδομητική μέθοδος) είναι η συσσώρευση υλικού από άτομο σε συστάδες έως νανοσωματίδια. Sol-gels, spinning, χημική εναπόθεση ατμών (CVD), πυρόλυση και βιοσύνθεση είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι από «κάτω προς τα πάνω» για την παραγωγή νανοσωματιδίων (Πίνακας 4) (Oprica et al., 2019).

#### 2.4.2. Μέθοδος από «πάνω προς τα κάτω» (top-down method)

Από «πάνω προς τα κάτω» (ή καταστροφική μέθοδος) είναι η αναγωγή ενός όγκου υλικού σε σωματίδια νανομετρικής κλίμακας. Η μηχανική άλεση, η νανολιθογραφία, η αφαίρεση με λέιζερ, ο ψεκασμός και η θερμική αποσύνθεση είναι μερικές από τις πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους σύνθεσης νανοσωματιδίων (Πίνακας 4) (Oprica et al., 2019).



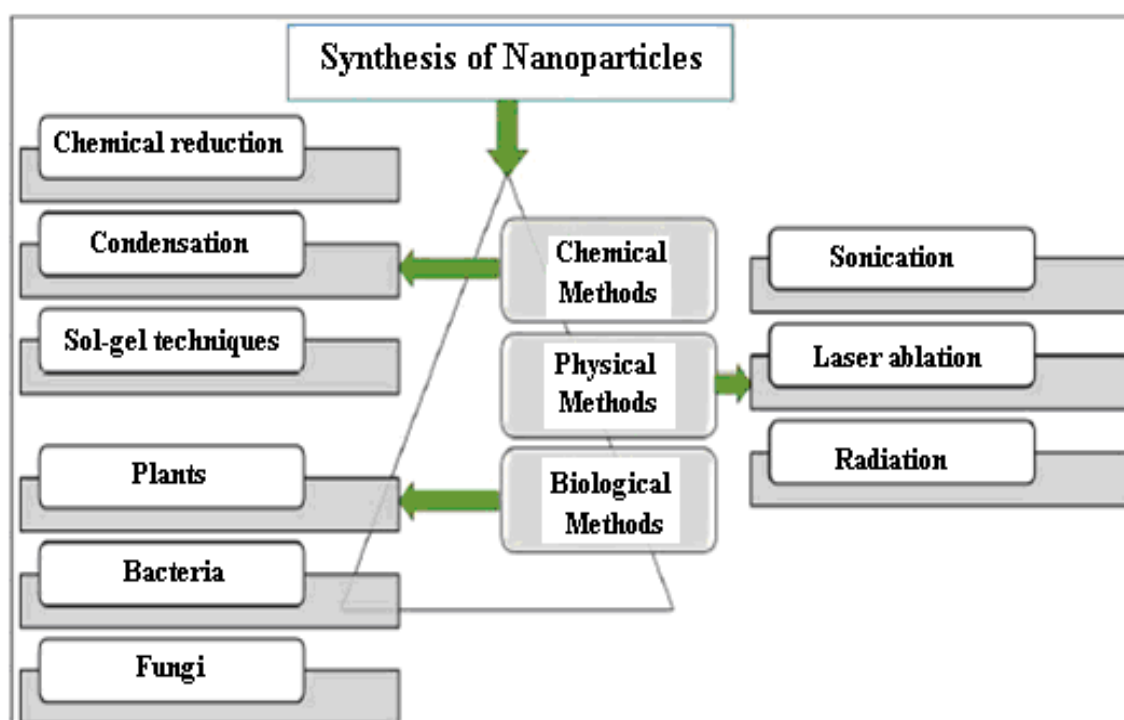
Εικόνα 22: Διαδικασία σύνθεσης νανοσωματιδίων. (Πηγή: Oprica et al., 2019)

**Πίνακας 3.** Φυσικές και χημικές ιδιότητες διαφορετικών νανοσωματιδίων (τροποποιημένο από Ealias and Saravanakumar, 2017)

<b>Νανοσωματίδια</b>	<b>Ιδιότητες</b>
<b>Νανοσωματίδια με βάση τον άνθρακα</b>	
<b>Φουλερένια</b>	Ασφαλής και αδρανής, ημιαγωγός, αγωγός και υπεραγωγός, μεταδίδει φως με βάση την ένταση
<b>Γραφένιο</b>	Εξαιρετική αντοχή, θερμική, ηλεκτρική αγωγιμότητα, απορρόφηση φωτός
<b>Νανοσωλήνες άνθρακα (CNT)</b>	Υψηλή ηλεκτρική και θερμική αγωγιμότητα, αντοχή σε εφελκυσμό, εύκαμπτο και ελαστικό
<b>Νανοϊνες άνθρακα</b>	Υψηλά θερμικές, ηλεκτρικές, θωράκιση συχνότητας και μηχανικές ιδιότητες
<b>Carbon Black</b>	Υψηλή αντοχή και ηλεκτρική αγωγιμότητα, επιφάνεια. ανθεκτικό στην αποδόμηση UV
<b>Νανοσωματίδια με βάση το μέταλλο</b>	
<b>Αλουμίνιο</b>	Υψηλή αντιδραστικότητα, ευαίσθητο στην υγρασία, τη θερμότητα και το ηλιακό φως, μεγάλη επιφάνεια
<b>Σίδηρος</b>	Αντιδραστικός και ασταθής, ευαίσθητος στον αέρα (οξυγόνο) και στο νερό
<b>Ασήμι</b>	Απορροφά και διασκορπίζει το φως, σταθερό, αντιβακτηριδιακό, απολυμαντικό
<b>Χρυσός</b>	Διαδραστικό με ορατό φως, αντιδραστικό
<b>Κοβάλτιο</b>	Ασταθές, μαγνητικό, τοξικό, απορροφά τα μικροκύματα, μαγνητικό
<b>Κάδμιο</b>	Ημιαγωγός ηλεκτρισμού, αδιάλυτο
<b>Μόλυβδος</b>	Υψηλή τοξικότητα, αντιδραστικό, εξαιρετικά σταθερό
<b>Χαλκός</b>	Εύκαμπτος, πολύ υψηλή θερμική και ηλεκτρική αγωγιμότητα, πολύ εύφλεκτα στερεά
<b>Ψευδάργυρος</b>	Αντιβακτηριδιακό, αντιδιαβρωτικό, αντιμυκητιακό, φιλτράρισμα UV

**Πίνακας 4.** Κατηγορίες των νανοσωματιδίων που συντέθηκαν από τις διάφορες μεθόδους (τροποποιημένο από Ealias and Saravanakumar, 2017)

Κατηγορία	Μέθοδος	Νανοσωματίδια
Μέθοδος από «κάτω προς τα πάνω» (bottom-up method)	Sol-gel	Με βάση τον άνθρακα, το μέταλλο και τα οξείδια μετάλλων
	Spinning	Οργανικά πολυμερή
	Χημική εναπόθεση ατμών (CVD)	Με βάση τον άνθρακα και το μέταλλο
	Πυρόλυση	Με βάση τον άνθρακα και τα οξείδια μετάλλων
	Βιοσύνθεση	Οργανικά πολυμερή και με βάση το μέταλλο
Μέθοδος από «πάνω προς τα κάτω» (top-down method)	Μηχανική άλεση	Με βάση το μέταλλο, τα οξείδια μετάλλων και τα πολυμερή
	Νανολιθογραφία	Με βάση το μέταλλο
	Αφαίρεση με λέιζερ	Με βάση τον άνθρακα και τα οξείδια μετάλλων
	Sputtering	Με βάση το μέταλλο
	Θερμική αποσύνθεση	Με βάση τον άνθρακα και τα οξείδια των μετάλλων



**Εικόνα 23:** Διάφορες μέθοδοι για την παραγωγή νανοσωματιδίων. (Πηγή: Oprica et al., 2019)

### **2.4.3. Χημική σύνθεση νανοσωματιδίων**

Η χημική σύνθεση νανοσωματιδίων είναι η πιο συχνή μέθοδος όπου χρησιμοποιείται η μέθοδος χημικής αναγωγής, η οποία πραγματοποιείται την αναγωγή των μεταλλικών σωματιδίων σε νανοσωματίδια χρησιμοποιώντας χημικούς αναγωγικούς παράγοντες όπως το βοροϋδρίδιο του νατρίου ή το κιτρικό νάτριο (Cao and Hu, 2009).

### **2.4.4. Φυσικές μέθοδοι σύνθεσης νανοσωματιδίων**

Οι φυσικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση νανοσωματιδίων περιλαμβάνουν τη θερμική αποσύνθεση, την ακτινοβολία με λέιζερ, την ηλεκτρόλυση, τη συμπύκνωση, τη διάχυση κ.λπ. Η μέθοδος θερμικής αποσύνθεσης χρησιμοποιείται για τη σύνθεση μονοεισπαρμένων νανοσωματιδίων. Τα λιπαρά οξέα διαλύονται σε καυτό διάλυμα NaOH και αναμιγνύονται με διάλυμα μεταλλικού άλατος που οδηγεί στο σχηματισμό μεταλλικού ιζήματος (Yang and Aoki, 2005).

### **2.4.5. Φυσικοχημικές μέθοδοι σύνθεσης νανοσωματιδίων**

Τα νανοσωματίδια συντίθενται μέσω πολλών φυσικοχημικών διεργασιών που έχουν ασκήσει πολλές πιέσεις στο περιβάλλον. Σήμερα, φιλικές προς το περιβάλλον εναλλακτικές λύσεις αντί των χημικών και φυσικών μεθόδων είναι η βιολογική σύνθεση νανοσωματιδίων με τη χρήση μικροοργανισμών (βακτήρια, ζυμομύκητες, μύκητες) και φυτών ή φυτικών εκχυλισμάτων.

Η «πράσινη» σύνθεση έχει προταθεί ως εναλλακτική λύση για τη μείωση της χρήσης επικίνδυνων ενώσεων και των σκληρών συνθηκών αντίδρασης στην παραγωγή NPs. Επιπλέον, η βιολογική προσέγγιση είναι απαλλαγμένη από χημικές τοξίνες. Η «πράσινη» σύνθεση των νανοσωματιδίων είναι μια απλή διαδικασία, όπου ένα μεταλλικό άλας αναμιγνύεται με ένα φυτικό εκχύλισμα και η αντίδραση ολοκληρώνεται σε λίγα λεπτά έως λίγες ώρες σε κανονική θερμοκρασία δωματίου. Η επιλογή του διαλυτικού μέσου και η επιλογή φιλικών προς το περιβάλλον, μη τοξικών αναγωγικών και σταθεροποιητικών παραγόντων είναι τα πιο σημαντικά ζητήματα που πρέπει να ληφθούν υπόψη στην «πράσινη» σύνθεση των NPs. Τα διαλύματα μεταλλικών αλάτων ανάγονται σε αντίστοιχα νανοσωματίδια και για το λόγο αυτό

έχουν τραβήξει ιδιαίτερη προσοχή την τελευταία δεκαετία λόγω της απλότητάς τους (Wali et al., 2018).

Τα βιομόρια που υπάρχουν σε φυτικά εκχυλίσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μείωση των μεταλλικών ιόντων σε νανοσωματίδια σε μια διαδικασία «πράσινης» σύνθεσης ενός σταδίου. Η βιογενής αναγωγή των πρόδρομων ουσιών μετάλλων για την παραγωγή των αντίστοιχων NPs είναι φιλική προς το περιβάλλον, λιγότερο δαπανηρή, χωρίς χημικούς ρύπους για ιατρικές και βιολογικές εφαρμογές όπου η καθαρότητα των NPs είναι μείζονος σημασίας (Imtiyaz et al., 2016). Η σύνθεση με τη μεσολάβηση φυτικών εκχυλισμάτων είναι φιλική προς το περιβάλλον. Οι εμπλεκόμενοι αναγωγικοί παράγοντες περιλαμβάνουν τους διάφορους υδατοδιαλυτούς φυτικούς μεταβολίτες (π.χ. αλκαλοειδή, τερπενοειδή, πολυφαινόλες, σάκχαρα, φαινολικά οξέα και πρωτεΐνες) και συνένζυμα (Mittal et al., 2013).

Επιπλέον, η βιολογική μέθοδος παρέχει ένα ευρύ φάσμα πόρων για τη σύνθεση νανοσωματιδίων. Ο ρυθμός αναγωγής των μεταλλικών ιόντων με τη χρήση βιολογικών παραγόντων βρέθηκε ότι είναι πολύ ταχύτερος σε συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης περιβάλλοντος. Για παράδειγμα, σε περίπτωση σύνθεσης νανοσωματιδίων με τη χρήση του *Aspergillus niger*, παρατηρήθηκε σύνθεση νανοσωματιδίων αργύρου εντός 2 ωρών από την επεξεργασία του διηθήματος μυκήτων με διάλυμα άλατος αργύρου (Gade et al., 2008).

Από την άλλη πλευρά, οι βιολογικοί παράγοντες εκκρίνουν μεγάλο αριθμό ενζύμων, τα οποία είναι ικανά να υδρολύουν μέταλλα και έτσι να επιφέρουν ενζυματική αναγωγή των ιόντων των μετάλλων (Rai et al., 2009). Στην περίπτωση των μυκήτων, το ένζυμο νιτρική αναγωγή βρέθηκε ότι είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση νανοσωματιδίων (Kumar et al., 2007).

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της βιολογικής σύνθεσης που βασίζεται σε ένζυμα από μύκητες είναι η δυνατότητα ανάπτυξης μιας ορθολογικής προσέγγισης για τη βιοσύνθεση νανοϋλικών σε μια σειρά χημικών συνθέσεων, κάτι που δεν είναι επί του παρόντος εφικτό με άλλες μεθόδους που βασίζονται σε μικροοργανισμούς.

#### **2.4.5.1. Μηχανισμός βιοσύνθεσης βιολογικών νανοσωματιδίων**

Η βιοσύνθεση νανοσωματιδίων από μικροοργανισμούς είναι μια φιλική προς το περιβάλλον τεχνολογία. Διάφοροι μικροοργανισμοί, τόσο προκαρυώτες όσο και

ευκαρυνότες χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση μεταλλικών νανοσωματιδίων (άργυρος, χρυσός, πλατίνα, ζirkόνιο, παλλάδιο, σίδηρος, κάδμιο και οξειδία μετάλλων όπως οξείδιο του τιτανίου, οξείδιο του ψευδαργύρου κ.λπ.). Η σύνθεση των νανοσωματιδίων μπορεί να είναι ενδοκυτταρική ή εξωκυτταρική ανάλογα με τη θέση των νανοσωματιδίων (Orpica et al., 2019).

Ενδοκυτταρική σύνθεση νανοσωματιδίων από μύκητες: Αυτή η μέθοδος περιλαμβάνει μεταφορά ιόντων σε μικροβιακά κύτταρα για να σχηματιστούν νανοσωματίδια παρουσία ενζύμων. Σε σύγκριση με το μέγεθος των εξωκυτταρικών μειωμένων νανοσωματιδίων, τα νανοσωματίδια που σχηματίζονται μέσα στον οργανισμό είναι μικρότερα. Το όριο μεγέθους πιθανότατα σχετίζεται με τα σωματίδια που σχηματίζουν πυρήνα μέσα στους οργανισμούς (Orpica et al., 2019).

Εξωκυτταρική σύνθεση νανοσωματιδίων από μύκητες: Η εξωκυτταρική σύνθεση νανοσωματιδίων έχει περισσότερες εφαρμογές σε σύγκριση με την ενδοκυτταρική σύνθεση, καθώς δεν υπάρχουν περιττά γειτονικά κυτταρικά συστατικά από το κύτταρο. Οι μύκητες είναι κυρίως γνωστό ότι παράγουν νανοσωματίδια εξωκυτταρικά λόγω των τεράστιων εκκριτικών συστατικών τους, τα οποία εμπλέκονται στη μείωση και την κάλυψη των νανοσωματιδίων (Narayanan and Sakthivel, 2010). Λόγω της ανοχής τους και της ικανότητας βιοσυσσώρευσης μετάλλων, οι μύκητες έχουν καταλάβει το κεντρικό στάδιο των μελετών για τη βιολογική παραγωγή μεταλλικών νανοσωματιδίων (Orpica et al., 2019).

## 2.5. Χαρακτηρισμός νανοσωματιδίων

Ο χαρακτηρισμός των νανοσωματιδίων βασίζεται στο μέγεθος, τη μορφολογία και το επιφανειακό φορτίο, χρησιμοποιώντας προηγμένες μικροσκοπικές τεχνικές. Ιδιότητες όπως η μορφολογία της επιφάνειας, το μέγεθος και το συνολικό σχήμα προσδιορίζονται με τεχνικές ηλεκτρονικής μικροσκοπίας. Χαρακτηριστικά όπως η φυσική σταθερότητα και η διασπορά του πολυμερούς, καθώς και η απόδοσή τους *in vivo* επηρεάζονται από το επιφανειακό φορτίο των NPs (Hett, 2004).

- *Μέγεθος σωματιδίου*

Ο χαρακτηρισμός των NPs αξιολογείται κυρίως από την κατανομή μεγέθους σωματιδίων και τη μορφολογία, χρησιμοποιώντας ηλεκτρονική μικροσκοπία. Οι εικόνες του Ηλεκτρονικού Μικροσκοπίου Σάρωσης (SEM) και του Ηλεκτρονικού



Μικροσκοπίου Διέλευσης (TEM) χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση σωματιδίων και συστάδων, ενώ οι μέθοδοι περίθλασης λέιζερ χρησιμοποιούνται για τη μέτρηση μαζικών δειγμάτων σε στερεά φάση (Marsalek, 2014).

- *Μορφολογικοί χαρακτηρισμοί*

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των NPs παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον καθώς η μορφολογία επηρεάζει πάντα τις περισσότερες ιδιότητες των NPs. Υπάρχουν διαφορετικές τεχνικές χαρακτηρισμού για μορφολογικές μελέτες, αλλά οι μικροσκοπικές τεχνικές όπως το SEM και το TEM είναι οι πιο σημαντικές (Oprica et al., 2019).

- *Μορφολογία επιφάνειας*

Τα NPs έχουν διάφορα σχήματα (συμπεριλαμβανομένων σφαιρικών, επίπεδων, κυλινδρικών, σωληνοειδών, κωνικών και ακανόνιστων σχημάτων) και επιφανειακές δομές (όπως κρυσταλλικές ή άμορφες) που παίζουν βασικό ρόλο στην εκμετάλλευση των ιδιοτήτων τους. Η επιφάνεια προσδιορίζεται γενικά από τεχνικές απεικόνισης ηλεκτρονικής μικροσκοπίας όπως το SEM και το TEM (Hodoroba et al., 2014).

- *Επιφανειακό φορτίο*

Το επιφανειακό φορτίο και η ένταση καθορίζουν την αλληλεπίδραση των NPs με το βιολογικό περιβάλλον καθώς και την ηλεκτροστατική τους αλληλεπίδραση με βιοδραστικές ενώσεις. Γενικά, ένα ποτενσιόμετρο zeta χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των επιφανειακών φορτίων και τη σταθερότητά του στη διασπορά σε ένα διάλυμα. Οι τιμές δυναμικού zeta μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση της υδροφοβικότητας της επιφάνειας και της φύσης του υλικού που είναι ενθυλακωμένο μέσα στις νανοκάψουλες ή επικαλυμμένο στην επιφάνεια (Pangi et al., 2003).

- *Δομικοί χαρακτηρισμοί*

Τα δομικά χαρακτηριστικά είναι πρωταρχικής σημασίας για τη μελέτη της σύνθεσης και της φύσης των συγκολλητικών υλικών. Παρέχουν ποικίλες πληροφορίες σχετικά με τις μαζικές ιδιότητες του εν λόγω υλικού. Οι κοινές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τη μελέτη των δομικών ιδιοτήτων των NPs είναι η περίθλαση ακτίνων X (XRD), η ακτινογραφία διασποράς ενέργειας (EDX), η φασματοσκοπία φωτοηλεκτρονίων ακτίνων X (XPS), η υπέρυθη (IR) και η φασματοσκοπία Raman (Oprica et al., 2019).

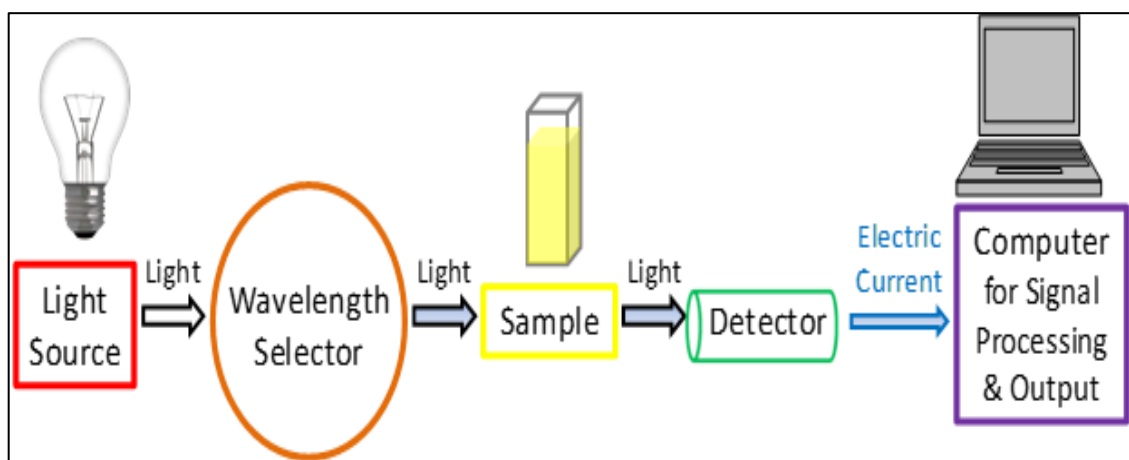
- *Σύνθεση*

Η μέτρηση της σύνθεσης (χημική ή στοιχειακή σύνθεση) πραγματοποιείται συνήθως με φασματοσκοπία φωτοηλεκτρονίων ακτίνων X (XPS) (Sharma and Rao, 2014). Ορισμένες τεχνικές περιλαμβάνουν χημική «πέψη» των σωματιδίων που ακολουθείται από υγρή χημική ανάλυση, όπως φασματομετρία μάζας, φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής και χρωματογραφία ιόντων. Τα σωματίδια σε αέρια φάση συλλέγονται είτε με διήθηση είτε ηλεκτροστατικά και για την ανάλυση χρησιμοποιούνται φασματομετρικές ή υγρές χημικές τεχνικές (Bzdek et al., 2011).

Μόλις συντεθούν τα NPs, είναι σημαντικό να χαρακτηριστεί πλήρως και να κατανοηθεί η δομή τους. Με τα χρόνια, έχουν αναπτυχθεί πολλές μέθοδοι και τεχνικές για την ανάλυση των διαφόρων φυσικοχημικών ιδιοτήτων των NPs. Έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικές τεχνικές χαρακτηρισμού για την ανάλυση των διαφόρων φυσικοχημικών ιδιοτήτων των NPs (Oprica et al., 2019).

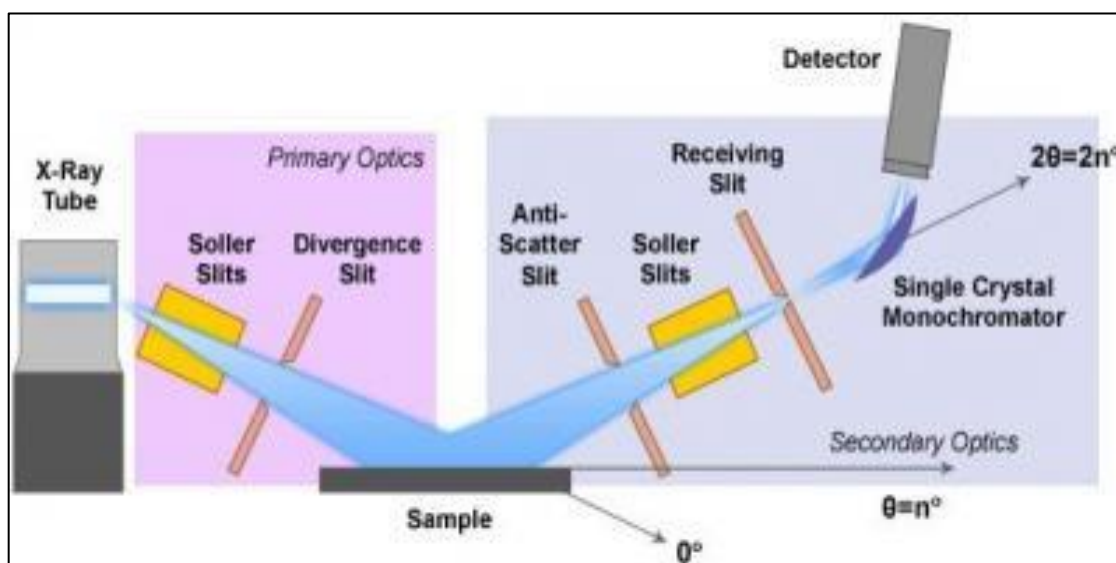
Η νανοτεχνολογία έχει αναπτυχθεί μαζικά με την ανάπτυξη προηγμένων ηλεκτρονικών μικροσκοπίων και οι κύριες σχετικές τεχνικές θα παρουσιαστούν παρακάτω.

**Φασματοφωτομετρία υπεριώδους ορατού (UV-Vis):** Η φασματοσκοπία απορρόφησης (**Εικόνα 24**) χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των οπτικών ιδιοτήτων ενός διαλύματος. Όταν το μήκος κύματος μεταβάλλεται τότε η απορρόφηση μετρείται σε κάθε μήκος κύματος. Η απορρόφηση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη μέτρηση της συγκέντρωσης ενός διαλύματος χρησιμοποιώντας το νόμο Beer-Lamberts (Oprica et al., 2019).



**Εικόνα 24:** Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου λειτουργίας της φασματοφωτομετρίας υπεριώδους ορατού (UV-Vis). (Πηγή: <https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865>)

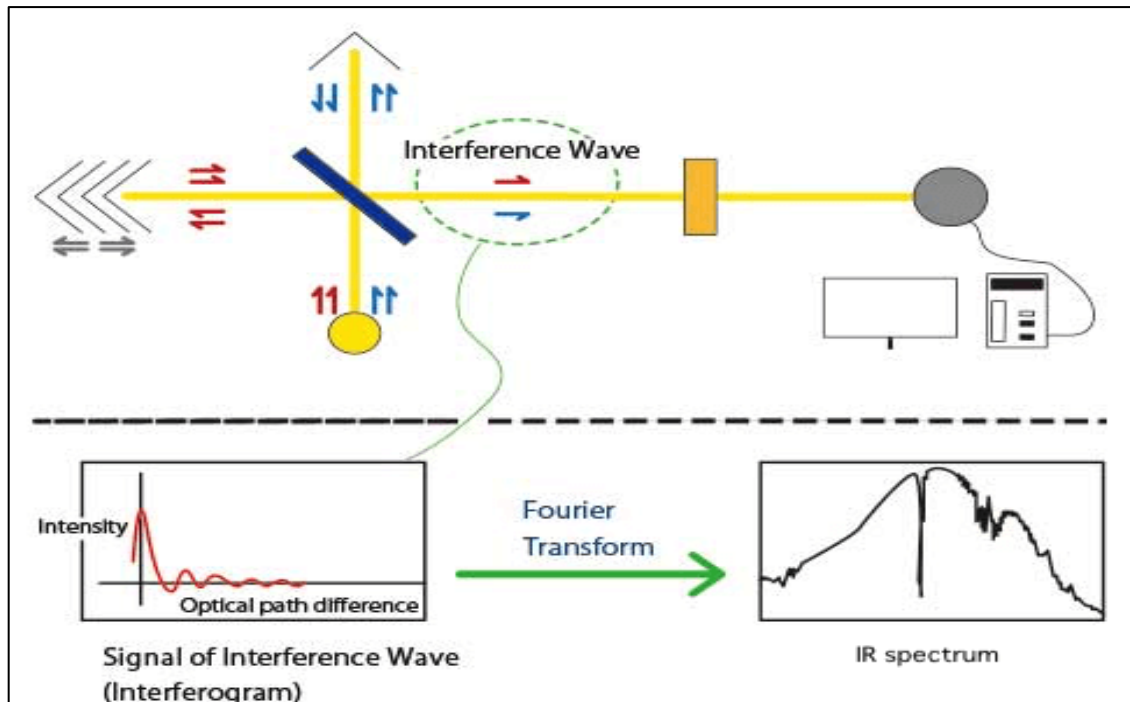
**Ανάλυση περίθλασης ακτίνων X (XRD):** Η περίθλαση ακτίνων X (Εικόνα 25) είναι μια συμβατική τεχνική για τον προσδιορισμό της κρυσταλλογραφικής δομής και μορφολογίας. Υπάρχει αύξηση ή μείωση της έντασης ανάλογα με την ποσότητα του συστατικού. Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της μεταλλικής φύσης των σωματιδίων και δίνει πληροφορίες για το μέγεθος και το σχήμα της μεταφραστικής συμμετρίας του μοναδιαίου κυττάρου από τις θέσεις κορυφής και πληροφορίες για την πυκνότητα ηλεκτρονίων στο εσωτερικό του μοναδιαίου κυττάρου, δηλαδή όπου βρίσκονται τα άτομα από τις εντάσεις κορυφής (Orpica et al., 2019).



**Εικόνα 25:** Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου λειτουργίας ανάλυσης με περίθλαση ακτίνων X (XRD). (Πηγή: <https://ywcmatsci.yale.edu/xrd>)

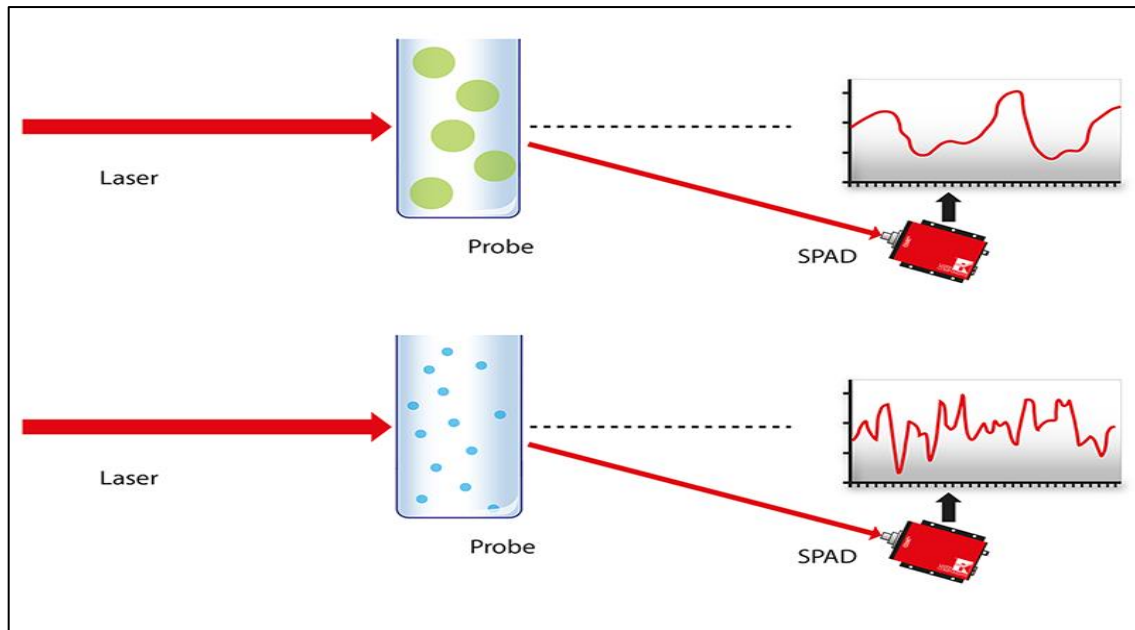
Η ανάλυση περίθλασης ακτίνων X με διάφορα νανοσωματίδια έχει μελετηθεί από διάφορους ερευνητές για να βρεθεί η υψηλή κρυσταλλικότητα του παρασκευασμένου δείγματος (Orpica et al., 2019).

**Η φασματοσκοπία υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR) (Εικόνα 26)** μετρά την υπέρυθρη ένταση σε σχέση με το μήκος κύματος του φωτός. Χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της φύσης των σχετικών λειτουργικών ομάδων και των δομικών χαρακτηριστικών των βιολογικών εκχυλισμάτων με νανοσωματίδια. Τα υπολογιζόμενα φάσματα αντικατοπτρίζουν την εξάρτηση των οπτικών ιδιοτήτων των νανοσωματιδίων (Orpica et al., 2019).



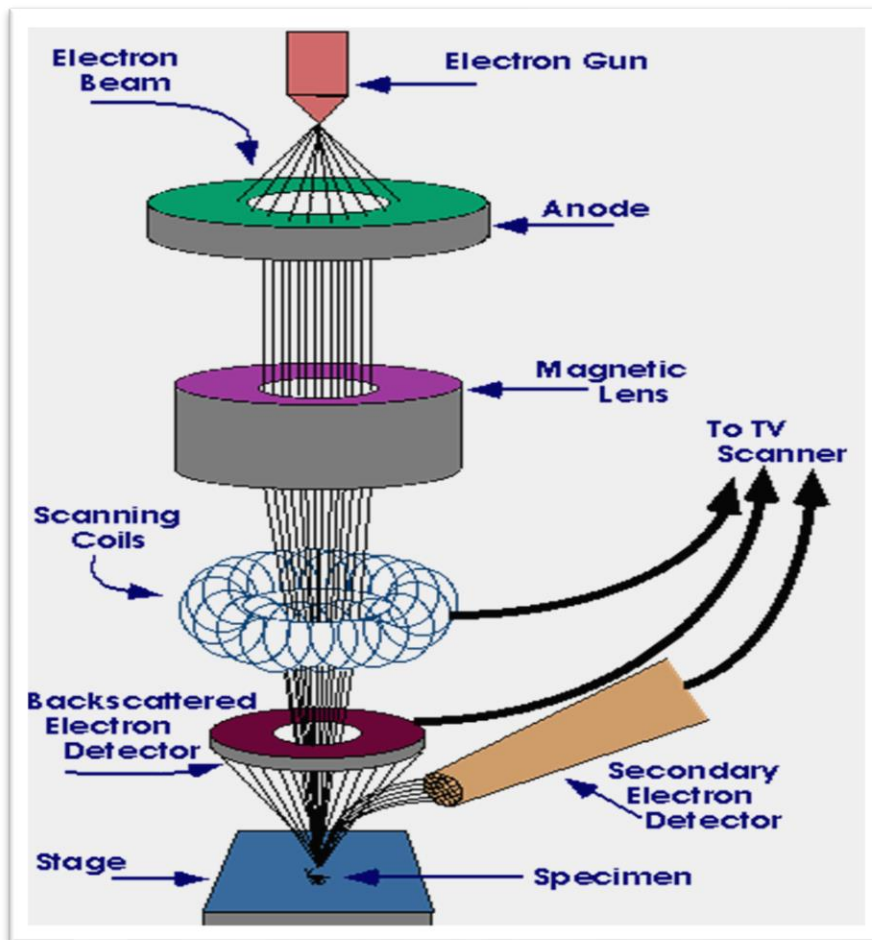
**Εικόνα 26:** Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου λειτουργίας φασματοσκοπίας υπέρυθρου μετασχηματισμού Fourier (FTIR). (Πηγή: <https://www.jasco-global.com/principle/principles-of-infrared-spectroscopy-4-advantages-of-ftir-spectroscopy/>)

**Φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων (PCS) ή Δυναμική σκέδαση φωτός (DLS):** Η τρέχουσα έρευνα απαιτεί την ταχύτερη και πιο δημοφιλή μέθοδο προσδιορισμού του μεγέθους των σωματιδίων. Οι ταχύτερες και πιο δημοφιλείς τεχνικές όπως η φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων (PCS) (**Εικόνα 27**) ή η Δυναμική σκέδαση φωτός (DLS), χρησιμοποιούνται ευρέως για τον προσδιορισμό του μεγέθους των νανοσωματιδίων Brown σε κολλοειδή αιωρήματα στην περιοχή νανο και υπομικρών. Σε αυτή την τεχνική η λύση σφαιρικών σωματιδίων σε κίνηση Brown προκαλεί μετατόπιση Doppler όταν αυτά εκτίθενται σε λαμπερό μονοχρωματικό φως (λείζερ) (Oprica et al., 2019).



**Εικόνα 27:** Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου λειτουργίας φασματοσκοπίας συσχέτισης φωτονίων (PCS) ή δυναμικής σκέδαση φωτός (DLS). (Πηγή: <https://www.lasercomponents.com/uk/application/photon-correlation-spectroscopy/>)

**Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης (SEM):** Αυτή η τεχνική που βασίζεται στην ηλεκτρονική μικροσκοπία καθορίζει το μέγεθος, το σχήμα και τη μορφολογία της επιφάνειας με άμεση οπτικοποίηση των NPs (**Εικόνα 28**). Ως εκ τούτου, η ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα στη μορφολογική ανάλυση και την ανάλυση μεγέθους (Orpica et al., 2019).

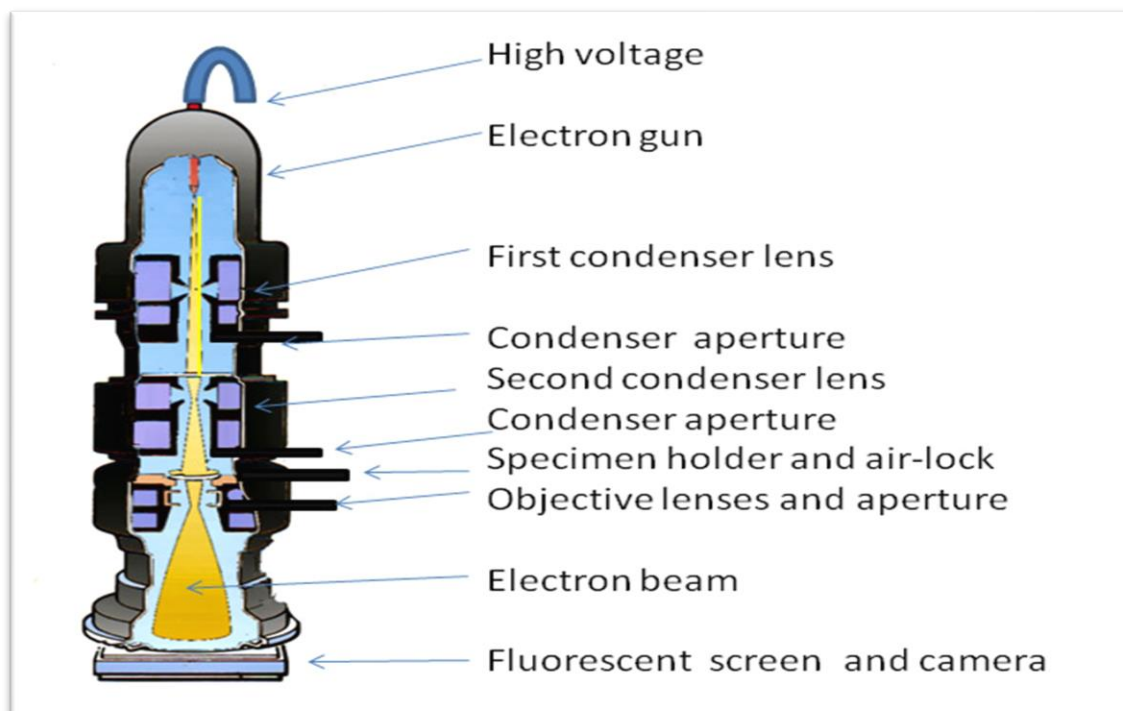


**Εικόνα 28:** Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου λειτουργίας του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης (SEM). (Πηγή: <https://www.purdue.edu/ehrs/rem/laboratory/equipment%20safety/Research%20Equipment/sem.html>)

Κατά τη διαδικασία χαρακτηρισμού SEM, το διάλυμα των νανοσωματιδίων θα πρέπει αρχικά να μετατραπεί σε ξηρή σκόνη. Αυτή η ξηρή σκόνη στη συνέχεια τοποθετείται περαιτέρω σε μια ειδική θήκη για το δείγμα και ακολουθείται από επικάλυψη με ένα αγώγιμο μέταλλο (π.χ. χρυσό) χρησιμοποιώντας μια συσκευή επικάλυψης διασκορπισμού. Στη συνέχεια, ολόκληρο το δείγμα αναλύεται με σάρωση με εστιασμένη λεπτή δέσμη ηλεκτρονίων (Jores et al., 2004). Τα δευτερεύοντα ηλεκτρόνια που εκπέμπονται από την επιφάνεια του δείγματος καθορίζουν τα επιφανειακά χαρακτηριστικά του δείγματος. Αυτή η δέσμη ηλεκτρονίων μπορεί όμως συχνά να καταστρέψει το πολυμερές των νανοσωματιδίων που πρέπει να είναι σε θέση να αντέχει στο κενό (Orpica et al., 2019).

**Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (TEM):** Οι πειραματικές δυσκολίες στη μελέτη των νανοδομών προέρχονται από το μικρό τους μέγεθος, το οποίο περιορίζει τη χρήση παραδοσιακών τεχνικών για τη μέτρηση των φυσικών τους ιδιοτήτων. Οι

τεχνικές TEM μπορούν να παρέχουν πληροφορίες απεικόνισης, περίθλασης και φασματοσκοπίας, είτε ταυτόχρονα είτε με σειριακό τρόπο, του δείγματος με ατομική ή σε κλίμακα υπονανομέτρων χωρική ανάλυση. Το TEM (Εικόνα 29) λειτουργεί με διαφορετική αρχή από το SEM, ωστόσο συχνά φέρνει τον ίδιο τύπο δεδομένων (Orpica et al., 2019).



**Εικόνα 29:** Σχηματική απεικόνιση της μεθόδου λειτουργίας του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης (TEM). (Πηγή: <https://www.ccber.ucsb.edu/ucsb-natural-history-collections-botanical-plant-anatomy/transmission-electron-microscope>)

Η προετοιμασία του δείγματος για το TEM είναι πολύπλοκη και χρονοβόρα λόγω της απαίτησής του δείγματος να είναι εξαιρετικά λεπτό για τη μετάδοση ηλεκτρονίων. Η απεικόνιση TEM υψηλής ανάλυσης, όταν συνδυάζεται με τεχνικές φασματοσκοπίας όπως έχουν περιγραφεί παραπάνω, είναι κρίσιμης σημασίας για τις θεμελιώδεις μελέτες που έχουν σημασία για τη νανοεπιστήμη και τη νανοτεχνολογία (Orpica et al., 2019).

## 2.6. Εφαρμογές των νανοσωματιδίων

Τα νανοσωματίδια δεδομένου ότι διαθέτουν σημαντικές εφαρμογές, χρησιμοποιούνται ή αξιολογούνται προς χρήση, σε πολλούς τομείς όπως η βιοϊατρική, η βιομηχανία τροφίμων και η γεωργία.

### **2.6.1. Εφαρμογές νανοσωματιδίων σε καλλυντικά και αντηλιακά**

Τα συμβατικά αντηλιακά προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία (UV) δε διαθέτουν μακροχρόνια σταθερότητα κατά τη χρήση. Έτσι, η ιδιότητα προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία των νανοσωματιδίων του οξειδίου του τιτανίου και του οξειδίου του ψευδαργύρου, καθώς είναι διαφανή στο ορατό φως, απορροφούν και αντανακλούν τις ακτίνες UV έγινε εφικτό να ενσωματωθούν σε ορισμένα αντηλιακά. Επιπλέον, ορισμένα κραγιόν χρησιμοποιούν νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου ως χρωστική ουσία (Wiechers and Musee, 2010).

### **2.6.2. Βιοϊατρικές εφαρμογές των νανοσωματιδίων**

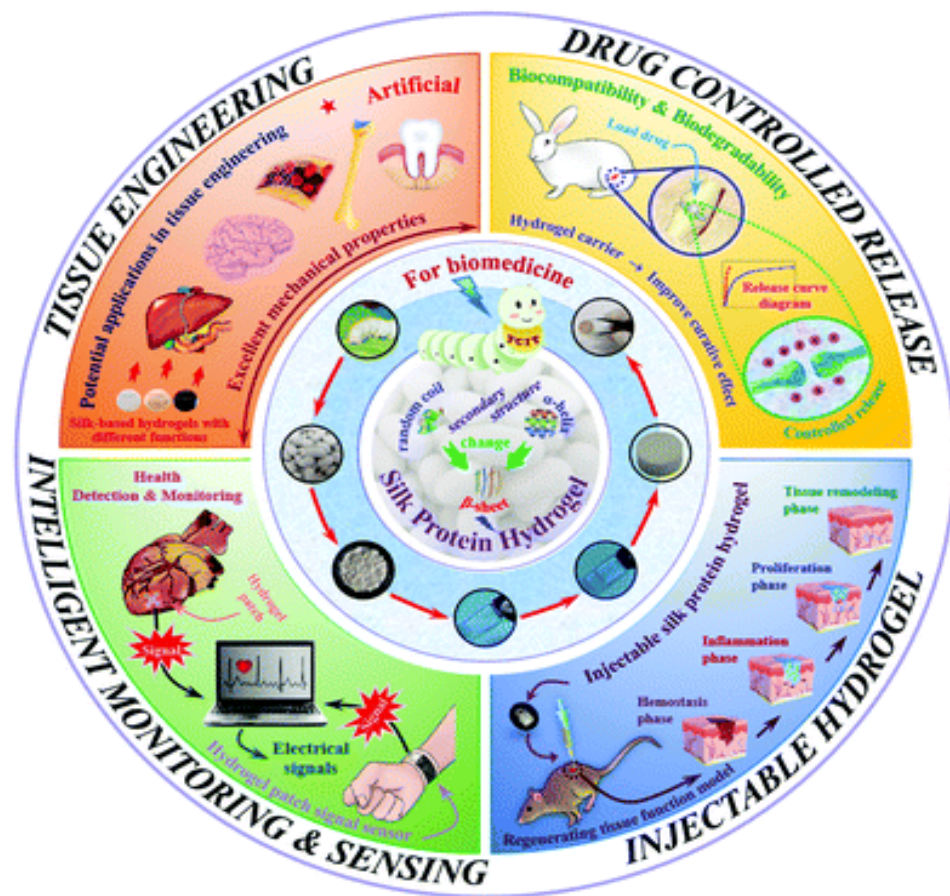
Η νανοτεχνολογία παρέχει την ικανότητα δημιουργίας έξυπνων νανοδομών με πολύπλοκες λειτουργίες, όπως τοπική θέρμανση, στόχευση (παθητική ή ενεργή), βελτιωμένη πρόσληψη, παράδοση, βιοσυμβατότητα, κατάλληλη βιοκατανομή ή καθόλου ανοσογονικότητα κ.τ.λ. (Orpica et al., 2019).

Επιπλέον, τα νανοσωματίδια μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία κατά του καρκίνου. Υπάρχει μια ποικιλία συστημάτων νανοσωματιδίων που διερευνώνται επί του παρόντος για βιοϊατρικές εφαρμογές (**Εικόνα 30**) με κάποια ιδιαίτερη έμφαση στη θεραπεία του καρκίνου. Ως εκ τούτου, ορισμένα πολύτιμα μέταλλα (κυρίως συστήματα χρυσού και αργύρου, Au και Ag) και μερικά μαγνητικά οξείδια (ιδίως ο μαγνητίτης  $Fe_3O_4$ ) έτυχαν μεγάλου ενδιαφέροντος, συμπεριλαμβανομένων των κβαντικών κουκκίδων και ορισμένων από αυτά που ονομάζονται φυσικά νανοσωματίδια (Bouudina et al., 2013).

Η νανοτεχνολογία έχει βελτιώσει τον ιατρικό τομέα με τη χρήση νανοσωματιδίων στη χορήγηση φαρμάκων. Τα NPs έχουν παραχθεί για την παροχή φαρμάκων, πρωτεϊνών/πεπτιδίων και γονιδίων, που θα χρησιμοποιηθούν σε διάφορους βιοϊατρικούς τομείς, συμπεριλαμβανομένης της θεραπείας του καρκίνου και του εμβολιασμού (Ashaben et al., 2014). Στην πραγματικότητα, τα NPs μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διάφορες οδούς χορήγησης, όπως στοματική, ρινική, παρεντερική ή ενδοφθάλμια, αντιπροσωπεύοντας αποτελεσματική βελτίωση σε σχέση με τις τρέχουσες μεθόδους. Το φάρμακο μπορεί να χορηγηθεί σε συγκεκριμένα κύτταρα χρησιμοποιώντας νανοσωματίδια (Ganesh and Archana, 2013). Η συνολική κατανάλωση φαρμάκου και οι παρενέργειες μειώνονται σημαντικά με την τοποθέτηση



του φαρμάκου στην συγκεκριμένη περιοχή και στην απαιτούμενη δόση. Αυτή η μέθοδος μειώνει το κόστος καθώς και τις παρενέργειες (Mudshing et al., 2011).



Εικόνα 30: Οι τροποποιημένες ίνες μεταξύ διαθέτουν πολλές βιοϊατρικές εφαρμογές. (Πηγή: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2022/ma/d1ma00960e>)

### 2.6.3. Εφαρμογές νανοσωματιδίων στα τρόφιμα

Το «Nanofood» είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει τρόφιμα που χρησιμοποιούν τεχνικές νανοτεχνολογίας, εργαλεία ή κατασκευασμένα νανοϋλικά που έχουν προστεθεί κατά την καλλιέργεια, την παραγωγή, την επεξεργασία ή τη συσκευασία. Για παράδειγμα, μια νανοςύνθετη επίστρωση σε μια διαδικασία συσκευασίας τροφίμων μπορεί να εισάγει απευθείας τις αντιμικροβιακές ουσίες στην επικαλυμμένη επιφάνεια του φιλμ (Laad and Jatti, 2016). Ένα από τα παραδείγματα είναι ότι η βιομηχανία παραγωγής λαδιού canola περιλαμβάνει νανοσταγόνες, ένα πρόσθετο που έχει σχεδιαστεί για να μεταφέρει τις βιταμίνες και τα μέταλλα στα τρόφιμα. Υπάρχουν διάφοροι σκοποί για την ανάπτυξη των νανοτροφίμων, όπως η βελτίωση της ασφάλειας των τροφίμων, η ενίσχυση της διατροφής και της γεύσης και

η μείωση του κόστους παραγωγής. Από την άλλη πλευρά, τα νανοτρόφιμα παρέχουν διάφορα οφέλη, τα οποία περιλαμβάνουν πρόσθετα που προάγουν την υγεία, μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και νέες ποικιλίες γεύσης (Orpica et al., 2019).

Η εφαρμογή της νανοτεχνολογίας στα τρόφιμα αναδύεται γρήγορα και περιλαμβάνει όλους τους τομείς της τροφικής αλυσίδας από τις γεωργικές εφαρμογές μέχρι την επεξεργασία τροφίμων και την ενίσχυση της βιοδιαθεσιμότητας των θρεπτικών συστατικών (Heera and Shanmugam, 2015).

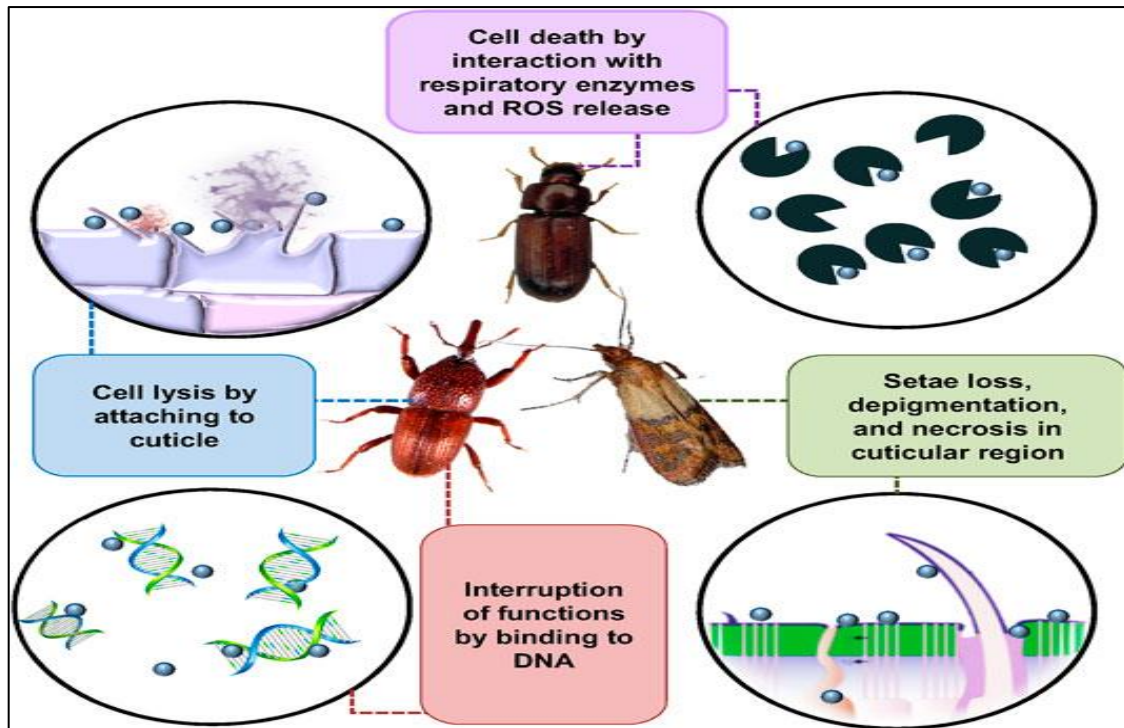
#### **2.6.4. Εφαρμογές νανοσωματιδίων στη γεωργία**

##### **2.6.4.1. Νανοσωματίδια ως εντομοκτόνα**

Τα συνθετικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα έχουν αλλάξει τον τρόπο διαχείρισης της γεωργίας, αλλά έχουν επίσης αναπτύξει και νέες προκλήσεις με τη μορφή ανθεκτικότητας στα έντομα. Εφαρμογές διαφορετικών τύπων νανοσωματιδίων (νανοσωματίδια αργύρου, οξείδιο του αλουμινίου, οξείδιο ψευδαργύρου και διοξείδιο του τιτανίου) έχουν μελετηθεί στον έλεγχο κατά του εντόμου *Sitophilus oryzae* στο ρύζι (Debnath et al. 2011) και στη νόσο «grasserie» στον μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* L. που προκαλείται από τον ιό BmNPV (*B. mori* Nuclear Polyhedrosis Virus) (Goswami et al., 2010).

Η εντομοτοξικότητα των νανοσωματιδίων πυριτίου έναντι του σκαθαριού του ρυζιού *Sitophilus oryzae* δοκιμάστηκε από τους Debnath et al. 2011, οι οποίοι συνέκριναν την αποτελεσματικότητα με πυρίτιο μεγάλου μεγέθους (μεμονωμένα σωματίδια μεγαλύτερα από 1,0 μm). Τα άμορφα νανοσωματίδια διοξειδίου του πυριτίου βρέθηκαν να είναι εξαιρετικά αποτελεσματικά ενάντια σε αυτό το έντομο, προκαλώντας περισσότερο από 90% θνησιμότητα, υποδεικνύοντας την αποτελεσματικότητα των νανοσωματιδίων πυριτίου στον έλεγχο των εντόμων.

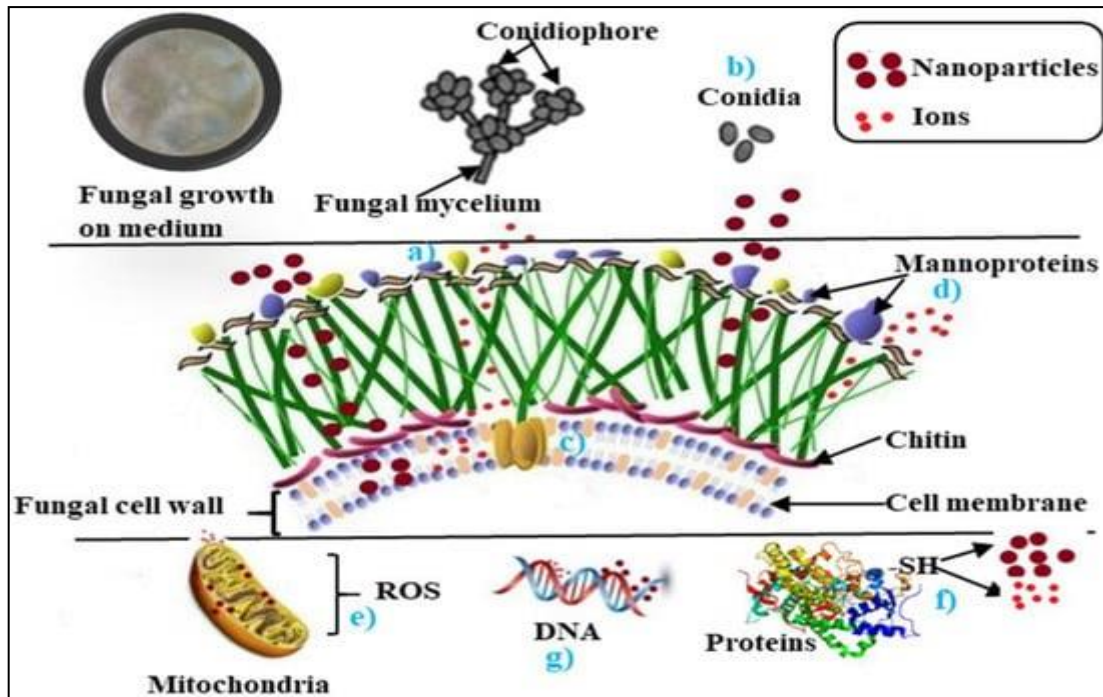
Επιπλέον, οι Teodoro et al., 2010 ανέφεραν ότι η εντομοκτόνος δράση (**Εικόνα 31**) της νανοδομημένης αλουμίνας έναντι των *Sitophilus oryzae* L. και *Rhyzopertha dominica* κατέδειξε σημαντική θνησιμότητα μετά από 3 ημέρες συνεχούς έκθεσης σε σιτάρι επεξεργασμένο με νανοδομές από αλουμίνα (αργύλιο).



**Εικόνα 31:** Τρόποι δράσης των νανοσωματιδίων για τον έλεγχο εντόμων των αποθηκών. (Πηγή: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnano.2021.811056/full>)

#### 2.6.4.2. Νανοςωματίδια ως μυκητοκτόνα

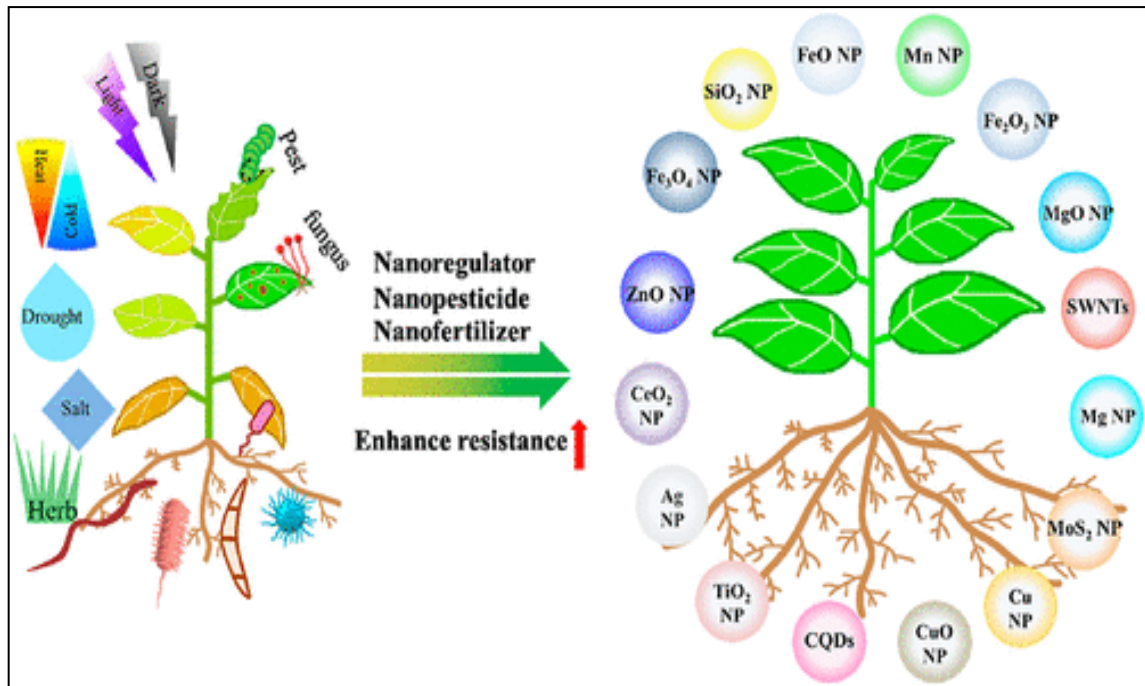
Οι ασθένειες που προκαλούνται από μύκητες στις καλλιέργειες προκαλούν σημαντικές απώλειες στην παραγωγή. Τα νανοςωματίδια έχουν χρησιμοποιηθεί πειραματικά ως παράγοντες κατά των παθογόνων μυκήτων (**Εικόνα 32**) και η εφαρμογή τους δεν έχει επιπτώσεις στα φυτά. Οι Shyla et al., 2014, χρησιμοποίησαν νανοςωματίδια οξειδίου του ψευδαργύρου (35–45 nm), αργύρου (20–80 nm) και διοξειδίου του τιτανίου (85–100 nm) έναντι του *Macrophomina phaseolina*. Η υψηλότερη δράση κατά του μύκητα παρατηρήθηκε στα νανοςωματίδια αργύρου σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις από τα νανοςωματίδια οξειδίου ψευδαργύρου και διοξειδίου του τιτανίου.



Εικόνα 32: Νανοσωματίδια ως μυκητοκτόνα. (Πηγή: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/12/1033>)

### 2.6.4.3. Τα νανοσωματίδια ως παροχή μικροθρεπτικών συστατικών

Είναι γνωστό ότι τα μικροθρεπτικά συστατικά όπως το μαγγάνιο, ο χαλκός, το βόριο, ο σίδηρος, το μολυβδαίνιο, ο ψευδάργυρος κ.λπ. είναι σημαντικά για την αύξηση και την ανάπτυξη των φυτών. Η διαφυλλική εφαρμογή μικροθρεπτικών συστατικών μπορεί να ενισχύσει την πρόσληψη από τα φύλλα (Martens and Westermann, 1991). Η νανοτεχνολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διαθεσιμότητα μικροθρεπτικών συστατικών στα φυτά (Εικόνα 33). Τα νανοσκευάσματα μικροθρεπτικών συστατικών μπορούν να ψεκαστούν στα φυτά ή μπορούν να δοθούν στο έδαφος για απορρόφηση από τις ρίζες για ενίσχυση της υγείας και της ευρωστίας του εδάφους (Petru et al., 2010). Διαφορετικά νανοσωματίδια έχουν δοκιμαστεί για να παρέχουν το κατάλληλο επίπεδο μικροθρεπτικών συστατικών στα φυτά.



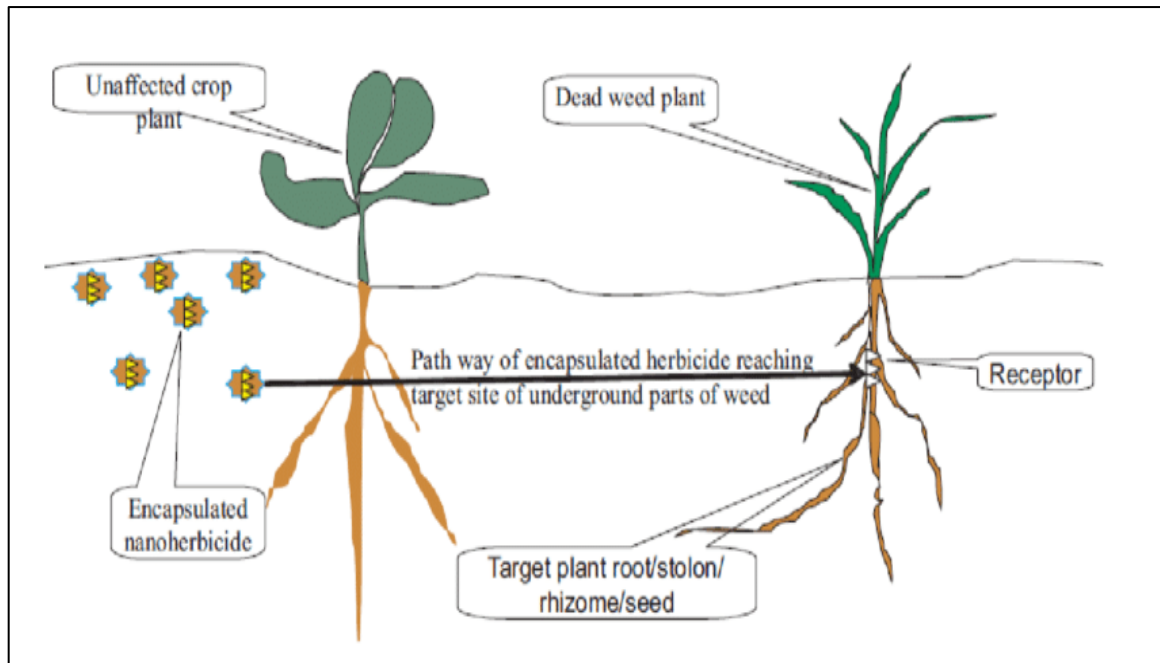
**Εικόνα 33:** Εφαρμογή σκευασμάτων με νανοσωματίδια στα καλλιεργούμενα φυτά. (Πηγή: [https://pubs.acs.org/cms/10.1021/acs.jafc.9b06615/asset/images/medium/jf9b06615\\_0004.gif](https://pubs.acs.org/cms/10.1021/acs.jafc.9b06615/asset/images/medium/jf9b06615_0004.gif))

Η διαφυλλική εφαρμογή ενώσεων σιδήρου με την τεχνολογία των νανοσωματιδίων μπορεί να είναι μια λύση για τα φυτά που αναπτύσσονται σε εδάφη ασβεστούχα με υψηλό pH και με έλλειψη σιδήρου. Έτσι, οι Ghafariyan et al., 2013 έδειξαν ότι τα νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως πηγή σιδήρου στη σόγια (*Glycine max*) για τη μείωση των χλωρωτικών συμπτωμάτων της έλλειψης σιδήρου.

Επιπλέον, η εφαρμογή νανοσωματιδίων σιδήρου βελτίωσε επίσης την απόδοση του μαυρομάτικου φασολιού (*Vigna sp.*) περισσότερο από αυτή με την εφαρμογή ενός κανονικού άλατος του σιδήρου (Delfani et al., 2014). Από την άλλη πλευρά, τα νανοσωματίδια μαγγανίου έχουν αναφερθεί ότι ενισχύουν την ανάπτυξη του πράσινου φασολιού (ή ροβίτσα) (*Vigna radiata*) καθώς και τη φωτοσύνθεση (Pradhan et al., 2013).

#### 2.6.4.4. Νανοζιζανιοκτόνα

Τα νανοζιζανιοκτόνα μπορούν να διαδραματίσουν πολύ σημαντικό ρόλο στην απομάκρυνση των ζιζανίων από τις καλλιέργειες με τρόπο φιλικό προς το οικοσύστημα, χωρίς να αφήνουν επιβλαβή κατάλοιπα στο έδαφος και στο περιβάλλον (Pérez-de-Luque and Rubiales, 2009).



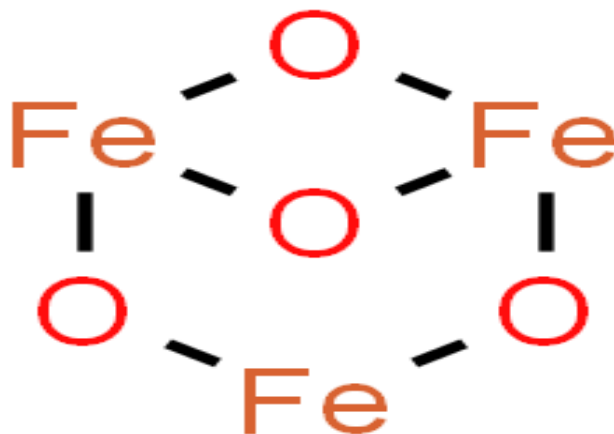
**Εικόνα 34:** Εφαρμογή νανοζιζανιοκτόνων. (Πηγή: [https://www.researchgate.net/figure/Smart-delivery-of-nano-encapsulated-herbicide-in-the-crop-weed-environment-16\\_fig2\\_346518016](https://www.researchgate.net/figure/Smart-delivery-of-nano-encapsulated-herbicide-in-the-crop-weed-environment-16_fig2_346518016))

Η ανθεκτικότητα των ζιζανίων στα ζιζανιοκτόνα εμφανίζεται με τη συνεχή χρήση του ίδιου ζιζανιοκτόνου για σταθερή χρονική περίοδο. Η ενθλάκωση του ζιζανιοκτόνου σε πολυμερή νανοσωματίδια έχει επίσης ως αποτέλεσμα την περιβαλλοντική ασφάλεια (Kumar et al., 2015) (**Εικόνα 34**). Αυτά τα μόρια εισέρχονται στο ριζικό σύστημα των ζιζανίων, μετατοπίζονται στα κύτταρα και αναστέλλουν μεταβολικές οδούς όπως η γλυκόλυση. Αυτό τελικά οδηγεί σε καταστροφή των ζιζανίων (Ali et al., 2014).

## 2.7. Νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου III ( $Fe_3O_4$ ) – Μαγνητίτης

Τα νανοσωματίδια οξειδίου του σιδήρου (IONPs) όπως ο μαγνητίτης ( $Fe_3O_4$ ) (**Εικόνα 35**) και ο αιματίτης ( $Fe_2O_3$ ) παρουσιάζουν μοναδικές μαγνητικές ιδιότητες που τους επιτρέπουν να καθοδηγούνται και να ανταποκρίνονται σε ένα εξωτερικό μαγνητικό πεδίο. Επιπλέον, λόγω της υπερπαραμαγνητικής συμπεριφοράς τους δεν παρουσιάζουν μαγνήτιση μετά την αφαίρεση του μαγνητικού πεδίου και ως εκ τούτου είναι απίθανο να συσσωματωθούν. Τα IONPs έχουν ήδη εγκριθεί για κλινική χρήση ως σκιαγραφικά στη μαγνητική τομογραφία και για θεραπεία υποκατάστασης σιδήρου. Έχουν επίσης διερευνηθεί για μαγνητικό διαχωρισμό βιομορίων και κυττάρων, κυτταρική απεικόνιση και παρακολούθηση, χορήγηση μαγνητικού φαρμάκου,

μαγνητομόνωση, βιοαισθητήρες και θεραπεία υπερθερμίας που συμβάλλουν σε βελτιωμένα διαγνωστικά και θεραπείες. Μαγνητικά ανταποκρινόμενα βιοϋλικά έχουν διερευνηθεί πρόσφατα για στρατηγικές αναγέννησης ιστών (Ramos et al., 2020).



**Εικόνα 35:** Η χημική δομή του  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ . (Πηγή: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.17215625.html>)

Η ονομασία «μαγνητίτης» διαθέτει πιθανή προέλευση από την αρχαία Μαγνησία, στη Μικρά Ασία, όπου κατά την αρχαιότητα και εντοπίστηκε εκεί. Σύμφωνα με τον Πλίνιο, η ονομασία προήλθε από τον Μάγνητα που ήταν βοσκός. Με βάση το μύθο καθώς έβοσκε το κοπάδι από πρόβατα που είχε ανακάλυψε πρώτος το συγκεκριμένο ορυκτό (**Εικόνα 36**) το οποίο ασκούσε έντονη έλξη στην άκρη της μεταλλικής ράβδου του, ή πρώτος διαπίστωσε πως μεγάλη ποσότητα άμμου παρέμενε προσκολλημένη στην άκρη της ράβδου (Περίσση 2013).

Μεγάλα κοιτάσματα μαγνητίτη απαντώνται κυρίως σε Σκανδιναβικές χώρες (ειδικότερα στην περιοχή Kiruna της Σουηδίας), στις ΗΠΑ και τον Καναδά. Αναφορικά με την Ελλάδα, το μεγαλύτερο κοιτάσμα μαγνητίτη βρίσκεται στη Σέριφο στα Χάλαρα καθώς επίσης και στην Τήνο, στην Ερμιόνη, στη Σκύρο και στο Πήλιο. Αξίζει να σημειωθεί πως ο μαγνητίτης αποτελεί ένα από τα κυριότερα συστατικά της σμύριδας Νάξου (ή Ναξίας σμύριδας). Επιπλέον, ο μαγνητίτης αποτελεί ένα από τα βασικότερα μεταλλεύματα του σιδήρου (Τσαούση 2010, Περίσση 2013).

Πίνακας 5: Σύνοψη ιδιοτήτων μαγνητίτη. (Πηγή: Περίσση 2013)

<b>Κατηγορία</b>	Οξειδία (ομάδα σπινελίου)
<b>Χημικός τύπος</b>	FeO.Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
<b>Πυκνότητα</b>	5.2 g/cm <sup>3</sup>
<b>Χρώμα</b>	Μελανότεφρο, σιδηρομέλαν
<b>Σύστημα κρυστάλλωσης</b>	Κυβικό
<b>Κρύσταλλοι</b>	Συνήθως οκταεδρικοί, ενίοτε δωδεκαεδρικοί
<b>Υφή</b>	Συμπαγής, στιφρή
<b>Διδυμία</b>	Κατά {1 1 1}
<b>Σκληρότητα</b>	5.5 – 6.5
<b>Σχισμός</b>	Ατελής
<b>Θραύση</b>	Ατελής, ακανόνιστη
<b>Λάμψη</b>	Μεταλλική
<b>Γραμμή κόνεως</b>	Μέλαινα
<b>Διαφάνεια</b>	Αδιαφανής
<b>Παρατηρήσεις</b>	Εμφανίζει μαγνητικές ιδιότητες (σιδηρομαγνητισμός)



Εικόνα 36: Μαγνητίτης (Πηγή: [https://www.mindat.org/a/best\\_magnetite](https://www.mindat.org/a/best_magnetite))



### 2.7.1. Οι χημικές ιδιότητες του μαγνητίτη

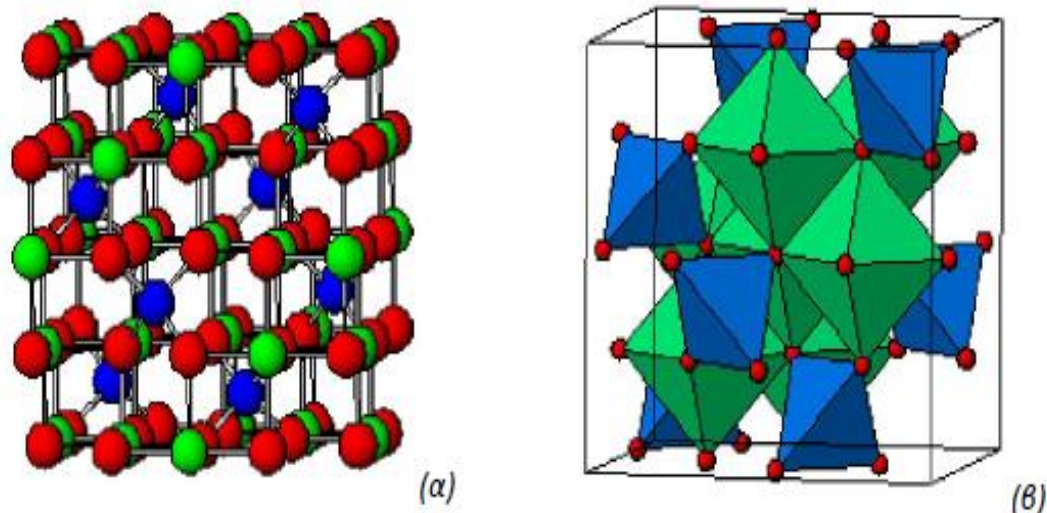
Ο μαγνητίτης αποτελεί ορυκτό του σιδήρου και από χημική άποψη είναι επιτεταρτοξειδίο του σιδήρου ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ). Το ορυκτό αυτό διαθέτει 72,4% σίδηρο (Fe) και 27,6% οξυγόνο (O). Με βάση το IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) το χημικό του όνομα είναι μικτό οξείδιο δισθενούς και τρισθενούς σιδήρου, ενώ η κοινή του χημική ονομασία είναι σιδηρούχο φεριττικό οξείδιο. Επιπλέον, ο μαγνητίτης αποτελείται από δύο ορυκτά ένα εκ των οποίων είναι ο βουστίτης ( $\text{FeO}$ ) και το δεύτερο ο αιματίτης ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). Η θερμοκρασία για την τήξη του μαγνητίτη είναι 1583-1597 °C (Περίσση, 2013).

Ο μαγνητίτης υφίσταται κρυστάλλωση σε ολοεδρία κατά το κυβικό σύστημα, διαθέτει σιδηρόμαυρο έως μαύρο χρώμα και μεταλλική λάμψη. Επιπλέον, μπορεί να βρεθεί σε κοκκώδη, στιφρά και φλοιώδη συσσωματώματα υπό μορφή κόκκων που ονομάζεται «μαγνητίτης άμμος». Έχει ευρεία διάδοση σε κοιτάσματα μεταλλευμάτων πνευματολυτικής προέλευσης, ενώ σχηματίζει και αυτοτελή κοιτάσματα πολλές φορές. Ο μαγνητίτης μπορεί να είναι διαδεδομένος και σε κρυσταλλοσχιστώδη πετρώματα ιδίως χλωριτικών σχιστόλιθων ή μπορεί να βρίσκεται μέσα σε άμμο υπό την μορφή αυτούσιων εκλύτων κόκκων, που συνήθως συνοδεύονται από αρσеноπυρίτη, σφαλερίτη, χαλκοπυρίτη, σιδηροπυρίτη, γρανάτη, ολιβίνη, ασβεστίτη, απατίτη και μαρμαρυγία. Αξίζει να σημειωθεί πως ο μαγνητίτης μοιάζει αρκετά με το χρωμίτη, τον ιλμενίτη και το νιγρίτη (ή χαουζμανίτη) και εξαλλοιώνεται σε λειμωνίτη, αιματίτη ή σιδηρίτη (Περίσση 2013).

Ο μαγνητίτης κατά την αντίδρασή του με το οξυγόνο παράγει αιματίτη και το ζεύγος μαγνητίτη – αιματίτη το οποίο δημιουργείται αποτελεί μια δομή που ελέγχει την ενεργότητα του οξυγόνου. Τα κοινά ηφαιστιογενή πετρώματα περιλαμβάνουν κόκκους που εμφανίζονται είτε μεταξύ ιλμενίτη και αιματίτη είτε μεταξύ μαγνητίτη και ουλβίτη ( $\text{Fe}_2\text{TiO}_4$ ). Οι συστάσεις των συγκεκριμένων ζευγών δύναται να χρησιμοποιηθούν στον υπολογισμό του οξειδωμένου μάγματος. Επί προσθέτως, έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες αναφορικά με τις συνθήκες οξείδωσης του μάγματος και τα αποτελέσματά τους εξηγούν τον τρόπο που το μάγμα υφίσταται κλασματική κρυστάλλωση κατά την περαιτέρω εξέλιξή του (Τσαούση 2010, Περίσση 2013).

Το 1915 εξακριβώθηκαν τα κύρια χαρακτηριστικά της δομής του μαγνητίτη καθώς αποτελεί και μία από τις πρώτες μεταλλικές δομές όπου εφαρμόστηκε περίθλαση ακτίνων X (Bragg 1915) και βρέθηκε πως η δομή του είναι αυτή ενός

αντίστροφου σπινελίου. Επιπλέον, ο μαγνητίτης διαθέτει εδροκεντρωμένη μονάδα η οποία βασίζεται σε 32  $O_2^-$  ιόντα τα οποία στοιχίζονται τακτικά σε κοντινή κυβική μορφή κατά  $\{111\}$  και η μοναδιαία κυψελίδα κατέχει μήκος  $a = 0.839 \text{ nm}$  (Εικόνα 37) (Chatterjee et al., 2003, Τσαούση 2010, Περίσση 2013).



**Εικόνα 37:** (α) μια κυψελίδα μαγνητίτη. Με κόκκινο χρώμα είναι τα άτομα O, με μπλε και πράσινο αντιστοιχούν στον σίδηρο, σε τετραεδρικές και οκταεδρικές θέσεις αντίστοιχα. (β) Δίκτυο τετραγωνικών (μπλε) και οκταεδρικών πολυέδρων (πράσινα) στην κυψελίδα του μαγνητίτη. (Πηγή: Περίσση 2013)

### 2.7.2. Οι μαγνητικές ιδιότητες του μαγνητίτη

Το κυριότερο πλεονέκτημα των μαγνητικών νανοσωματιδίων είναι ο υπερπαραμαγνητισμός ο οποίος διατηρεί τα νανοσωματίδια σταθερά ακόμη και όταν το μαγνητικό πεδίο απομακρύνεται και δεν υφίσταται καμία δύναμη μεταξύ των νανοσωματιδίων. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε μεγέθη κάτω από 15 nm, τα σωματίδια είναι τόσο μικρά ώστε το φαινόμενο του σιδηρομαγνητισμού δεν είναι δυνατό να παρατηρηθεί και δεν υπάρχει μόνιμη πλέον μαγνήτιση όταν τα σωματίδια αυτά εκτεθούν εκ νέου σε κάποιο μαγνητικό πεδίο. Ο σιδηρομαγνητισμός αποτελεί ένα φαινόμενο που είναι το αποτέλεσμα της αυθόρμητης ευθυγράμμισης των spin των σωματιδίων και άρα μακροσκοπικά παρουσιάζεται μαγνητισμός ακόμη και αν τα σωματίδια αυτά δεν εκτεθούν σε κάποιο εξωτερικό μαγνητικό πεδίο. Μόλις τα σιδηρομαγνητικά σωματίδια απομακρυνθούν από το μαγνητικό πεδίο παρουσιάζουν ακόμη μόνιμη μαγνήτιση. Επιπλέον, τα σιδηρομαγνητικά υλικά μόλις φτάσουν στις διαστάσεις των ατόμων ξεκινούν πλέον να παρουσιάζουν φαινόμενα υπερπαραμαγνητισμού και όχι σιδηρομαγνητισμού (Chatterjee et al., 2003, Τσαούση 2010, Περίσση 2013).

Είναι σημαντικό το γεγονός ότι σωματίδια που δημιουργήθηκαν από οξείδια του σιδήρου συνήθως έχουν διαφορετική συμπεριφορά σε κάποιο μαγνητικό πεδίο αναλόγως με το μέγεθός τους. Ορισμένοι ερευνητές παρατήρησαν πως οι μαγνητικές ιδιότητες αλλάζουν καθώς υπάρχει αλλαγή από τα μικρόμετρα στα νανόμετρα. Για παράδειγμα, τα σωματίδια υφίστανται υπερπαραμαγνητική συμπεριφορά όταν βρίσκονται στα 6 – 15 nm, ενώ συμπεριφέρονται ως σιδηρομαγνήτες όταν το μέγεθος του κόκκου φτάσει σε κάποια μικρόμετρα. Οι Chatterjee et al. (2003) βρήκαν πως η μαγνητική συμπεριφορά των σωματιδίων εξαρτάται από την θερμοκρασία blocking που εξαρτάται με τη σειρά της από το μέγεθος των σωματιδίων. Δεδομένου αυτού, σωματίδια που διαθέτουν χαμηλότερη θερμοκρασία blocking παρουσιάζουν φαινόμενα υπερπαραμαγνητισμού, ενώ σε υψηλότερες θερμοκρασίες blocking παρουσιάζουν σιδηρομαγνητική συμπεριφορά.

Παρά την αύξηση της υπερπαραμαγνητικής συμπεριφοράς των σωματιδίων όταν υπάρχει μείωση στο μέγεθος των σωματιδίων, πολλοί ερευνητές έχουν αναφέρει μία εξασθένιση στην απόλυτη μαγνήτιση κόρου όταν το σωματίδιο βρίσκεται στα 10 nm περίπου (Περίσση 2013).

### 3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

#### 3.1. Γενικά

Κατά την εκπόνηση της παρούσας Μεταπτυχιακής μελέτης πραγματοποιήθηκαν πειράματα, κατά τη διάρκεια των οποίων έλαβαν χώρα εκτροφές του εμπορικού υβριδίου μεταξοσκώληκα Qiufeng x Baiyu (προέλευση: Κίνα) του είδους *B. mori* L. Ειδικότερα, πραγματοποιήθηκε προσπάθεια ενσωμάτωσης νανοσωματιδίων (Nanoparticles – NPs) του  $Fe_3O_4$  στη διατροφή των μεταξοσκωλήκων σε δύο διαφορετικές δόσεις 1% w/v και 2% w/v, μέσω της μεθόδου εμφύσησης των μορεόφυλλων στα εκάστοτε διαλύματα  $Fe_3O_4$  NPs, με σκοπό τη μελέτη τους στα χαρακτηριστικά τόσο των εντόμων όσο και της παραγόμενης ίνας. Οι προσθήκες των νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$  έλαβαν μέρος στις προνυμφικές ηλικίες L2, L3, L4, L5 με συνεχόμενη σίτιση «τροποποιημένης διατροφής» καθ' όλη τη διάρκεια των εκτροφών. Επιπλέον, μαζί με τις ομάδες μεταξοσκωλήκων με νανοσωματίδια του  $Fe_3O_4$  πραγματοποιήθηκαν και οι αντίστοιχες εκτροφές μαρτύρων με εμφύσηση των μορεόφυλλων σε νερό. Ακολούθησαν καταγραφές και φωτογραφήσεις για συγκεκριμένα χαρακτηριστικά από κάθε ομάδα και δόση του  $Fe_3O_4$  (1% w/v και 2% w/v) αναφορικά με την εξωτερική μορφολογία καθώς και εσωτερικά μέσω ανατομών των εντόμων, την ποιότητα και ποσότητα των παραγόμενων κουκουλιών, την αναπαραγωγική ικανότητα των ακμαίων ατόμων καθώς και των χαρακτηριστικών των παραγόμενων ωών και της ίνας.

Οι εκτροφές για πειραματικούς σκοπούς, οι καταγραφές, οι παρατηρήσεις, οι μετρήσεις, οι δειγματοληψίες, οι αναλύσεις και γενικότερα κάθε είδους εργασία που ήταν απαραίτητη με σκοπό την ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης, πραγματοποιήθηκαν στο χώρο του εργαστηρίου Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του Γ.Π.Α., από την άνοιξη του 2020 μέχρι και την άνοιξη του 2022.

Σε αυτό το κεφάλαιο πραγματοποιείται η λεπτομερής περιγραφή όλων των σταδίων του πειραματικού μέρους της εργασίας, οι εφαρμογές των μεθόδων και διαδικασιών που έλαβαν μέρος καθώς και ο εξοπλισμός, τα υλικά και οι εγκαταστάσεις που χρησιμοποιήθηκαν. Επί προσθέτως, γίνεται χρήση παραπομπών σε σχετικά θεωρητικά υπομνήματα, που έχουν ως σκοπό την αιτιολόγηση των μεθόδων που εφαρμόστηκαν και των διαδικασιών αναφορικά με τις εκτροφές αλλά και τις μετρήσεις οι οποίες πραγματοποιήθηκαν.

### 3.2. Πειραματική διαδικασία

Κατά τη διάρκεια της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκαν πειραματικές εκτροφές του *B. mori* L. (Qiufeng x Baiyu), οι οποίες έγιναν σε συνδυασμό με τη χρήση νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$  στη διατροφή των μεταξοσκωλήκων με σκοπό την αξιολόγηση των χαρακτηριστικών των εντόμων, της απόδοσης αλλά και των ιδιοτήτων στην παραγόμενη ίνα. Χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικά στάδια των προνυμφών του *B. mori* L. (2<sup>η</sup>, 3<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup> και 5<sup>η</sup> ηλικία), δύο διαφορετικές δόσεις νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$  (1% και 2% w/v) καθώς και δύο επαναλήψεις για κάθε δόση. Στη συνέχεια, αξιολογήθηκαν η θνησιμότητα των προνυμφών στα διάφορα ηλικιακά στάδια λόγω πιθανής τοξικότητας από τις δόσεις του  $Fe_3O_4$ , τα εξωτερικά μορφολογικά αλλά και ανατομικά χαρακτηριστικά των προνυμφών, το βάρος των προνυμφών και των ακμαίων ατόμων, το βάρος των νυμφών, το βάρος των παραγόμενων κουκουλιών (πριν και μετά την αφαίρεση της νύμφης), η αναπαραγωγική ικανότητα των ακμαίων ατόμων και τα χαρακτηριστικά των παραγόμενων ωών. Τέλος, πραγματοποιήθηκαν σχετικές μετρήσεις που αφορούν στην απόδοση και στις ιδιότητες του παραγόμενου νήματος μεταξιού έπειτα από τη χρήση των νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$  ακολουθώντας τις διαδικασίες και τους κανόνες που αναφέρονται στη διεθνή βιβλιογραφία για αντίστοιχες εργασίες.

### 3.3. Δειγματοληψία και ποιοτικός έλεγχος των κουτιών μεταξόσπορου

Ο μεταξόσπορος προτού διατεθεί στους σηροτρόφους υποβαλλόταν σε διαδικασία δειγματοληψίας. Ειδικότερα, το τυχαίο δείγμα βρισκόταν σε ποσοστό 0,5% επί του φορτίου για το κάθε υβρίδιο με τουλάχιστον δύο κουτιά μεταξόσπορου ανά υβρίδιο.

Πιο συγκεκριμένα, αναφορικά με τους ελέγχους που πραγματοποιούνταν αυτοί αφορούσαν: 1) αριθμό των κουτιών μεταξόσπορου που παρελήφθησαν, 2) ποσότητα των ωών εντός των κάθε κουτιού, 3) ποσότητα των ελαττωματικών ωών εντός κάθε κουτιού, 4) έλεγχος για την ύπαρξη τυχόν μεταδοτικών ασθενειών, 5) έλεγχος για την ύπαρξη των απαραίτητων συνοδευτικών εγγράφων και 6) ποσοστό εκκολαπτικότητας για κάθε κουτί μεταξόσπορου.

### 3.3.1. Καταμέτρηση των ωών ανά κουτί μεταξόσπορου και έλεγχος για ελαττωματικά ή αγονιμοποίητα ωά και διάφορα ξένα σώματα

Μετά την πάροδο της καταμέτρησης και σφράγισης των κουτιών μεταξόσπορου που είχαν παραληφθεί καθώς και την παραλαβή των σχετικών εγγράφων και του δείγματος προς έλεγχο από το Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών (**Εικόνα 38**), έλαβε μέρος η καταμέτρηση του αριθμού των ωών ανά κουτί. Ειδικότερα, η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν η μέθοδος του βάρους που αναλύεται στη συνέχεια:

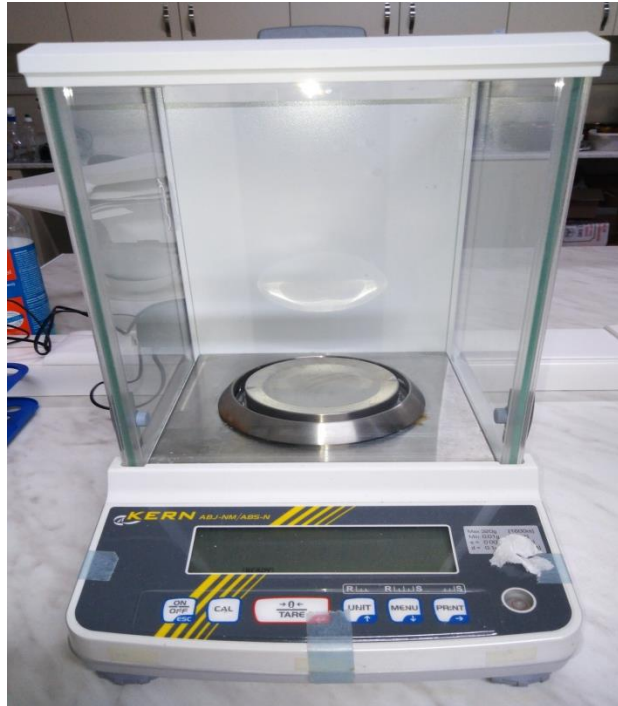
Τα κουτιά μεταξόσπορου από το δείγμα παραλάμβαναν έναν αριθμό και στη συνέχεια με προσοχή ανοιγόταν η ειδική οπή η οποία βρίσκεται πίσω από την ετικέτα του κουτιού (**Εικόνα 37**). Ακολουθούσε αφαίρεση όλου του περιεχόμενου από κάθε κουτί και ζύγιση σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (**Εικόνα 38**). Μετά τη ζύγιση και καταγραφή των δεδομένων, από τα ζυγισμένα ωά γινόταν παραλαβή ενός γραμμαρίου (1g) και τοποθέτηση αυτού σε αποστειρωμένα πλαστικά τριβλία με αντίστοιχη αρίθμηση (**Εικόνα 39**). Στη συνέχεια, μια μικρή ποσότητα των ωών του κουτιού τοποθετούνταν σε γουδιά με αρίθμηση, προκειμένου να πραγματοποιηθεί παρασκευάσμα για μικροσκοπικό έλεγχο της πιπερίτιδας. Ο αριθμός των εναπομεινάντων ωών επανατοποθετούνταν στα αντίστοιχα κουτιά με τη χρήση ενός υάλινου χωνιού.

**α**

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΟΣΠΟΡΟΥ						
Α/Α	ΑΡΙΘΜΟΣ ΚΟΥΤΙΟΥ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΕΙΔΟΣ	ΠΡΟΣΑΡΤΗΜΑΤΑ	ΒΑΡΟΣ ΚΟΥΤΙΟΥ (g)	ΒΑΡΟΣ ΚΟΥΤΙΟΥ ΜΕΤΑ ΤΗ ΜΕΤΡΗΣΗ (g)
1	12105	1	Εργασια	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	6,56	1028
2	12105	2	Εργασια	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	6,56	1013
3	12105	3	Α.Α.Α.	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	7,6498	1112
4	12105	4	Α.Α.Α.	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	5,7445	1154
5	12105	5	Α.Α.Α.	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	5,7150	1115
6	12105	6	Α.Α.Α.	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	3,7444	1085
7	12105	7	Α.Α.Α.	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	4,7147	1157
8	12105	8	Α.Α.Α.	Α.Α.Α.Α.Α.Α.	3,7105	1082



**Εικόνα 37:** α) Έγγραφο του Σηροτροφικού Εργαστηρίου Αθηνών για τις απαραίτητες μετρήσεις του μεταξόσπορου, β) συσκευασία μεταξόσπορου του εμπορικού υβριδίου (Qiufeng x Baiyu).

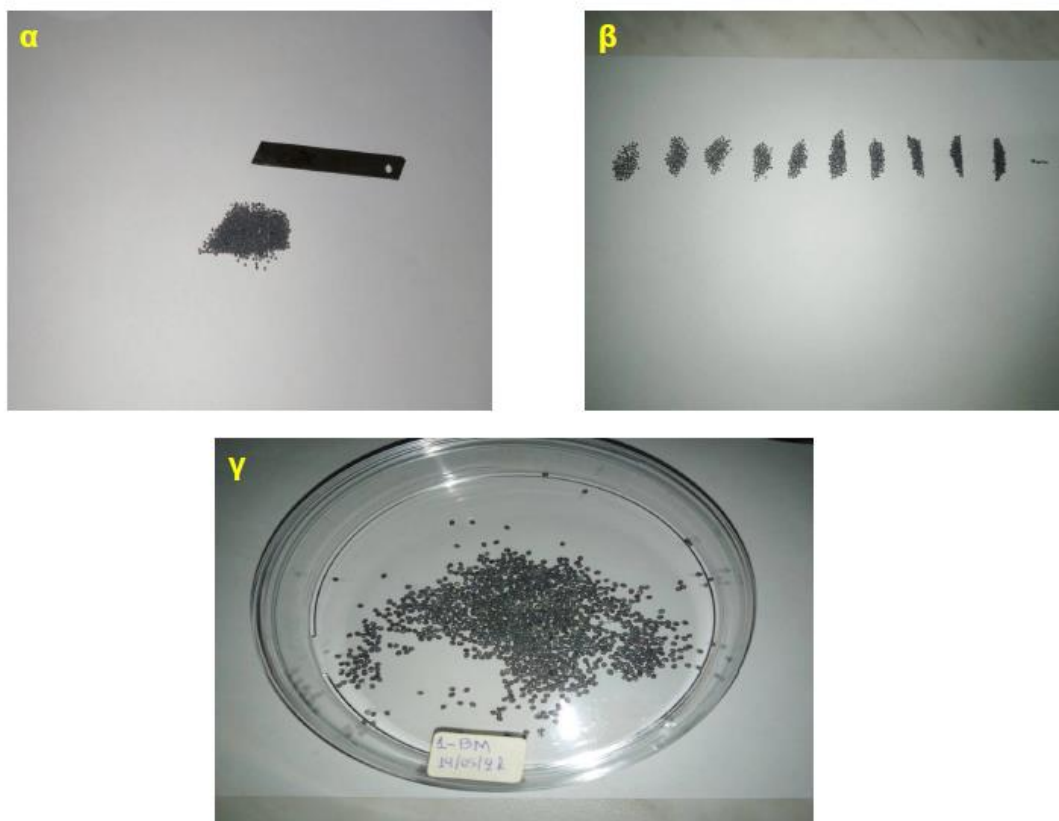


**Εικόνα 38:** Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων (4) δεκαδικών ψηφίων (KERN ABT\_Germany).

Στη συνέχεια, τα ωά τα οποία βρίσκονταν στα αριθμημένα πλαστικά τριβλία καταμετρούνταν με τη βοήθεια μιας μεταλλικής ράβδου ένα προς ένα και έπειτα επανατοποθετούνταν πίσω στα αντίστοιχα τριβλία ώστε να ακολουθήσει η επώασή τους (**Εικόνα 39**). Κατά τη διάρκεια της καταμέτρησης καταγραφόταν τόσο ο αριθμός των βέλτιστων όσο και των αγονιμοποίητων ή ελαττωματικών ωών. Λόγω του γεγονότος ότι η καταμέτρηση αφορούσε ποσότητα ωών που αντιστοιχεί σε 1g από το δείγμα που παραλήφθηκε από κάθε κουτί μεταξόσπορου, ακολουθούσε η αναγωγή των δεδομένων στο συνολικό βάρος του κάθε κουτιού σύμφωνα με τα παρακάτω:

- $(\alpha)$  = το βάρος σε γραμμάρια (g) του συνολικού περιεχομένου του κουτιού του μεταξόσπορου
- $(\beta)$  = ο αριθμός των βέλτιστων ωών στο 1g δείγματος
- $(\gamma)$  = ο αριθμός των αγονιμοποίητων ή ελαττωματικών ωών στο 1g δείγματος
- $(\delta) = (\alpha) \times (\beta)$  = ο αριθμός των βέλτιστων ωών εντός του κουτιού
- $(\epsilon) = (\alpha) \times (\gamma)$  = ο αριθμός των αγονιμοποίητων ή ελαττωματικών ωών εντός του κουτιού
- $(\zeta) = \frac{(\gamma) \times 100}{(\alpha)}$  = το ποσοστό των αγονιμοποίητων ή ελαττωματικών ωών εντός του κουτιού

Η πιθανή ύπαρξη διαφόρων ξένων σωμάτων καταγραφόταν στο σχετικό πρακτικό.



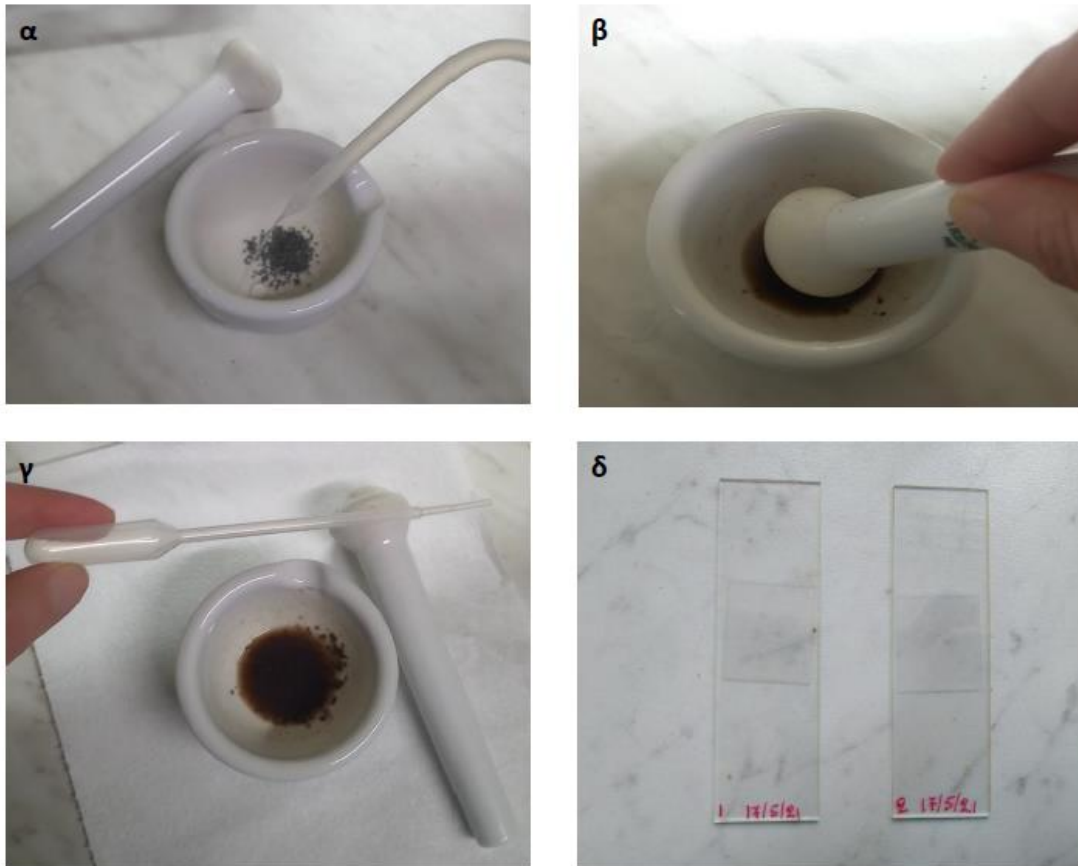
**Εικόνα 39:** α) Ποσότητα 1g ωών μεταξοσκώληκα του εμπορικού υβριδίου (Qiufeng x Baiyu), β) Καταμέτρηση των ωών μεταξοσκώληκα του εμπορικού υβριδίου (Qiufeng x Baiyu), γ) Ποσότητα 1g ωών μεταξοσκώληκα του εμπορικού υβριδίου (Qiufeng x Baiyu) σε αποστειρωμένο πλαστικό τριβλίο Petri.

### 3.3.2. Ο έλεγχος για την πιπερίτιδα (*Nosema bombycis*)

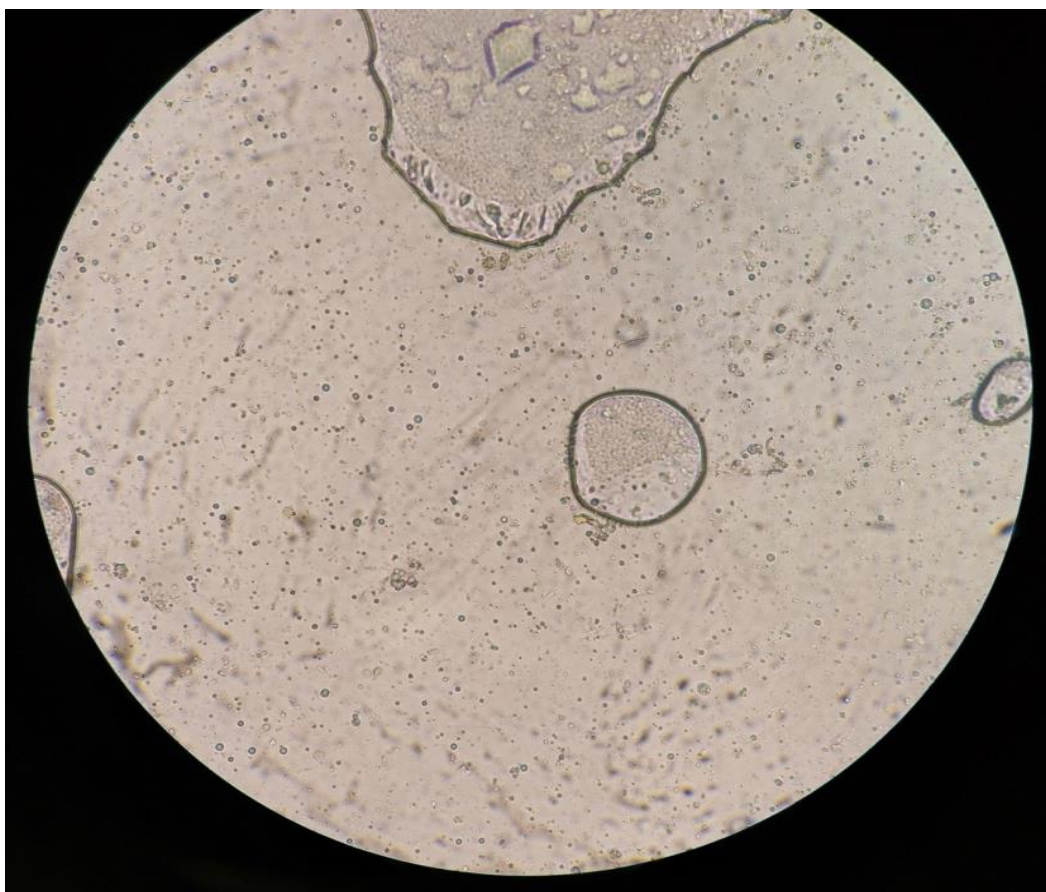
Για την πραγματοποίηση του ελέγχου της πιπερίτιδας, που οφείλεται στο παθογόνο *Nosema bombycis*, πραγματοποιήθηκε η ετοιμασία μικροσκοπικών παρασκευασμάτων από τα δείγματα των ωών που είχαν τοποθετηθεί στα αντιστοίχως αριθμημένα γουδιά. Ακολουθούσε λειοτριβήση των δειγμάτων με την προσθήκη κατάλληλης ποσότητας απιονισμένου νερού. Στη συνέχεια, με τη χρήση πλαστικής πιπέτας μίας χρήσης γινόταν λήψη από το λειοτριβηθέν δείγμα και τοποθέτηση μιας σταγόνας σε αντικειμενοφόρο πλάκα η οποία καλυπτόταν με καλυπτρίδα (Εικόνα 40). Το δείγμα τοποθετούνταν σε απλό οπτικό μικροσκόπιο σε μεγέθυνση x40 προς παρατήρηση και έλεγχο για πιθανή ύπαρξη των σπορίων του μύκητα *Nosema bombycis* (Εικόνα 41). Σε περίπτωση θετικού ελέγχου για πιπερίτιδα (*N. bombycis*) αυτό θα σήμαινε την απόρριψη των κουτιών μεταξόσπορου, ενώ ο υπεύθυνος εισαγωγέας θα



υποχρεωνόταν να προβεί σε καταστροφή του φορτίου και σε έξοδα αναφορικά με την απολύμανση όλων των χώρων, των υλικών και συσκευών που ήρθαν σε επαφή με τα μολυσμένα ωά.



**Εικόνα 40:** α) ωά μεταξοσκώληκα τοποθετημένα σε γουδί και προσθήκη απιονισμένου νερού με τη χρήση υδροβολέα, β) λειοτρίβηση ωών μεταξοσκώληκα σε γουδί, γ) πλαστική πιπέτα μίας χρήσης για τη λήψη από το λειοτριβηθέν δείγμα, δ) δείγμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα έτοιμο προς παρατήρηση στο οπτικό μικροσκόπιο.



**Εικόνα 41:** Εξέταση δείγματος από ωά μεταξοσκώληκα για την ύπαρξη πιπερίτιδας (*Nosema bombycis*) σε οπτικό μικροσκόπιο.

### 3.3.3. Επώαση και έλεγχος αναφορικά με το ποσοστό εκκολαπτικότητας

Τα πλαστικά τριβλία τα οποία ήταν αριθμημένα με καταμετρημένα ωά τοποθετούνταν σε ειδικό χώρο που βρίσκεται στο ισόγειο του κτιρίου Ισαακίδη του Γ.Π.Α. με σκοπό την επώασή τους υπό κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού μέχρι να εκκολαφθούν οι προνύμφες του *B. mori* L (Εικόνα 42).

Το δωμάτιο που χρησιμοποιήθηκε ως επωαστικός θάλαμος κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης διαθέτει δάπεδο αλλά και τοιχώματα από πλακάκια που επιτρέπουν την απολύμανση και καθαριότητα του χώρου. Η ρύθμιση της θερμοκρασίας πραγματοποιούνταν με τη χρήση κλιματιστικού. Επιπλέον, στο δωμάτιο βρισκόταν εγκατεστημένος υγραντήρας HR-15 (Aquaculture hydroponics) που συνδεόταν με αισθητήρα υγρασίας του χώρου με διαβαθμίσεις. Κατά τη διάρκεια περιόδων όταν η φυσική φωτοπερίοδος ταυτιζόταν με την ιδανική φωτοπερίοδο, που προβλεπόταν ώστε να πραγματοποιηθεί η επώαση των ωών, τότε ο χώρος φωτιζόταν φυσικά ενώ σε

αντίθετη περίπτωση γινόταν χρήση φωτιστικού σώματος που περιλάμβανε χρονοδιακόπτη.



**Εικόνα 42:** Χώρος όπου πραγματοποιήθηκαν οι εκτροφές των μεταξοσκωλήκων και μεταλλική τροχήλατη εταζέρα τριών επιπέδων.

Επί προσθέτως, σε συνδυασμό με τον ανωτέρω εξοπλισμό που χρησιμεύει για τη ρύθμιση των αβιοτικών παραμέτρων εντός του δωματίου επώασης, πραγματοποιούνταν συνεχής έλεγχος και καταγραφή των δεδομένων με βάση των οποίων θα γινόταν εφαρμογή των απαραίτητων διορθωτικών κινήσεων όποτε αυτό κρινόταν απαραίτητο. Για το σκοπό αυτό, γίνονταν λήψεις από μετρήσεις θερμοκρασίας και υγρασίας εντός του δωματίου κάθε έξι ώρες, με τη χρήση υγρόμετρου, υγρού-ξηρού θερμομέτρου. Επιπλέον, για να είναι εφικτή η αποτύπωση της εικόνας των συνθηκών επώασης καθώς και ο εντοπισμός αποκλίσεων από τις προβλεπόμενες τιμές καθ' όλη τη διάρκεια του εικοσιτετραώρου, λάμβαναν μέρος μετρήσεις τόσο θερμοκρασίας όσο και υγρασίας ανά τριάντα λεπτά με τη χρήση ηλεκτρονικού καταγραφέα για δεδομένα τύπου HOBO - RH/Temp/Light/External Data Logger-H08-004-02 (Onset Computer Corporation, MA, USA) (**Εικόνα 43**). Τα δεδομένα τα οποία καταγράφονταν και αποθηκεύονταν στη μνήμη του ηλεκτρονικού καταγραφέα ήταν εφικτό να εξαχθούν και να αποθηκευτούν σε αναγνώσιμη μορφή για το χρήστη με τη βοήθεια ηλεκτρονικού υπολογιστή και επεξεργασία με το κατάλληλο λογισμικό.



**Εικόνα 43:** Ηλεκτρονικός καταγραφέας για δεδομένα τύπου HOBO - RH/Temp/Light/External Data Logger-H08-004-02 (Onset Computer Corporation, MA, USA)

Οι συνθήκες οι οποίες επικρατούσαν στον επωαστικό θάλαμο καθ' όλη την περίοδο της επώασης βρίσκονταν εντός των ορίων που ορίζονται από τη διεθνή βιβλιογραφία και σύμφωνα με τις οδηγίες που παρέχονται από τους εκάστοτε οίκους παραγωγής μεταξόσπορου.

**Πίνακας 6:** Συνθήκες επώασης των ωών του μεταξοσκώληκα. (Τροποποιημένο από Τζιτζινάκης 2012).

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

Προτού να ολοκληρωθεί η επώαση, κατά τη διάρκεια του αποχρωματισμού των ωών, αυτά καλύπτονταν με μικρά κομμάτια διάτρητου υλικού (τούλι) σε μέγεθος αλλά και σχήμα (κυκλικό) όμοιο με του τριβλίου. Η διατομή των πόρων από το διάτρητο υλικό βρισκόταν σε τέτοιο μέγεθος έτσι ώστε τυχόν μη εκκολαπτόμενα ωά ή άδεια κελύφη να μην είναι ικανά να το διαπεράσουν, ενώ αντίθετα οι νεοεκκολαφθείσες προνύμφες να το διαπερνούν στην προσπάθειά τους προς αναζήτηση τροφής (**Εικόνα 44**).

Τη στιγμή που εντοπίζονταν οι πρώτες προνύμφες που εκκολάπτονταν τότε γινόταν τοποθέτηση, πάνω από το διάτρητο υλικό, ολόκληρων μικρών και τρυφερών φύλλων μουριάς μαζί με το μίσχο τους με σκοπό όλες οι νεοεκκολαπτόμενες προνύμφες να μετακινηθούν προς την τροφή και να εγκαταλείψουν τα άδεια κελύφη των ωών, καθώς και τα μη εκκολαπτόμενα ωά.



**Εικόνα 44:** Προνύμφες μεταξοσκώληκα 1ης ηλικίας σε νεαρό μορεόφυλλο. Διακρίνεται το διάτρητο υλικό (τούλι) κάτω από το μορεόφυλλο.

Λόγω του γεγονότος πως η εκκόλαψη των προνυμφών συνήθως πραγματοποιείται τις πρωινές ώρες, όσες προνύμφες εκκολάπτονταν μέχρι το μεσημέρι και μετακινούνταν προς αναζήτηση τροφής, συλλέγονταν και τοποθετούνταν σε ξεχωριστό πλαστικό δοχείο, εντός του ίδιου χώρου, όπου θα πραγματοποιούνταν οι εκτροφές των πρώτων ηλικιών όπως περιγράφεται παρακάτω.

Την πρώτη ημέρα, κατά κανόνα, συνήθως πραγματοποιείται η εκκόλαψη ενός μικρού ποσοστού των προνυμφών, ενώ κατά τη δεύτερη ημέρα ακολουθεί η εκκόλαψη του μεγαλύτερου μέρους αυτών. Η εκκόλαψη συνεχίζεται και κατά τη διάρκεια των επόμενων ημερών αλλά με φθίνοντα ρυθμό. Τα ωά με ποσοστό εκκολαπτικότητας 95% και άνω εντός 3 – 4 ημερών, θεωρούνται πως παρουσιάζουν συγχρονισμένη και κανονική εκκόλαψη και άρα βρίσκονται εντός των προβλεπόμενων προδιαγραφών.

Ημέρα της έναρξης της εκκόλαψης θεωρείται η ημέρα της εκκόλαψης των πρώτων προνυμφών. Εφόσον περάσει και η τέταρτη ημέρα και η παραλαβή των νεοεκκολαφθέντων προνυμφών τότε πραγματοποιείται αφαίρεση του διάτρητου

υλικού από την επιφάνεια του τριβλίου, ενώ τα κενά κελύφη των ωών και τα πιθανά αγονιμοποίητα ή ελαττωματικά ωά αφήνονται στον πυθμένα του τριβλίου. Στη συνέχεια με τη χρήση ενός μεγεθυντικού φακού πραγματοποιείται καταμέτρηση των μη εκκολαπτόμενων ωών. Λαμβάνοντας ως δεδομένο τον αρχικό συνολικό αριθμό των ωών που περιλαμβάνονταν στο τριβλίο και που είχε καταγραφεί στη διάρκεια καταμέτρησης του αριθμού των ωών χρησιμοποιώντας τη μέθοδο του βάρους και λαμβάνοντας υπόψη τον αριθμό των ωών που δεν εκκολάφθηκαν μετά το τέλος της τέταρτης μέρας μετά την έναρξη της εκκόλαψης, υπολογιζόταν ο αριθμός των ωών που εκκολάφθηκαν καθώς και το ποσοστό εκκολαπτικότητας του εκάστοτε δείγματος χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$(\delta) = \frac{(\gamma) \times 100}{(\alpha)} \text{ όπου,}$$

- $(\alpha)$  = ο αριθμός των ωών μέσα στο τριβλίο,
- $(\beta)$  = ο αριθμός των ωών που δεν εκκολάφθηκαν,
- $(\gamma) = (\alpha - \beta)$  = ο αριθμός των ωών που εκκολάφθηκαν,
- $(\delta) = \frac{(\gamma) \times 100}{(\alpha)}$  = το ποσοστό της εκκολαπτικότητας

### 3.4. Οι εκτροφές των μεταξοσκωλήκων

Στο πλαίσιο της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκαν εκτροφές μεταξοσκωλήκων του υβριδίου Qiufeng x Baiyu και χρήση στη διατροφή τους δύο διαφορετικών δόσεων 1% w/v και 2% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs για μελέτη αναφορικά με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των προνυμφών, νυμφών, ακμαίων, τη βιωσιμότητα των προνυμφών και των χαρακτηριστικών των παραγόμενων κουκουλιών.

Λόγω του γεγονότος πως τα αποτελέσματα πρέπει να είναι συγκρίσιμα πραγματοποιήθηκε περιορισμός στους παράγοντες οι οποίοι δύναται να επηρεάσουν τόσο τη φυσιολογία των προνυμφών όσο και το τελικό αποτέλεσμα των εκτροφών που είναι η παραγωγή των κουκουλιών. Καθ' όλη τη διάρκεια των εκτροφών και αφού εκκολάφθηκαν οι προνύμφες έγινε χρήση της ίδιας ποιότητας και ίσης σε ποσότητα και αριθμό γευμάτων τροφής αναλόγως την ηλικία, ενώ εντός του θαλάμου οι συνθήκες της εκτροφής ρυθμίζονταν και ελέγχονταν ώστε να παραμένουν σταθερές για κάθε φάση της εκτροφής και ανάλογα των απαιτήσεων του κάθε αναπτυξιακού σταδίου.

**Πίνακας 7:** Διάρκεια ανάπτυξης σε ημέρες των διαφόρων προνυμφικών ηλικιών του μεταξοσκώληκα, υπό άριστες συνθήκες. (Τροποποιημένο από Χαριζάνης 2003)

Προνυμφική ηλικία	Διάρκεια (ημέρες)	Παρατηρήσεις
1 <sup>η</sup> ηλικία	3	Εκκόλαψη μέχρι έναρξη 1 <sup>ου</sup> ύπνου
1 <sup>ος</sup> ύπνος	1	
2 <sup>η</sup> ηλικία	2,5	Τέλος 1 <sup>ου</sup> ύπνου μέχρι έναρξη 2 <sup>ου</sup> ύπνου
2 <sup>ος</sup> ύπνος	1	
3 <sup>η</sup> ηλικία	3	Τέλος 2 <sup>ου</sup> ύπνου μέχρι έναρξη 3 <sup>ου</sup> ύπνου
3 <sup>ος</sup> ύπνος	1	
4 <sup>η</sup> ηλικία	5	Τέλος 3 <sup>ου</sup> ύπνου μέχρι έναρξη 4 <sup>ου</sup> ύπνου
4 <sup>ος</sup> ύπνος	1,5	
5 <sup>η</sup> ηλικία	8	Τέλος 4 <sup>ου</sup> ύπνου μέχρι έναρξη της πλοκής κουκουλιού
<b>Σύνολο</b>	<b>26</b>	

**Πίνακας 8:** Θερμοκρασία και σχετική υγρασία προνυμφών του μεταξοσκώληκα *B. mori* L. σε διαφορετικές περιόδους ανάπτυξης (Τροποποιημένο από Cai et al., 2015).

Περίοδος ανάπτυξης των μεταξοσκωλήκων	Θερμοκρασία (T) °C	Σχετική Υγρασία (RH) (%)
Εκκόλαψη	28	95
1 <sup>η</sup> ηλικία	27	85
2 <sup>η</sup> ηλικία	27	85
3 <sup>η</sup> ηλικία	25	80
4 <sup>η</sup> ηλικία	23	65
5 <sup>η</sup> ηλικία	23	65

**Πίνακας 9:** Ποσότητα μορεόφυλλων σε kg ανάλογα με την εκάστοτε προνυμφική ηλικία του μεταξοσκώληκα για ένα κουτί μεταξόσπορου (20.000 ωά). (Τροποποιημένο από Χαριζάνης 2003)

Προνυμφική ηλικία	Ποσότητα μορεόφυλλων σε kg
1 <sup>η</sup> ηλικία	2
2 <sup>η</sup> ηλικία	8
3 <sup>η</sup> ηλικία	20
4 <sup>η</sup> ηλικία	80
5 <sup>η</sup> ηλικία	390
<b>Σύνολο</b>	<b>500</b>

### 3.4.1. Απολύμανση των εργαλείων και των χώρων

Για την πραγματοποίηση της απολύμανσης τόσο των εργαλείων που χρησιμοποιήθηκαν όσο και των χώρων έγιναν εφαρμογές με το απολυμαντικό σκεύασμα DALCO-QUAT (DALCOCHEM A.B.E.E.Φ.Α.) (Εικόνα 45). Πρόκειται για ένα σταθεροποιημένο διάλυμα διοξειδίου του χλωρίου ( $\text{ClO}_2$ ), το οποίο βρίσκει εφαρμογή στην καταπολέμηση ενός ευρέως φάσματος παθογόνων όπως μύκητες, βακτήρια, άλγη, ζύμες κ.ά.



**Εικόνα 45:** Το εμπορικό απολυμαντικό Dalco-Quat που χρησιμοποιήθηκε για την απολύμανση των χώρων και εργαλείων των εκτροφών μεταξοσκωλήκων.

Για τη διενέργεια της απολύμανσης χρησιμοποιήθηκαν κατάλληλος προστατευτικός ρουχισμός και μάσκα, ενώ για τον ψεκάσμό χρησιμοποιήθηκε ψεκαστήρας πιέσεως.

Ειδικότερα, για να ληφθούν τα επιθυμητά αποτελέσματα της απολύμανσης, πραγματοποιήθηκε η ενεργοποίηση του σκευάσματος σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή:

- Προσθήκη 5ml οργανικού οξέος (οξικό οξύ ή κιτρικό οξύ ή οξαλικό οξύ) σε 200ml του εμπορικού σκευάσματος Dalco-Quat.
- Το διάλυμα παρέμεινε για 10 λεπτά περίπου μέχρι να λάβει χώρα η ενεργοποίησή του (από  $\text{pH}=8,5$  σε  $\text{pH}=2,5$ ).



- Τα 205ml του διαλύματος που είχε ενεργοποιηθεί προστέθηκαν σε 9,8lt νερού και εισάγονταν στον ψεκαστήρα πίεσεως.

Πραγματοποιήθηκαν σχολαστικοί ψεκασμοί όλων των επιφανειών, των τοίχων, του δαπέδου και της οροφής του χώρου εκτροφής, ενώ παράλληλα έγιναν εμβαπτίσεις στο απολυμαντικό σκεύασμα όλων των εργαλείων και των μέσων που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια των εκτροφών και του κλαδώματος.

### 3.4.2. Εκτροφές προνυμφών 1ης έως 3ης ηλικίας

Σύμφωνα με όσα αναφέρθηκαν παραπάνω, συνήθως τις πρωινές ώρες της ημέρας πραγματοποιείται η εκκόλαψη των προνυμφών. Όσες από τις προνύμφες είχαν καταφέρει να εκκολαφθούν μέχρι το μεσημέρι και είχαν κινηθεί προς αναζήτηση τροφής, συλλέγονταν και τοποθετούνταν σε διαφορετική πλαστική λεκάνη για εκτροφή. Ειδικότερα, αναφορικά με τη συλλογή των προνυμφών, αυτή πραγματοποιήθηκε λαμβάνοντας το μίσχο αλλά και μέσω μεταφοράς ολόκληρου του μορεόφυλλου, που είχε χορηγηθεί ως τροφή και πάνω στο οποίο είχαν μετακινηθεί οι προνύμφες προς αναζήτηση τροφής μετά την εκκόλασή τους. Αν ορισμένες από τις εκκολαφθείσες προνύμφες διαπερνούσαν το διάτρητο υλικό αλλά δεν προσκολλούνταν στο φύλλο μουριάς ή είχαν πέσει από αυτό, τότε η μεταφορά τους σε λεκάνη εκτροφής πραγματοποιούνταν μέσω της χρήσης ενός λεπτού πινέλου N° 1 (**Εικόνα 46**).



**Εικόνα 46:** Πινέλο N° 1 που χρησιμοποιήθηκε για τη μεταφορά των προνυμφών ηλικίας L1 έως L3.

Δεδομένου του ότι οι προνύμφες δεν πρέπει να αναμειγνύονται, σε περίπτωση που εκκολαφθούν σε διαφορετικές ημέρες γιατί έτσι θα υπήρξε σχηματισμός ανομοιογενών ομάδων ως προς την ανάπτυξή τους αλλά και το συγχρονισμό των απαραίτητων χειρισμών, τα εκκολαφθέντα άτομα αναλόγως με την ημερομηνία

εκκόλαψης, τοποθετούνταν σε διαφορετική πλαστική λεκάνη εκτροφής. Επιπλέον, στον πυθμένα των πλαστικών λεκανών τοποθετούνταν διηθητικό χαρτί με σκοπό την απορρόφηση της υγρασίας των στρωμών.

Μέχρι και την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία η εκτροφή γινόταν στον ίδιο χώρο όπου πραγματοποιούνταν και οι επώσεις των ωών (θάλαμος εκτροφής πρώτων ηλικιών – επωαστικός θάλαμος).

Επί προσθέτως, όπως έχει προαναφερθεί, πραγματοποιούνταν συνεχείς έλεγχοι και καταγραφές για τις συνθήκες της εκτροφής μέσω των λήψεων μετρήσεων θερμοκρασίας και υγρασίας μέσω της χρήσης εξοπλισμού (βλέπε παράγραφο 3.3.3.), κατά τη διάρκεια της επώασης των ωών, χρησιμοποιώντας υγρόμετρο, υγρό-ξηρό θερμόμετρο και ηλεκτρονικό καταγραφέα δεδομένων τύπου HOBO®-RH/Temp/Light/External Data Logger-H08-004-02 (Onset Computer Corporation, MA, USA).

Κατά τη διάρκεια της ημέρας, πραγματοποιούνταν τρία ταΐσματα με σκοπό τη χορήγηση απαραίτητης ποσότητας μορεόφυλλων, τα οποία τεμαχίζονταν προτού δοθούν ως τροφή στις προνύμφες προς διευκόλυνσή τους, καθώς και της διατήρησης των κατάλληλων συνθηκών τόσο θερμοκρασίας αλλά και υγρασίας στο χώρο εκτροφής (Εικόνα 47).



**Εικόνα 47:** Προνύμφες μεταξοσκώληκα ηλικίας L2 σε πλαστική λεκάνη με προσθήκη τεμαχισμένων μορεόφυλλων.

### 3.4.3. Εκτροφές προνυμφών 4ης και 5ης ηλικίας

Οι εκτροφές των προνυμφών 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> ηλικίας πραγματοποιούνταν σε διαφορετικό χώρο από αυτόν που υπήρχαν οι προνύμφες των ευαίσθητων πρώτων ηλικιών (1<sup>η</sup> έως 3<sup>η</sup> ηλικία) και της επώασης των ωών.

Εφόσον είχε ολοκληρωθεί ο 3<sup>ος</sup> ύπνος και συνάμα η 3<sup>η</sup> έκδυση των προνυμφών και πριν τη χορήγηση νέας τροφής, οι ομοιόμορφες ομάδες των προνυμφών 4<sup>ης</sup> ηλικίας που σχηματίζονταν τοποθετούνταν σε καθαρές πλαστικές λεκάνες με σκοπό τη μεταφορά τους στον κυρίως χώρο εκτροφής όπου οι συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας ρυθμίζονταν μέσω της χρήσης κλιματιστικού και υγραντήρα HR-15 (Aquaculture hydroponics). Οι ομάδες από ομοιόμορφες προνύμφες που σχηματίζονταν περιλάμβαναν διακόσια άτομα η κάθε μία. Σε αυτή τη φάση του βιολογικού τους κύκλου και λόγω του μεγάλου μεγέθους των προνυμφών, η μεταφορά τους πραγματοποιούνταν με το χέρι. Αξίζει να σημειωθεί πως γινόταν χρήση πλαστικών γαντιών μίας χρήσης που αντικαθιστούνταν για κάθε διαφορετικό πληθυσμό έτσι ώστε να μην υπάρξει κάποια πιθανή μετάδοση παθογόνων.

Στο χώρο εκτροφής των προνυμφών 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> ηλικίας υπήρχε φυσικός φωτισμός με άμεση πρόσπτωση της ηλιακής ακτινοβολίας στους εκτρεφόμενους πληθυσμούς. Για τις εκτροφές χρησιμοποιούνταν μεταλλικές τροχήλατες εταζέρες τριών επιπέδων. Επιπλέον, για τον έλεγχο και την καταγραφή των συνθηκών εκτροφής λαμβάνονταν μετρήσεις θερμοκρασίας και υγρασίας με τον ίδιο τρόπο όπως έχει περιγραφεί παραπάνω κατά τη διάρκεια της επώασης των ωών (**βλέπε παράγραφο 3.3.3.**) και κατά τη διάρκεια της εκτροφής 1<sup>ης</sup> έως 3<sup>ης</sup> ηλικίας (**βλέπε παράγραφο 3.4.2.**). Τέλος, πραγματοποιούνταν τρία ταΐσματα κατά τη διάρκεια της ημέρας με μέριμνα για τη χορήγηση της απαραίτητης ποσότητας ολόκληρων φύλλων μουριάς ή ακόμη και κλαδίσκων, αναλόγως με τη φάση της εκτροφής.

### 3.4.4. Πραγματοποίηση της αραίωσης των προνυμφών

Θα πρέπει να λαμβάνεται η απαραίτητη μέριμνα για αραίωση καθώς αν υπάρχει πολύ υψηλή πυκνότητα των εκτρεφόμενων προνυμφών δημιουργούνται συνθήκες συνωστισμού. Σε αυτή την περίπτωση καθίσταται αδύνατη η κατανάλωση επαρκούς ποσότητας τροφής από τις προνύμφες με συνέπεια τον υποσιτισμό τους και άλλες επακόλουθες δυσμενείς επιπτώσεις τόσο στη φυσιολογία όσο και την υγεία τους.

Για την πραγματοποίηση της αραίωσης πρέπει να εφαρμόζονται οι κατάλληλες ενέργειες από την πρώτη προνυμφική ηλικία ακριβώς μετά από τη στιγμή της εκκόλαψης των προνυμφών. Αξίζει να σημειωθεί, πως για το σκοπό αυτό η διαδικασία που ακολουθήθηκε είχε ως εξής. Όπως έχει προαναφερθεί, τόσο η συλλογή των προνυμφών που εκκολάφθηκαν όσο και η μεταφορά τους σε πλαστικές λεκάνες εκτροφής πραγματοποιούνταν λαμβάνοντας το μίσχο και ολόκληρο το τρυφερό φύλλο μουριάς που είχε χορηγηθεί, πάνω στο οποίο βρίσκονταν οι προνύμφες προς αναζήτηση τροφής. Τα τρυφερά μορεόφυλλα τοποθετούνταν σε σχετική απόσταση το ένα δίπλα στο άλλο στις πλαστικές λεκάνες εκτροφής και πάνω στα οποία υπήρχαν οι νεοεκκολαφθείσες προνύμφες. Ακολουθούσε η χορήγηση νέας τεμαχισμένης τροφής από φρέσκα και νεαρά μορεόφυλλα τα οποία τοποθετούνταν όχι μόνο πάνω από τα υπολείμματα της προηγούμενης τροφής και των εκτρεφόμενων προνυμφών, αλλά και περιφερειακά από την επιφάνεια όπου υπήρχαν οι προνύμφες, με σκοπό αυτές να μετακινηθούν και προς τα έξω έτσι ώστε να πραγματοποιηθεί αύξηση της επιφάνειας που καταλαμβάνουν. Αυτή η διαδικασία επαναλαμβανόταν για κάθε χορήγηση τροφής κατά τη διάρκεια εκτροφής των τριών πρώτων προνυμφικών ηλικιών (1<sup>η</sup> έως 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία), με σκοπό μέχρι και τον τρίτο ύπνο να διατηρείται σε ικανοποιητικά επίπεδα η πυκνότητα της εκτροφής. Μετά το πέρας της 3<sup>ης</sup> έκδυσης οι προνύμφες μεταφέρονταν σε άλλο χώρο του σηροτροφείου σε ομάδες των ομοιόμορφων διακοσίων ατόμων, με σκοπό να συνεχιστεί εκεί η εκτροφή της 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> ηλικίας, πάντοτε υπό τις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού (βλέπε παράγραφο 3.3.3.).

#### **3.4.5. Η αφαίρεση των στρωμών**

Για την πραγματοποίηση της αφαίρεσης των στρωμών χρησιμοποιήθηκε δικτυωτό υλικό από νάilon σε κατάλληλο σχήμα και μέγεθος ώστε να καλύπτει την επιφάνεια των πλαστικών λεκανών εκτροφής των προνυμφών. Η αλλαγή των στρωμών πραγματοποιούνταν κάθε δεύτερη ημέρα, κατά την πρώτη ημερήσια χορήγηση νέας τροφής. Πριν το τάισμα, το δικτυωτό υλικό απλωνόταν πάνω από τις προνύμφες και έπειτα πάνω από αυτό τοποθετούνταν η νέα τροφή. Προτού πραγματοποιηθεί το δεύτερο ημερήσιο τάισμα, το δικτυωτό υλικό μαζί με την παλιά τροφή που είχε χορηγηθεί και τις προνύμφες που το είχαν διαπεράσει, μεταφερόταν εκ νέου σε καθαρή πλαστική λεκάνη εκτροφής. Ακολουθούσε παρατήρηση της στρωμνής

που είχε απομείνει στην πλαστική λεκάνη για πιθανή παρουσία προνυμφών, που δεν είχαν καταφέρει να διαπεράσουν το δικτυωτό υλικό. Σε περίπτωση που οι εναπομείναντες προνύμφες επιδείκνυαν ικανοποιητική δραστηριότητα και κινητικότητα, με τη χρήση ενός λεπτού πινέλου N° 1 στις πρώτες ηλικίες (1<sup>η</sup> έως 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία), ή αγγίζοντας τις προνύμφες με το χέρι στη 4<sup>η</sup> και 5<sup>η</sup> ηλικία, τότε πραγματοποιούνταν οι μεταφορές τους σε νέες πλαστικές λεκάνες ή επιφάνειες εκτροφής όπου είχαν τοποθετηθεί πρωτίτερα οι υπόλοιπες προνύμφες μαζί με το δικτυωτό υλικό. Αν υπήρχαν προνύμφες στο εσωτερικό της εναπομείναντας στρωμνής που εμφάνιζαν στοιχεία συμπεριφοράς που σχετίζονταν με την ύπαρξη κάποιας ασθένειας τότε απορρίπτονταν μαζί με την παλιά στρωμνή.

Αξίζει να σημειωθεί πως το άνοιγμα των βρόχων του δικτυωτού υλικού που χρησιμοποιήθηκε ήταν ανάλογο με το μέγεθος των εκτρεφόμενων προνυμφών, καθώς ένα πολύ μικρό άνοιγμα δεν θα ήταν διαπερατό από τις προνύμφες, ενώ ένα μεγαλύτερο άνοιγμα από το ενδεικνυόμενο θα καθιστούσε δύσκολο να το διαπεράσουν οι προνύμφες που θα γλιστρούσαν από αυτό με αποτέλεσμα να πέφτουν στις παλιές στρωμνές. Για τους λόγους που αναφέρθηκαν νωρίτερα, έγινε χρήση δικτυωτού υλικού όπου το άνοιγμα των βρόχων ήταν 2 mm<sup>2</sup> για την 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία, άνοιγμα 10 mm<sup>2</sup> για την 3<sup>η</sup> ηλικία και τέλος για την 4<sup>η</sup> και 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία το άνοιγμα των βρόχων ήταν 20 mm<sup>2</sup> (Ganga 2003, Τζιτζινάκης 2012).

#### **3.4.6. Εξίσωση των διαφόρων προνυμφικών ηλικιών**

Προκειμένου να υπάρξει συγχρονισμός των εκτροφών οι προνύμφες οι οποίες εκκολάπτονταν κάθε ημέρα μεταφέρονταν σε διαφορετικές πλαστικές λεκάνες εκτροφής, σε σύγκριση με τις προνύμφες που εκκολάπτονταν τις επόμενες ημέρες, όπως έχει προαναφερθεί. Κατά τη χρονική διάρκεια που εισέρχονταν στο στάδιο του ύπνου η χορήγηση της τροφής δεν σταματούσε αμέσως, αλλά υπήρξε σταδιακή μείωση της ποσότητας των χορηγούμενων μορεόφυλλων που τοποθετούνταν περιφερειακά και όχι στην πάνω πλευρά των προνυμφών, με σκοπό όσες από αυτές δεν είχαν εισέλθει στο στάδιο του ύπνου να συνεχίσουν να λαμβάνουν τροφή συγκριτικά με τις υπόλοιπες. Μόλις οι μισές από τις προνύμφες ολοκλήρωναν τα στάδια του ύπνου και της έκδυσης, γινόταν τοποθέτηση στην επιφάνεια της εκτροφής ολόκληρων φύλλων μουριάς μαζί με τους μίσχους τους. Οι προνύμφες προς αναζήτηση τροφής μετακινούνταν στα νέα φύλλα τα οποία στη συνέχεια μεταφέρονταν από τους μίσχους τους σε νέες επιφάνειες

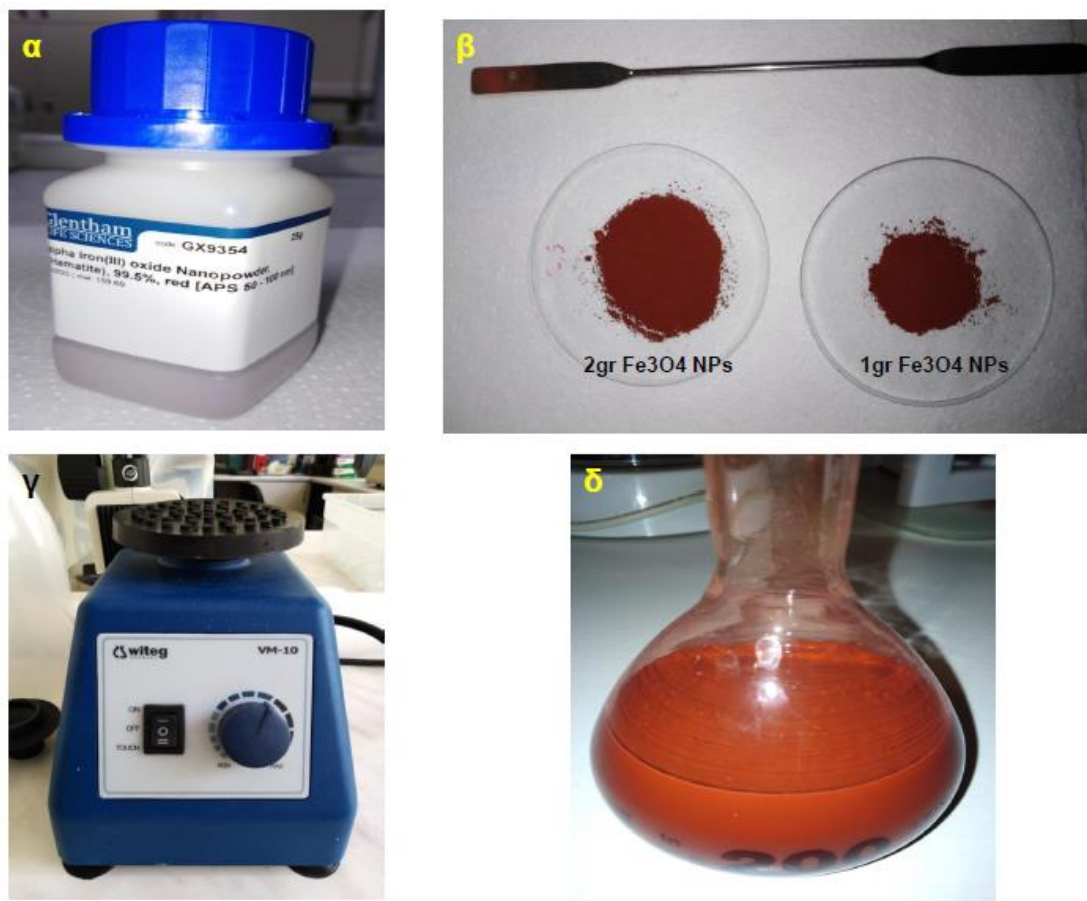
εκτροφής. Επιπλέον, για όσες προνύμφες βρίσκονταν ακόμη σε κατάσταση ύπνου τότε αυτές αφήνονταν χωρίς χορήγηση νέας τροφής για 24 ώρες και μόλις δραστηριοποιούνταν εκ νέου τότε μεταφέρονταν σε καινούρια επιφάνεια εκτροφής. Μέσω της διαδικασίας αυτής πραγματοποιούνταν παράλληλα, εκτός από τις εξισώσεις των ηλικιών, τόσο η αφαίρεση των παλιών στρωμών όσο και η αραίωση των εκτρεφόμενων προνυμφών.

### 3.5. Δημιουργία διαλυμάτων με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs

Το σκεύασμα των νανοσωματιδίων Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία είναι το alpha Iron(III) oxide Nanopowder (Hematite) 25g red (APS 50 – 100nm), καθαρότητας 99,5% (Glenthams Life Sciences, UK) (**Εικόνα 48**).

Η μεθοδολογία για τη δημιουργία διαλυμάτων για τις δόσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs είχε ως εξής:

Με τη χρήση μεταλλικής σπάτουλας μεταφέρονται σε ύαλο ωρολογίου και ζυγίζονται με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων 1gr από το σκεύασμα του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> για τη δόση του 1% w/v και 2gr αντίστοιχα για τη δόση του 2% w/v. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια γυάλινου χωνιού μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100ml με πλαστικό πώμα. Ακολουθεί η προσθήκη απιονισμένου νερού μέχρι το σημείο όπου ο μηνίσκος που σχηματίζεται να εφάπτεται στη χαραγή της ογκομετρικής φιάλης. Τοποθετείται το πλαστικό πώμα και η ογκομετρική φιάλη μεταφέρεται σε συσκευή Vortex για 5 λεπτά με σκοπό την ανάδευση και την τελική ομογενοποίηση του διαλύματος. Το τελικό αποτέλεσμα του διαλύματος φαίνεται στην **Εικόνα 48**.

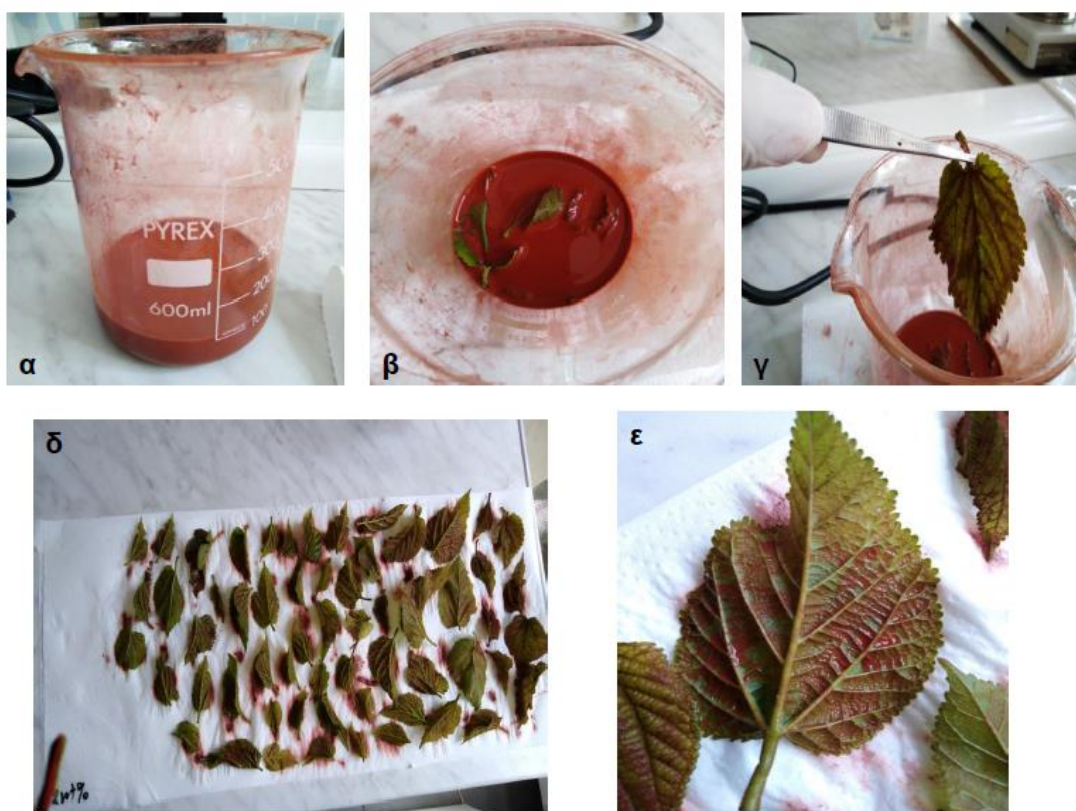


**Εικόνα 48:** α) Σκεύασμα νανოსωματιδίων  $Fe_3O_4$  που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, β) μεταλλική σπάτουλα και  $Fe_3O_4$  NPs των 2gr και 1gr σε ύαλο ωρολογίου, γ) συσκευή Vortex, δ) διάλυμα  $Fe_3O_4$  σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml.

### 3.5.1. Η μέθοδος της εμφύπτωσης των φύλλων σε διαλύματα με $Fe_3O_4$ NPs

Μετά τη δημιουργία των διαλυμάτων των 2 δόσεων  $Fe_3O_4$  NPs στην ογκομετρική φιάλη των 100ml ακολουθεί η μεταφορά σε γυάλινο ποτήρι ζέσεως των 600 ml για τα τρυφερά μορεόφυλλα και σε πλαστικό δοχείο ορθογώνιου σχήματος και διαστάσεων 12x8x6 cm για τα ώριμα μορεόφυλλα ξεχωριστά για κάθε δόση (**Εικόνες 49, 50**). Τα μορεόφυλλα συλλέγονται και όπως έχει προαναφερθεί (**βλέπε παράγραφο 3.4.2.**) για τις νεαρές ηλικίες (L2, L3) τεμαχίζονται, ενώ για τις μεγαλύτερες προνύμφες (ηλικίες L4, L5) χρησιμοποιούνται ολόκληρα. Έπειτα, ακολουθεί τοποθέτηση των φύλλων (τεμαχίων ή ολόκληρων) στα δοχεία που περιέχουν το διάλυμα του  $Fe_3O_4$  NPs (ξεχωριστά για κάθε δόση) μέχρι η επιφάνεια των φύλλων να καλυφθεί πλήρως από το διάλυμα (**Εικόνες 49, 50**). Τα μορεόφυλλα εμφυπίζονται στις εκάστοτε δόσεις των διαλυμάτων του  $Fe_3O_4$  NPs και παραμένουν στα δοχεία για 1 min. Στη συνέχεια, με τη χρήση μεταλλικής λαβίδας με φαρδιά άκρα, για αποφυγή τραυματισμού του ελάσματος

των φύλλων και απώλεια υγρασίας από αυτά, μεταφέρονται σε επιφάνεια όπου προηγουμένως έχει τοποθετηθεί απορροφητικό χαρτί και απλώνονται με προσοχή χωρίς να υπάρχει αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των φύλλων (Εικόνες 49, 50). Ακολούθως, τα μορεόφυλλα παραμένουν στο απορροφητικό χαρτί και αφήνονται να στεγνώσουν φυσικά μέσω του αερισμού και της θερμοκρασίας που υπάρχει στο χώρο. Αντίστοιχα για την ομάδα του Μάρτυρα ακολουθήθηκε ακριβώς η ίδια διαδικασία που προαναφέρθηκε με τη μόνη διαφορά της χρήσης νερού στα δοχεία εμβάπτισης των μορεόφυλλων. Μετά την πάροδο του στεγνώματος των φύλλων αυτά χωρίζονται, αναλόγως τις ανάγκες των προνυμφικών ηλικιών (νεαρές και ώριμες προνύμφες) που προορίζονται. Η χορήγηση των εμβαπτισμένων σε  $Fe_3O_4$  NPs φύλλων γίνεται ξεχωριστά για κάθε ομάδα δόσης και προνυμφικής ηλικίας όποτε κριθεί απαραίτητο με ελάχιστη χορήγηση μορεόφυλλων τρεις φορές την ημέρα. Τυχόν μορεόφυλλα τα οποία έχουν ήδη υποστεί εμβάπτιση στα διαλύματα του  $Fe_3O_4$  NPs και είναι στεγνά, αν περισσεύουν μετά τις χορηγήσεις της τροφής στις προνύμφες, μεταφέρονται σε διπλές πλαστικές σακούλες (για αποφυγή υγρασίας) με ετικέτα για την κάθε δόση και τοποθετούνται στη συντήρηση για επόμενη χρήση.



**Εικόνα 49:** α) γυάλινο ποτήρι ζέσεως 600 ml με διάλυμα  $Fe_3O_4$  NPs, β) εμβάπτιση νεαρών μορεόφυλλων σε διάλυμα  $Fe_3O_4$  NPs, γ) μεταφορά των εμβαπτισμένων μορεόφυλλων με τη χρήση μεταλλικής λαβίδας, δ) εμβαπτισμένα νεαρά μορεόφυλλα σε διάλυμα  $Fe_3O_4$  NPs που έχουν τοποθετηθεί σε απορροφητικό χαρτί ώστε να στεγνώσουν, ε) νεαρό μορεόφυλλο μετά την εμβάπτιση σε διάλυμα  $Fe_3O_4$  NPs.





**Εικόνα 50:** α) φρέσκα μορεόφυλλα που έχουν συλλεχθεί για εμφάπτιση, β) πλαστικό δοχείο ορθογώνιου σχήματος και διαστάσεων 12x8x6 cm με διάλυμα  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs, γ) εμφάπτιση μορεόφυλλων, δ) ώριμα μορεόφυλλα μετά την εμφάπτιση σε διάλυμα  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs που έχουν τοποθετηθεί σε απορροφητικό χαρτί ώστε να στεγνώσουν, ε) ώριμο μορεόφυλλο μετά την εμφάπτιση σε διάλυμα  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs.

### 3.5.2. Επιλογή προνυμφών για χρήση «τροποποιημένης διατροφής» με $\text{Fe}_3\text{O}_4$ NPs

Για τη χρήση «τροποποιημένης διατροφής» με διαφορετικές δόσεις του  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs επιλέχτηκαν προνύμφες από τις ηλικίες L2, L3, L4 και L5. Ειδικότερα,

- για την πρώτη επανάληψη της δόσης 1% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs χρησιμοποιήθηκαν 300 προνύμφες, οι οποίες χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 60 ατόμων ανά ομάδα: Μάρτυρας, L2, L3, L4, L5, ενώ
- για τη δεύτερη επανάληψη της δόσης 1% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs χρησιμοποιήθηκαν 500 προνύμφες, που χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 100 ατόμων ανά ομάδα αντίστοιχα
- για την πρώτη επανάληψη της δόσης 2% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs χρησιμοποιήθηκαν 500 προνύμφες οι οποίες χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 100 ατόμων ανά ομάδα (Μάρτυρας, L2, L3, L4, L5) και

- για τη δεύτερη επανάληψη της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs χρησιμοποιήθηκαν 500 προνύμφες, που χωρίστηκαν σε 5 ομάδες των 100 ατόμων ανά ομάδα αντίστοιχα.

Οι επιλεγμένες προνύμφες μεταφέρθηκαν κατά ομάδες σε καινούριες επιφάνειες εκτροφής είτε με τη χρήση λεπτού πινέλου N° 1 (για ηλικίες L2, L3) είτε με το χέρι για τις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5) σε χώρο υπό κατάλληλες συνθήκες εκτροφής (θερμοκρασία, υγρασία, φως) όπως έχει αναφερθεί παραπάνω (**βλέπε παράγραφο 3.3.3**). Ακολούθησε η παροχή τροφής με τη χρήση των δόσεων 1% w/v (**Εικόνα 51**) και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs (**Εικόνα 52**) στις διάφορες ομάδες των μεταξοσκωλήκων καθώς και στις ομάδες των Μαρτύρων (νερό). Ειδικότερα, για τις νεαρές προνύμφες των ηλικιών L2, L3 τα μορεόφυλλα τεμαχίζονταν πριν τη χορήγησή τους ώστε να αυξηθεί η ελεύθερη επιφάνεια και να διευκολυνθεί η σίτιση των νεαρών προνυμφών που διαθέτουν μικρά σε μέγεθος στοματικά μόρια, σε αντίθεση με τις μεγαλύτερες ηλικίες L4 και L5 όπου τα μορεόφυλλα χορηγούνταν ολόκληρα με το μίσχο τους. Επί προσθέτως, για την παρατήρηση τυχόν επιδράσεων από τις δύο διαφορετικές δόσεις του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε διάφορα χαρακτηριστικά των εντόμων λήφθηκαν τυχαία από κάθε ομάδα και για κάθε δόση 5 άτομα τα οποία συνιστούν τις προνύμφες (στην 5η ηλικία) για την πραγματοποίηση των ανατομών και 5 τυχαία άτομα για νύμφες που αφέθηκαν να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία άτομα για την πραγματοποίηση συζεύξεων και την παραγωγή ωών. Συνοπτικά, από τις δόσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs της πρώτης και δεύτερης επανάληψης χρησιμοποιήθηκαν τυχαία 10 άτομα για περαιτέρω αναλύσεις αντίστοιχα από κάθε δόση και ομάδα.



**Εικόνα 51:** Προνύμφες μεταξοσκώληκα 4<sup>ης</sup> ηλικίας που τρέφονται με μορεόφυλλα που έχουν υποστεί επεξεργασία σε διάλυμα 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 52:** Προνύμφες μεταξοσκώληκα 4<sup>ης</sup> ηλικίας που τρέφονται με μορεόφυλλα που έχουν υποστεί επεξεργασία σε διάλυμα 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

### 3.6. Κλάδωμα

Κατά το χρονικό διάστημα όταν οι προνύμφες του μεταξοσκώληκα πλησιάζουν στην ολοκλήρωση του προνυμφικού τους αναπτυξιακού σταδίου και πριν την έναρξη της νύμφωσης, ξεκινάει η φάση του «κλαδώματος» που έγκειται στην έναρξη της πλοκής του βομβυκίου (κουκουλιού) με τη βοήθεια φυσικών ή τεχνητών υλικών (Εικόνα 53).

Ειδικότερα, για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης, έγινε χρήση ως υλικού κλαδώματος ειδικού πλαστικού πλέγματος το οποίο διέθετε κυματοειδής μορφή. Την ημέρα της παρατήρησης της έναρξης της πλοκής του πρώτου βομβυκίου, από κάθε επιφάνεια εκτροφής, γινόταν καταγραφή και ορισμός της ημέρας αυτής ως έναρξης του κλαδώματος. Κατά τη διάρκεια που ήταν κοντά στην όγδοη ημέρα των προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας τότε πραγματοποιούνταν ο καθαρισμός για κάθε επιφάνεια εκτροφής και η απόρριψη των παλιών στρωμών και στη συνέχεια γινόταν τοποθέτηση των κατάλληλων πλαστικών πλεγμάτων περιφερειακά των προνυμφών και στις παρυφές των επιφανειών της εκτροφής. Η χορήγηση των μορεόφυλλων συνεχιζόταν σε μικρότερες ποσότητες και τοποθετούνταν κυρίως στο κέντρο των επιφανειών των εκτροφών με σκοπό οι περιφέρειες να παραμένουν καθαρές και ελεύθερες προς σχηματισμό των βομβυκίων. Ακολουθούσε καθημερινή παρατήρηση των επιφανειών εκτροφής, μετά την εμφάνιση του πρώτου κουκουλιού, και καταγραφή του αριθμού των βομβυκίων στα οποία είχε ξεκινήσει η πλοκή.



**Εικόνα 53:** Προνύμφες μεταξοσκώληκα 5ης ηλικίας που έχουν ξεκινήσει τη διαδικασία του κλαδώματος (πλοκή κουκουλιού).

### **3.7. Ξεκλάδωμα**

Εντός του χρονικού διαστήματος των έξι ημερών από την εμφάνιση του πρώτου βομβυκίου θεωρείται πως το κλάδωμα έχει ολοκληρωθεί για κάθε ομάδα εκτροφής. Την έβδομη ημέρα μετά την έναρξη του κλαδώματος, πραγματοποιούνταν το ξεκλάδωμα, δηλαδή η συλλογή των κουκουλιών που είχαν δημιουργηθεί (**Εικόνα 54**).

Επιπλέον, καταμετρούνταν όσες από τις προνύμφες δεν είχαν πραγματοποιήσει νύμφωση ή είχαν νυμφωθεί χωρίς όμως την πλοκή βομβυκίου. Ο αριθμός των κουκουλιών που συλλέχθηκαν οργανώθηκαν ξεχωριστά ανά ομάδα και δόση (**Εικόνα 55**) και αποθηκεύτηκαν με τη χρήση υάλινων βάζων στην κατάψυξη για περαιτέρω αναλύσεις.



**Εικόνα 54:** Προνύμφες μεταξοσκώληκα 5ης ηλικίας πάνω σε ένα έτοιμο κουκούλι.



**Εικόνα 55:** Κουκούλια μεταξοσκώληκα που έχουν συλλεχθεί σε πλαστικό δοχείο.

### 3.8. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά προνυμφών

Πραγματοποιήθηκαν καταγραφές και παρατηρήσεις αναφορικά με το χρωματισμό αλλά και τα σημάδια τα οποία εμφανίζονταν στο σώμα των εκτρεφόμενων προνυμφών. Οι πληθυσμοί του συγκεκριμένου εμπορικού υβριδίου Qiufeng x Baiyu (**Εικόνα 56**) χαρακτηρίζονται από προνύμφες με ομοιόμορφο χρωματισμό χωρίς σημάδια ή μπορεί να παρατηρηθούν ορισμένοι σχηματισμοί με τα πιο κοινά να είναι η «προσωπίδα» στον πρώτο δακτύλιο, η «ημισέληνος» στον πέμπτο δακτύλιο και τέλος το «αστεροειδές στίγμα» στον όγδοο δακτύλιο. Αυτοί οι σχηματισμοί υπάρχουν κατά κανόνα σε ζεύγη που βρίσκονται συμμετρικώς εκατέρωθεν της μέσης ραχιαίας γραμμής της προνύμφης του μεταξοσκώληκα (Τζιτζινάκης 2012). Επιπλέον, πέρα από τις περιγραφικές καταγραφές, πραγματοποιήθηκαν φωτογραφίσεις των προνυμφών 2<sup>ης</sup>, 3<sup>ης</sup>, 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> ηλικίας στις διαφορετικές δόσεις με νανοσωματίδια του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> και στους μάρτυρες αντίστοιχα με τη χρήση κινητού τηλεφώνου HUAWEI Y6 Prime με κάμερα 13MP.



**Εικόνα 56:** Προνύμφη μεταξοσκώληκα 5<sup>ης</sup> ηλικίας με χαρακτηριστικά σημάδια α) «προσωπίδα» και β) «ημισέληνος» του εμπορικού υβριδίου Qiufeng x Baiyu.

### 3.8.1. Το χρώμα της αιμολέμφου

Ένα γνώρισμα που κατά κανόνα δύναται να επηρεάσει το χρώμα του παραγόμενου βομβυκίου είναι το χρώμα της αιμολέμφου. Η αιμολέμφος χρησιμοποιείται ως λέξη για αναφορές σε ασπόνδυλους οργανισμούς (μαλάκια, αρθρόποδα). Η αιμολέμφος του μεταξοσκώληκα, σε αντίθεση με το αίμα των θηλαστικών ζώων δεν διαθέτει κόκκινο χρώμα, και συνήθως είναι άχρωμη. Παρόλα αυτά, υπάρχουν και κάποιοι πληθυσμοί μεταξοσκώληκα που διαθέτουν κίτρινο χρώμα αιμολέμφου. Κατά κανόνα, το χρώμα της αιμολέμφου οφείλεται στο χρώμα του πλάσματος και όχι των οργανιδίων που περιέχονται σε αυτό. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι συνήθως όπου παρατηρούνται χρωστικές στην αιμολέμφο τότε αυτές εμφανίζονται στους μεταξογόνους αδένες και εν συνεχεία και στη σερική του παραγόμενου βομβυκίου, ενώ αντίθετα οι προνύμφες του μεταξοσκώληκα που διαθέτουν άχρωμη αιμολέμφο παράγουν συνήθως λευκά κουκούλια (Τζιτζινάκης 2012). Ένας τρόπος καταγραφής του χρώματος της αιμολέμφου, χωρίς τραυματισμό της προνύμφης, είναι η παρατήρηση των ψευδοποδίων της. Στην περίπτωση που η προνύμφη διαθέτει κίτρινη αιμολέμφο τότε το χρώμα είναι ορατό στις αποφύσεις του σώματος της προνύμφης όπως είναι τα ψευδοπόδια που χαρακτηρίζονται με κίτρινη απόχρωση. Αντιθέτως, όταν η προνύμφη διαθέτει άχρωμη αιμολέμφο τότε κατ' επέκταση και τα ψευδοπόδια της διαθέτουν το βασικό χρωματισμό που χαρακτηρίζει και το υπόλοιπο σώμα της προνύμφης.

Πραγματοποιήθηκε καταγραφή και φωτογράφιση (με τη χρήση κινητού τηλεφώνου HUAWEI Y6 Prime με κάμερα 13MP) του χρώματος της αιμολέμφου έπειτα από παρατήρηση των ψευδοποδίων των ώριμων προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας για τις δόσεις 1% και 2% w/v των νανοσωματιδίων του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> και των μαρτύρων αντίστοιχα.

### 3.8.2. Μετρήσεις βάρους προνυμφών

Για να προσδιοριστεί το βάρος των προνυμφών και η τυχόν επίδραση των δύο διαφορετικών δόσεων (1% w/v και 2% w/v) των νανοσωματιδίων του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> σε αυτές, λήφθηκαν τυχαία 5 προνύμφες από κάθε ομάδα (και δόση αντίστοιχα), τη χρονική στιγμή που είχαν φθάσει στην 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία και λίγο πριν ξεκινήσει η πλοκή των κουκουλιών. Ειδικότερα, ως ένδειξη ότι οι προνύμφες φτάνουν στην πλήρη ανάπτυξή τους τότε γίνονται ανήσυχες, σταματούν να τρέφονται, αποβάλλουν μεγάλες

σταγόνες από γαστρικά υγρά και το σώμα τους συρρικνώνεται και γίνεται σχεδόν διαφανές. Έπειτα, οι προνύμφες μεταφέρονταν με το χέρι σε ύαλο ωρολογίου και με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων γινόταν η καταμέτρηση του βάρους τους.

### 3.8.3. Ανατομή προνυμφών 5ης ηλικίας

Για την παρατήρηση της ενσωμάτωσης των νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$  στη διατροφή του μεταξοσκώληκα και συνάμα στο εσωτερικό του οργανισμού του εντόμου πραγματοποιήθηκαν ανατομές σε 5 τυχαία επιλεγόμενες προνύμφες  $5^{th}$  ηλικίας (από κάθε ομάδα και δόση), πριν ξεκινήσει η πλοκή των κουκουλιών. Η διαδικασία της ανατομής των προνυμφών είχε ως εξής:

Οι προνύμφες τοποθετούνταν αρχικά σε ποτήρι ζέσεως των 200ml το οποίο περιείχε νερό με σκοπό την αναισθητοποίησή τους. Έπειτα από ένα μικρό χρονικό διάστημα κατά το οποίο οι προνύμφες είχαν αποβάλλει περιττώματα και ήταν ακινητοποιημένες στο νερό μεταφέρονταν με τη χρήση λαβίδας με φαρδιά άκρα, προς αποφυγή τραυματισμού, σε απορροφητικό χαρτί για να στεγνώσουν. Στη συνέχεια, τοποθετούνταν σε τριβλίο με παραφίνη όπου με τη χρήση ανατομικών βελόνων στερεωνόνταν με την κοιλιακή όψη προς τα επάνω. Ακολουθούσε τομή με τη χρήση ψαλιδιού ανατομίας από την περιοχή λίγο υψηλότερα από την έδρα και κατά μήκος μέχρι την περιοχή της κεφαλής κάτω από τα στοματικά μόρια. Το μαλακό επιδερμίδιο (cuticula) για να μην εμποδίζει την παρατήρηση στερεωνόταν αριστερά και δεξιά με τη χρήση βελόνων ανατομίας υπό ευρεία κλίση (**Εικόνα 57**). Πραγματοποιούνταν φωτογράφιση των εσωτερικών οργάνων της προνύμφης και με τη χρήση λαβίδας με κυρτά άκρα γινόταν λήψη των μεταξογόνων αδένων και μεταφορά τους σε αντικειμενοφόρο πλάκα για παρατήρηση στο στερεοσκόπιο και φωτογράφιση. Μετά το πέρας της φωτογράφισης οι μεταξογόνοι αδένες τοποθετούνταν σε αριθμημένους σωλήνες φυγοκέντρισης Eppendorf των 1,5ml (**Εικόνα 58**) και μεταφέρονταν στην κατάψυξη. Τέλος, οι προνύμφες μετά την ανατομή τοποθετούνταν και αυτές ξεχωριστά σε αριθμημένους σωλήνες φυγοκέντρισης Eppendorf των 2,0ml (**Εικόνα 58**) και στη συνέχεια στην κατάψυξη για περαιτέρω αναλύσεις.





Εικόνα 57: Ανατομή προνύμφης του *B. mori* L.



Εικόνα 58: α) Αποθήκευση σε Eppendorf 1,5 ml μεταξογόνων αδένων του *B. mori* L. , β) Αποθήκευση σε Eppendorf 2,0 ml ολόκληρης προνύμφης μεταξοσκώληκα μετά την ανατομή.

### 3.9. Η καταγραφή των χαρακτηριστικών βομβυκίων, νυμφών και ακμαίων

Έπειτα από τις συλλογές των βομβυκίων, την καταμέτρηση, το διαχωρισμό των εμπορεύσιμων από τα «ελαττωματικά», πραγματοποιήθηκαν καταγραφές των κυριότερων χαρακτηριστικών των κουκουλιών καθώς και των νυμφών που βρίσκονταν στο εσωτερικό τους και των ακμαίων που αφέθηκαν για την ολοκλήρωση της μεταμόρφωσης.

### 3.9.1. Το χρώμα των βομβυκίων

Τα κουκούλια που παράγονται από μεταξοσκώληκες του είδους *B. mori* L. δύναται να εμφανίζουν ποικιλομορφία φυσικών χρωμάτων καθώς και αποχρώσεων (λευκά, υπόλευκα, χρυσοκίτρινα, αχυροκίτρινα, ροζ, πράσινα, πορτοκαλί). Οι βασικοί τύποι των χρωστικών που καθορίζουν το χρώμα των κουκουλιών είναι τα κιτρινόχροα καροτενοειδή που είναι λιποδιαλυτά, καθώς και τα πρασινόχρωμα φλαβονοειδή. Οι ανωτέρω χρωστικές απορροφώνται από τα μορέοφυλλα που καταναλώνουν οι προνύμφες κατά τη διάρκεια της σίτισης, μεταφέρονται από τον πεπτικό σωλήνα στους μεταξογόνους αδένες μέσω της αιμολέμφου και τέλος συσσωρεύονται στην παραγόμενη μετάξινη ίνα.

Αναφορικά με το χρωματισμό των βομβυκίων πραγματοποιήθηκαν περιγραφικές καταγραφές και φωτογραφίες για τις διαφορετικές δόσεις νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$  για τη 2<sup>η</sup>, 3<sup>η</sup>, 4<sup>η</sup> και 5<sup>η</sup> ηλικία και για τους μάρτυρες αντίστοιχα (με τη χρήση κινητού τηλεφώνου HUAWEI Y6 Prime με κάμερα 13MP), ενώ παράλληλα διατηρήθηκε φωτογραφικό αρχείο των βομβυκίων.

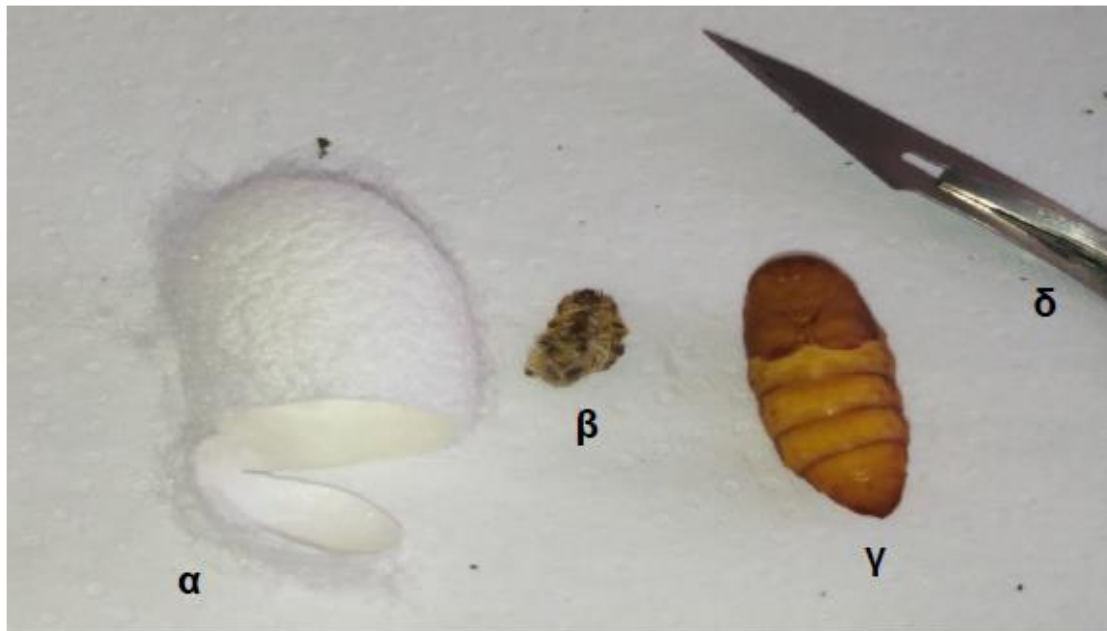
### 3.9.2. Μετρήσεις βάρους βομβυκίων

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις αναφορικά με το βάρος των παραγόμενων γλωρών κουκουλιών με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων, ξεχωριστά για τις δύο δόσεις των  $Fe_3O_4$  NPs και για κάθε ομάδα (Μάρτυρας, L2, L3, L4, L5).

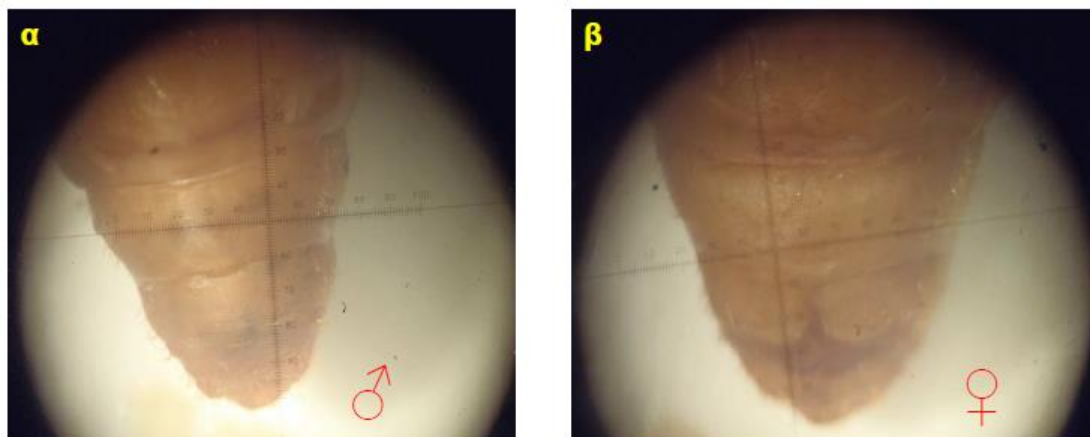
### 3.9.3. Μετρήσεις βάρους και καθορισμός φύλου νυμφών

Τα κουκούλια από τη στιγμή που ζυγίστηκαν, σύμφωνα με τα παραπάνω (**βλέπε παράγραφο 3.9.2.**), επιλέχτηκαν τυχαία 5 από αυτά (από κάθε δόση και ομάδα αντίστοιχα) και ανοίχτηκαν με τη χρήση νυστεριού και η ζωντανή νύμφη μαζί με το έκδυμα της τελευταίας έκδυσης, που πραγματοποιήθηκε εντός του βομβυκίου, αφαιρέθηκαν (**Εικόνες 59 και 60**). Έπειτα τοποθετήθηκαν σε ύαλο ωρολογίου και με τη χρήση ηλεκτρονικού ζυγού ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων λήφθηκαν μετρήσεις σχετικά με το βάρος. Τέλος, για τον καθορισμό του φύλου των νυμφών

χρησιμοποιήθηκε οπτικό στερεοσκόπιο και παρατήρηση του όγδου (8<sup>ου</sup>) κοιλιακού τμήματος κάθε νύμφης (Εικόνα 60).



**Εικόνα 59:** α) ανοιγμένο βομβύκιο μεταξοσκώληκα, β) έκδυμα προνύμφης του μεταξοσκώληκα της τελευταίας έκδυσης, γ) νύμφη (pupa) μεταξοσκώληκα, δ) νυστέρι.



**Εικόνα 60:** Παρατήρηση μέσω στερεοσκοπίου του 8<sup>ου</sup> κοιλιακού τμήματος των νυμφών μεταξοσκώληκα. α) Αρσενική νύμφη του *B. mori* L., β) Θηλυκή νύμφη του *B. mori* L.

### 3.9.4. Το βάρος του κελύφους

Εφόσον αφαιρέθηκε το περιεχόμενο από τα ανοιγμένα χλωρά κουκούλια τότε αυτά ζυγίστηκαν ξανά στον ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων για να προσδιοριστεί το βάρος του κελύφους. Ειδικότερα, το βάρος του κελύφους αποτελεί τον σημαντικότερο και ευρέως χρησιμοποιούμενο δείκτη για τον

προσδιορισμό της ποιότητας των παραγόμενων κουκουλιών καθώς επίσης και έμμεσης εκτίμησης για την απόδοσή τους σε μέταλλα.

### **3.9.5. Μετρήσεις βάρους ακμαίων**

Αναφορικά με τις μετρήσεις βάρους των ακμαίων ατόμων, αυτές πραγματοποιήθηκαν όταν τα ενήλικα (5 τυχαία άτομα από κάθε δόση και ομάδα αντίστοιχα) είχαν εμφανισθεί από τις νύμφες και μετά το πέρας ενός χρονικού διαστήματος μέχρι την σκλήρυνση των πτερύγων. Τα ακμαία άτομα μεταφέρονταν με προσοχή με το χέρι σε ύαλο ωρολογίου και έπειτα σε ηλεκτρονικό ζυγό ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων για την καταγραφή του βάρους.

## **3.10. Μετρήσεις των χαρακτηριστικών γονιμότητας**

### **3.10.1. Πραγματοποίηση ελεγχόμενων συζεύξεων**

Οι νύμφες (τυχαίες 5 από κάθε ομάδα σε κάθε δόση), αφού είχε καταγραφεί το βάρος και είχε προσδιοριστεί το φύλο τους, τοποθετούνταν σε ειδικές πλαστικές λεκάνες ξεχωριστά για κάθε ομάδα και δόση των νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$ . Επιπλέον, οι λεκάνες με τις νύμφες μεταφέρονταν σε κλιματιζόμενο χώρο υπό σταθερές συνθήκες εκτροφής χωρίς να διαταράσσονται, με σκοπό την ολοκλήρωση του αναπτυξιακού σταδίου της νύμφης. Ειδικότερα, κάθε νύμφη για την οποία είχε ήδη προσδιοριστεί το φύλο και είχαν καταγραφεί οι διαστάσεις αλλά και το βάρος της, απομονωνόταν από τις υπόλοιπες νύμφες της ίδιας ομάδας. Για την πραγματοποίηση του ατομικού διαχωρισμού των νυμφών χρησιμοποιήθηκαν κυλινδρικά πλαστικά δοχεία δειγματοληψίας με καπάκι (3,5x6,5 cm) (**Εικόνα 61**), στο οποίο πρωτίτερα είχαν δημιουργηθεί οπές προκειμένου να επιτρέπεται η είσοδος του αέρα και συνάμα η αναπνοή τόσο των νυμφών όσο και των ακμαίων ατόμων μετά τη μεταμόρφωσή τους. Σε κάθε δοχείο δειγματοληψίας υπήρχε ετικέτα που ανέφερε τα στοιχεία του ατόμου όπως αύξοντα αριθμό, κωδικό ομάδας, δόση των νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$ , φύλο και ημερομηνία μέτρησης.



**Εικόνα 61:** Κυλινδρικό πλαστικό δοχείο δειγματοληψίας με καπάκι με οπές (3,5x6,5 cm) για απομόνωση των νυμφών του μεταξοσκώληκα.

Πραγματοποιούνταν παρατηρήσεις των λεκανών όπου περιέχονταν οι νύμφες τουλάχιστον δύο φορές την ημέρα. Στην περίπτωση κατά την οποία υπήρχαν μεταμορφώσεις ακμαίων ατόμων από διαφορετικά φύλα τότε αυτά τοποθετούνταν ανά ζεύγος σε τετράγωνα πλαστικά δοχεία (9x9x6 cm) (**Εικόνα 62**) με σκοπό να ακολουθήσει η σύζευξή τους. Τα δοχεία αυτά ονομάστηκαν «δοχεία ωστοκίας». Στη συνέχεια τα «δοχεία ωστοκίας» κλείνονταν με καπάκι, το οποίο περιείχε οπές για αερισμό, έτσι ώστε να μην είναι δυνατή η απόδραση των ακμαίων Λεπιδοπτέρων και αφήνονταν μέχρι να ολοκληρωθεί η σύζευξη (**Εικόνα 63**) αλλά και η απόθεση των ωών (**Εικόνα 64**). Κατά κανόνα το ενήλικο θηλυκό εναποθέτει τα ωά του σε οποιαδήποτε επιφάνεια είναι διαθέσιμη για τον σκοπό αυτό. Στη συγκεκριμένη περίπτωση τα ωά προσκολλούνταν στις επιφάνειες εσωτερικά του «δοχείου ωστοκίας».



**Εικόνα 62:** Τετράγωνα πλαστικά δοχεία (9x9x6 cm) («δοχεία ωοτοκίας») για την ελεγχόμενη σύζευξη των ακμαίων ατόμων του μεταξοσκώληκα.

Αφού είχε τελειώσει η ωοτοκία και προτού ολοκληρωθεί ο βιολογικός κύκλος, τα ενήλικα θηλυκά μεταφέρονταν σε περιέκτη πλαστικό τύπου Falcon και φυλάσσονταν στους  $-20^{\circ}\text{C}$  για περαιτέρω αναλύσεις. Αναφορικά με τα αρσενικά άτομα, αυτά μετά την ολοκλήρωση της σύζευξης ήταν δυνατό να χρησιμοποιηθούν για τη γονιμοποίηση διαφορετικών θηλυκών ατόμων, στην περίπτωση που υπήρχαν διαθέσιμα ακμαία θηλυκά τα οποία δεν είχαν συζευχθεί. Τα αρσενικά ενήλικα άτομα τα οποία είχαν ολοκληρώσει τις συζεύξεις και πριν το τέλος του βιολογικού τους κύκλου μεταφέρονταν επίσης σε περιέκτες πλαστικούς τύπου Falcon και φυλάσσονταν στους  $-20^{\circ}\text{C}$  για περαιτέρω αναλύσεις.



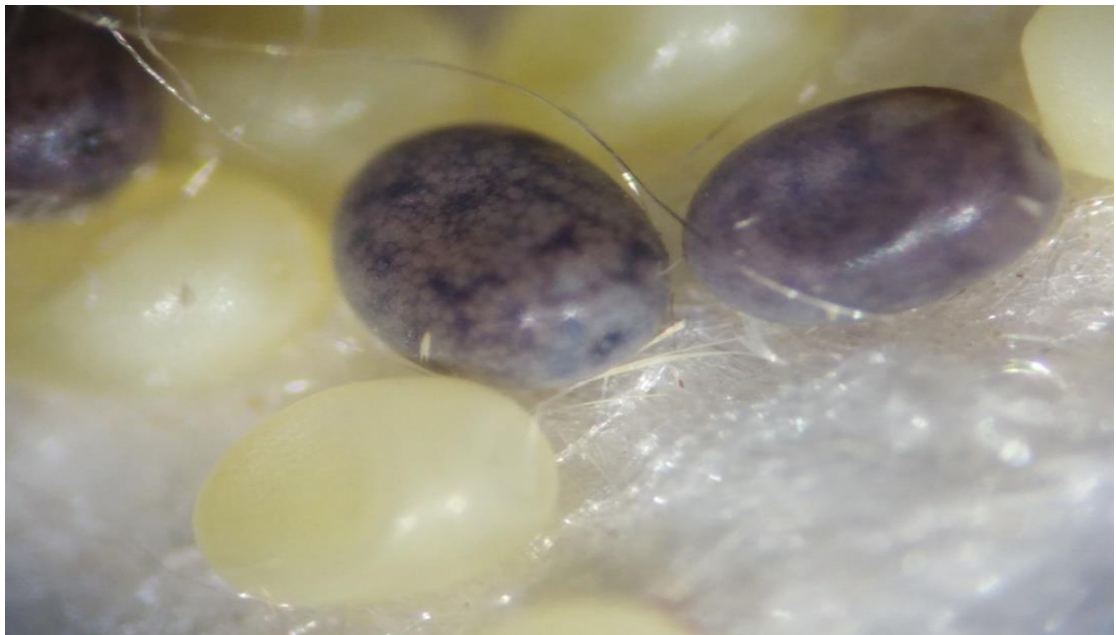
**Εικόνα 63:** Σύζευξη ακμαίων ατόμων του μεταξοσκώληκα *B. mori* L.



**Εικόνα 64:** Εναπόθεση ωών από ακμαίο θηλυκό άτομο του μεταξοσκώληκα *B. mori* L.

### 3.10.2. Αποκόλληση των ωών και πλύσιμο

Με την ολοκλήρωση της απόθεσης των ωών καθώς και την απομάκρυνση των ακμαίων ατόμων από τα «δοχεία φωτοκίας» πραγματοποιούνται μακροσκοπική παρατήρηση αναφορικά με το χρωματισμό των ωών με σκοπό να διαπιστωθεί αν ήταν αγονιμοποίητα (λευκό – γαλακτώδες χρώμα) ή γονιμοποιημένα (κίτρινο – γκρι χρώμα) (Εικόνα 65).



**Εικόνα 65:** Γονιμοποιημένα ωά (γκρι χρώμα) και αγονιμοποίητα ωά (λευκό – κίτρινο χρώμα) του μεταξοσκώληκα *B. mori* L. μέσω παρατήρησης από στερεοσκόπιο.

Στη συνέχεια, τα γονιμοποιημένα ωά αποκολλούνταν από τις επιφάνειες του δοχείου με τη χρήση μεταλλικής σπάτουλας με προσοχή, ώστε να μην υπάρξει τραυματισμός, και τοποθετούνταν σε μικρά σακουλάκια από διάτρητο υλικό (ταφτά) (**Εικόνα 66**) που επιτρέπουν την είσοδο του αέρα και συνάμα την αναπνοή. Επιπλέον, τα ωά αναρτιούνταν με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να μην αλλοιωθούν από την ανάπτυξη υγρασίας αλλά και για τη διευκόλυνση της κυκλοφορίας του αέρα. Τα γονιμοποιημένα ωά αποθηκεύονταν στους 25 °C μέχρι την έναρξη της φάσης της διαχείμασης.

Λίγο πριν την έναρξη της φάσης διαχείμασης των ωών πραγματοποιούνταν το πλύσιμό τους με νερό βρύσης, ενώ αυτά βρίσκονταν ακόμη μέσα στα σακουλάκια. Ακολουθούσε η εκ νέου ανάρτηση των σάκων με τα πλυμένα ωά τα οποία αφήνονταν να στεγνώσουν φυσικά στον αέρα σε θερμοκρασία δωματίου.



**Εικόνα 66:** Ωά μεταξοσκώληκα σε μικρό σακουλάκι από διάτρητο υλικό (ταφτά).

### **3.10.3. Μετρήσεις αριθμού ωών**

Μετά το στέγνωμα των σάκων που περιείχαν τα ωά ακολουθούσε η καταμέτρηση των ωών. Συγκεκριμένα, τα ωά από κάθε ωοτοκία τοποθετούνταν σε λευκό χαρτί A4 και μετρούνταν ένα προς ένα με τη χρήση μεταλλικής σπάτουλας, που ήταν όμοια με αυτή που χρησιμοποιήθηκε κατά την καταμέτρηση του αριθμού των ωών από τα κουτιά των εμπορικών υβριδίων. Κατά τη διάρκεια των μετρήσεων των ωών πραγματοποιούνταν η καταγραφή τόσο των γονιμοποιημένων ωών ανά ωοτοκία όσο και των μη γονιμοποιημένων καθώς και των ελαττωματικών ωών.



#### 3.10.4. Μετρήσεις του βάρους των ωών

Για την πραγματοποίηση της καταγραφής των μετρήσεων αναφορικά με το βάρος των ωών χρησιμοποιήθηκε ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων (KERN ABT\_Germany).

#### 3.10.5. Η διατήρηση, φύλαξη και διαχείμαση των ωών

Για τη διατήρηση των ωών καθώς και για τη φύλαξη και τη διαχείμασή τους χρησιμοποιήθηκαν πρωτόκολλα, εξοπλισμός και διαδικασίες που προβλέπονται διεθνώς.

Τα υβρίδια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία αποτελούσαν μονόγονες φυλές διαχειμάζουσες.

Μετά την απόθεση των ωών από τα ακμαία θηλυκά άτομα, τα ωά παρέμεναν στις επιφάνειες των «δοχείων ωοτοκίας» τα οποία διέθεταν καπάκι με οπές προκειμένου να υπάρχει επαρκής αερισμός. Έπειτα, μετά την εξακρίβωση γονιμοποιημένων και αγονιμοποιητών ωών, τα γονιμοποιημένα ωά αποκολλούνταν και μεταφέρονταν σε σάκους από διάτρητο υλικό όπως έχει προαναφερθεί. Ο χώρος στον οποίο φυλάσσονταν τα ωά κλιματιζόταν και η θερμοκρασία παρέμενε σταθερή στους 25 °C από την ωοτοκία και για πέντε μήνες. Μετά το πέρας του διαστήματος αυτού και πριν ξεκινήσει η διαχείμαση, πραγματοποιούνταν το πλύσιμο των ωών. Στη συνέχεια, οι σάκοι αναρτιούνταν και αφήνονταν για μία ημέρα σε θερμοκρασία δωματίου με σκοπό τα ωά να στεγνώσουν για να ακολουθήσουν όπως έχει περιγραφεί ανωτέρω (**βλέπε παράγραφο 3.10.2.**) οι καταμετρήσεις, η φωτογράφιση και το ζύγισμά τους.

Για να μην επέλθει απότομη μεγάλη πτώση της θερμοκρασίας για τη διατήρηση των ωών και στη συνέχεια κατά το στάδιο της διαχείμασης με σκοπό να μην καταπονηθούν τα έμβρυα, πραγματοποιούνταν σταδιακή μείωση της θερμοκρασίας στο χώρο φύλαξης κατά 2 °C κάθε ημέρα μέχρι τους 16 °C χρησιμοποιώντας κλιματιστικό.

Έπειτα, τα ωά τοποθετούνταν σε εργαστηριακό βιοκλιματικό θάλαμο GRAM (Model BioCompact II RR400) (**Εικόνα 67**) όπου συνεχιζόταν σταδιακά η μείωση της θερμοκρασίας φύλαξης μέχρι τους 3 °C. Για τους επόμενους τρεις τουλάχιστον μήνες τα διαχειμάζοντα ωά διατηρούνταν σε αυτή τη θερμοκρασία.



**Εικόνα 67:** Ο εργαστηριακός βιοκλιματικός θάλαμος GRAM (Model BioCompact II RR400).

Ειδικότερα, ο εργαστηριακός βιοκλιματικός θάλαμος GRAM (Model BioCompact II RR400) που χρησιμοποιήθηκε για τη διαχείριση και τη φύλαξη των ωών διαθέτει ψηφιακή ένδειξη θερμοστάτη, ενσωματωμένο επεξεργαστή για έλεγχο και καταγραφικό θερμοκρασίας με δυνατότητα μεταφοράς αυτών των δεδομένων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή και παρακολούθησή τους με τη χρήση του λογισμικού Gram Data Logger 4.0. Το εύρος των θερμοκρασιών κυμάνθηκε από 2 μέχρι 15 °C, ενώ παράλληλα υπήρχε σύστημα για την κυκλοφορία του αέρα εντός του θαλάμου με σκοπό την εξασφάλιση ομοιομορφίας της θερμοκρασίας.

### **3.11. Παρασκευάσματα ίνας για παρατήρηση**

Για την εξακρίβωση της ενσωμάτωσης των νανοσωματιδίων του  $Fe_3O_4$  στην παραγόμενη ίνα του μεταξιού δημιουργήθηκαν παρασκευάσματα για παρατήρηση σε στερεοσκόπιο και σε οπτικό μικροσκόπιο με την εξής διαδικασία:

Από 5 τυχαία επιλεγόμενα κουκούλια (από κάθε ομάδα και δόση) λήφθηκαν με τη χρήση μεταλλικής λαβίδας μετάξινες ίνες, οι οποίες τοποθετήθηκαν σε αντικειμενοφόρο πλάκα και ξετυλίχτηκαν με τη χρήση ανατομικής βελόνας. Έπειτα, τοποθετήθηκαν σταγόνες νερού και καλυπτρίδα και ακολούθησε παρατήρηση τόσο σε οπτικό αλλά και αντίθετης φάσης μικροσκόπιο σε μεγέθυνση x40, καθώς και σε στερεοσκόπιο. Παράλληλα, με την παρατήρηση των παρασκευασμάτων τόσο στο

στερεοσκόπιο όσο και στο οπτικό μικροσκόπιο πραγματοποιήθηκε η φωτογράφισή τους με τη χρήση κινητού τηλεφώνου HUAWEI Y6 Prime με κάμερα 13MP.

### 3.12 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Για την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων σε ηλεκτρονικό υπολογιστή χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό IBM SPSS Statistics (Version 28 for Windows).

Στα δεδομένα έχει εφαρμοστεί η μέθοδος ανάλυσης t-Δοκιμασία κατά ζεύγη (paired t-test), όπου λαμβάνονται δύο δείγματα που σχετίζονται μεταξύ τους (δύο σχετιζόμενες ομάδες) καθώς και μία ποσοτική ή διατάξιμη μεταβλητή. Ειδικότερα, η μεταβλητή μπορεί να μετρηθεί σε κάθε άτομο ή/και τα άτομα σε κάθε δείγμα μπορεί να είναι διαφορετικά, όμως συνδέονται μεταξύ τους με κάποιο τρόπο. Αυτού του τύπου τα δεδομένα είναι γνωστά ως «δεδομένα κατά ζεύγη (paired data)». Επίσης, είναι σημαντικό να λαμβάνεται υπ' όψη η εξάρτηση των δύο δειγμάτων/ομάδων κατά την ανάλυση και αυτό πραγματοποιείται λαμβάνοντας τις διαφορές των τιμών κάθε ζευγαριού και έτσι μετατρέπονται οι δύο ομάδες σε μία μόνο ομάδα των διαφορών. Προϋπόθεση αποτελεί στον πληθυσμό που μελετάται οι ατομικές διαφορές να έχουν κανονική κατανομή με μία δεδομένη μεταβλητότητα και να υπάρχει ένα κατάλληλο μέγεθος δείγματος με σκοπό τον έλεγχο της υπόθεσης της κανονικότητας. Για να δειχθεί αν κάποια τιμή είναι στατιστικά σημαντική θα πρέπει  $p \leq 0,05$ , για t-κατανομή με  $(n-1)$  βαθμούς ελευθερίας (Τζώνου Α., 2008).

Επιπλέον, μία άλλη μέθοδος που εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία ως μέρος της στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων είναι η ανάλυση μεταβλητότητας κατά μία διεύθυνση (one-way analysis of variance/one-way ANOVA). Τα δείγματα προέρχονται από ανεξάρτητες ομάδες και υπάρχει μία ποσοτική ή διατάξιμη μεταβλητή με σκοπό να δειχθεί αν οι τιμές της μεταβλητής ποικίλλουν μεταξύ των ομάδων. Προϋποθέσεις αποτελούν το ότι οι ομάδες καθορίζονται από τα επίπεδα ενός μόνο παράγοντα και στον πληθυσμό που διερευνάται η μεταβλητή παρουσιάζει κανονική κατανομή, η μεταβλητότητα είναι ίδια σε κάθε ομάδα και υπάρχει το κατάλληλο μέγεθος δείγματος ώστε να είναι δυνατός ο έλεγχος των υποθέσεων. Η ανάλυση μεταβλητότητας κατά μία διεύθυνση χωρίζει τη συνολική μεταβλητότητα που παρατηρείται στα δεδομένα, σε αυτή που μπορεί να οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των ατόμων από διαφορετικές ομάδες (between group variation) καθώς και σε εκείνη από την τυχαία διακύμανση μεταξύ των ατόμων μέσα σε κάθε ομάδα (within group

variation), που μερικές φορές ονομάζεται ανεξήγητη (unexplained) ή μεταβλητότητα υπολοίπων (residual). Με βάση τη μηδενική υπόθεση δηλαδή ότι οι μέσες τιμές των ομάδων είναι ίδιες, τότε η μεταξύ των ομάδων μεταβλητότητα θα είναι ίδια με τη μεταβλητότητα μέσα στις ομάδες. Όμως, σε περίπτωση που υπάρχουν διαφορές μεταξύ των ομάδων, τότε η μεταξύ των ομάδων μεταβλητότητα θα είναι μεγαλύτερη από αυτή μέσα στις ομάδες. Συνεπώς, ο έλεγχος βασίζεται στο λόγο αυτών των δύο μεταβλητών (στατιστικό  $F$ ) και ακολουθεί την  $F$ -κατανομή με  $(k-1)(n-1)$  βαθμούς ελευθερίας στον αριθμητή και στον παρονομαστή, αντίστοιχα. Επιπλέον, είναι δυνατό να εφαρμοστούν εκ των υστέρων (post-hoc) ειδικές κατά ζεύγη συγκρίσεις όπως οι ειδικές δοκιμασίες Duncan, Scheffé κ.ά. (Τζώνου Α., 2008)

## 4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 4.1 Εισαγωγή

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα τόσο των παρατηρήσεων όσο και των μετρήσεων που λήφθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Για την παρουσίασή τους έχουν χρησιμοποιηθεί αναλυτικοί και συνοπτικοί πίνακες, καθώς και φωτογραφίες από τα διάφορα στάδια του βιολογικού κύκλου και της παραγόμενης ίνας μεταξοσκώληκα που πραγματοποιήθηκαν οι διάφορες μεταχειρίσεις με τα Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

### 4.2 Προνύμφες

#### 4.2.1 Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά προνυμφών

Τόσο η ομάδα του Μάρτυρα όσο και οι υπόλοιπες διατήρησαν τα χαρακτηριστικά του υβριδίου Qiufeng x Baiyu αναφορικά με το χρωματισμό των προνυμφών και τα σημάδια που φέρουν στο σώμα τους. Ειδικότερα, υπήρξε ο σχηματισμός «προσωπίδα» στον πρώτο δακτύλιο του σώματος των προνυμφών του μεταξοσκώληκα σε κάθε ομάδα. Η μόνη διαφορά που παρατηρήθηκε στις ομάδες που σιτίζονταν με «τροποποιημένη δίαιτα» (L2, L3, L4, L5) ήταν η εναπόθεση σωματιδίων σαν κόκκινη σκόνη λόγω του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στο σώμα των προνυμφών αυτών σε όλες τις προνυμφικές ηλικίες που εξετάστηκαν (Εικόνες 69 - 72).



**Εικόνα 68:** Προνύμφη 5ης ηλικίας της ομάδας του Μάρτυρα.



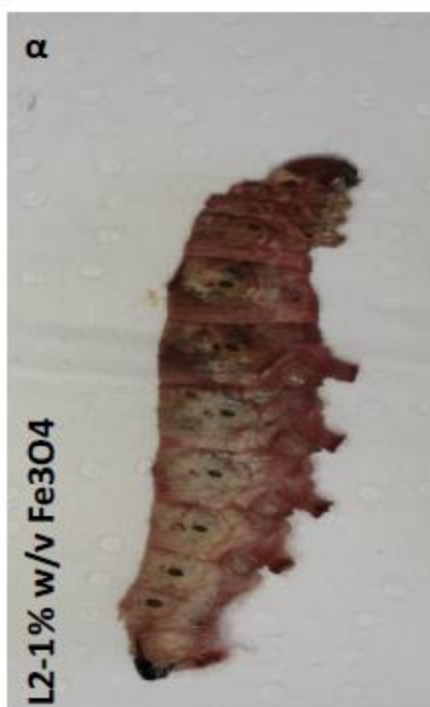
**Εικόνα 69:** α) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L5 στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L5 στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs



**Εικόνα 70:** α) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L4 στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L4 στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs



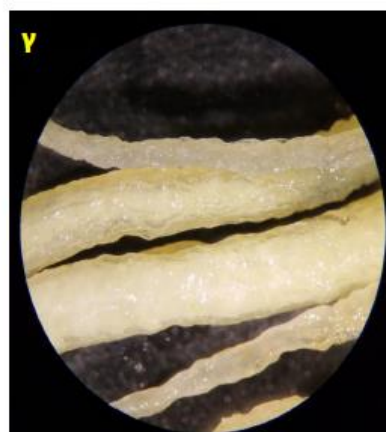
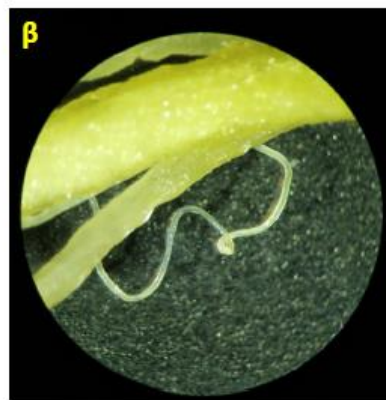
**Εικόνα 71:** α) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L3 στη δόση 1% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs, β) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L3 στη δόση 2% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs



**Εικόνα 72:** α) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L2 στη δόση 1% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs, β) Προνύμφη 5ης ηλικίας από την ομάδα L2 στη δόση 2% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs.

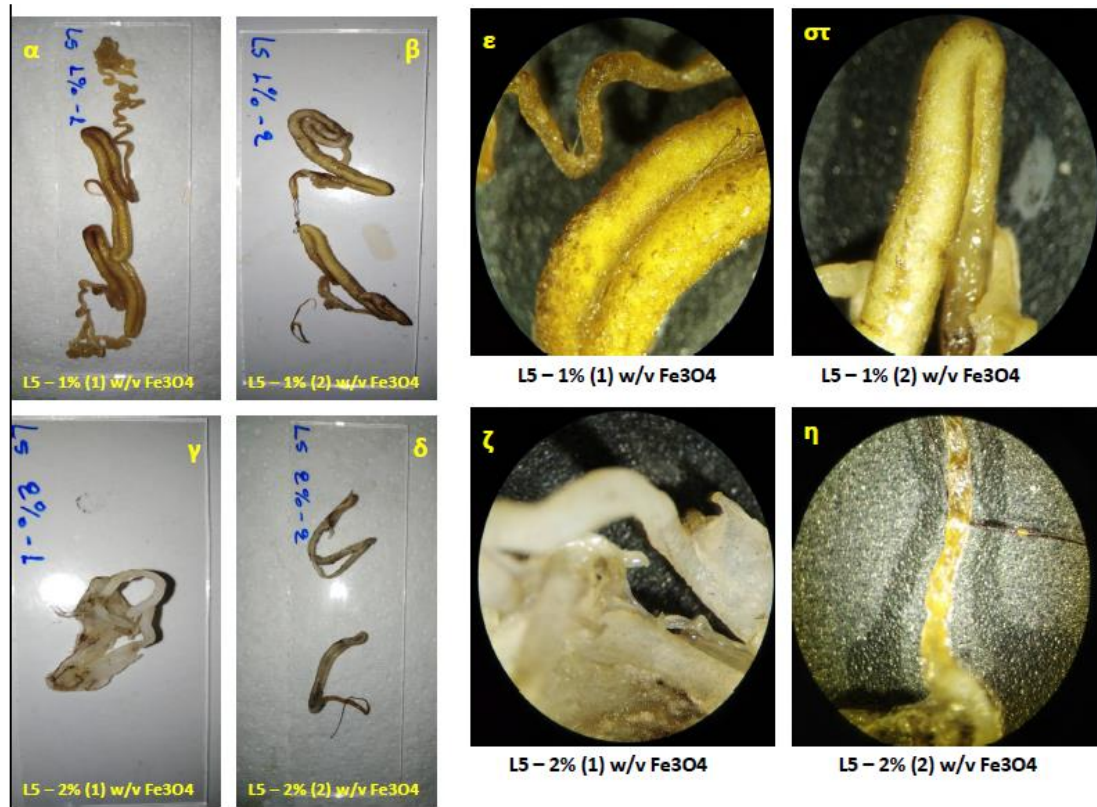
#### 4.2.2 Χρώμα αιμολέμφου και μεταξογόνων αδένων

Το χρώμα της αιμολέμφου στην ομάδα του Μάρτυρα ήταν το τυπικό χρώμα του υβριδίου Qiufeng x Baiyu, το οποίο είναι άχρωμο έως ελαφρά υποκίτρινο και οι μεταξογόνοι αδένες ήταν χρώματος λευκού – γαλακτώδους (**Εικόνα 73**). Αντιθέτως, στις προνύμφες που σιτίζονταν με την «τροποποιημένη διατροφή» με νανοσωματίδια  $Fe_3O_4$  το χρώμα της αιμολέμφου και των μεταξογόνων αδένων ήταν διαφορετικό από αυτό της ομάδας του Μάρτυρα. Ειδικότερα, στη δόση 1% (w/v) το χρώμα της αιμολέμφου των προνυμφών μετατράπηκε σε κίτρινο σκούρο προς πορτοκαλί και των μεταξογόνων αδένων σε υποκίτρινο. Επιπλέον, στην αυξημένη δόση του 2% (w/v) η αιμολέμφος κατείχε χρώμα πορτοκαλί προς κόκκινο και οι μεταξογόνοι αδένες διέθεταν χρώμα σκούρο πορτοκαλί (**Εικόνες 74 - 77**).

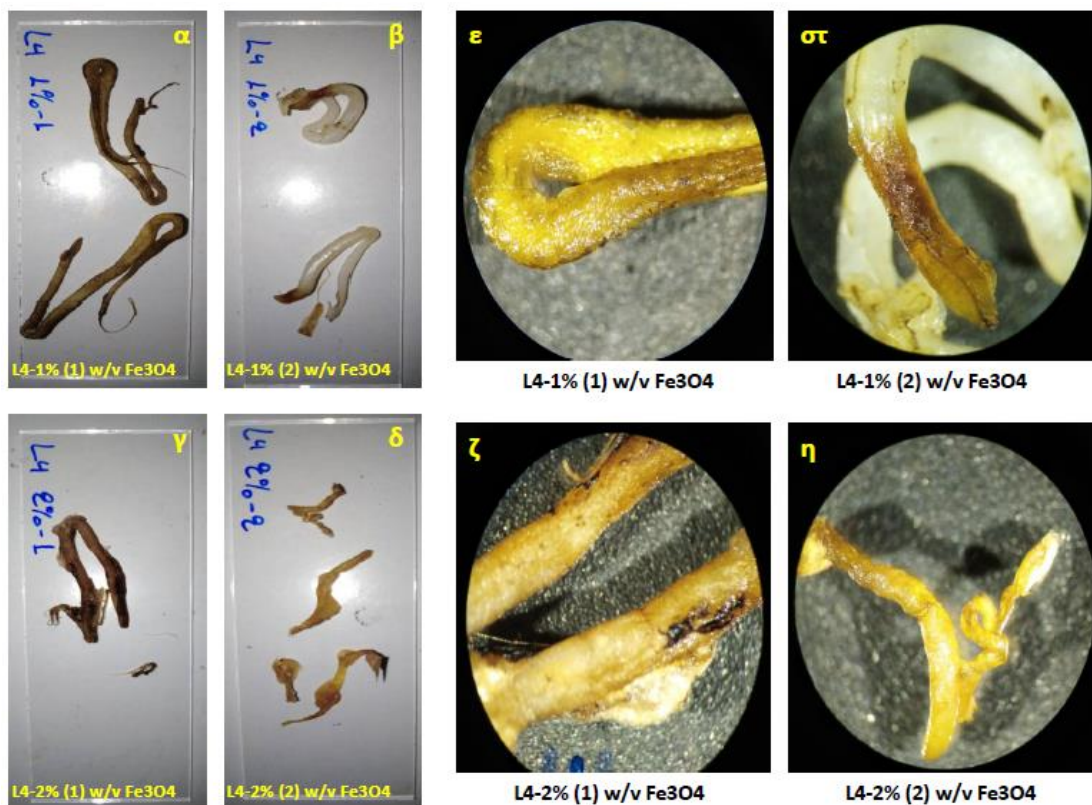


**Εικόνα 73:** α) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα του Μάρτυρα, β) και γ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας του Μάρτυρα.

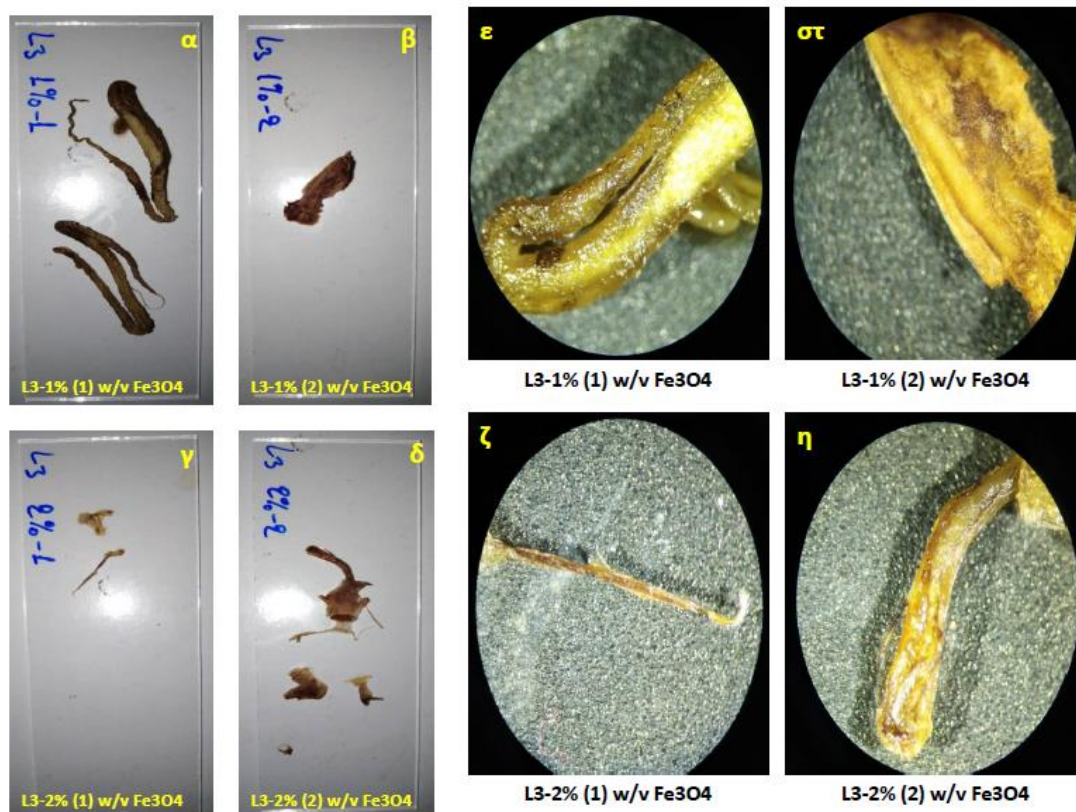




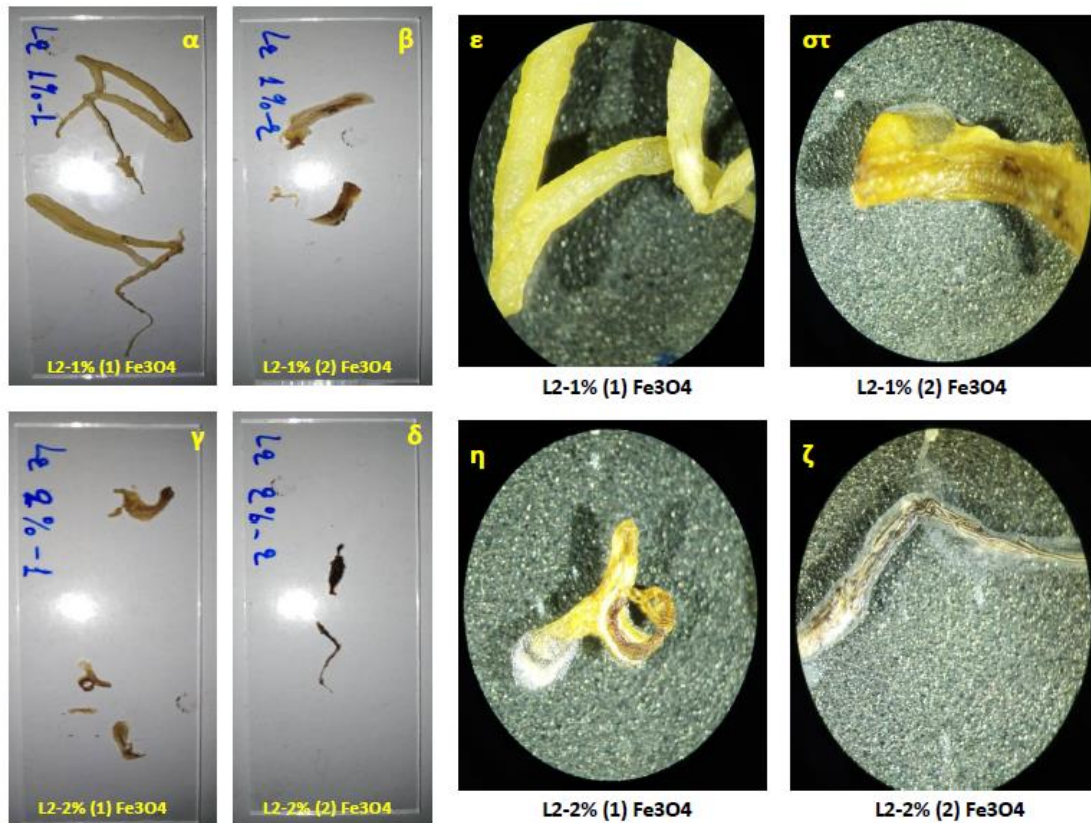
**Εικόνα 74:** α) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L5 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L5 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, γ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L5 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, δ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L5 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ε) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L5 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, στ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L5 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ζ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L5 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, η) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L5 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 75:** α) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L4 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L4 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, γ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L4 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, δ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L4 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ε) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L4 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, στ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L4 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ζ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L4 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, η) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L4 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 76:** α) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L3 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L3 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, γ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L3 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, δ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L3 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ε) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L3 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, στ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L3 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ζ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L3 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, η) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L3 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 77:** α) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L2 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L2 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, γ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L2 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, δ) Μεταξογόνοι αδένες του *B. mori* L. σε αντικειμενοφόρο πλάκα από την ομάδα L2 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ε) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L2 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, στ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L2 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ζ) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L2 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, η) Τμήμα μεταξογόνου αδένου του *B. mori* L. μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου της ομάδας L2 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

#### 4.2.3 Βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> προνυμφικής ηλικίας

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζονται σε πίνακες (Πίνακες 10 - 17) τα βάρη (σε g) των προνυμφών 5<sup>ης</sup> προνυμφικής ηλικίας, που ζυγίστηκαν έπειτα από έναρξη με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δύο διαφορετικές δόσεις και επαναλήψεις από την προνυμφική ηλικία L2 έως την L5 καθώς και του Μάρτυρα. Επιπλέον, γίνεται αναφορά στις παρατηρήσεις που προκύπτουν με βάση την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων τόσο στις μεμονωμένες ηλικίες όσο και στο σύνολο των πειραματικών ομάδων.

**Πίνακας 10:** Βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη στην L2 με συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Βάρος προνυμφών L2			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	1,1437	0,3631	0,2047	0,0678
2	1,3934	0,3134	0,1472	0,1231
3	1,6633	0,3692	0,2356	0,2374
4	1,1571	0,1273	0,1289	0,3531
5	1,1223	0,1893	0,1144	
M.O.	1,296 <sup>a*</sup>	0,2725 <sup>b</sup>	0,1662 <sup>a</sup>	0,1954 <sup>a</sup>
s	0,23	0,11	0,05	0,13
CV%	17,75	40,37	30,08	66,53
t, p	t=12,077 , p<0,001 <sup>*1</sup>		t=-0,474, p=0,650 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 10** για το βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη στην L2 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L2. Οι διαφορές είναι πιθανό να οφείλονται στις διαφορετικές ημερομηνίες εκτροφής των προνυμφών (εαρινές για την 1η επανάληψη-χειμερινές για τη 2η επανάληψη), καθώς και στην ποιότητα των μορεόφυλλων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L2 είναι 1,296 g (min=1,1223 g και max=1,6633 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,2725 g (min=0,1273g και max=0,3692g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη στην L2 σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L2. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L2 είναι 0,1662 g (min=0,1144 g και max=0,2356g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,1954 g (min=0,0678 g και max=0,3531 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές

αναφορικά με το βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη σίτισης στην L2 μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 11:** Βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη στην L3 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Βάρος προνυμφών L3			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	1,7883	0,7886	0,3043	0,3156
2	1,9561	0,4226	0,3281	0,324
3	1,9616	0,4517	0,3165	0,2595
4	1,555	0,7121	0,4348	0,4132
5	1,8917	0,6165	0,4496	0,4519
M.O.	1,8305 <sup>a*</sup>	0,5983 <sup>b</sup>	0,3667 <sup>a</sup>	0,3528 <sup>a</sup>
s	0,17	0,16	0,07	0,07
CV%	9,29	26,74	19,09	19,84
t, p	t=8,995 , p=0,001 <sup>*1</sup>		t=1,146, p=0,316 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 11** για το βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη τροποποιημένης σίτισης στην L3 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L3. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L3 είναι 1,8305 g (min=1,555 g και max=1,9616 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,5983 g (min=0,4226g και max=0,7886g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος προνυμφών L3 σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L3. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L3 είναι 0,3667 g (min=0,3043 g και max=0,4496g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,3528 g (min=0,2595 g και max=0,4519 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν

υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη τροποποιημένης σίτισης στην L3 μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 12:** Βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη στην L4 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βάρος προνυμφών L4			
	1%		2%	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	2,2775	0,6161	0,6556	0,5005
2	2,0647	0,8418	0,4398	0,6187
3	2,2737	0,9932	0,692	0,3261
4	2,3015	0,7773	0,4791	0,4739
5	2,0001	0,9649	0,7546	0,5346
M.O.	2,1835 <sup>a*</sup>	0,8387 <sup>b</sup>	0,6042 <sup>a</sup>	0,4908 <sup>a</sup>
s	0,14	0,15	0,14	0,11
CV%	6,41	17,88	23,17	22,41
t, p	t=12,095 , p<0,001* <sup>1</sup>		t=1,216, p=0,291* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 12** για το βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη σίτισης στην L4 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L4. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L4 είναι 2,1835g (min=2,0001 g και max=2,3015 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,8387 g (min=0,6161g και max=0,9932g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος προνυμφών L4 σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L4. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L4 είναι 0,6042 g (min=0,4398 g και max=0,7546g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,4908 g (min=0,3261 g και max=0,6187 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν

υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη σίτισης στην L4 μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 13:** Βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη στην L5 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Βάρος προνυμφών L5			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	2,0536	1,3437	1,0008	1,0227
2	2,3938	1,8674	1,0675	1,414
3	1,9726	1,4111	0,8617	0,8473
4	2,2164	1,2815	0,8591	1,3591
5	2,4447	1,3702	0,7598	1,3446
M.O.	2,2162 <sup>a*</sup>	1,4548 <sup>b</sup>	0,9098 <sup>a</sup>	1,1975 <sup>a</sup>
s	0,21	0,24	0,12	0,25
CV%	9,48	16,50	13,19	20,88
t, p	t=7,163 , p=0,002* <sup>1</sup>		t=2,355, p=0,078* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 13** για το βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη σίτισης στην L5 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L5. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L5 είναι 2,2162g (min=1,9726 g και max=2,4447 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 1,4548 g (min=1,2815g και max=1,8617g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος προνυμφών L5 σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών L5. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L5 είναι 0,9098 g (min=0,7598 g και max=1,0675g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 1,1975 g (min=0,8473 g και max=1,414 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν



υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας με έναρξη σίτισης στην L5 μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 14:** Βάρος προνυμφών Μάρτυρα στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Βάρος προνυμφών Μάρτυρα			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	2,6444	1,3196	0,7246	0,567
2	2,9585	1,0334	0,9176	0,4584
3	2,6606	0,9732	0,917	0,3406
4	3,1835	0,8467	0,7879	0,569
5	2,6986	1,202	0,9496	0,3217
M.O.	2,8291 <sup>a*</sup>	1,075 <sup>b</sup>	0,8593 <sup>a</sup>	0,4513 <sup>b</sup>
s	0,24	0,19	0,1	0,12
CV%	8,48	17,67	11,64	26,59
t, p	t=9,932 , p=0,001 <sup>*1</sup>		t=4,327, p=0,012 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 14** για το βάρος προνυμφών της μεταχείρισης του Μάρτυρα προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών. Οι διαφορές στις ομάδες του Μάρτυρα είναι πιθανό να οφείλονται στις διαφορετικές ημερομηνίες εκτροφής των προνυμφών του μεταξοσκώληκα (εαρινές για την 1η επανάληψη-χειμερινές για τη 2η επανάληψη), καθώς και στην ποιότητα των μορεόφυλλων ανάλογα με την εποχή. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών Μάρτυρα είναι 2,8291g (min=2,6444 g και max=3,1835 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 1,075 g (min=0,8467g και max=1,3196g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος προνυμφών Μάρτυρα σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης υπάρχουν επίσης διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των προνυμφών.

Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους προνυμφών Μάρτυρα είναι 0,8593 g (min=0,7246 g και max=0,9496g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,4513 g (min=0,3217 g και max=0,569 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος προνυμφών Μάρτυρα σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 15:** Βάρος προνυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

α/α	Βάρος προνυμφών 5 <sup>ης</sup> ηλικίας									
	L2		L3		L4		L5		Μάρτυρας	
	1%	2%	1%	2%	1%	2%	1%	2%	1%	2%
1	1,1437	0,2047	1,7883	0,3043	2,2775	0,6556	2,0536	1,0008	2,6444	0,7246
2	1,3934	0,1472	1,9561	0,3281	2,0647	0,4398	2,3938	1,0675	2,9585	0,9176
3	1,6633	0,2356	1,9616	0,3165	2,2737	0,692	1,9726	0,8617	2,6606	0,917
4	1,1571	0,1289	1,555	0,4348	2,3015	0,4791	2,2164	0,8591	3,1835	0,7879
5	1,1223	0,1144	1,8917	0,4496	2,0001	0,7546	2,4447	0,7598	2,6986	0,9496
6	0,3631	0,0678	0,7886	0,3156	0,6161	0,5005	1,3437	1,0227	1,3196	0,567
7	0,3134	0,1231	0,4226	0,324	0,8418	0,6187	1,8674	1,414	1,0334	0,4584
8	0,3692	0,2374	0,4517	0,2595	0,9932	0,3261	1,4111	0,8473	0,9732	0,3406
9	0,1273	0,3531	0,7121	0,4132	0,7773	0,4739	1,2815	1,3591	0,8467	0,569
10	0,1893		0,6165	0,4519	0,9649	0,5346	1,3702	1,3446	1,202	0,3217
M.O.	0,7842 <sup>a*</sup>	0,1791 <sup>b</sup>	1,2144 <sup>a</sup>	0,3598 <sup>b</sup>	1,5111 <sup>a</sup>	0,5475 <sup>b</sup>	1,8355 <sup>a</sup>	1,0537 <sup>b</sup>	1,9521 <sup>a</sup>	0,6553 <sup>b</sup>
s	0,57	0,09	0,67	0,07	0,72	0,13	0,45	0,24	0,95	0,24
CV%	72,69	50,25	55,17	19,46	47,65	23,74	24,52	22,78	48,67	36,62
t, p	t=3,165, p=0,008* <sup>1</sup>		t=4,066, p=0,003* <sup>1</sup>		t=4,490, p=0,002* <sup>1</sup>		t=4,081, p=0,003* <sup>1</sup>		t=5,489, p<0,001* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 15** Παρουσιάζονται τα βάρη των προνυμφών από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Control (Μάρτυρας) από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη σίτισης από την προνυμφική ηλικία L2 σύμφωνα με τον **Πίνακα 15**, προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των προνυμφών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,7842 g (min=0,1273 g και max=1,6633 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,1791 g (min=0,0678 g και max=0,3531 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι το μέσο βάρος των προνυμφών από σίτιση στην L2 είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο όταν προστέθηκε στη διατροφή τους 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, συγκριτικά με τις προνύμφες εκείνες που έλαβαν δόση 2%.

Για την έναρξη σίτισης από την προνυμφική ηλικία L3 σύμφωνα με τον **Πίνακα 15**, προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των προνυμφών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,2144 g (min=0,4226 g και max=1,9616 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,3598 g (min=0,2595 g και max=0,4519 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους προνυμφών στην L3 στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για την σίτιση από την ηλικία L3 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v οι προνύμφες διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v.

Για την έναρξη σίτισης από την προνυμφική ηλικία L4 σύμφωνα με τον **Πίνακα 15**, προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των προνυμφών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,5111 g (min=0,6161 g και max=2,2775 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,5475 g (min=0,3261 g και max=0,7546 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L4 στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για την σίτιση από την ηλικία L4 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v οι προνύμφες διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v.

Για την έναρξη σίτισης από την προνυμφική ηλικία L5 σύμφωνα με τον **Πίνακα 15**, προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των προνυμφών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,8355 g (min=1,2815 g και max=2,4447 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 1,0537 g (min=0,7598 g και max=1,414 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους προνυμφών L5 στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για την

σίτιση από την ηλικία L5 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v οι προνύμφες διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 15**, προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των προνυμφών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,9521 g (min=0,8467 g και max=3,1835 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,6553 g (min=0,3217 g και max=0,9496 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους προνυμφών στη μεταχείριση του Μάρτυρα στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για τον Μάρτυρα προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v οι προνύμφες διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v.

Από τα ανωτέρω προκύπτει πως σε όλες τις μεταχειρίσεις (L2 έως Μάρτυρα) στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs οι προνύμφες διαθέτουν στατιστικά σημαντικό μεγαλύτερο μέσο όρο βάρους σε σύγκριση με όταν αυξάνεται η δόση στο 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 16:** Βάρος προνυμφών 5ης ηλικίας στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για όλες τις πειραματικές ομάδες (1% w/v F<sub>4,45</sub>=4,727).

	<b>Βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας (μεταχείριση 1%)</b>				
<b>α/α</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	1,1437	1,7883	2,2775	2,0536	2,6444
2	1,3934	1,9561	2,0647	2,3938	2,9585
3	1,6633	1,9616	2,2737	1,9726	2,6606
4	1,1571	1,555	2,3015	2,2164	3,1835
5	1,1223	1,8917	2,0001	2,4447	2,6986
6	0,3631	0,7886	0,6161	1,3437	1,3196
7	0,3134	0,4226	0,8418	1,8674	1,0334
8	0,3692	0,4517	0,9932	1,4111	0,9732
9	0,1273	0,7121	0,7773	1,2815	0,8467
10	0,1893	0,6165	0,9649	1,3702	1,202
M.O.	0,784 <sup>a</sup>	1,214 <sup>ab</sup>	1,511 <sup>bc</sup>	1,835 <sup>bc</sup>	1,952 <sup>c</sup>
s	0,57	0,67	0,72	0,45	0,95
CV%	72,70	55,19	47,65	24,52	48,67

Ο **Πίνακας 16** παρουσιάζει το βάρος προνυμφών 5ης ηλικίας στη δόση 1% w/v για όλες τις ομάδες καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας για έναρξη σίτισης από την L2 είναι κατά μέσο όρο 0,784 g και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης,

φτάνοντας στο 1,835 g για την σίτιση από την L5 και 1,952 g για την ομάδα του Μάρτυρα με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αυτών.

Επομένως, με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v επηρεάζεται το βάρος των προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας και παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές ειδικότερα όταν η έναρξη σίτισης πραγματοποιείται σε προνύμφες ηλικίας L2 που παρουσιάζουν και το μικρότερο βάρος, ενώ οι ώριμες προνύμφες με σίτιση από την ηλικία L5 παρουσιάζουν μεγαλύτερο βάρος. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο Μάρτυρας διαθέτει προνύμφες με το μεγαλύτερο μέσο βάρος από όλες τις πειραματικές ομάδες που εξετάστηκαν. Συνεπώς, η χρήση της δόσης 1% w/v των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs είναι δυνατό να επιφέρει μεταβολές στη φυσιολογία της ανάπτυξης των προνυμφών του μεταξοσκώληκα ανάλογα με το στάδιο του βιολογικού κύκλου.

**Πίνακας 17:** Βάρος προνυμφών 5ης ηλικίας στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για όλες τις πειραματικές ομάδες (1% w/v F<sub>4,44</sub>=36,252).

	<b>Βάρος προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας (μεταχείριση 2%)</b>				
<b>α/α</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	0,2047	0,3043	0,6556	1,0008	0,7246
2	0,1472	0,3281	0,4398	1,0675	0,9176
3	0,2356	0,3165	0,692	0,8617	0,917
4	0,1289	0,4348	0,4791	0,8591	0,7879
5	0,1144	0,4496	0,7546	0,7598	0,9496
6	0,0678	0,3156	0,5005	1,0227	0,567
7	0,1231	0,324	0,6187	1,414	0,4584
8	0,2374	0,2595	0,3261	0,8473	0,3406
9	0,3531	0,4132	0,4739	1,3591	0,569
10		0,4519	0,5346	1,3446	0,3217
M.O.	0,1791 <sup>a</sup>	0,3598 <sup>b</sup>	0,5475 <sup>c</sup>	1,0537 <sup>d</sup>	0,6553 <sup>c</sup>
s	0,09	0,07	0,13	0,24	0,24
CV%	50,25	19,46	23,74	22,78	36,62

Ο Πίνακας 17 παρουσιάζει το βάρος προνυμφών 5ης ηλικίας στη δόση 2% w/v για όλες τις ομάδες καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των προνυμφών 5<sup>ης</sup> ηλικίας για έναρξη σίτισης από την L2 είναι κατά μέσο όρο 0,1791 g και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης, φτάνοντας στο 1,0537 g για την σίτιση από την L5 και 0,6553 g για την ομάδα του Μάρτυρα με στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αυτών.

Για τη δόση 2% w/v προκύπτει ότι η μεταχείριση με προνύμφες από σίτιση στην ηλικία L5 παρουσιάζει μεγαλύτερο μέσο όρο βάρους σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες ομάδες, ενώ αντίθετα η μεταχείριση με προνύμφες από σίτιση στην ηλικία L2 παρουσιάζει το μικρότερο μέσο όρο βάρους συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες. Συνεπώς, το μέσο βάρος της προνύμφης έχει αρνητική συσχέτιση με το χρόνο έναρξης λήψης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Όσο νωρίτερα εισαχθεί στη διατροφή της προνύμφης, τόσο περισσότερο θα επηρεάσει το τελικό σωματικό βάρος της.

#### **4.2.4 Ποσοστό (%) επιβίωσης προνυμφών**

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα για το ποσοστό (%) της επιβίωσης των προνυμφών στο σύνολο των πειραματικών ομάδων από την έναρξη χορήγησης τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δύο διαφορετικές δόσεις και επαναλήψεις, καθώς και τα σχόλια που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία σε πίνακες (**Πίνακες 18 & 19**) (paired t-test, one-way Anova) των αποτελεσμάτων.

**Πίνακας 18:** Ποσοστό (%) επιβίωσης προνυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

	Ποσοστό % επιβίωσης προνυμφών									
	L2		L3		L4		L5		Μάρτυρας	
Δόση	1%		1%		1%		1%		1%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	30	5	73,3	7	80	53	70	84	95	45
M.O.	17,5 <sup>a</sup>		40,15 <sup>a</sup>		66,5 <sup>a</sup>		77 <sup>a</sup>		70 <sup>a</sup>	
s	17,68		46,88		19,09		9,89		35,36	
CV%	101,03		116,76		28,71		12,84		50,51	
Δόση	2%		2%		2%		2%		2%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	5	4	8	6	35	15	14	14	30	17
M.O.	4,5 <sup>a*</sup>		7 <sup>a</sup>		25 <sup>a</sup>		14 <sup>a</sup>		23,5 <sup>a</sup>	
s	0,71		1,41		14,14		-		9,19	



CV%	15,78	20,14	56,56	-	39,11
t, p	t=1,083, p=0,475* <sup>1</sup>	t=1,031, p=0,490* <sup>1</sup>	t=11,857, p=0,054* <sup>1</sup>	t=9,000, p=0,070* <sup>1</sup>	t=2,514, p=0,241* <sup>1</sup>

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 18** Παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) επιβίωσης των προνυμφών από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 18** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των προνυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 17,5%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 4,5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 2<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 18** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των προνυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 40,15%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 7%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 3<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 18** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των προνυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 66,5%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 25%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 18** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των προνυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 77%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 14%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 18** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των προνυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 70%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 23,5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών στις ομάδες του Μάρτυρα μεταξύ των δύο δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα ακόμη και από τη 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) δεν επηρεάζεται η επιβίωσή τους συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% και 2%

w/v. Συνεπώς, η επιβίωση των προνυμφών είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αυξάνεται με την αύξηση της προνυμφικής ηλικίας από L2 σταδιακά μέχρι το L5.

**Πίνακας 19:** Ποσοστό (%) επιβίωσης προνυμφών και στατιστικά αποτελέσματα για όλες τις ομάδες (L2 – Μάρτυρας), (1% w/v  $F_{4,5}=1,459$ , 2% w/v  $F_{4,5}=3,025$ ).

	Ποσοστό % επιβίωσης προνυμφών									
	L2		L3		L4		L5		Μάρτυρας	
<b>Δόση</b>	<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	30	5	73,3	7	80	53	70	84	95	45
M.O.	17,5 <sup>a</sup>		40,15 <sup>a</sup>		66,5 <sup>a</sup>		77 <sup>a</sup>		70 <sup>a</sup>	
<b>Δόση</b>	<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	5	4	8	6	35	15	14	14	30	17
M.O.	4,5 <sup>a</sup>		7 <sup>ab</sup>		25 <sup>b</sup>		14 <sup>ab</sup>		23,5 <sup>ab</sup>	

\*Τα διαφορετικά λατινικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων.

Ο Πίνακας 19 παρουσιάζει το ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών για όλες τις ομάδες καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για τη δόση 1% w/v  $Fe_3O_4$  NPs το ποσοστό επιβίωσης για την L2 είναι κατά μέσο όρο 17,5% και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης, φτάνοντας στο 77% για την L5, χωρίς όμως να παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ

των τιμών αυτών. Αντίθετα στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο μέσο όρο του ποσοστού επιβίωσης των προνυμφών σε προνύμφες ηλικίας L2 (4,5%) σε σχέση με προνύμφες ηλικίας L4 (25%), όπου οι τελευταίες παρουσιάζουν το μεγαλύτερο μέσο όρο ποσοστού επιβίωσης. Επιπλέον, για τις προνυμφικές ηλικίες L3, L5 και τον Μάρτυρα δεν παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέσο όρο του ποσοστού επιβίωσης.

Επομένως, με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι η δόση 1% w/v δεν επηρεάζει το μέσο όρο της επιβίωσης των προνυμφών ανεξαρτήτως ηλικίας (συμπεριλαμβανομένου του Μάρτυρα), ενώ στη δόση 2% w/v παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό % επιβίωσης των προνυμφών και ειδικότερα οι προνύμφες ηλικίας L2 παρουσιάζουν το μικρότερο ποσοστό % επιβίωσης, ενώ οι προνύμφες ηλικίας L4 παρουσιάζουν το μεγαλύτερο ποσοστό % επιβίωσης σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες. Συνεπώς αύξηση της δόσης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από 1% w/v σε 2% w/v επιφέρει μεταβολές στη φυσιολογία της ανάπτυξης των προνυμφών του μεταξοσκώληκα ανάλογα με το στάδιο του βιολογικού κύκλου.

#### **4.2.5 Ποσοστό (%) κλαδώματος και «Τύπος πλέξης»**

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται το ποσοστό (%) κλαδώματος καθώς και ο «Τύπος πλέξης» με τη χρήση πινάκων (**Πίνακες 20 – 22**). Αξίζει να σημειωθεί πως ο «Τύπος πλέξης» έχει χωριστεί σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες:

- **Μηδενική**, όπου οι προνύμφες δεν σχημάτισαν καθόλου βομβύκιο
- **Αραιή**, όπου σχηματίστηκε μεν βομβύκιο αλλά δεν ήταν συμπαγές
- **Πλήρης**, όπου το βομβύκιο ήταν καλοσχηματισμένο και συμπαγές

**Πίνακας 20:** Ποσοστό (%) κλαδώματος «Μηδενικής» πλέξης για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % κλαδώματος	1%		2%	
<b>ΤΥΠΟΣ ΠΛΕΞΗΣ</b>	<b>ΜΗΔΕΝΙΚΗ</b>			
<b>επανάληψη</b>	<b>1η επανάληψη</b>	<b>2η επανάληψη</b>	<b>1η επανάληψη</b>	<b>2η επανάληψη</b>
<b>L2</b>	1,6	0	0	0
M.O.	0,8 <sup>a*</sup>		0 <sup>a</sup>	
s	1,13		-	
CV%	141,25		-	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>L3</b>	1,6	1	0	0
M.O.	1,3 <sup>a</sup>		0 <sup>a</sup>	
s	0,42		-	
CV%	141,25		-	
t, p	t=4,333, p=0,144* <sup>1</sup>			
<b>L4</b>	0	18	25	4
M.O.	9 <sup>a</sup>		14,5 <sup>a</sup>	
s	12,73		14,85	
CV%	141,44		102,41	
t, p	t=-0,282, p=0,825* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	0	22	6	6
M.O.	11 <sup>a</sup>		6 <sup>a</sup>	
s	15,56		-	
CV%	141,45		-	
t, p	t=0,455, p=0,728* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	0	20	1	1
M.O.	10 <sup>a</sup>		1 <sup>a</sup>	
s	14,14		-	
CV%	141,4		-	
t, p	t=0,900, p=0,533* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 20** παρουσιάζεται το ποσοστό (%) κλαδώματος και ο τύπος «Μηδενικής» πλέξης από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L2 έως L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 20** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού μηδενικού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% το ποσοστό κλαδώματος είναι 0,8%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό μεταμόρφωσης στις δύο δόσεις στην L2.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 20** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού μηδενικού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 1,3%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L3.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 20** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού μηδενικού κλαδώματος είναι 9%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 14,5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L4.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 20** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού μηδενικού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 11%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 6%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L5.

Για τη μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 20** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού μηδενικού κλαδώματος στις ομάδες του Μάρτυρα για τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, το ποσοστό κλαδώματος για την ομάδα της δόσης 1% είναι 10%, ενώ για την ομάδα της δόσης 2% είναι αντίστοιχα 1%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει

ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος για τις ομάδες του Μάρτυρα.

Από τα ανωτέρω γίνεται αντιληπτό ότι το ποσοστό κλαδώματος αναφορικά με τον τύπο της Μηδενικής πλέξης είναι ανεξάρτητο της προνυμφικής ηλικίας και της έναρξης λήψης τροποποιημένης διαίτας με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 21:** Ποσοστό (%) κλαδώματος «Αραιής» πλέξης για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % κλαδώματος	1%		2%	
	ΑΡΑΙΗ			
ΤΥΠΟΣ ΠΛΕΞΗΣ	ΑΡΑΙΗ			
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L2</b>	5	0	0	0
M.O.	2,5 <sup>a*</sup>		0 <sup>a</sup>	
s	3,54		-	
CV%	141,6		-	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>L3</b>	6,6	0	0	0
M.O.	3,3 <sup>a</sup>		0 <sup>a</sup>	
s	4,67		-	
CV%	141,52		-	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>L4</b>	6,6	4	1	0
M.O.	5,3 <sup>a</sup>		0,5 <sup>a</sup>	
s	1,84		0,71	
CV%	34,72		0	
t, p	t=6,000, p=0,105* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	3,3	7	0	0
M.O.	5,15 <sup>a</sup>		0 <sup>a</sup>	
s	2,62		-	
CV%	50,87		-	
t, p	t=2,784, p=0,220* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	6,6	2	1	0
M.O.	4,3 <sup>a</sup>		0,5 <sup>a</sup>	
s	3,25		0,71	
CV%	75,58		142	
t, p	t=2,111, p=0,282* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 21** παρουσιάζεται το ποσοστό (%) κλαδώματος και ο τύπος «Αραιής» πλέξης από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L2 έως L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 21** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού αραιού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% το ποσοστό κλαδώματος είναι 2,5%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό μεταμόρφωσης στις δύο δόσεις στην L2.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 21** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού αραιού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 3,3%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L3.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 21** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού αραιού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 5,3%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0,5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L4.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 21** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού αραιού κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 5,15%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει

ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L5.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 21** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού αραιού κλαδώματος στις ομάδες του Μάρτυρα για τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, το ποσοστό κλαδώματος για την ομάδα της δόσης 1% είναι 4,3%, ενώ για την ομάδα της δόσης 2% είναι αντίστοιχα 0,5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος για τις ομάδες του Μάρτυρα.

Από τα ανωτέρω γίνεται αντιληπτό ότι το ποσοστό κλαδώματος αναφορικά με τον τύπο της Αραιής πλέξης είναι ανεξάρτητο της προνυμφικής ηλικίας και της έναρξης λήψης τροποποιημένης διαίτας με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 22:** Ποσοστό (%) κλαδώματος «Πλήρους» πλέξης για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % κλαδώματος	1%		2%	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>ΤΥΠΟΣ ΠΛΕΞΗΣ</b>	<b>ΠΛΗΡΗΣ</b>			
<b>επανάληψη</b>	<b>1η επανάληψη</b>	<b>2η επανάληψη</b>	<b>1η επανάληψη</b>	<b>2η επανάληψη</b>
<b>L2</b>	15	0	0	0
M.O.	7,5 <sup>a*</sup>		0 <sup>a</sup>	
s	10,61		-	
CV%	141,47		-	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>L3</b>	53,3	1	2	0
M.O.	27,15 <sup>a</sup>		1 <sup>a</sup>	
s	37		1,41	
CV%	136,28		141	
t, p	t=1,040, p=0,488* <sup>1</sup>			
<b>L4</b>	55	30	5	5
M.O.	42,5 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>	
s	17,68		-	
CV%	41,6		-	
t, p	t=3,000, p=0,205* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	48,3	57	3	3
M.O.	52,65 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>	
s	6,15		-	

CV%	11,68		-	
t, p	t=11,414, p=0,056* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	68,3	19	10	11
M.O.	43,65 <sup>a</sup>		10,5 <sup>a</sup>	
s	34,87		0,71	
CV%	79,89		6,76	
t, p	t=1,318, p=0,413* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 22** παρουσιάζεται το ποσοστό (%) κλαδώματος και ο τύπος «Πλήρους» πλέξης από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L2 έως L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 22** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού πλήρους κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% το ποσοστό κλαδώματος είναι 7,5%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό μεταμόρφωσης στις δύο δόσεις στην L2.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 22** Προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού πλήρους κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 27,15%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 1%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L3.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 22** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού πλήρους κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 42,5%, ενώ για

την δόση 2% είναι αντίστοιχα 5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L4.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 22** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού πλήρους κλαδώματος δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 52,65%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 3%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος στις δύο δόσεις στην L5.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 22** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού πλήρους κλαδώματος στις ομάδες του Μάρτυρα για τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, το ποσοστό κλαδώματος για την ομάδα της δόσης 1% είναι 43,65%, ενώ για την ομάδα της δόσης 2% είναι αντίστοιχα 10,5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό κλαδώματος για τις ομάδες του Μάρτυρα.

Από τα ανωτέρω γίνεται αντιληπτό ότι το ποσοστό κλαδώματος αναφορικά με τον τύπο της Πλήρους πλέξης είναι ανεξάρτητο της προνυμφικής ηλικίας και της έναρξης λήψης τροποποιημένης διαίτας με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

### 4.3 Νύμφες

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζεται φωτογραφικό υλικό (**Εικόνες 78 – 85**) από το βιολογικό στάδιο της νύμφης του μεταξοσκώληκα, έπειτα από χορήγηση τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις.

Ειδικότερα στην **Εικόνα 78** παρουσιάζεται ο Μάρτυρας με τον τρόπο ανοίγματος των βομβυκίων για την αφαίρεση της νύμφης, καθώς και νύμφες αρσενικού και θηλυκού ατόμου. Αξίζει να σημειωθεί, πως στην περίπτωση του Μάρτυρα τα βομβύκια ήταν καλοσχηματισμένα, συμπαγή και οι προνύμφες δεν παρουσίασαν κάποιο πρόβλημα στη νύμφωσή τους.

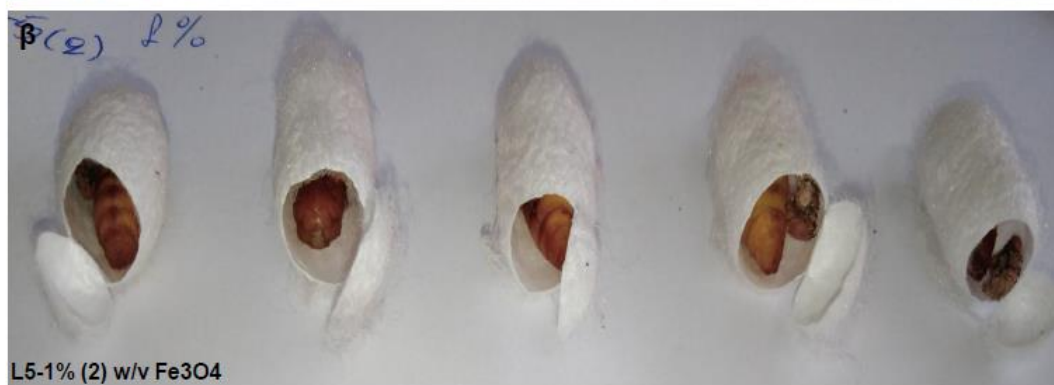
Από την έναρξη της τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs όπως φαίνεται από τις **Εικόνες 80, 82, και 85** υπάρχουν βομβύκια τα οποία είναι «ημιτελή» και όχι

καλοσχηματισμένα. Συγκεκριμένα, στις **Εικόνες 80** και **82** πρόκειται για τις ηλικίες L5 και L4 αντίστοιχα στη δόση 2% w/v, ενώ στην **Εικόνα 85** πρόκειται για την ηλικία L2 στη δόση 1% w/v (στη δόση 2% από την L2 δεν κατάφεραν οι προνύμφες να ολοκληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο). Επιπλέον, παρατηρείται ότι στις **Εικόνες 79** έως **85** πολλές από τις προνύμφες δεν έχουν καταφέρει να νυμφωθούν σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις.

Με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή του μεταξοσκώληκα από τη νεαρότερη ηλικία L2 και έπειτα, διαταράσσεται η φυσιολογία και συνεπώς η δυνατότητα ολοκλήρωσης του βιολογικού κύκλου του εντόμου. Επιπλέον, με την αύξηση δόσης στο 2% w/v παρατηρείται επιπλέον, ότι οι προνύμφες αδυνατούν να σχηματίσουν ολοκληρωμένα βομβύκια σε σύγκριση με τον Μάρτυρα.



**Εικόνα 78:** α) Ανοιγμένα βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα του Μάρτυρα και το νυστέρι που χρησιμοποιήθηκε για τις τομές, β) Νύμφη αρσενικού ατόμου του μεταξοσκώληκα από την ομάδα του Μάρτυρα, γ) Νύμφη θηλυκού ατόμου του μεταξοσκώληκα από την ομάδα του Μάρτυρα.



**Εικόνα 79:** α) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L5 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L5 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 80:** α) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L5 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L5 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



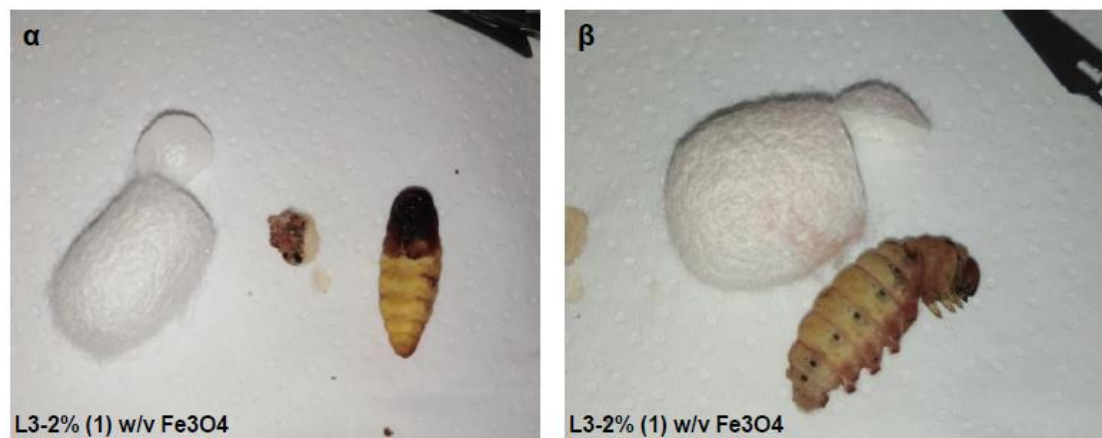
**Εικόνα 81:** α) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L4 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L4 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 82:** α) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L4 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L4 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

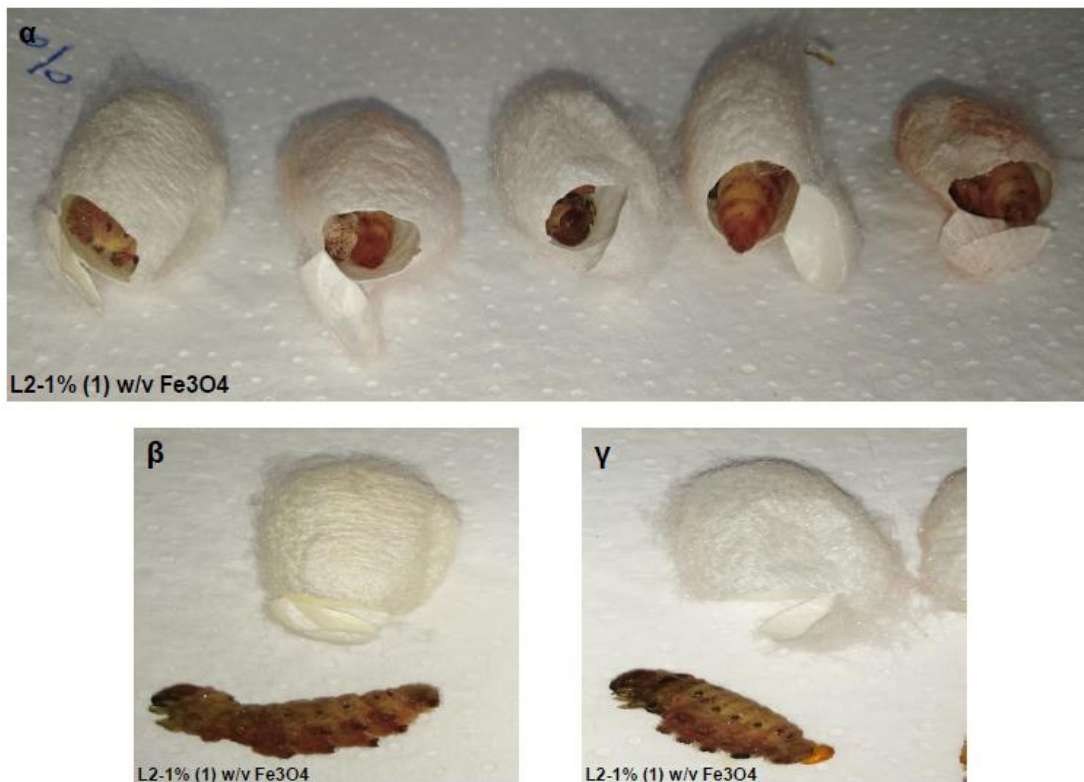


**Εικόνα 83:** α) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L3 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L3 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 84:** α) Ανοιγμένο βομβύκιο μεταξοσκώληκα, έκδυμα της τελευταίας έκδυσης της προνύμφης και «ελαττωματική» νύμφη του *B. mori* L. από την ομάδα L3 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Ανοιγμένο βομβύκιο μεταξοσκώληκα και προνύμφη του *B. mori* L. που δεν κατάφερε να ολοκληρώσει την τελευταία έκδυση ώστε να νυμφωθεί από την ομάδα L3 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.





**Εικόνα 85:** α) Ανοιγμένα βομβύκια της ομάδας L2 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) και γ) Ανοιγμένα βομβύκια και προνύμφες που δεν κατάφεραν να νυμφωθούν από την ομάδα L2 του μεταξοσκώληκα από τη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

#### 4.3.1 Βάρος Νυμφών

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται με τη χρήση πινάκων (Πίνακες 23-30) το βάρος νυμφών μεταξοσκώληκα έπειτα από χορήγηση τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δόσεις 1% και 2% w/v στις δύο επαναλήψεις, τόσο μεμονωμένα για κάθε προνυμφική ηλικία (L2 – L5 και Μάρτυρας) καθώς και για το σύνολο των πειραματικών ομάδων. Επιπλέον, υπάρχουν σχόλια που έχουν προκύψει από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων αναφορικά με το βάρος των νυμφών.

**Πίνακας 23:** Βάρος νυμφών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L2 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη.

	<b>Βάρος νυμφών L2</b>	
	<b>1%</b>	
<b>α/α</b>	1 <sup>η</sup> επανάληψη	
1	0,4865	
2	0,5794	
3	0,6362	
4	0,4073	
5	0,4407	
M.O.*	0,51002	

\*M.O. = Μέσος Όρος

Στον **Πίνακα 23** παρουσιάζονται τα βάρη των νυμφών που ζυγίστηκαν έπειτα από έναρξη προσθήκης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή τους από την 2η προνυμφική ηλικία (L2), στην 1η επανάληψη. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v της 1ης επανάληψης ο μέσος όρος βάρους είναι 0,51002 g (min=0,4073 g και max=0,6362 g). Αξίζει να σημειωθεί πως με την προσθήκη 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών μεταξοσκώληκα από L2 μόνο στη δόση 1% στην 1η επανάληψη κατάφεραν οι προνύμφες να νυμφωθούν, σε αντίθεση τόσο με τη 2η επανάληψη στην ίδια δόση (1%) όσο και με τη δόση 2% όπου καμία προνύμφη δεν κατάφερε να νυμφωθεί. Συνεπώς δεν προέκυψαν περαιτέρω νύμφες για στατιστική επεξεργασία.

**Πίνακας 24:** Βάρος νυμφών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

	<b>Βάρος νυμφών L3</b>	
	<b>1%</b>	
<b>α/α</b>	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,6387	0,4889
2	0,538	
3	0,6908	
4	0,9278	
5	0,7404	
M.O.	0,7071 <sup>a*</sup>	0,4889 <sup>a</sup>
s	0,14	-
CV%	19,80	-
t, p	t=1,380 , p=0,240 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.  
s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 24** για το βάρος νυμφών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1ης και 2ης επανάληψης εντός της 1% w/v , δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1η επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 0,7071 g (min=0,538 g και max=0,9278 g), ενώ στη 2η επανάληψη προέκυψε μόνο μία νύμφη με μέσο όρο βάρους 0,4889 g. Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το μέσο βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Επιπλέον, με την προσθήκη 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών από την 3<sup>η</sup> ηλικία (L3) δεν υπήρξε καμία προνύμφη που κατάφερε να νυμφωθεί.

**Πίνακας 25:** Βάρος νυμφών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Βάρος νυμφών L4</b>			
	<b>1%</b>		<b>2%</b>	
<b>α/α</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>
1	0,8374	0,5544	0,4551	0,4307
2	1,1718	0,5506	0,5568	0,5884
3	0,8796	0,5732	0,4106	0,4095
4	1,0274	0,4399	0,495	0,4082
5	0,9019	0,4445		0,3808
M.O.	0,9636 <sup>a*</sup>	0,5125 <sup>b</sup>	0,4794 <sup>a</sup>	0,4435 <sup>a</sup>
s	0,14	0,06	0,06	0,08
CV%	14,53	11,71	12,52	18,04
t, p	t=6,485 , p=0,003* <sup>1</sup>		t=0,716, p=0,497* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.  
s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 25** για το βάρος νυμφών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 0,9636g (min=0,8374 g και max=1,1718 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,5125 g (min=0,4399g και max=0,5732g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος νυμφών σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 0,4794 g (min=0,4106 g και max=0,5568g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,4435 g (min=0,3808 g και max=0,5884 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 26:** Βάρος νυμφών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Βάρος νυμφών L5</b>			
	<b>1%</b>		<b>2%</b>	
<b>α/α</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>
1	0,7791	0,4526	0,5095	0,2202
2	0,9638	0,5807	0,4331	0,6525
3	1,2584	0,4831	0,4403	0,6424
4	1,1819	0,5883		
5	0,9083	0,4152		
M.O.	1,0183 <sup>a*</sup>	0,504 <sup>b</sup>	0,461 <sup>a</sup>	0,505 <sup>a</sup>
s	0,2	0,08	0,04	0,25
CV%	19,64	15,87	8,68	49,50
t, p	t=6,446, p=0,003 <sup>*1</sup>		t=-0,264, p=0,816 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 26** για το βάρος νυμφών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 1,0183g (min=0,7791 g και max=1,2584 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,504 g (min=0,4152g και max=0,5883g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος νυμφών σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 0,461 g (min=0,4331 g και max=0,5095g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,505 g (min=0,2202 g και max=0,6525 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 27:** Βάρος νυμφών του Μάρτυρα στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Βάρος νυμφών Μάρτυρα</b>			
	<b>1%</b>		<b>2%</b>	
<b>α/α</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>
1	1,219	1,1015	0,8922	0,8889
2	0,9944	1,1028	0,8985	0,8683
3	1,0996	1,0713	0,6416	0,6613
4	1,1545	1,0649	0,6557	0,6881
5	1,0006	0,8576	0,7181	0,7411
M.O.	1,0936 <sup>a*</sup>	1,0396 <sup>a</sup>	0,7612 <sup>a</sup>	0,7695 <sup>a</sup>
s	0,1	0,1	0,13	0,11

CV%	9,14	9,62	17,08	14,29
t, p	t=1,204 , p=0,295* <sup>1</sup>		t=-0,738, p=0,502* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά ξεχωριστά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 27** για το βάρος νυμφών του Μάρτυρα από έναρξη μεταχείρισης με εμβάπτιση των μορεόφυλλων σε νερό προκύπτει ότι στην ομάδα για την δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για την ομάδα της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 1,0936g (min=0,9944 g και max=1,219 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 1,0396 g (min=0,8576g και max=1,1028g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αντίστοιχα, στην ομάδα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για την ομάδα της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 0,7612 g (min=0,6416 g και max=0,8985g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,7695 g (min=0,6613 g και max=0,8889 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 28:** Βάρος νυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

α/α	Βάρος νυμφών					
	L4		L5		Μάρτυρας	
	1%	2%	1%	2%	1%	2%
1	0,8374	0,4551	0,7791	0,5095	1,219	0,8922
2	1,1718	0,5568	0,9638	0,4331	0,9944	0,8985
3	0,8796	0,4106	1,2584	0,4403	1,0996	0,6416
4	1,0274	0,495	1,1819	0,2202	1,1545	0,6557
5	0,9019	0,4307	0,9083	0,6525	1,0006	0,7181
6	0,5544	0,5884	0,4526	0,6424	1,1015	0,8889
7	0,5506	0,4095	0,5807		1,1028	0,8683
8	0,5732	0,4082	0,4831		1,0713	0,6613
9	0,4399	0,3808	0,5883		1,0649	0,6881
10	0,4445		0,4152		0,8576	0,7411

M.O.	0,7381 <sup>a*</sup>	0,4595 <sup>b</sup>	0,7611 <sup>a</sup>	0,483 <sup>a</sup>	1,0666 <sup>a</sup>	0,7654 <sup>b</sup>
s	0,26	0,07	0,31	0,16	0,1	0,11
CV%	35,23	15,23	40,73	33,13	9,38	14,37
t, p	t=3,121, p=0,006 <sup>*1</sup>		t=2,046, p=0,060 <sup>*1</sup>		t=6,916, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 28** παρουσιάζονται τα βάρη των νυμφών από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τις ηλικίες L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 28** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των νυμφών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,7381 g (min=0,4399 g και max=1,1718 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,4595 g (min=0,3808 g και max=0,5884 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους νυμφών στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για τις νύμφες που προέκυψαν από τροποποιημένη διατροφή από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία, προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v οι νύμφες διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 28** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,7611 g (min=0,4152 g και max=1,2584g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,483 g (min=0,2202 g και max=0,6525 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 28** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των νυμφών διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων.

Ειδικότερα, στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,0666 g (min=0,8576 g και max=1,1545 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,7654 g (min=0,6416 g και max=0,8985 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους νυμφών στη μεταχείριση του Μάρτυρα στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για τον Μάρτυρα προκύπτει ότι στην ομάδα της δόσης 1% w/v οι νύμφες διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με την ομάδα της δόσης 2% w/v.

Από τα ανωτέρω προκύπτει πως το βάρος νυμφών από την έναρξη τροποποιημένης σίτισης της 5<sup>ης</sup> προνυμφικής ηλικίας (L5) με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο διαφορετικών δόσεων (1% και 2% w/v). Αντιθέτως, στην έναρξη τροποποιημένης σίτισης της 4<sup>ης</sup> προνυμφικής ηλικίας (L4) με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs οι νύμφες διαθέτουν στατιστικά σημαντικό μεγαλύτερο μέσο όρο βάρους σε σύγκριση με όταν αυξάνεται η δόση στο 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Το ίδιο παρατηρείται και στη μεταχείριση του Μάρτυρα με την ομάδα για τη δόση 1% w/v να διαθέτει στατιστικά σημαντικό μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με την ομάδα για τη δόση 2% w/v και αυτό μπορεί να οφείλεται στη χρονική διαφορά των εκτροφών (εαρινή 1% – χειμερινή 2%).

**Πίνακας 29:** Βάρος νυμφών (g) για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στη δόση 1% w/v (F<sub>2,27</sub>=5,937).

	<b>Βάρος νυμφών (μεταχείριση 1%)</b>		
<b>α/α</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	0,8374	0,7791	1,219
2	1,1718	0,9638	0,9944
3	0,8796	1,2584	1,0996
4	1,0274	1,1819	1,1545
5	0,9019	0,9083	1,0006
6	0,5544	0,4526	1,1015
7	0,5506	0,5807	1,1028
8	0,5732	0,4831	1,0713
9	0,4399	0,5883	1,0649
10	0,4445	0,4152	0,8576
M.O.	0,7381 <sup>a</sup>	0,7611 <sup>a</sup>	1,0666 <sup>b</sup>
s	0,26	0,31	0,1
CV%	35,23	40,73	9,38



Ο Πίνακας 29 παρουσιάζει το βάρος νυμφών (g) στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των νυμφών για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,7381 g και δεν φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την L5 που είναι 0,7611 g. Αντίθετα, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει το μεγαλύτερο μέσο βάρος νυμφών (1,0666 g) σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

**Πίνακας 30:** Βάρος νυμφών (g) για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στη δόση 2% w/v ( $F_{2,22}=21,045$ ).

	<b>Βάρος νυμφών (μεταχείριση 2%)</b>		
<b>α/α</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	0,4551	0,5095	0,8922
2	0,5568	0,4331	0,8985
3	0,4106	0,4403	0,6416
4	0,495	0,2202	0,6557
5	0,4307	0,6525	0,7181
6	0,5884	0,6424	0,8889
7	0,4095		0,8683
8	0,4082		0,6613
9	0,3808		0,6881
10			0,7411
M.O.	0,4595 <sup>a</sup>	0,4830 <sup>a</sup>	0,7654 <sup>b</sup>
s	0,07	0,16	0,11
CV%	15,23	33,13	14,37

Ο Πίνακας 30 παρουσιάζει το βάρος νυμφών (g) στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των νυμφών για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,4595 g και δεν φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την L5 που είναι 0,4830 g. Αντίθετα, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει το μεγαλύτερο μέσο βάρος νυμφών (0,7654 g) σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

Συνεπώς, σύμφωνα με τους Πίνακες 29 & 30 προκύπτει ότι η λήψη τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs είναι ανεξάρτητη από τη δόση και δεν φαίνεται να επηρεάζει το βάρος των παραγόμενων νυμφών. Αντίθετα, η ομάδα του Μάρτυρα παρατηρείται ότι διαθέτει το μεγαλύτερο βάρος νυμφών σε όλες τις περιπτώσεις σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες.

### 4.3.2 Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται με τη χρήση πινάκων (Πίνακες 31-36) το βάρος νυμφών μεταξοσκώληκα που δεν ολοκλήρωσαν τη δημιουργία βομβυκίου, έπειτα από χορήγηση  $Fe_3O_4$  NPs στις δόσεις 1% και 2% w/v στη διατροφή τους. Επιπλέον, ακολουθεί αντίστοιχο κείμενο με τα σχόλια και τις παρατηρήσεις που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.

**Πίνακας 31:** Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v  $Fe_3O_4$  NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο L4		
	1%	2%	
	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,5544	0,5453	0,3342
2	0,4937	0,3304	0,628
3	0,736	0,5087	0,5528
4	0,6845	0,6902	0,6676
5	0,5506	0,5279	
6	0,7076	0,4644	
7	0,531	0,3046	
8	0,5558	0,4303	
9	0,5732	0,4768	
10	0,4441	0,8478	
11	0,598	0,2885	
12	0,7056	0,4394	
13	0,4399	0,4302	
14	0,8361	0,5658	
15	0,3836	0,4137	
16	0,4445	0,5301	
17	0,3387	0,3779	
18	0,4228	0,4296	
19		0,3398	
20		0,5218	
21		0,4516	
22		0,4734	
23		0,4824	
24		0,4454	
25		0,4151	
M.O.	0,5556	0,4692 <sup>a*</sup>	0,5457 <sup>a</sup>
s	-	0,12	0,15
CV%	-	25,58	27,49
t, p	-	t=-1,163, p=0,255 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 31** στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 0,4692 g (min=0,2885 g και max=0,8478g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,5457 g (min=0,3342 g και max=0,6676 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αξίζει να σημειωθεί πως στη δόση 1% w/v στην 1η επανάληψη δεν παρατηρήθηκαν νύμφες που δεν σχημάτισαν βομβύκιο σε αντίθεση με τη 2η επανάληψη εντός της ίδιας δόσης (1%) όπου παρατηρήθηκε ένας μέσος όρος βάρους νυμφών ίσο με 0,5556 (min=0,3387 g και max=0,8361 g). Συνεπώς, δεν ήταν εφικτό να πραγματοποιηθεί στατιστική επεξεργασία εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 32:** Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο L5		
	1%	2%	
	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,3854	0,4097	0,5393
2	0,5008	0,3416	0,5792
3	0,4526	0,5528	0,4369
4	0,4743	0,7662	0,5507
5	0,6273	0,4459	0,5193
6	0,6744	0,4747	0,5942
7	0,5807		
8	0,3337		
9	0,4436		
10	0,4831		
11	0,4148		
12	0,3702		
13	0,3752		
14	0,7143		
15	0,5787		
16	0,3989		

17	0,5883		
18	0,5119		
19	0,5654		
20	0,4139		
21	0,379		
22	0,4152		
M.O.	0,4855	0,4985 <sup>a*</sup>	0,5366 <sup>a</sup>
s	-	0,11	0,06
CV%	-	22,66	11,18
t, p	-	t=-1,120, p=0,273 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 32** στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των νυμφών. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους νυμφών είναι 0,4985 g (min=0,3416 g και max=0,7662g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,5366 g (min=0,4369 g και max=0,5942 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αξίζει να σημειωθεί πως στη δόση 1% w/v στην 1η επανάληψη δεν παρατηρήθηκαν νύμφες που δεν σχημάτισαν βομβύκιο σε αντίθεση με τη 2η επανάληψη εντός της ίδιας δόσης (1%) όπου παρατηρήθηκε ένας μέσος όρος βάρους νυμφών ίσο με 0,4855 (min=0,3337 g και max=0,7143 g). Συνεπώς, δεν ήταν εφικτό να πραγματοποιηθεί στατιστική επεξεργασία εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 33:** Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο του Μάρτυρα στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο Μάρτυρας		
	1%	2%	
α/α	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,4893	0,6557	0,5133
2	1,1015	0,6074	
3	0,8951	0,9706	
4	0,9604	0,8922	
5	0,4728	0,5223	
6	0,7382	0,8985	
7	1,1028	1,2322	
8	1,1415	0,5888	
9	0,5745	0,4732	
10	1,0713	0,1855	
11	1,0544	0,7181	
12	0,8526	0,6148	
13	0,6697	0,6416	
14	1,1087	0,8563	
15	1,0649		
16	0,762		
17	0,5491		
18	0,4955		
19	0,8576		
20	0,5804		
M.O.*	0,8271	0,704	0,5133

\*M.O. = Μέσος Όρος

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 33** για το βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο του Μάρτυρα από έναρξη μεταχείρισης με εμβάπτιση των μορεόφυλλων σε νερό προκύπτει ότι στην ομάδα για την δόση 1% στην 1η επανάληψη δεν παρατηρήθηκαν νύμφες που δεν σχημάτισαν βομβύκιο σε αντίθεση με τη 2η επανάληψη εντός της ίδιας δόσης (1%) όπου παρατηρήθηκε ένας μέσος όρος βάρους νυμφών ίσο με 0,8271 (min=0,4728 g και max=1,1415 g). Συνεπώς, δεν ήταν εφικτό να πραγματοποιηθεί στατιστική επεξεργασία εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

Αντίστοιχα στην ομάδα για τη δόση 2% στην 1η επανάληψη παρατηρήθηκαν νύμφες που δεν σχημάτισαν βομβύκιο όπου παρατηρήθηκε ένας μέσος όρος βάρους νυμφών ίσο με 0,704 (min=0,1855g και max=1,2322 g). Παρ' όλα αυτά στην ομάδα για τη δόση 2% στη 2η επανάληψη προέκυψε μόνο μία νύμφη που δεν σχημάτισε

βομβύκιο με βάρος ίσο με 0,5133 g και επομένως δεν ήταν εφικτή η σύγκριση και η στατιστική επεξεργασία μεταξύ των δύο δόσεων.

**Πίνακας 34:** Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο						
	L4		L5		Μάρτυρας	
α/α	1%	2%	1%	2%	1%	2%
1	0,5544	0,5453	0,3854	0,4097	0,4893	0,6557
2	0,4937	0,3304	0,5008	0,3416	1,1015	0,6074
3	0,736	0,5087	0,4526	0,5528	0,8951	0,9706
4	0,6845	0,6902	0,4743	0,7662	0,9604	0,8922
5	0,5506	0,5279	0,6273	0,4459	0,4728	0,5223
6	0,7076	0,4644	0,6744	0,4747	0,7382	0,8985
7	0,531	0,3046	0,5807	0,5393	1,1028	1,2322
8	0,5558	0,4303	0,3337	0,5792	1,1415	0,5888
9	0,5732	0,4768	0,4436	0,4369	0,5745	0,4732
10	0,4441	0,8478	0,4831	0,5507	1,0713	0,1855
11	0,598	0,2885	0,4148	0,5193	1,0544	0,7181
12	0,7056	0,4394	0,3702	0,5942	0,8526	0,6148
13	0,4399	0,4302	0,3752		0,6697	0,6416
14	0,8361	0,5658	0,7143		1,1087	0,8563
15	0,3836	0,4137	0,5787		1,0649	0,5133
16	0,4445	0,5301	0,3989		0,762	
17	0,3387	0,3779	0,5883		0,5491	
18	0,4228	0,4296	0,5119		0,4955	
19		0,3398	0,5654		0,8576	
20		0,5218	0,4139		0,5804	
21		0,4516	0,379			
22		0,4734	0,4152			
23		0,4824				
24		0,4454				
25		0,4151				
26		0,3342				
27		0,628				
28		0,5528				
29		0,6676				
M.O.	0,5556 <sup>a*</sup>	0,4798 <sup>a</sup>	0,4855 <sup>a</sup>	0,5175 <sup>a</sup>	0,8271 <sup>a</sup>	0,6781 <sup>a</sup>
s	0,14	0,12	0,11	0,11	0,24	0,27
CV%	251,98	25,01	22,66	21,26	29,02	39,82
t, p	t=1,977, p=0,054 <sup>*1</sup>		t=-0,830, p=0,413 <sup>*1</sup>		t=1,625, p=0,115 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 34** παρουσιάζονται τα βάρη των νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τις ηλικίες L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 34** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των νυμφών που δεν κατάφεραν να σχηματίσουν βομβύκιο δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,5556 g (min=0,3387 g και max=0,8361 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,4798 g (min=0,2885 g και max=0,8478 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους νυμφών που δεν ολοκλήρωσαν τη δημιουργία βομβυκίου, δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 34** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,4855 g (min=0,3337 g και max=0,7143g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,5175 g (min=0,3416 g και max=0,7662 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 34** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,8271 g (min=0,4728 g και max=1,1415 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,6781 g (min=0,1855 g και max=1,2322 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει πως το βάρος νυμφών που δεν κατάφεραν να σχηματίσουν βομβύκιο, από την έναρξη τροποποιημένης σίτισης της 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> προνυμφικής ηλικίας (L4, L5) καθώς και της ομάδας του Μάρτυρα, με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο διαφορετικών δόσεων (1% και 2% w/v) στις δύο επαναλήψεις.

**Πίνακας 35:** Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (F<sub>2,57</sub>=22,824).

α/α	Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο (μεταχείριση 1%)		
	L4	L5	Μάρτυρας
1	0,5544	0,3854	0,4893
2	0,4937	0,5008	1,1015
3	0,736	0,4526	0,8951
4	0,6845	0,4743	0,9604
5	0,5506	0,6273	0,4728
6	0,7076	0,6744	0,7382
7	0,531	0,5807	1,1028
8	0,5558	0,3337	1,1415
9	0,5732	0,4436	0,5745
10	0,4441	0,4831	1,0713
11	0,598	0,4148	1,0544
12	0,7056	0,3702	0,8526
13	0,4399	0,3752	0,6697
14	0,8361	0,7143	1,1087
15	0,3836	0,5787	1,0649
16	0,4445	0,3989	0,762
17	0,3387	0,5883	0,5491
18	0,4228	0,5119	0,4955
19		0,5654	0,8576
20		0,4139	0,5804
21		0,379	
22		0,4152	
M.O.	0,5556 <sup>a</sup>	0,4855 <sup>a</sup>	0,8271 <sup>b</sup>
s	0,14	0,11	0,24
CV%	25,2	22,66	29,02

Ο Πίνακας 35 παρουσιάζει το βάρος νυμφών (g) που δεν σχημάτισαν βομβύκιο στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των νυμφών για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,5556 g και δεν φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την L5 που είναι 0,4855 g.



Αντίθετα, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει το μεγαλύτερο μέσο βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο (0,8271 g) σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

**Πίνακας 36:** Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο στη δόση 2% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,53}=8,437$ ).

α/α	Βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο (μεταχείριση 2%)		
	L4	L5	Μάρτυρας
1	0,5453	0,4097	0,6557
2	0,3304	0,3416	0,6074
3	0,5087	0,5528	0,9706
4	0,6902	0,7662	0,8922
5	0,5279	0,4459	0,5223
6	0,4644	0,4747	0,8985
7	0,3046	0,5393	1,2322
8	0,4303	0,5792	0,5888
9	0,4768	0,4369	0,4732
10	0,8478	0,5507	0,1855
11	0,2885	0,5193	0,7181
12	0,4394	0,5942	0,6148
13	0,4302		0,6416
14	0,5658		0,8563
15	0,4137		0,5133
16	0,5301		
17	0,3779		
18	0,4296		
19	0,3398		
20	0,5218		
21	0,4516		
22	0,4734		
23	0,4824		
24	0,4454		
25	0,4151		
26	0,3342		
27	0,628		
28	0,5528		
29	0,6676		
M.O.	0,4798 <sup>a</sup>	0,5175 <sup>a</sup>	0,6914 <sup>b</sup>
s	0,12	0,11	0,25
CV%	25,01	21,26	36,16

Ο Πίνακας 36 παρουσιάζει το βάρος νυμφών (g) που δεν σχημάτισαν βομβύκιο στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά

αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των νυμφών για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,4798 g και δεν φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την L5 που είναι 0,5175 g. Αντίθετα, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει το μεγαλύτερο μέσο βάρος νυμφών που δεν σχημάτισαν βομβύκιο (0,6914 g) σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

Επιπλέον, σύμφωνα με τους **Πίνακες 35 & 36** παρατηρείται ότι ο Μάρτυρας διαθέτει νύμφες με το μεγαλύτερο μέσο όρο βάρους σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες και στις δύο μεταχειρίσεις. Συνεπώς, το μέσο βάρος της νύμφης που δεν ολοκλήρωσε τη δημιουργία βομβυκίου είναι ανεξάρτητο από την προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών των  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs.

### 4.3.3 Ποσοστό (%) επιβίωσης νυμφών

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται με τη χρήση πινάκων (**Πίνακες 37 και 38**) το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών μεταξοσκώληκα με δύο διαφορετικές στατιστικές προσεγγίσεις (one-way Anova & paired t-test), έπειτα από έναρξη σίτισης με τροποποιημένη διαίτα Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δόσεις 1% και 2% w/v στις δύο διαφορετικές επαναλήψεις. Επιπλέον, ακολουθεί σχολιασμός με βάση τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας των δεδομένων.

**Πίνακας 37:** Ποσοστό (%) επιβίωσης νυμφών και στατιστικά αποτελέσματα για όλες τις ομάδες (L2 – Μάρτυρας), (1% w/v F<sub>4,5</sub>=1,034, 2% w/v F<sub>4,5</sub>=69,200).

	Ποσοστό % επιβίωσης νυμφών									
	L2		L3		L4		L5		Μάρτυρας	
<b>Δόση</b>	<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	15	0	53,3	1	55	30	48,3	57	68,3	19
M.O.	7,5 <sup>a*</sup>		27,15 <sup>a</sup>		42,5 <sup>c</sup>		52,65 <sup>b</sup>		43,65 <sup>d</sup>	
<b>Δόση</b>	<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	0	0	2	0	5	5	3	3	10	11
M.O.	0 <sup>a</sup>		1 <sup>a</sup>		5 <sup>c</sup>		3 <sup>b</sup>		10,5 <sup>d</sup>	

\*Τα διαφορετικά λατινικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων.

Ο Πίνακας 37 παρουσιάζει το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών για όλες τις ομάδες καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs το ποσοστό επιβίωσης για την L2 είναι κατά μέσο όρο 7,5% και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης με τροποποιημένη σίτιση, φτάνοντας στο 52,65% για την L5 και παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αυτών σε όλες τις ηλικίες. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο μέσο όρο του ποσοστού επιβίωσης των νυμφών όταν οι προνύμφες αρχίζουν την σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L2 (0%) και L3 (1%) σε σχέση με προνύμφες ηλικίας L4 (5%), L5 (3%) καθώς και του Μάρτυρα (10,5%) όπου οι τελευταίες παρουσιάζουν το μεγαλύτερο μέσο όρο ποσοστού επιβίωσης.

Επομένως, με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι τόσο η δόση 1% w/v όσο και η 2% επηρεάζουν το μέσο όρο της επιβίωσης των νυμφών ειδικά στις μικρότερες ηλικίες (L2, L3). Αντιθέτως, προνύμφες μεγαλύτερης ηλικίας (L4, L5) διαθέτουν μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης στις δύο διαφορετικές δόσεις συγκριτικά με τις μικρότερες ηλικίες. Αξίζει να σημειωθεί ότι με την αύξηση της δόσης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε 2% w/v παρατηρούνται σημαντικά μικρότερα ποσοστά επιβίωσης σε όλες τις προνυμφικές ηλικίες (L2-L5) σε σύγκριση με τη δόση 1% w/v. Συνεπώς, η μεγαλύτερη συγκέντρωση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα μπορεί να επιφέρει μεταβολές στη φυσιολογική τους ανάπτυξη ανάλογα με την ηλικία με αποτέλεσμα να μην ολοκληρώνεται η νύμφωση.

**Πίνακας 38:** Ποσοστό (%) επιβίωσης νυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

	Ποσοστό % επιβίωσης νυμφών									
	L2		L3		L4		L5		Μάρτυρας	
<b>Δόση</b>	<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	15	0	53,3	1	55	30	48,3	57	68,3	19
M.O.	7,5 <sup>a</sup> *		27,15 <sup>a</sup>		42,5 <sup>a</sup>		52,65 <sup>a</sup>		43,65 <sup>a</sup>	
s	10,61		36,98		17,68		6,15		34,86	
CV%	141,47		136,21		41,6		11,68		79,86	
<b>Δόση</b>	<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	0	0	2	0	5	5	3	3	10	11
M.O.	0 <sup>a</sup>		1 <sup>a</sup>		5 <sup>a</sup>		3 <sup>a</sup>		10,5 <sup>a</sup>	
s	-		1,41		-		-		0,71	
CV%	-		141		-		-		6,76	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>		t=1,040, p=0,488* <sup>1</sup>		t=3,000, p=0,205* <sup>1</sup>		t=11,414, p=0,056* <sup>1</sup>		t=1,318, p=0,413* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 38** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) επιβίωσης των νυμφών από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 38** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 7,5%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 2<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 38** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 27,15%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 1%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 3<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 38** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 42,5%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 38** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 52,65%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 3%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 38** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 43,65%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 10,5%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών στις ομάδες του Μάρτυρα μεταξύ των δύο δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα ακόμη και από τη 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) δεν επηρεάζεται η επιβίωσή τους και συνεπώς η ικανότητα για νύμφωση συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% και 2% w/v. Συνεπώς, η επιβίωση των νυμφών είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αυξάνεται με την αύξηση της προνυμφικής ηλικίας από L2 σταδιακά μέχρι το L5.

#### 4.3.4 Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου νυμφών

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται το ποσοστό (%) καθορισμού του φύλου των νυμφών μεταξοσκώληκα (Πίνακες 39-42) έπειτα από έναρξη μεταχείρισης με τροποποιημένη διατροφή με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις. Ειδικότερα οι πίνακες έχουν χωριστεί αρχικά με βάση τη σύγκριση μεταξύ των δύο διαφορετικών φύλων (♂-♀) στις ίδιες δόσεις (Πίνακες 39 & 40) και έπειτα με σύγκριση των ίδιων φύλων (♂-♂, ♀-♀) σε διαφορετική δόση (Πίνακες 41 & 42). Επιπλέον, υπάρχουν παρατηρήσεις που προκύπτουν από τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.

**Πίνακας 39:** Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου νυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στη δόση 1% στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % καθορισμού φύλου	1%		1%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
ΦΥΛΟ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
L2	-	-	-	-
L3	20	40	80	60
M.O.	30 <sup>a*</sup>		70 <sup>a</sup>	
s	14,14		14,14	
CV%	47,13		20,2	
t, p	t=-2,000, p=0,295* <sup>1</sup>			
L4	60	40	40	60
M.O.	50 <sup>a</sup>		50 <sup>a</sup>	
s	14,14		14,14	
CV%	28,28		28,28	
t, p	t=0,000, p=1,000* <sup>1</sup>			
L5	40	40	60	60
M.O.	40 <sup>a</sup>		60 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			
Μάρτυρας	40	40	60	60
M.O.	40 <sup>a</sup>		60 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			



\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 39** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 39** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v δεν κατάφεραν να νυμφωθούν. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτή την ομάδα.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 39** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 30% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 70% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 3<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 1% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 39** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 50% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 1% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 39** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 40% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 60% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα

με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 1% w/v.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 39** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις για την ομάδα της δόσης 1%. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 40% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 60% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες για την ομάδα του Μάρτυρα στη δόση 1%.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) δεν επηρεάζεται ο φυλοκαθορισμός στις νύμφες, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Συνεπώς, ο καθορισμός του φύλου είναι ανεξάρτητος από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 40:** Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου νυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στη δόση 2% στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % καθορισμού φύλου	2%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
ΦΥΛΟ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
L2	-	-	-	-
L3	-	-	-	-
L4	60	60	40	40
M.O.	60 <sup>a*</sup>		40 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			
L5	20	20	80	80
M.O.	20 <sup>a</sup>		80 <sup>b</sup>	
s	1,41		1,41	
CV%	7,05		1,76	
t, p	t=-30,000, p=0,021* <sup>1</sup>			
Μάρτυρας	40	40	60	60
M.O.	40 <sup>a</sup>		60 <sup>a</sup>	
s	-		-	

CV%	-	-
t,p	p=1,000* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 40** Παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 40** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v δεν κατάφεραν να νυμφωθούν. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 40** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 2% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 2% w/v ανέρχονται σε 60% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 40% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 2% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 40** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των νυμφών διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 2% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 2% w/v ανέρχονται σε 20% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 80% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες και συγκεκριμένα προέκυψαν περισσότερα θηλυκά άτομα σε σχέση με τα αρσενικά που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 2% w/v.

Για τη μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 40** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις για την ομάδα της δόσης 2%. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 2% w/v ανέρχονται σε 40% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 60% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στις νύμφες για την ομάδα του Μάρτυρα στη δόση 2%.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα στη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται ο φυλοκαθορισμός στις νύμφες, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v. Αντιθέτως στις μικρές προνυμφικές ηλικίες (L2, L3) με την προσθήκη της αυξημένης συγκέντρωσης 2% w/v οι προνύμφες δεν κατάφεραν να νυμφωθούν. Επιπλέον, στην τελευταία προνυμφική ηλικία (L5) μετά από λήψη τροποποιημένης διατροφής με 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs παρατηρείται να προκύπτουν περισσότερα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά. Συνεπώς, υπάρχει πιθανότητα στην αυξημένη δόση του 2% w/v να επηρεάζεται ο φυλοκαθορισμός του μεταξοσκώληκα όταν σιτίζεται με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην τελευταία προνυμφική ηλικία (L5).

**Πίνακας 41:** Ποσοστό (%) αρσενικών νυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

Ποσοστό % - Αρσενικά	1%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΑΡΣΕΝΙΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L2</b>	-	-	-	-
<b>L3</b>	-	-	-	-
<b>L4</b>	60	40	60	60
M.O.	50 <sup>a*</sup>		60 <sup>a</sup>	
s	14,14		-	
CV%	28,28		-	
t, p	t=-1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	40	40	20	20
M.O.	40 <sup>a</sup>		20 <sup>a</sup>	
s	1,41		1,41	
CV%	3,53		7,05	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			

Μάρτυρας	40	40	40	40
M.O.	40 <sup>a</sup>		40 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 41** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) αρσενικών νυμφών από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> (L2) και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 41** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν κατάφεραν να νυμφωθούν. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 41** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) αρσενικών νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 60% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) αρσενικών νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 41** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) αρσενικών νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 40% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 20% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το

ποσοστό (%) αρσενικών νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για τη μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 41** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) αρσενικών νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 40% και αντίστοιχα για την ομάδα της δόσης 2% w/v σε 40% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) αρσενικών νυμφών για το Μάρτυρα σε καμία από τις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται το ποσοστό αρσενικών ατόμων στις νύμφες που θα προκύψουν, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις. Συνεπώς, ο καθορισμός του φύλου για τα αρσενικά άτομα είναι ανεξάρτητος από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 42:** Ποσοστό (%) θηλυκών νυμφών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

Ποσοστό % - Θηλυκά	1%		2%	
	ΘΗΛΥΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L2</b>	-	-	-	-
<b>L3</b>	-	-	-	-
<b>L4</b>	40	60	40	40
M.O.	50 <sup>a*</sup>		40 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
	p=1,000* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	60	60	80	80
M.O.	60 <sup>a</sup>		80 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
	p=1,000* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	60	60	60	60
M.O.	60 <sup>a</sup>		60 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
	p=1,000* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 42** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) θηλυκών νυμφών από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> (L2) και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 42** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν κατάφεραν να νυμφωθούν. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 42** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) θηλυκών νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα θηλυκά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 40% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) θηλυκών νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 42** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) θηλυκών νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα θηλυκά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 60% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 80% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) θηλυκών νυμφών που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 42** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) θηλυκών νυμφών δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων. Ειδικότερα, τα θηλυκά άτομα στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 60% και αντίστοιχα για την ομάδα της δόσης 2% w/v σε 60% κατά

μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) θηλυκών νυμφών για το Μάρτυρα σε καμία από τις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται το ποσοστό θηλυκών ατόμων στις νύμφες που θα προκύψουν, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις. Συνεπώς, ο καθορισμός του φύλου για τα θηλυκά άτομα είναι ανεξάρτητος από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs.



### 4.3.5 Ποσοστό (%) ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται το ποσοστό (%) ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης που αφορά τις προνύμφες που κατάφεραν να νυμφωθούν έπειτα από χορήγηση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δόσεις 1% και 2% w/v σε δύο επαναλήψεις. Έχουν πραγματοποιηθεί δύο στατιστικές προσεγγίσεις (one-way Anova & paired t-test) που παρουσιάζονται στους **Πίνακες 43** και **44** αντίστοιχα, καθώς και παρατηρήσεις των αποτελεσμάτων που προέκυψαν.

**Πίνακας 43:** Ποσοστό (%) ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης και στατιστικά αποτελέσματα για όλες τις ομάδες (L2 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v (1% F<sub>4,5</sub>=0,911, 2% F<sub>4,5</sub>=3,156).

	Ποσοστό % ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης									
	L2		L3		L4		L5		Μάρτυρας	
<b>Δόση</b>	<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>		<b>1%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	40	0	40	100	20	100	20	100	100	100
M.O.	20 <sup>a*</sup>		70 <sup>a</sup>		60 <sup>ab</sup>		60 <sup>ab</sup>		100 <sup>b</sup>	
<b>Δόση</b>	<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>		<b>2%</b>	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	0	0	0	0	50	20	100	0	100	100
M.O.	0 <sup>a</sup>		0 <sup>a</sup>		35 <sup>ab</sup>		50 <sup>ab</sup>		100 <sup>b</sup>	

\*Τα διαφορετικά λατινικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων.

Ο Πίνακας 43 παρουσιάζει το ποσοστό (%) ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης στις νύμφες για όλες τις ομάδες καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs το ποσοστό ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης στις νύμφες για την L2 είναι κατά μέσο όρο 20% και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης, φτάνοντας στο 60% για την L5, ενώ παρουσιάζονται στατιστικά διαφορές μεταξύ των τιμών αυτών. Επιπλέον, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης φτάνοντας στο 100%. Αντίθετα στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, υπάρχει στατιστικά διαφορά στο μέσο όρο του ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης σε προνύμφες ηλικίας L2 (0%) σε σχέση με προνύμφες ηλικίας L5 (50%), αλλά και με το Μάρτυρα (100%), όπου οι τελευταίες παρουσιάζουν το μεγαλύτερο μέσο όρο ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης. Επιπλέον, για τις προνυμφικές ηλικίες L2-L3 καθώς αντίστοιχα και για τις L4-L5, δεν παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέσο όρο του ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης.

Επομένως, με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι η δόση 1% w/v μπορεί να επηρεάζει το μέσο όρο του ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης ιδιαίτερα στις μικρές ηλικίες (L2, L3) καθώς και στις μεγαλύτερες. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό % ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης και ειδικότερα οι προνύμφες ηλικίας L2-L3 παρουσιάζουν το μικρότερο ποσοστό % μεταμόρφωσης, ενώ οι προνύμφες ηλικίας L5 παρουσιάζουν το μεγαλύτερο ποσοστό % μεταμόρφωσης σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες. Παρ' όλα αυτά, παρατηρείται ότι η ομάδα του Μάρτυρα κατέχει το μεγαλύτερο ποσοστό ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης (100%) και στις δύο περιπτώσεις. Συνεπώς αύξηση της δόσης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από 1% w/v σε 2% w/v επιφέρει μεταβολές στη φυσιολογία της ανάπτυξης των προνυμφών του μεταξοσκώληκα και την ολοκλήρωση της μεταμόρφωσής τους ανάλογα με το στάδιο του βιολογικού κύκλου.

**Πίνακας 44:** Ποσοστό (%) ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

	Ποσοστό % ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης									
	L2		L3		L4		L5		Μάρτυρας	
Δόση	1%		1%		1%		1%		1%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	40	0	40	100	20	100	20	100	100	100
M.O.	20 <sup>a*</sup>		70 <sup>a</sup>		60 <sup>a</sup>		60 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	28,28		42,43		56,57		56,57		-	
CV%	141,4		60,61		94,28		94,28		-	
Δόση	2%		2%		2%		2%		2%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	0	0	0	0	50	20	100	0	100	100
M.O.	0 <sup>a</sup>		0 <sup>a</sup>		35 <sup>a</sup>		50 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	

s	-	-	21,21	70,71	-
CV%	-	-	60,6	141,42	-
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>	t=2,333, p=0,258* <sup>1</sup>	t=0,455, p=0,728* <sup>1</sup>	t=0,111, p=0,930* <sup>1</sup>	p=1,000* <sup>1</sup>

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 44** παρουσιάζεται το ποσοστό (%) ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L2 έως L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2, L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 44** παρατηρείται ότι οι προνύμφες στην αυξημένη συγκέντρωση του 2% w/v δεν κατάφεραν να ολοκληρώσουν τη νύμφωσή τους.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 44** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού ολοκλήρωσης είναι 20%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό μεταμόρφωσης στις δύο δόσεις στην L2.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 44** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού ολοκλήρωσης είναι 70%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 0%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό μεταμόρφωσης στις δύο δόσεις στην L3.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 44** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού ολοκλήρωσης είναι 60%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 35%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό μεταμόρφωσης στις δύο δόσεις στην L4.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 44** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού ολοκλήρωσης είναι 60%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 50%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό μεταμόρφωσης στις δύο δόσεις στην L5.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 44** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού ολοκλήρωσης της μεταμόρφωσης στις ομάδες του Μάρτυρα για τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, το ποσοστό ολοκλήρωσης τόσο για την την ομάδα της δόσης 1% όσο και για τη 2% w/v είναι 100%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης για τις ομάδες του Μάρτυρα.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τις νεαρές ηλικίες (L2, L3) οι προνύμφες αδυνατούν να ολοκληρώσουν τη νύμφωσή τους. Αντιθέτως, με την εφαρμογή 1% w/v ακόμη και από την L2 δεν υπάρχει διαφορά στο ποσοστό ολοκλήρωσης μεταμόρφωσης των νυμφών καθώς και από την L4 όπου δεν παρατηρείται σημαντική διαφορά στη μεταμόρφωση μεταξύ των δύο δόσεων. Αντιθέτως, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει τον μεγαλύτερο ποσοστό ολοκλήρωσης της μεταμόρφωσης των νυμφών. Συνεπώς, η τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών του μεταξοσκώληκα μπορεί να επηρεάζει τις μικρότερες ηλικίες (L2, L3) ειδικά στην αυξημένη δόση του 2%, ενώ σε προνύμφες μεγαλύτερης ηλικίας δεν φαίνεται να έχει κάποια επίδραση σε ότι αφορά στην ικανότητα νύμφωσης.

## 4.4 Βομβύκια

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται μέσω φωτογραφικού υλικού (**Εικόνες 86-93**) καθώς και πινάκων τα αποτελέσματα από διάφορα χαρακτηριστικά που αφορούν τα βομβύκια που παρήχθησαν από τους μεταξοσκώληκες έπειτα από την έναρξη μεταχείρισης με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στις δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις.

### 4.4.1 Χρώμα βομβυκίων

Η ομάδα Control διατήρησε το τυπικό χρώμα βομβυκίων του υβριδίου Qiufeng x Baiyu το οποίο είναι το λευκό (**Εικόνα 86**). Αντίθετα, στα βομβύκια που παρήχθησαν από τις προνύμφες που υποβλήθηκαν σε «τροποποιημένη δίαιτα» με νανοσωματίδια  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  το χρώμα μεταβλήθηκε. Συγκεκριμένα, τα βομβύκια της δόσης 1% (w/v) διαθέτουν πιο σκούρο χρώμα προς το γκρι με σημεία πορτοκαλί – κόκκινα διάσπαρτα πάνω στα βομβύκια. Στη δόση 2% (w/v) τα βομβύκια έχουν και αυτά πιο σκούρο χρώμα γκριζωπό με σημεία πορτοκαλί διάσπαρτα πάνω τους αλλά όχι τόσο έντονα όσο στη δόση 1% (w/v) (**Εικόνες 87-93**). Τέλος, υπάρχουν και οι περιπτώσεις ημιτελών, μη καλοσηματισμένων και μη συμπαγών βομβυκίων έπειτα από χρήση  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs (**Εικόνες 88, 90, 92 και 93**).



**Εικόνα 86:** Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα του Μάρτυρα.



**Εικόνα 87:** α) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L5 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L5 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

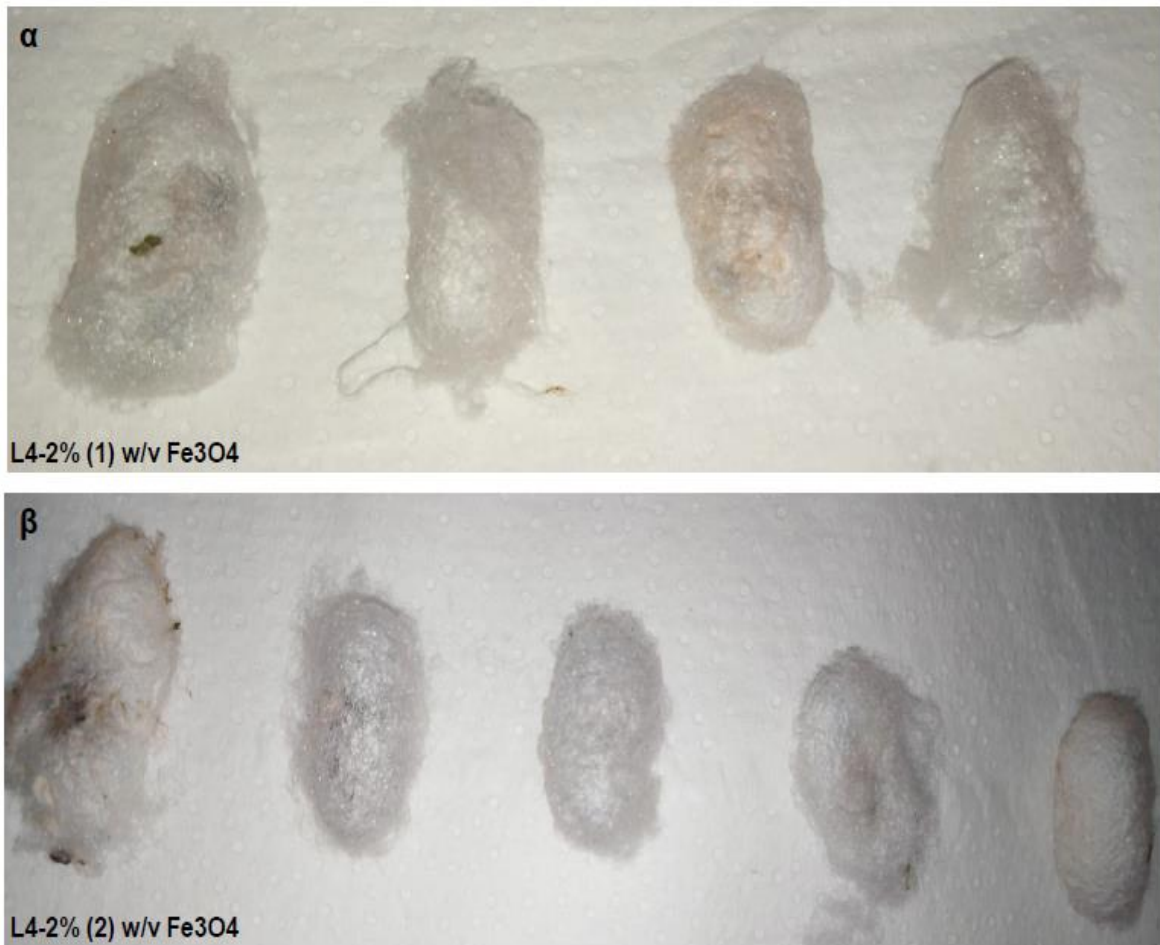


**Εικόνα 88:** α) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L5 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L5 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 89:** α) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L4 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L4 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.





**Εικόνα 90:** α) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L4 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L4 στη δόση 2% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 91:** α) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L3 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L3 στη δόση 1% w/v (2<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 92:** Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L3 στη δόση 2% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



Εικόνα 93: Βομβύκια του *B. mori* L. από την ομάδα L2 στη δόση 1% w/v (1<sup>η</sup> επανάληψη) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

#### 4.4.2 Βάρος βομβυκίων

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται με τη χρήση πινάκων (Πίνακες 45-57) το βάρος των παραγόμενων βομβυκίων από τους μεταξοσκώληκες έπειτα από την έναρξη σίτισης με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δόσεις 1% και 2% w/v σε δύο διαφορετικές επαναλήψεις. Επιπλέον, ακολουθεί κείμενο αναφορικά με τις παρατηρήσεις που προκύπτουν έπειτα από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Πίνακας 45: Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L2 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L2
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,4708
2	0,689
3	0,6999
4	0,5799
5	0,5497
6	0,4933
7	0,6484
8	0,5699
9	0,8207
10	0,5244
11	0,5799

12	0,6909
13	0,5328
M.O.*	0,6038

\*M.O. = Μέσος Όρος

Στον Πίνακα 45 παρουσιάζονται τα βάρη των βομβυκίων που ζυγίστηκαν έπειτα από έναρξη προσθήκης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή τους από την 2η προνυμφική ηλικία (L2), στην 1η επανάληψη. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v της 1ης επανάληψης ο μέσος όρος βάρους είναι 0,6038 g (min=0,4708 g και max=0,8207 g). Αξίζει να σημειωθεί πως με την προσθήκη 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών μεταξοσκώληκα από L2 μόνο στη δόση 1% στην 1η επανάληψη κατάφεραν οι προνύμφες να νυμφωθούν και να δημιουργήσουν βομβύκιο, σε αντίθεση τόσο με τη 2η επανάληψη στην ίδια δόση (1%) όσο και με τη δόση 2% όπου καμία προνύμφη δεν κατάφερε να νυμφωθεί. Συνεπώς δεν προέκυψαν περαιτέρω βομβύκια για στατιστική επεξεργασία.

**Πίνακας 46:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L3	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	0,8081	0,4225
2	0,7879	0,3687
3	1,0638	0,5365
4	1,9253	0,4524
5	0,9343	0,6051
6	0,7304	0,4236
7	0,9261	
8	0,6224	
9	0,7092	
10	0,8012	
11	0,828	
12	0,5797	
13	0,8676	
14	0,8365	
15	0,9332	
16	0,6618	
17	0,6077	
18	0,7264	

19	0,8341	
20	0,8627	
21	0,8007	
22	0,7297	
23	0,9353	
24	0,6479	
25	0,6675	
26	0,7979	
27	0,893	
28	0,7365	
29	0,695	
30	0,9457	
31	0,7599	
32	0,643	
33	0,9773	
34	0,7538	
35	0,8404	
36	0,5977	
M.O.	0,8185 <sup>a*</sup>	0,4681 <sup>b</sup>
s	0,22	0,09
CV%	26,88	19,23
t, p	t=3,756, p=0,001* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 46** για το βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 0,8185g (min=0,5797 g και max=1,9253 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,4681 g (min=0,3687g και max=0,6051g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Επιπλέον, ο αριθμός των βομβυκίων που παράχθηκαν στην 1<sup>η</sup> επανάληψη της δόσης 1% w/v ισούται με 36, ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη αντίστοιχα ο αριθμός των βομβυκίων ανέρχεται σε 6.

**Πίνακας 47:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη.

ΔΟΣΗ 2%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L3
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,5322
2	0,5208
M.O.*	0,5265

\*M.O.=Μέσος Όρος

Στον **Πίνακα 47** παρουσιάζονται τα βάρη των βομβυκίων που ζυγίστηκαν έπειτα από έναρξη προσθήκης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή τους από την 3η προνυμφική ηλικία (L3), στην 1η επανάληψη. Ειδικότερα, στη δόση 2% w/v της 1ης επανάληψης ο μέσος όρος βάρους είναι 0,5265 g (min=0,5208 g και max=0,5322 g). Αξίζει να σημειωθεί πως με την προσθήκη 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών μεταξοσκώληκα από L3 μόνο στην 1η επανάληψη κατάφεραν οι προνύμφες να νυμφωθούν και να παραχθούν μόνο 2 βομβύκια, σε αντίθεση τόσο με τη 2η επανάληψη στην ίδια δόση (2%) όπου καμία προνύμφη δεν κατάφερε να νυμφωθεί. Συνεπώς δεν προέκυψαν περαιτέρω βομβύκια για στατιστική επεξεργασία.

**Πίνακας 48:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L3	
	1%	2%
1	0,8081	0,5322
2	0,7879	0,5208
3	1,0638	
4	1,9253	
5	0,9343	
6	0,7304	
7	0,9261	
8	0,6224	
9	0,7092	
10	0,8012	
11	0,828	
12	0,5797	

13	0,8676	
14	0,8365	
15	0,9332	
16	0,6618	
17	0,6077	
18	0,7264	
19	0,8341	
20	0,8627	
21	0,8007	
22	0,7297	
23	0,9353	
24	0,6479	
25	0,6675	
26	0,7979	
27	0,893	
28	0,7365	
29	0,695	
30	0,9457	
31	0,7599	
32	0,643	
33	0,9773	
34	0,7538	
35	0,8404	
36	0,5977	
37	0,4225	
38	0,3687	
39	0,5365	
40	0,4524	
41	0,6051	
42	0,4236	
M.O.	0,7685 <sup>a*</sup>	0,5265 <sup>a</sup>
s	0,24	0,01
CV%	31,23	1,90
t, p	t=1,392, p=0,171* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs s = Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 48** παρουσιάζονται τα βάρη των βομβυκίων από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3η προνυμφική ηλικία (L3) από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και

από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (Μ.Ο.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 48** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των βομβυκίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,7685 g (min=0,3687 g και max=1,9253 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,5265 g (min=0,5208 g και max=0,5322 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων, δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο δόσεων. Παρ' όλα αυτά στη δόση 1% w/v ο αριθμός των παραγόμενων βομβυκίων από τις δύο επαναλήψεις είναι ίσος με 42 ενώ στη δόση 2% αντίστοιχα τα παραγόμενα βομβύκια ήταν μόλις 2.

**Πίνακας 49:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L4	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	1,1281	0,5246
2	1,1945	0,3677
3	1,0423	0,6697
4	0,873	0,6306
5	1,265	0,5463
6	0,86	0,5785
7	1,0409	0,6446
8	1,1063	0,7108
9	0,8728	0,5663
10	0,8005	0,5458
11	1,1285	0,5109
12	1,1212	0,54
13	1,0244	0,7936



14	1,1013	0,468
15	1,354	0,7863
16	0,908	0,5919
17	1,0727	0,6149
18	0,9942	0,6876
19	1,3702	0,6282
20	0,6819	0,7471
21	0,9967	0,5012
22	0,9851	0,5469
23	1,0513	0,6896
24	0,9575	0,1051
25	1,1927	
26	1,3177	
27	1,1331	
28	0,8213	
29	1,4098	
30	1,0381	
31	1,321	
32	1,0658	
33	0,9946	
34	1,4806	
35	1,0823	
36	0,9787	
37	0,9018	
M.O.	1,0721 <sup>a*</sup>	0,5832 <sup>b</sup>
s	0,18	0,14
CV%	16,79	24,01

t, p	t=11,147, p<0,001* <sup>1</sup>
------	---------------------------------

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 49** για το βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 1,0721g (min=0,6819 g και max=1,4806 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,5832 g (min=0,1051g και max=0,7936g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Επιπλέον, ο αριθμός των βομβυκίων που παράχθηκαν στην 1<sup>η</sup> επανάληψη της δόσης 1% w/v ισούται με 37, ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη αντίστοιχα ο αριθμός των βομβυκίων ανέρχεται σε 24.

**Πίνακας 50:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 με τη συγκέντρωση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

ΔΟΣΗ 2%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L4	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,5145	0,5334
2	0,5086	0,4514
3	0,7238	0,4278
4	0,5533	0,4491
5	0,4561	0,6766
6	0,604	0,4614
7	0,5286	0,5238
8	0,7123	0,4431
9	0,6133	0,6111
10	0,4371	
11	0,5138	
M.O.	0,5605 <sup>a*</sup>	0,5086 <sup>a</sup>
s	0,09	0,09
CV%	16,06	17,70
t, p	t=1,272, p=0,219* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 50** προκύπτει ότι στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 0,5605 g (min=0,4371 g και max=0,7238g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,5086 g (min=0,4278 g και max=0,6766 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 51:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L4</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	1,1281	0,5145
2	1,1945	0,5086
3	1,0423	0,7238
4	0,873	0,5533
5	1,265	0,4561
6	0,86	0,604
7	1,0409	0,5286
8	1,1063	0,7123
9	0,8728	0,6133
10	0,8005	0,4371
11	1,1285	0,5138
12	1,1212	0,5334
13	1,0244	0,4514
14	1,1013	0,4278
15	1,354	0,4491
16	0,908	0,6766
17	1,0727	0,4614
18	0,9942	0,5238
19	1,3702	0,4431
20	0,6819	0,6111
21	0,9967	
22	0,9851	
23	1,0513	
24	0,9575	
25	1,1927	
26	1,3177	
27	1,1331	
28	0,8213	
29	1,4098	
30	1,0381	
31	1,321	
32	1,0658	
33	0,9946	
34	1,4806	
35	1,0823	
36	0,9787	
37	0,9018	
38	0,5246	
39	0,3677	

40	0,6697	
41	0,6306	
42	0,5463	
43	0,5785	
44	0,6446	
45	0,7108	
46	0,5663	
47	0,5458	
48	0,5109	
49	0,54	
50	0,7936	
51	0,468	
52	0,7863	
53	0,5919	
54	0,6149	
55	0,6876	
56	0,6282	
57	0,7471	
58	0,5012	
59	0,5469	
60	0,6896	
61	0,1051	
M.O.	0,8797 <sup>a*</sup>	0,5372 <sup>b</sup>
s	0,29	0,09
CV%	32,97	16,75
t, p	t=5,136, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 51** παρουσιάζονται τα βάρη των βομβυκίων από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4η προνυμφική ηλικία (L4) από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 51** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των βομβυκίων διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα,

στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,8797 g (min=0,1051 g και max=1,4806 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,5372g (min=0,4278 g και max=0,7238 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για τα βομβύκια που προέκυψαν από τροποποιημένη διατροφή από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία, προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v τα βομβύκια διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v. Επιπλέον, στη δόση 1% w/v ο αριθμός των παραγόμενων βομβυκίων από τις δύο επαναλήψεις είναι ίσος με 61 ενώ στη δόση 2% αντίστοιχα τα παραγόμενα βομβύκια ήταν 20.

**Πίνακας 52:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L5	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	1,2134	0,5352
2	0,9438	0,5941
3	1,1393	0,7882
4	1,0566	0,6035
5	1,5204	0,5248
6	1,3898	0,9164
7	0,4855	0,7948
8	1,0486	0,5572
9	1,1586	0,5757
10	0,9757	0,4857
11	1,4729	0,6892
12	0,8494	0,5603
13	0,734	0,5789
14	1,1005	0,6877

15	1,3501	0,5029
16	1,2271	0,6326
17	1,1133	0,6412
18	1,1395	0,6757
19	1,5018	0,7576
20	1,3775	0,5867
21	0,8651	0,5242
22	1,1852	0,8549
23	1,0535	0,8785
24	1,1155	1,3973
25	0,9835	0,6069
26	1,5409	0,7907
27	1,0571	0,4797
28	0,84	0,481
29	0,772	0,7119
30	0,8264	0,5206
31	0,679	0,6644
32		0,7229
33		0,6793
34		0,6861
35		0,6501
36		0,5541
37		0,6914
38		0,5987
39		0,5637
40		0,6484
41		0,5168

42		0,5914
43		0,6265
44		0,6487
45		0,6083
46		0,4939
47		0,5918
48		0,6209
49		0,7389
50		0,599
M.O.	1,0876 <sup>a*</sup>	0,6645 <sup>b</sup>
s	0,26	0,19
CV%	23,91	28,59
t, p	t=7,261, p<0,001* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 52** για το βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 1,0876g (min=0,4855 g και max=1,5204 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,6645 g (min=0,4797g και max=1,3973 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Επιπλέον, ο αριθμός των βομβυκίων που παράχθηκαν στην 1<sup>η</sup> επανάληψη της δόσης 1% w/v ισούται με 31, ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη αντίστοιχα ο αριθμός των βομβυκίων ανέρχεται σε 50.



**Πίνακας 53:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 με τη συγκέντρωση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

ΔΟΣΗ 2%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L5	
	α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,4949	0,8447
2	0,5902	0,2528
3	0,5054	0,6963
4	0,5124	0,6181
5	0,5383	0,7002
6	0,5921	0,5886
7	0,5234	0,5335
8	0,6189	
M.O.	0,547 <sup>a*</sup>	0,6049 <sup>a</sup>
s	0,05	0,18
CV%	9,14	29,76
t, p	t=-0,861, p=0,405 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 53** προκύπτει ότι στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 0,547 g (min=0,4949 g και max=0,6189g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,6049 g (min=0,2528 g και max=0,8447 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 54:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - L5</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	1,2134	0,4949
2	0,9438	0,5902
3	1,1393	0,5054
4	1,0566	0,5124
5	1,5204	0,5383
6	1,3898	0,5921
7	0,4855	0,5234
8	1,0486	0,6189
9	1,1586	0,8447
10	0,9757	0,2528
11	1,4729	0,6963
12	0,8494	0,6181
13	0,734	0,7002
14	1,1005	0,5886
15	1,3501	0,5335
16	1,2271	
17	1,1133	
18	1,1395	
19	1,5018	
20	1,3775	
21	0,8651	
22	1,1852	
23	1,0535	
24	1,1155	
25	0,9835	
26	1,5409	
27	1,0571	
28	0,84	
29	0,772	
30	0,8264	
31	0,679	
32	0,5352	
33	0,5941	
34	0,7882	
35	0,6035	
36	0,5248	
37	0,9164	
38	0,7948	

39	0,5572	
40	0,5757	
41	0,4857	
42	0,6892	
43	0,5603	
44	0,5789	
45	0,6877	
46	0,5029	
47	0,6326	
48	0,6412	
49	0,6757	
50	0,7576	
51	0,5867	
52	0,5242	
53	0,8549	
54	0,8785	
55	1,3973	
56	0,6069	
57	0,7907	
58	0,4797	
59	0,481	
60	0,7119	
61	0,5206	
62	0,6644	
63	0,7229	
64	0,6793	
65	0,6861	
66	0,6501	
67	0,5541	
68	0,6914	
69	0,5987	
70	0,5637	
71	0,6484	
72	0,5168	
73	0,5914	
74	0,6265	
75	0,6487	
76	0,6083	
77	0,4939	
78	0,5918	
79	0,6209	
80	0,7389	
81	0,599	
M.O.	0,8166 <sup>a*</sup>	0,574 <sup>b</sup>
s	0,29	0,13

CV%	35,51	22,65
t, p	t=3,147, p=0,002* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 54** παρουσιάζονται τα βάρη των βομβυκίων από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5η προνυμφική ηλικία (L5) από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 54** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των βομβυκίων διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,8166 g (min=0,4797 g και max=1,5204 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,574g (min=0,2528 g και max=0,8447 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για τα βομβύκια που προέκυψαν από τροποποιημένη διατροφή από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία, προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v τα βομβύκια διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v. Επιπλέον, στη δόση 1% w/v ο αριθμός των παραγόμενων βομβυκίων από τις δύο επαναλήψεις είναι ίσος με 81 ενώ στη δόση 2% αντίστοιχα τα παραγόμενα βομβύκια ήταν 15.

**Πίνακας 55:** Βάρος βομβυκίων του Μάρτυρα στην συγκέντρωση 1% w/v για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νόμφη) - Μάρτυρας	
	α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη
1	1,0023	1,0515
2	1,312	0,7543
3	1,1053	0,4938
4	1,0397	0,4361
5	1,0485	0,7858
6	1,1662	1,0445
7	1,1011	0,9207
8	1,1809	0,6523
9	1,1076	0,8011
10	1,1091	0,6168
11	1,1821	0,9212
12	0,9609	0,5618
13	1,3383	0,615
14	1,4315	0,8624
15	1,2195	1,1779
16	1,2743	1,0786
17	1,1957	0,6133
18	1,2516	0,7601
19	1,1996	0,9971
20	1,1821	
21	0,9551	
22	1,171	
23	1,3298	
24	1,4363	
25	1,2054	
26	1,4421	
27	1,231	
28	0,9904	
29	1,3107	
30	1,3837	
31	1,3293	
32	1,0319	
33	1,1609	
34	1,3756	
35	1,0721	
36	0,9982	
37	1,2101	
38	2,5137	

39	1,0773	
40	1,0963	
41	0,8844	
42	0,7389	
43	1,0346	
44	0,9928	
45	0,6864	
46	0,8638	
M.O.	1,1724 <sup>a*</sup>	0,786 <sup>b</sup>
s	0,27	0,21
CV%	23,03	26,72
t, p	t=5,504, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 55** για το βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στο Μάρτυρα προκύπτει ότι στην ομάδα για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 1,1724g (min=0,6864 g και max=2,5137 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,786 g (min=0,4361g και max=1,1779 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Επιπλέον, ο αριθμός των βομβυκίων που παράχθηκαν στην 1<sup>η</sup> επανάληψη της δόσης 1% w/v ισούται με 46, ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη αντίστοιχα ο αριθμός των βομβυκίων ανέρχεται σε 19.

**Πίνακας 56:** Βάρος βομβυκίων του Μάρτυρα στην συγκέντρωση 2% w/v για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 2%	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νόμφη) - Μάρτυρας	
	α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,8101	0,3974
2	0,7651	0,5695
3	0,5746	0,4855
4	0,8425	0,4662
5	0,4911	0,4283
6	0,7514	0,4938
7	0,6343	0,629
8	0,5515	0,4396
9	0,7886	0,3793
10	0,7566	0,5642
11		0,5079
M.O.	0,6966 <sup>a*</sup>	0,4873 <sup>b</sup>
s	0,12	0,08
CV%	17,23	16,42
t, p	t=4,725, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 56** για το βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στο Μάρτυρα προκύπτει ότι στην ομάδα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 2% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 0,6966g (min=0,4911 g και max=0,8425 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,4873 g (min=0,3793g και max=0,5695 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 57:** Βάρος βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στις ομάδες του Μάρτυρα στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Χαρακτηριστικό - Συνολικό βάρος (κέλυφος και νύμφη) - Μάρτυρας	
	1%	2%
1	1,0023	0,8101
2	1,312	0,7651
3	1,1053	0,5746
4	1,0397	0,8425
5	1,0485	0,4911
6	1,1662	0,7514
7	1,1011	0,6343
8	1,1809	0,5515
9	1,1076	0,7886
10	1,1091	0,7566
11	1,1821	0,3974
12	0,9609	0,5695
13	1,3383	0,4855
14	1,4315	0,4662
15	1,2195	0,4283
16	1,2743	0,4938
17	1,1957	0,629
18	1,2516	0,4396
19	1,1996	0,3793
20	1,1821	0,5642
21	0,9551	0,5079
22	1,171	
23	1,3298	
24	1,4363	
25	1,2054	
26	1,4421	
27	1,231	
28	0,9904	
29	1,3107	
30	1,3837	
31	1,3293	
32	1,0319	
33	1,1609	
34	1,3756	
35	1,0721	
36	0,9982	
37	1,2101	
38	2,5137	
39	1,0773	



40	1,0963	
41	0,8844	
42	0,7389	
43	1,0346	
44	0,9928	
45	0,6864	
46	0,8638	
47	1,0515	
48	0,7543	
49	0,4938	
50	0,4361	
51	0,7858	
52	1,0445	
53	0,9207	
54	0,6523	
55	0,8011	
56	0,6168	
57	0,9212	
58	0,5618	
59	0,615	
60	0,8624	
61	1,1779	
62	1,0786	
63	0,6133	
64	0,7601	
65	0,9971	
M.O.	1,0627 <sup>a</sup>	0,587 <sup>b</sup>
s	0,3	0,15
CV%	28,23	25,55
t, p	t=6,912, p<0,001*	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 57** παρουσιάζονται τα βάρη των βομβυκίων από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις ομάδες του Μάρτυρα στις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις ομάδες του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 57** Προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των βομβυκίων διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,0627 g (min=0,4361 g και max=2,5137 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,587g (min=0,3793 g και max=0,8425 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για τα βομβύκια που προέκυψαν από τροποποιημένη διατροφή για τις ομάδες του Μάρτυρα, προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v τα βομβύκια διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v. Επιπλέον, στη δόση 1% w/v ο αριθμός των παραγόμενων βομβυκίων από τις δύο επαναλήψεις είναι ίσος με 65 ενώ στη δόση 2% αντίστοιχα τα παραγόμενα βομβύκια ήταν 21.

#### 4.4.3 Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται μέσω της χρήσης πινάκων (**Πίνακες 58-64**) το βάρος των βομβυκίων από τα άτομα που επιλέχθηκαν για να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία (βλ. Υλικά & Μέθοδοι) έπειτα από χορήγηση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δόσεις 1% και 2% w/v και στις δύο επαναλήψεις. Επιπλέον, ακολουθεί κείμενο αναφορικά με τις παρατηρήσεις από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

**Πίνακας 58:** Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Βάρος βομβυκίων (πριν την έξοδο του ακμαίου) L3</b>	
	<b>1%</b>	
<b>α/α</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>
1	0,6128	0,51
2	0,6024	0,5844
3	0,5982	0,5777
4	0,6231	0,5501
5		0,5939
M.O.	0,6091 <sup>a*</sup>	0,5632 <sup>b</sup>
s	0,01	0,03
CV%	1,64	5,33
t, p	t=2,566, p=0,037* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 58** για το βάρος των βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου, από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 0,6091g (min=0,5982 g και max=0,6231 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,5632 g (min=0,51 g και max=0,5939 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αξίζει να σημειωθεί, πως με την προσθήκη της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) καμία προνύμφη δεν κατάφερε να ολοκληρώσει το βιολογικό της κύκλο και συνεπώς δεν προέκυψαν βομβύκια για στατιστική επεξεργασία.

**Πίνακας 59:** Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 στις συγκεντρώσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Βάρος βομβυκίων (πριν την έξοδο του ακμαίου) L4</b>			
	<b>1%</b>		<b>2%</b>	
<b>α/α</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>
1	0,7796	0,6083	0,6139	0,5988
2	1,8318	0,756	0,7711	0,6872
3	0,9921	0,5315	0,5569	0,5191
4	0,7648	0,5485	0,5388	0,6137
5	0,937	0,4956	0,4855	
<b>M.O.</b>	1,0611 <sup>a*</sup>	0,588 <sup>b</sup>	0,5932 <sup>a</sup>	0,6047 <sup>a</sup>
s	0,44	0,1	0,11	0,07
CV%	41,47	17,01	18,54	11,58
<b>t, p</b>	t=2,930, p=0,043 <sup>*1</sup>		t=-0,181, p=0,861 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 59** για το βάρος των βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου, από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 1,0611 g (min=0,7648 g και max=1,8318 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,588 g (min=0,4956 g και max=0,6083 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 0,5932 g (min=0,4855 g και max=0,7711g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,6047 g (min=0,5191 g και max=0,6872 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων στη δόση 2% w/v.

**Πίνακας 60:** Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 στις συγκεντρώσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Βάρος βομβυκίων (πριν την έξοδο του ακμαίου) L5</b>			
	<b>1%</b>		<b>2%</b>	
<b>α/α</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>
1	1,9678	0,6754	0,6688	0,6789
2	1,8799	0,5823	0,5847	0,6933
3	1,6839	0,6106	0,6333	0,6229
4	0,9836	0,5604	0,5771	0,6479
5	0,9966	0,576	0,5641	
<b>M.O.</b>	1,5024 <sup>a*</sup>	0,6009 <sup>b</sup>	0,6056 <sup>a</sup>	0,6607 <sup>a</sup>
s	0,48	0,05	0,04	0,03
CV%	31,95	8,32	6,61	4,54
<b>t, p</b>	t=4,509, p=0,011 <sup>*1</sup>		t=-2,101, p=0,074 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 60** για το βάρος των βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου, από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 1,5024 g (min=0,9836 g και max=1,9678 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,6009 g (min=0,5604 g και max=0,6754 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αντιθέτως, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 0,6056 g (min=0,5641 g και max=0,6688g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,6607 g (min=0,6229 g και max=0,6933 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων στη δόση 2% w/v.

**Πίνακας 61:** Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου του Μάρτυρα για τις ομάδες στις δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Βάρος βομβυκίων (πριν την έξοδο του ακμαίου) Μάρτυρας</b>			
	<b>1%</b>		<b>2%</b>	
<b>α/α</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>1<sup>η</sup> επανάληψη</b>	<b>2<sup>η</sup> επανάληψη</b>
1	1,3571	1,2888	1,3001	1,2998
2	1,3962	1,3844	1,4	1,4501
3	1,0098	1,0047	1,2777	1,28
4	1,171	1,666	1,2998	1,2773
5	1,675	1,2947	1,2508	1,2333
6	1,1787	1,1988	1,6312	1,2004
M.O.	1,2980 <sup>a*</sup>	1,3062 <sup>a</sup>	1,3599 <sup>a</sup>	1,2902 <sup>a</sup>
s	0,22	0,24	0,28	0,22
CV%	16,95	18,37	20,59	17,05
t, p	t=5,324, p=0,211 <sup>*1</sup>		t=5,198, p=0,199 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 61** για το βάρος των βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου, στο Μάρτυρα για την ομάδα της δόσης 1% w/v στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v, δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των βομβυκίων. Ειδικότερα, για την ομάδα της δόσης 1% w/v στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 1,2980 g (min=1,0098 g και max=1,675g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 1,3062 g (min=1,2888 g και max=1,666 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων στη δόση 1% w/v. Αντίστοιχα, στην ομάδα για τη δόση 2% στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους βομβυκίων είναι 1,3599 g (min=1,2508 g και max=1,6312 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 1,2902 g (min=1,2004 g και max=1,4501 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων στη δόση 2% w/v.

**Πίνακας 62:** Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Μάρτυρας).

	<b>Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου</b>					
	<b>L4</b>		<b>L5</b>		<b>Μάρτυρας</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	0,7796	0,6139	1,9678	0,6688	1,3571	1,3001
2	1,8318	0,7711	1,8799	0,5847	1,3962	1,4
3	0,9921	0,5569	1,6839	0,6333	1,0098	1,2777
4	0,7648	0,5388	0,9836	0,5771	1,171	1,2998
5	0,937	0,4855	0,9966	0,5641	1,675	1,2508
6	0,6083	0,5988	0,6754	0,6789	1,1787	1,6312
7	0,756	0,6872	0,5823	0,6933	1,2888	1,2998
8	0,5315	0,5191	0,6106	0,6229	1,3844	1,4501
9	0,5485	0,6137	0,5604	0,6479	1,0047	1,28
10	0,4956		0,576		1,666	1,2773
11					1,2947	1,2333

12					1,1988	1,2004
M.O.	0,8245 <sup>a*</sup>	0,5983 <sup>a</sup>	1,0517 <sup>a</sup>	0,6301 <sup>b</sup>	1,3021 <sup>a</sup>	1,325 <sup>a</sup>
s	0,40	0,09	0,57	0,05	0,06	0,02
CV%	48,51	15,042620 76	54,20	7,93524837 3	4,61	1,51
t, p	t=1,688, p=0,110 <sup>*1</sup>		t=2,193, p=0,042 <sup>*1</sup>		t=5,260, p=0,205 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 62** παρουσιάζονται τα βάρη των βομβυκίων πριν την έξοδο των ακμαίων από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τις ηλικίες L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 62** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των βομβυκίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,8245 g (min=0,4956 g και max=1,8318 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,5983 g (min=0,4855 g και max=0,6872 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους των βομβυκίων, δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 62** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των βομβυκίων διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,0517 g (min=0,5604 g και max=1,9678 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,6301 g (min=0,5641 g και max=0,6933 g). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 1% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v και στις δύο επαναλήψεις.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 62** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των βομβυκίων δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 1,3021 g (min=1,0047 g και max=1,675 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 1,325 g (min=1,2004 g και max=1,6312 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει πως το βάρος των ακμαίων από την έναρξη τροποποιημένης σίτισης της 4<sup>ης</sup> ηλικίας (L4) καθώς και της ομάδας του Μάρτυρα, με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο διαφορετικών δόσεων (1% και 2% w/v) στις δύο επαναλήψεις. Αντιθέτως, όταν προστίθενται Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην τελευταία προνυμφική ηλικία (L5), τότε παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στο βάρος του βομβυκίου πριν την έξοδο του ακμαίου και ειδικότερα στη δόση 1% w/v το μέσο βάρος του βομβυκίου είναι μεγαλύτερο συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v.

**Πίνακας 63:** Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,29}=3,745$ ).

α/α	Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου (μεταχείριση 1%)		
	L4	L5	Μάρτυρας
1	0,7796	1,9678	1,3571
2	1,8318	1,8799	1,3962
3	0,9921	1,6839	1,0098
4	0,7648	0,9836	1,171
5	0,937	0,9966	1,675
6	0,6083	0,6754	1,1787
7	0,756	0,5823	1,2888
8	0,5315	0,6106	1,3844
9	0,5485	0,5604	1,0047
10	0,4956	0,576	1,666
11			1,2947
12			1,1988
M.O.	0,8245 <sup>a</sup>	1,0517 <sup>a</sup>	1,3021 <sup>b</sup>
s	0,39	0,57	0,22
CV%	47,3	54,2	16,9



Ο Πίνακας 63 παρουσιάζει το βάρος βομβυκίων (g) πριν την έξοδο του ακμαίου στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των βομβυκίων για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,8245 g και δεν φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την L5 που είναι 1,0517 g. Αντίθετα, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει το μεγαλύτερο μέσο βάρος βομβυκίων προτού εξέλθει το ακμαίο άτομο (1,3021 g) σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

**Πίνακας 64:** Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου στη δόση 2% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,27}=211,157$ ).

α/α	Βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο του ακμαίου (μεταχείριση 2%)		
	L4	L5	Μάρτυρας
1	0,6139	0,6688	1,3001
2	0,7711	0,5847	1,4
3	0,5569	0,6333	1,2777
4	0,5388	0,5771	1,2998
5	0,4855	0,5641	1,2508
6	0,5988	0,6789	1,6312
7	0,6872	0,6933	1,2998
8	0,5191	0,6229	1,4501
9	0,6137	0,6479	1,28
10			1,2773
11			1,2333
12			1,2004
M.O.	0,5983 <sup>a</sup>	0,6301 <sup>a</sup>	1,3250 <sup>b</sup>
s	0,09	0,05	0,12
CV%	15,04	7,94	0,91

Ο Πίνακας 64 παρουσιάζει το βάρος βομβυκίων (g) πριν την έξοδο του ακμαίου στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των βομβυκίων για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,5983 g και δεν φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την L5 που είναι 0,6301 g. Αντίθετα, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει το μεγαλύτερο μέσο βάρος βομβυκίων προτού εξέλθει το ακμαίο άτομο (1,3250 g) σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

Συνεπώς, με βάση τους Πίνακες 63 & 64 παρατηρείται ότι ο Μάρτυρας διαθέτει το μεγαλύτερο βάρος βομβυκίων πριν την έξοδο των ακμαίων σε σύγκριση με τις

υπόλοιπες ομάδες και στις δύο μεταχειρίσεις. Συνεπώς, το μέσο βάρος των βομβυκίων είναι ανεξάρτητο από την προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

#### 4.4.4 Βάρος άδειου κελύφους

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται το βάρος των άδειων κελυφών μεταξοσκώληκα (μετά το άνοιγμα και αφαίρεση της νύμφης) μέσω της χρήσης πινάκων (Πίνακες 65-75) μετά από έναρξη σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή τους στις δόσεις 1% και 2% w/v στις δύο διαφορετικές επανάληψεις. Επιπλέον, ακολουθεί κείμενο αναφορικά με τις παρατηρήσεις που προκύπτουν έπειτα από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

**Πίνακας 65:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L2 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L2
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,0862
2	0,102
3	0,0683
4	0,0623
5	0,0445
M.O.*	0,0727

\*M.O.=Μέσος Όρος

Στον Πίνακα 65 παρουσιάζονται τα βάρη των άδειων κελυφών βομβυκίων που ζυγίστηκαν έπειτα από έναρξη προσθήκης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή τους από την 2η προνυμφική ηλικία (L2), στην 1η επανάληψη. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v της 1ης επανάληψης ο μέσος όρος βάρους είναι 0,0727 g (min=0,0445 g και max=0,102 g). Αξίζει να σημειωθεί πως με την προσθήκη 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών μεταξοσκώληκα από L2 μόνο στη δόση 1% στην 1η επανάληψη κατάφεραν οι προνύμφες να νυμφωθούν και να δημιουργήσουν βομβύκιο, σε αντίθεση τόσο με τη 2η επανάληψη στην ίδια δόση (1%) όσο και με τη δόση 2% όπου καμία προνύμφη δεν κατάφερε να νυμφωθεί. Συνεπώς δεν προέκυψαν περαιτέρω βομβύκια για στατιστική επεξεργασία.

**Πίνακας 66:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L3	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,1004	0,0851
2	0,1197	0,1277
3	0,0951	0,1256
4	0,1414	0,1179
5	0,0955	0,1311
6	0,15	0,1201
7	0,1257	
8	0,087	
9	0,1511	
M.O.	0,1184 <sup>a*</sup>	0,1179 <sup>a</sup>
s	0,03	0,02
CV%	25,34	16,96
t, p	t=0,044, p=0,966 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 66** προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των άδειων κελυφών των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών είναι 0,1184 g (min=0,087 g και max=0,1511g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,1179 g (min=0,0851 g και max=0,1311 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αξίζει να σημειωθεί, πως με την προσθήκη της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) καμία προνύμφη δεν κατάφερε να ολοκληρώσει το βιολογικό της κύκλο και συνεπώς δεν προέκυψαν βομβύκια για στατιστική επεξεργασία.

**Πίνακας 67:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L4	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	0,1664	0,1464
2	0,136	0,1333
3	0,1415	0,1401
4	0,1669	0,1479
5	0,1822	0,1503
6	0,1371	0,1277
7	0,148	0,1331
8	0,158	0,1246
9	0,1604	0,1478
10	0,19	0,1188
M.O.	0,1587 <sup>a*</sup>	0,137 <sup>b</sup>
s	0,02	0,01
CV%	12,60	7,30
t, p	t=3,352, p=0,008 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 67** για το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της 1% w/v , υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των άδειων κελυφών. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών είναι 0,1587g (min=0,136 g και max=0,19 g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,137 g (min=0,1188 g και max=0,1479 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρείται στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος άδειων κελυφών σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 68:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 με τη συγκέντρωση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 2%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L4	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	0,0892	0,1052
2	0,1158	0,0889
3	0,0583	0,0376
4	0,0589	0,0388
5	0,1289	0,0431
6	0,1342	0,1137
7	0,1121	0,1203
8	0,11	0,1
9	0,1002	0,1099
M.O.	1,008 <sup>a*</sup>	0,0842 <sup>a</sup>
s	0,03	0,03
CV%	2,98	35,63
t, p	t=1,650, p=0,137* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον Πίνακα 68 προκύπτει ότι στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των άδειων κελυφών των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών είναι 1,008 g (min=0,0583 g και max=0,1342g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,0842 g (min=0,0376 g και max=0,1203 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 69:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L4</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	0,1664	0,0892
2	0,136	0,1158
3	0,1415	0,0583
4	0,1669	0,0589
5	0,1822	0,1289
6	0,1371	0,1342
7	0,148	0,1121
8	0,158	0,11
9	0,1604	0,1002
10	0,19	0,1052
11	0,1464	0,0889
12	0,1333	0,0376
13	0,1401	0,0388
14	0,1479	0,0431
15	0,1503	0,1137
16	0,1277	0,1203
17	0,1331	0,1
18	0,1246	0,1099
19	0,1478	
20	0,1188	
M.O.	0,1478 <sup>a*</sup>	0,0925 <sup>b</sup>
s	0,02	0,03
CV%	13,53	32,43
t, p	t=6,697, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 69** παρουσιάζονται τα βάρη των άδειων κελυφών από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4η προνυμφική ηλικία (L4) από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και

από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (Μ.Ο.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 69** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των άδειων κελυφών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,1478 g (min=0,1188 g και max=0,1669 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,0925g (min=0,0376 g και max=0,1342 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών στη δόση 1% w/v είναι στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερος συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v. Επομένως για τα άδεια κελύφη από βομβύκια που προέκυψαν μέσω τροποποιημένης διατροφής από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία, προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v τα άδεια κελύφη διαθέτουν μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v.

**Πίνακας 70:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L5	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	0,1911	0,1527
2	0,152	0,1936
3	0,2045	0,1628
4	0,216	0,1777
5	0,1996	0,1539
6	0,2026	0,2256
7	0,2058	0,2001
8	0,2032	0,2133
9	0,2085	0,2088
10	0,2297	0,2044
Μ.Ο.	0,2013 <sup>a*</sup>	0,1893 <sup>a</sup>
s	0,02	0,03
CV%	9,94	15,85
t, p	t=1,246, p=0,244 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 70** προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των άδειων κελυφών των βομβυκίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών είναι 0,2013 g (min=0,152 g και max=0,2297g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,1893 g (min=0,1527 g και max=0,2256 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 71:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 με τη συγκέντρωση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 2%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L5	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	0,0838	0,0253
2	0,0696	0,0483
3	0,0552	0,1438
4	0,2251	0,2331
5	0,2	0,238
6	0,2113	0,1998
7	0,1999	0,2287
8	0,2012	
M.O.	0,1558 <sup>a*</sup>	0,1596 <sup>a</sup>
s	0,07	0,09
CV%	44,93	56,39
t, p	t=-0,091, p=0,929 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 71** προκύπτει ότι στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των άδειων κελυφών των βομβυκίων.



Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών είναι 0,1558 g (min=0,0552 g και max=0,2251g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,1596 g (min=0,0253 g και max=0,2331 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 72:** Βάρος άδειου κελύφους από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 στις συγκεντρώσεις 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - L5	
	1%	2%
1	0,1911	0,0838
2	0,152	0,0696
3	0,2045	0,0552
4	0,216	0,2251
5	0,1996	0,2
6	0,2026	0,2113
7	0,2058	0,1999
8	0,2032	0,2012
9	0,2085	0,0253
10	0,2297	0,0483
11	0,1527	0,1438
12	0,1936	0,2331
13	0,1628	0,238
14	0,1777	0,1998
15	0,1539	0,2287
16	0,2256	
17	0,2001	
18	0,2133	
19	0,2088	
20	0,2044	
M.O.	0,1953 <sup>a*</sup>	0,1575 <sup>a</sup>
s	0,02	0,08
CV%	10,24	50,79
t, p	t=2,053, p=0,048 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 72** παρουσιάζονται τα βάρη των άδειων κελυφών από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5η προνυμφική ηλικία (L5) από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 72** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των άδειων κελυφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,1953 g (min=0,152 g και max=0,2297 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,1575g (min=0,0253 g και max=0,2331 g). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο δόσεων στις δύο επαναλήψεις.

**Πίνακας 73:** Βάρος άδειου κελύφους Μάρτυρα για την ομάδα 1% w/v για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 1%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - Μάρτυρας	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	0,2023	0,2021
2	0,2272	0,2118
3	0,1992	0,1999
4	0,2098	0,21
5	0,169	0,178
6	0,2125	0,2045
7	0,2451	0,2558
8	0,202	0,1923
9	0,2544	0,2588
10	0,1927	0,1937
11	0,2087	0,2044
M.O.	0,2112 <sup>a*</sup>	0,2101 <sup>a</sup>
s	0,02	0,03
CV%	9,47	14,28
t, p	t=0,445, p=0,666 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης της ομάδας του Μάρτυρα με εμφύσηση των μορεόφυλλων σε νερό σύμφωνα με τον **Πίνακα 73** προκύπτει ότι στην ομάδα για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των άδειων κελυφών των βομβυκίων. Ειδικότερα, για την ομάδα της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών είναι 0,2112 g (min=0,169 g και max=0,2544g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,2101 g (min=0,178 g και max=0,2588 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 74:** Βάρος άδειου κελύφους Μάρτυρα για την ομάδα 2% w/v για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

ΔΟΣΗ 2%	Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - Μάρτυρας	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
α/α		
1	0,2121	0,2123
2	0,2131	0,1997
3	0,1776	0,1883
4	0,1988	0,1938
5	0,1998	0,2028
6	0,2138	0,2231
7	0,2546	0,263
8	0,2009	0,21
9	0,2102	0,2077
10	0,1931	0,1944
11	0,1548	0,1688
M.O.	0,2026 <sup>a*</sup>	0,2058 <sup>a</sup>
s	0,02	0,02
CV%	9,87	9,72
t, p	t=-1,303, p=0,222* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης της ομάδας του Μάρτυρα με εμφύσηση των μορεόφυλλων σε νερό σύμφωνα με τον **Πίνακα 74** προκύπτει ότι στην ομάδα για τη

δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των άδειων κελυφών των βομβυκίων. Ειδικότερα, για την ομάδα της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους άδειων κελυφών είναι 0,2026 g (min=0,1548 g και max=0,2546), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,2058 g (min=0,1688 g και max=0,2231 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 75:** Βάρος άδειου κελύφους του Μάρτυρα για τις ομάδες των 1% w/v και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	<b>Χαρακτηριστικό - Βάρος κελύφους (χωρίς τη νύμφη) - Μάρτυρας</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	0,2023	0,2121
2	0,2272	0,2131
3	0,1992	0,1776
4	0,2098	0,1988
5	0,169	0,1998
6	0,2125	0,2138
7	0,2451	0,2546
8	0,202	0,2009
9	0,2544	0,2102
10	0,1927	0,1931
11	0,2087	0,1548
12	0,2021	0,2123
13	0,2118	0,1997
14	0,1999	0,1883
15	0,21	0,1938
16	0,178	0,2028
17	0,2045	0,2231
18	0,2558	0,263
19	0,1923	0,21
20	0,2588	0,2077
21	0,1937	0,1944
22	0,2044	0,1688
M.O.	0,2106 <sup>a*</sup>	0,2042 <sup>a</sup>
s	0,02	0,02
CV%	9,50	9,79
t, p	t=1,277, p=0,216 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 75** παρουσιάζονται τα βάρη των άδειων κελυφών από την έναρξη μεταχείρισης με εμφύσηση μορεόφυλλων σε νερό για το Μάρτυρα στις ομάδες 1% & 2% και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για το Μάρτυρα και τις ομάδες στις δόσεις 1% και 2% σύμφωνα με τον **Πίνακα 75** Προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των άδειων κελυφών δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,2106 g (min=0,169 g και max=0,2588 g), ενώ στην ομάδα για τη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,2042g (min=0,1548 g και max=0,2546 g). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των άδειων κελυφών των βομβυκίων μεταξύ των δύο δόσεων στις δύο επαναλήψεις.

## 4.5 Ακμαία

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζεται μέσω φωτογραφικού υλικού (**Εικόνες 94 - 97**) και πινάκων τα αποτελέσματα από διάφορα χαρακτηριστικά που αφορούν το στάδιο του ενήλικου ατόμου που προέκυψε έπειτα από έναρξη χορήγησης τροποποιημένης διατροφής του μεταξοσκώληκα με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις.

### 4.5.1 Μορφολογία ακμαίων

Τα ακμαία που εξήλθαν από τα βομβύκια, έπειτα από σίτιση με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις δόσεις 1% και 2% w/v, αναφορικά με την εξωτερική τους μορφολογία παρουσίασαν τροποποιήσεις που απέκλιναν από το φυσιολογικό (Μάρτυρας). Αξίζει να σημειωθεί ότι όταν η χορήγηση της τροποποιημένης διατροφής ξεκίνησε από την L2 οι προνύμφες δεν ήταν ικανές να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία σε καμία από τις δύο δόσεις. Επιπλέον, στην L3 μόνο στη δόση 1% οι προνύμφες κατάφεραν να νυμφωθούν και να προκύψουν ενήλικα άτομα.

Ειδικότερα, στην περίπτωση του Μάρτυρα (**Εικόνα 94**) τόσο τα θηλυκά όσο και τα αρσενικά άτομα διέθεταν το χαρακτηριστικό χρώμα (λευκό – ανοικτό μπεζ) του υβριδίου, κανονικά σχηματισμένες πτέρυγες και κεραίες καθώς και ομοιόμορφα κατανεμημένο «τρίχωμα» (λέπια) στο σώμα. Επιπλέον, τα ακμαία άτομα της ομάδας του Μάρτυρα παρουσίασαν μια «φυσιολογική» συμπεριφορά του είδους και συγκεκριμένα πραγματοποιούσαν κανονική βάδιση, ενώ τα αρσενικά άτομα χτυπούσαν τις πτέρυγες τους δημιουργώντας «θόρυβο» στην παρουσία θηλυκών για σύζευξη.

Αντιθέτως, στις προνύμφες που χορηγήθηκε η διατροφή με την προσθήκη  $Fe_3O_4$  NPs (**Εικόνες 95-97**) τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά παρουσίασαν ένα πιο σκούρο χρώμα σώματος (κιτρινωπό - μπεζ), όχι καλοσχηματισμένες πτέρυγες με δημιουργία εγχοπών στις κορυφές ή/και «τσαλακωμένες», μικρότερες κεραίες και έλλειψη ομοιόμορφα κατανεμημένου «τριχώματος» στο σώμα. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συμπεριφορά των ακμαίων ατόμων που είχαν προέλθει από τροποποιημένη διατροφή με  $Fe_3O_4$  NPs παρέκκλιε από τη φυσιολογική και συγκεκριμένα πολλά άτομα αδυνατούσαν να βαδίσουν κανονικά (αργή βάδιση), έγερναν μέρος του σώματός τους από τη μία πλευρά (πιθανό λόγω και των κακοσχηματισμένων πτερύγων τους) και τα αρσενικά δεν χτυπούσαν τις πτέρυγές τους τόσο δυνατά και ρυθμικά για σύζευξη σε σύγκριση με τα άτομα από την ομάδα του Μάρτυρα.

Η προσθήκη των  $Fe_3O_4$  NPs μπορεί να επηρέασε τη φυσιολογία των εντόμων με δράση τοξικότητας ιδιαίτερα στην αυξημένη δόση (2% w/v) όπου παρατηρούνται οι περισσότερες εξωτερικά μορφολογικές αποκλίσεις από το Μάρτυρα. Επιπλέον, η έναρξη χορήγησης τροποποιημένης σίτισης με  $Fe_3O_4$  NPs από τις νεαρές προνυμφικές ηλικίες (L2, L3) φαίνεται ότι διαθέτει μεγαλύτερη επίδραση με αποτέλεσμα μεγάλη θνησιμότητα των προνυμφών και μη ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου.



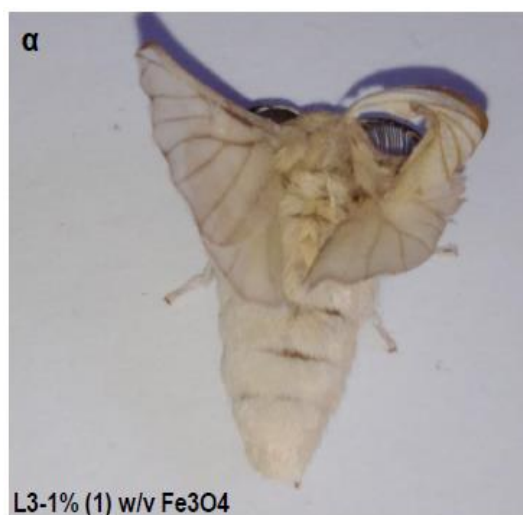
**Εικόνα 94:** Ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα από την ομάδα του Μάρτυρα.



**Εικόνα 95:** Ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα από την ομάδα L5 α) στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, γ) στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, δ) στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 96:** Ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα από την ομάδα L4 α) στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, γ) στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, δ) στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



**Εικόνα 97:** Ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα από την ομάδα L3 α) στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και β) στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.



#### 4.5.2 Βάρος ακμαίων

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζονται τα βάρη των ακμαίων μεταξοσκώληκα μέσω της χρήσης πινάκων (**Πίνακες 76-82**) έπειτα από έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή τους Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις. Επιπλέον, ακολουθούν παρατηρήσεις που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

**Πίνακας 76:** Βάρος ακμαίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Βάρος ακμαίων L3	
	1%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,0442	0,0421
2	0,0909	0,0833
3	0,1628	0,1121
4	0,0481	0,0644
5		0,0442
M.O.	0,0865 <sup>a*</sup>	0,0692 <sup>a</sup>
s	0,06	0,03
CV%	69,36	43,35
t, p	t=0,609 , p=0,562 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 76** προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των ακμαίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους ακμαίων είναι 0,0865 g (min=0,0442 g και max=0,1628g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,0692 g (min=0,0421 g και max=0,1121 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αξίζει να σημειωθεί, πως με την προσθήκη της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

NPs στη διατροφή των προνυμφών από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) καμία προνύμφη δεν κατάφερε να ολοκληρώσει το βιολογικό της κύκλο και συνεπώς δεν προέκυψαν ακμαία άτομα για στατιστική επεξεργασία.

**Πίνακας 77:** Βάρος ακμαίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 με τις συγκεντρώσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βάρος ακμαίων L4			
	1%		2%	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,1782	0,1669	0,1663	0,167
2	0,1661	0,1738	0,1898	0,188
3	0,1601	0,16	0,1533	0,1601
4	0,1536	0,1559	0,15	0,1522
5	0,1772	0,1428	0,1349	
M.O.	0,167 <sup>a*</sup>	0,1599 <sup>a</sup>	0,1589 <sup>a</sup>	0,1668 <sup>a</sup>
s	0,01	0,01	0,02	0,02
CV%	5,99	6,25	12,59	11,99
t, p	t=0,957, p=0,393 <sup>*1</sup>		t=-0,641, p=0,542 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 77** προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των ακμαίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους ακμαίων είναι 0,167 g (min=0,1536 g και max=0,1782g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,1599 g (min=0,1428 g και max=0,1738 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των ακμαίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους ακμαίων είναι 0,1589 g (min=0,1349 g και max=0,1898g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,1668 g (min=0,1522 g και max=0,188 g) και σύμφωνα με την

ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 78:** Βάρος ακμαίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 με τις συγκεντρώσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βάρος ακμαίων L5			
	1%		2%	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,1833	0,1799	0,1893	0,1933
2	0,2675	0,2376	0,1699	0,1778
3	0,1682	0,1988	0,1987	0,1922
4	0,4727	0,2101	0,1783	0,1936
5	0,2639	0,2082	0,1822	
M.O.	0,2711 <sup>a*</sup>	0,2069 <sup>a</sup>	0,1837 <sup>a</sup>	0,1892 <sup>a</sup>
s	0,12	0,02	0,01	0,01
CV%	44,26	9,67	5,44	5,29
t, p	t=1,244, p=0,282 <sup>*1</sup>		t=-0,856, p=0,421 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 78** προκύπτει ότι στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των ακμαίων. Ειδικότερα, για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους ακμαίων είναι 0,2711 g (min=0,1682 g και max=0,4727g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,2069 g (min=0,1799 g και max=0,2376 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των ακμαίων. Ειδικότερα, για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους ακμαίων είναι 0,1837 g (min=0,1699 g και max=0,1987g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,1892 g (min=0,1778 g και max=0,1936 g) και σύμφωνα με την

ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 79:** Βάρος ακμαίων του Μάρτυρα για τις ομάδες 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Βάρος ακμαίων Μάρτυρα			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0,188	0,199	0,2013	0,2101
2	0,1883	0,1788	0,2818	0,2933
3	0,289	0,2378	0,2176	0,2376
4	0,255	0,2555	0,1881	0,2287
5	0,487	0,1889	0,2233	0,2163
6	0,1341	0,1771	0,1999	0,1966
M.O.	0,2569 <sup>a*</sup>	0,2062 <sup>a</sup>	0,2187 <sup>a</sup>	0,2304 <sup>a</sup>
s	0,13	0,03	0,03	0,03
CV%	50,6	14,55	13,72	13,02
t, p	t=0,994, p=0,366 <sup>*1</sup>		t=-1,671, p=0,156 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη και αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης του Μάρτυρα με τη μέθοδο της εμβάπτισης των μορεόφυλλων σε νερό για τις ομάδες 1% και 2% σύμφωνα με τον **Πίνακα 79** προκύπτει ότι στην ομάδα για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των ακμαίων. Ειδικότερα, για την ομάδα της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους ακμαίων είναι 0,2569 g (min=0,1341 g και max=0,487g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,2062 g (min=0,1771 g και max=0,2555 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Αντίστοιχα, στην ομάδα για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σύγκριση μεταξύ 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> επανάληψης δεν υπάρχουν διαφορές μεταξύ του μέσου όρου του βάρους των ακμαίων. Ειδικότερα, για την ομάδα της δόσης 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην 1<sup>η</sup> επανάληψη ο μέσος όρος βάρους ακμαίων είναι 0,2187 g (min=0,1881 g και max=0,2818g), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι 0,2304 g

(min=0,1966 g και max=0,2933 g) και σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

**Πίνακας 80:** Βάρος ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Μάρτυρας).

α/α	Βάρος ακμαίων					
	L4		L5		Μάρτυρας	
	1%	2%	1%	2%	1%	2%
1	0,1782	0,1663	0,1833	0,1893	0,188	0,2013
2	0,1661	0,1898	0,2675	0,1699	0,1883	0,2818
3	0,1601	0,1533	0,1682	0,1987	0,289	0,2176
4	0,1536	0,15	0,4727	0,1783	0,255	0,1881
5	0,1772	0,1349	0,2639	0,1822	0,487	0,2233
6	0,1669	0,167	0,1799	0,1933	0,1341	0,1999
7	0,1738	0,188	0,2376	0,1778	0,199	0,2101
8	0,16	0,1601	0,1988	0,1922	0,1788	0,2933
9	0,1559	0,1522	0,2101	0,1936	0,2378	0,2376
10	0,1428		0,2082		0,2555	0,2287
11					0,1889	0,2163
12					0,1771	0,1966
M.O.	0,1635 <sup>a*</sup>	0,1624 <sup>a</sup>	0,2390 <sup>a</sup>	0,1861 <sup>a</sup>	0,2315 <sup>a</sup>	0,2246 <sup>a</sup>
s	0,01	0,02	0,09	0,01	0,09	0,03
CV%	6,12	12,32	37,66	5,37	38,88	13,36
t, p	t=0,157, p=0,877* <sup>1</sup>		t=1,771, p=0,094* <sup>1</sup>		t=0,246, p=0,810* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 80** παρουσιάζονται τα βάρη των ακμαίων από την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τις ηλικίες L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 80** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,1635 g (min=0,1428 g και max=0,1782 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,1624 g (min=0,1349 g και max=0,1898 g).

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι ο μέσος όρος βάρους των ακμαίων, δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 80** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,2390 g (min=0,1682 g και max=0,2675g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,1861 g (min=0,1699 g και max=0,1987 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 80** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του βάρους των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος βάρους είναι 0,2315 g (min=0,1341 g και max=0,487 g), ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 0,2246 g (min=0,1881 g και max=0,2933 g). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το βάρος των ακμαίων μεταξύ των δύο επαναλήψεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει πως το βάρος των ακμαίων από την έναρξη τροποποιημένης σίτισης της 4<sup>ης</sup> και 5<sup>ης</sup> προνυμφικής ηλικίας (L4, L5) καθώς και της ομάδας του Μάρτυρα, με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs δεν διαφέρει στατιστικά μεταξύ των δύο διαφορετικών δόσεων (1% και 2% w/v) στις δύο επαναλήψεις.

**Πίνακας 81:** Βάρος ακμαίων (g) στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (F<sub>2,29</sub>=3,137).

	<b>Βάρος ακμαίων (μεταχείριση 1%)</b>		
<b>α/α</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	0,1782	0,1833	0,188
2	0,1661	0,2675	0,1883
3	0,1601	0,1682	0,289
4	0,1536	0,4727	0,255
5	0,1772	0,2639	0,487
6	0,1669	0,1799	0,1341
7	0,1738	0,2376	0,199
8	0,16	0,1988	0,1788
9	0,1559	0,2101	0,2378
10	0,1428	0,2082	0,2555
11			0,1889
12			0,1771

M.O.	0,1635 <sup>a</sup>	0,239 <sup>b</sup>	0,2315 <sup>b</sup>
s	0,01	0,09	0,09
CV%	6,12	37,66	38,88

Ο Πίνακας 81 παρουσιάζει το βάρος των ακμαίων (g) στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των ακμαίων για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,1635 g και φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά συγκριτικά με την L5 που είναι 0,239 g. Ειδικότερα, η τροποποιημένη σίτιση από την ηλικία L4 οδηγεί σε ακμαία άτομα με μειωμένο βάρος συγκριτικά με την μεγαλύτερη ηλικία (L5) καθώς και τον Μάρτυρα (0,2315 g) που παρουσιάζουν ακμαία με μεγαλύτερο μέσο όρο βάρους στη δόση 1% w/v.

**Πίνακας 82:** Βάρος ακμαίων (g) στη δόση 2% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,27}=18,611$ ).

α/α	Βάρος ακμαίων (μεταχείριση 2%)		
	L4	L5	Μάρτυρας
1	0,1663	0,1893	0,2013
2	0,1898	0,1699	0,2818
3	0,1533	0,1987	0,2176
4	0,15	0,1783	0,1881
5	0,1349	0,1822	0,2233
6	0,167	0,1933	0,1999
7	0,188	0,1778	0,2101
8	0,1601	0,1922	0,2933
9	0,1522	0,1936	0,2376
10			0,2287
11			0,2163
12			0,1966
M.O.	0,1624 <sup>a</sup>	0,1861 <sup>b</sup>	0,2246 <sup>c</sup>
s	0,02	0,01	0,03
CV%	12,32	5,37	13,36

Ο Πίνακας 82 παρουσιάζει το βάρος των ακμαίων (g) στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Το βάρος των ακμαίων για έναρξη σίτισης από την L4 είναι κατά μέσο όρο 0,1624 g και φαίνεται να παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά τόσο με την L5 (0,1861 g), όσο και με το Μάρτυρα (0,2246 g). Ειδικότερα, φαίνεται ότι στη δόση 2% w/v το βάρος των ακμαίων επηρεάζεται από την τροποποιημένη σίτιση και παρατηρείται αύξηση του βάρους ανάλογα με την αύξηση της προνομφικής ηλικίας

που πραγματοποιείται η μεταχείριση. Αντίθετα, ο Μάρτυρας παρουσιάζει το μεγαλύτερο βάρος στα ακμαία άτομα σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες.

Σύμφωνα με τους Πίνακες 81 & 82 παρατηρείται ότι η προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών μεταξοσκώληκα από την ηλικία L4 και έπειτα φαίνεται να επηρεάζει το βάρος των ακμαίων που θα προκύψουν. Ειδικότερα, τόσο στη δόση 1% όσο και στη 2% w/v, η L4 φαίνεται να επηρεάζεται περισσότερο καθώς διαθέτει ακμαία άτομα με το μικρότερο μέσο όρο βάρους και στις δύο περιπτώσεις. Στην αυξημένη δόση 2% w/v παρατηρείται επίσης διαφορά στο βάρος των ακμαίων το οποίο αυξάνεται με την αύξηση της ηλικίας της προνύμφης που χορηγείται η τροποποιημένη σίτιση. Ο Μάρτυρας παρουσιάζει το μεγαλύτερο βάρος στα ακμαία σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες στη μεταχείριση 2% w/v.

#### 4.5.3 Ποσοστό (%) επιβίωσης ακμαίων

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται με τη χρήση πινάκων (Πίνακες 83-84) το ποσοστό (%) επιβίωσης των ακμαίων ατόμων μεταξοσκώληκα που προέκυψαν έπειτα από χορήγηση στη διατροφή τους Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) στις διαφορετικές επαναλήψεις. Ειδικότερα, για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό έχουν πραγματοποιηθεί δύο στατιστικές προσεγγίσεις (paired t-test & one-way Anova) και ακολουθεί κείμενο αναφορικά με τις παρατηρήσεις που προκύπτουν από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

**Πίνακας 83:** Ποσοστό (%) επιβίωσης ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Μάρτυρας).

Ποσοστό % επιβίωσης ακμαίων	1%		2%	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L4</b>	83,3	100	100	100
M.O.	91,65 <sup>a*</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	11,81		-	
CV%	12,89		-	
t, p	t=-1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	83,3	100	100	100



M.O.	91,65 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	11,81		-	
CV%	12,89		-	
t, p	t=-1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	85,7	100	100	100
M.O.	92,85 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	10,11		-	
CV%	10,89		-	
t, p	t=-1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 83** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) επιβίωσης των ακμαίων από τις ηλικίες L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% & 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις ανά δόση, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 83** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 91,65%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 100%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των ακμαίων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 83** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 91,65%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 100%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το

ποσοστό (%) επιβίωσης των ακμαίων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία μεταξύ των δύο δόσεων.

Για τη μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 83** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) επιβίωσης των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ποσοστού επιβίωσης είναι 92,85%, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 100%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των ακμαίων στις ομάδες του Μάρτυρα μεταξύ των δύο δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται η επιβίωσή τους και συνεπώς η μεταμόρφωση σε ακμαία, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις 1% και 2% w/v. Συνεπώς, η επιβίωση των ακμαίων είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 84:** Ποσοστό (%) επιβίωσης ακμαίων και στατιστικά αποτελέσματα για όλες τις ομάδες (L3 – Μάρτυρας) στη δόση 1% w/v ( $F_{3,4}=1,166$ ).

	Ποσοστό % επιβίωσης ακμαίων							
	L3		L4		L5		Μάρτυρας	
Δόση	1%		1%		1%		1%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	66,6	100	83,3	100	83,3	100	85,7	100
M.O.	83,3 <sup>a*</sup>		91,65 <sup>a</sup>		91,65 <sup>a</sup>		92,85 <sup>a</sup>	

\*Τα διαφορετικά λατινικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων.

Ο Πίνακας 84 παρουσιάζει το ποσοστό (%) επιβίωσης των ακμαίων για τις ομάδες (L3-L5 και το Μάρτυρα) καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Με εξαίρεση την L2 όπου οι προνύμφες δεν κατάφεραν να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωση ώστε να προκύψουν ακμαία άτομα σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις. Για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs το ποσοστό επιβίωσης για την L3 είναι κατά μέσο όρο 83,3% και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης, φτάνοντας στο 91,65% για την L4 και

L5, χωρίς όμως να παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αυτών. Επιπλέον, ο Μάρτυρας παρουσιάζει ποσοστό επιβίωσης ακμαίων ίσο με 92,85%.

Επομένως, με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι η δόση 1% w/v δεν επηρεάζει το μέσο όρο της επιβίωσης των ακμαίων όταν η ηλικία έναρξης σίτισης με τροποποιημένη διατροφή (συμπεριλαμβανομένου του Μάρτυρα) ξεκινάει από την 3η προνυμφική ηλικία. Αξίζει να σημειωθεί ότι στη δόση 2% w/v ο μέσος όρος της επιβίωσης των ακμαίων ήταν 100% για τις ηλικίες L4, L5 καθώς και της ομάδας του Μάρτυρα και γι' αυτό δεν μπορούσε να πραγματοποιηθεί αντίστοιχη στατιστική επεξεργασία.

Συνεπώς παρατηρείται ότι στην L2 και στις δύο δόσεις οι προνύμφες δεν κατάφεραν να εξελιχθούν σε ακμαία, καθώς αντίστοιχα και στην L3 στη δόση 2%. Παρ' όλα αυτά, αν η έναρξη της τροποποιημένης σίτισης πραγματοποιηθεί σε μεγαλύτερες προνυμφικές ηλικίες (L4, L5) τότε δεν υπάρχει διαφορά στο ποσοστό (%) επιβίωσης των ακμαίων ατόμων που προκύπτουν.

#### **4.5.4 Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου ακμαίων**

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται το ποσοστό (%) καθορισμού του φύλου των ακμαίων ατόμων μεταξοσκώληκα (**Πίνακες 85-88**) έπειτα από έναρξη μεταχείρισης με τροποποιημένη διατροφή με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις. Ειδικότερα οι πίνακες έχουν χωριστεί αρχικά με βάση τη σύγκριση μεταξύ των δύο διαφορετικών φύλων (♂-♀) στις ίδιες δόσεις (**Πίνακες 85 & 86**) και έπειτα με σύγκριση των ίδιων φύλων (♂-♂, ♀-♀) σε διαφορετική δόση (**Πίνακες 87 & 88**). Επιπλέον, υπάρχουν παρατηρήσεις που προκύπτουν από τη στατιστική επεξεργασία των δεδομένων.

**Πίνακας 85:** Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στη δόση 1% στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % καθορισμού φύλου	1%		1%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L2</b>	-	-	-	-
<b>L3</b>	75	60	25	40
M.O.	67,5 <sup>a*</sup>		32,5 <sup>a</sup>	
s	10,61		10,61	
CV%	15,72		32,65	
t, p	t=2,333, p=0,258* <sup>1</sup>			
<b>L4</b>	40	60	60	40
M.O.	50 <sup>a</sup>		50 <sup>a</sup>	
s	14,14		14,14	
CV%	28,28		28,28	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	60	60	40	40
M.O.	60 <sup>a</sup>		40 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	50	50	50	50
M.O.	50 <sup>a</sup>		50 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 85** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 85** παρατηρείται ότι

οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v δεν κατάφεραν να νυμφωθούν. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτή την ομάδα.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 85** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 67,5% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 32,5% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 3<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 1% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 85** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 50% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 1% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 85** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 60% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 40% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 1% w/v.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 85** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις για την ομάδα της δόσης 1%. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 50% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία για την ομάδα του Μάρτυρα στη δόση 1%.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) δεν επηρεάζεται ο φυλοκαθορισμός στα ακμαία, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Συνεπώς, ο καθορισμός του φύλου είναι ανεξάρτητος από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 86:** Ποσοστό (%) καθορισμού φύλου ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στη δόση 2% στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % καθορισμού φύλου	2%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L2</b>	-	-	-	-
<b>L3</b>	-	-	-	-
<b>L4</b>	60	75	40	25
M.O.	67,5 <sup>a*</sup>		32,5 <sup>a</sup>	
s	10,61		10,61	
CV%	15,72		32,65	
t, p	t=2,333, p=0,258* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	40	50	60	50
M.O.	45 <sup>a</sup>		55 <sup>a</sup>	
s	7,07		7,07	
CV%	15,71		12,85	
t, p	t=-1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	50	66	50	34
M.O.	58 <sup>a</sup>		42 <sup>a</sup>	
s	11,31		11,31	
CV%	19,5		26,93	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 86** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> (L2) και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 86** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν κατάφεραν να νυμφωθούν και να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 86** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 2% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 2% w/v ανέρχονται σε 67,5% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 32,5% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 2% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 86** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις στη δόση 2% w/v. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 2% w/v ανέρχονται σε 45% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 55% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στη δόση 2% w/v.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 86** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) καθορισμού φύλου των ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις για την ομάδα της δόσης 2%. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 2% w/v ανέρχονται σε 58% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 42% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) καθορισμού φύλου στα ακμαία για την ομάδα του Μάρτυρα στη δόση 2%.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται ο



φυλοκαθορισμός στα ακμαία, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v. Συνεπώς, ο καθορισμός του φύλου των ακμαίων είναι ανεξάρτητος από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 87:** Ποσοστό (%) αρσενικών ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

Ποσοστό % - Αρσενικά	1%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΑΡΣΕΝΙΚΑ	
ΦΥΛΟ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΑΡΣΕΝΙΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
L2	-	-	-	-
L3	-	-	-	-
L4	40	60	60	75
M.O.	50 <sup>a*</sup>		67,5 <sup>a</sup>	
s	14,14		10,61	
CV%	28,28		15,72	
	t=-7,000, p=0,090* <sup>1</sup>			
L5	60	60	40	50
M.O.	60 <sup>a</sup>		45 <sup>a</sup>	
s	-		7,07	
CV%	-		15,71	
	t=3,000, p=0,205* <sup>1</sup>			
Μάρτυρας	50	50	50	66
M.O.	50 <sup>a</sup>		58 <sup>a</sup>	
s	-		11,31	
CV%	-		19,5	
	t=-1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 87** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) αρσενικών ακμαίων από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> (L2) και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 87**

παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν κατάφεραν να νυμφωθούν και να ολοκληρώσουν την μεταμόρφωσή τους. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 87** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) αρσενικών ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 67,5% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) αρσενικών ακμαίων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 87** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) αρσενικών ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 60% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 45% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) αρσενικών ακμαίων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 87** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) αρσενικών ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα για την ομάδα της δόσης 2% w/v σε 58% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) αρσενικών ακμαίων για το Μάρτυρα σε καμία από τις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται το ποσοστό αρσενικών ατόμων που προκύπτουν, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις. Συνεπώς, ο καθορισμός του φύλου για τα αρσενικά άτομα είναι ανεξάρτητος από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs.

**Πίνακας 88:** Ποσοστό (%) θηλυκών ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας).

Ποσοστό % - Θηλυκά	1%		2%	
	ΘΗΛΥΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L2</b>	-	-	-	-
<b>L3</b>	-	-	-	-
<b>L4</b>	60	40	40	25
M.O.	50 <sup>a*</sup>		32,5 <sup>a</sup>	
s	14,14		10,61	
CV%	28,28		32,65	
t, p	t=7,000, p=0,090* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	40	40	60	50
M.O.	40 <sup>a</sup>		55 <sup>a</sup>	
s	-		7,07	
CV%	-		12,85	
t, p	t=-3,000, p=0,205* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	50	50	50	34
M.O.	50 <sup>a</sup>		42 <sup>a</sup>	
s	-		11,31	
CV%	-		26,93	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 88** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) θηλυκών ακμαίων από τις ηλικίες L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> (L2) και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 88** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν κατάφεραν να νυμφωθούν και να ολοκληρώσουν την μεταμόρφωσή τους. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 88** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) θηλυκών ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα θηλυκά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 32,5% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) θηλυκών ακμαίων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 88** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) θηλυκών ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τα θηλυκά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 40% και αντίστοιχα στη δόση 2% w/v σε 55% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) θηλυκών ακμαίων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 88** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) θηλυκών ακμαίων δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων. Ειδικότερα, τα θηλυκά άτομα στην ομάδα για τη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 50% και αντίστοιχα για την ομάδα της δόσης 2% w/v σε 42% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) θηλυκών ακμαίων για το Μάρτυρα σε καμία από τις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται το ποσοστό θηλυκών ατόμων που προκύπτουν, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις. Συνεπώς, ο καθορισμός του φύλου για τα θηλυκά άτομα είναι ανεξάρτητος από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs.

#### 4.5.5 Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται με τη χρήση πινάκων (**Πίνακες 89-101**) η βιωσιμότητα των ακμαίων ατόμων μεταξοσκώληκα, δηλαδή το χρονικό διάστημα σε

ημέρες που έζησαν μετά την έξοδο από το βομβύκιο, έπειτα από χρήση τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο δόσεις (1% και 2%) και διαφορετικές επαναλήψεις. Ειδικότερα, έχει πραγματοποιηθεί στατιστική επεξεργασία (paired t-test) ανάλογα με την προνυμφική ηλικία έναρξης τροποποιημένης διατροφής και δόσης και σύγκριση μεταξύ των δύο διαφορετικών φύλων (♂-♀). Επιπλέον, ακολουθεί κείμενο σχετικά με τις παρατηρήσεις από τα αποτελέσματα της στατιστικής επεξεργασίας.

**Πίνακας 89:** Βιωσιμότητα ακμαίων αρσενικών και θηλυκών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βιωσιμότητα (αριθμός ημερών)-L3	
	1%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ
1	5	8
2	5	8
3	6	7
4	5	
5	6	
6	5	
M.O.	5,33 <sup>a*</sup>	7,67 <sup>b</sup>
s	0,52	0,58
CV%	9,76	7,56
t, p	t=-6,173, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Σύμφωνα με τον **Πίνακα 89**, για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3), προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 5,33 ημέρες (min=5 ημέρες και max=6 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 7,67 ημέρες (min=7 ημέρες και max=8 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 1% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά. Αναφορικά με τη δόση 2% w/v παρατηρείται ότι οι

προνύμφες δεν κατάφεραν να νυμφωθούν και να ολοκληρώσουν την μεταμόρφωσή τους. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτή τη δόση.

**Πίνακας 90:** Βιωσιμότητα ακμαίων αρσενικών και θηλυκών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βιωσιμότητα (αριθμός ημερών)-L4			
	1%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ
1	7	8	6	8
2	7	8	5	8
3	6	7	6	8
4	6	8	6	
5	7	9	6	
6			5	
M.O.	6,6 <sup>a*</sup>	8 <sup>b</sup>	5,67 <sup>a</sup>	8 <sup>b</sup>
s	0,55	0,71	0,52	0,00
CV%	8,33	8,88	9,17	0
t, p	t=-5,715, p=0,005* <sup>1</sup>		t=-7,561, p<0,001* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 90** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,6 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 8 ημέρες (min=7 ημέρες και max=9 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 1% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά. Αντίστοιχα στη δόση 2% w/v παρατηρείται ότι στα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 5,67 ημέρες (min=5 ημέρες και max=6 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 8 ημέρες. Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 2% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά.

**Πίνακας 91:** Βιωσιμότητα ακμαίων αρσενικών και θηλυκών από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βιωσιμότητα (αριθμός ημερών)-L5			
	1%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ
1	6	9	6	8
2	7	10	7	8
3	7	8	6	9
4	6	10	6	8
5	7			8
6	7			
M.O.	6,67 <sup>a*</sup>	9,25 <sup>b</sup>	6,25 <sup>a</sup>	8,2 <sup>b</sup>
s	0,52	0,96	0,50	0,45
CV%	7,80	10,38	8,00	5,49
t, p	t=-5,602, p=0,001 <sup>*1</sup>		t=-6,177, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 91** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,67 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 9,25 ημέρες (min=8 ημέρες και max=10 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 1% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά. Αντίστοιχα στη δόση 2% w/v παρατηρείται ότι στα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,25 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 8,2 ημέρες (min=8 ημέρες και max=9 ημέρες) . Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 2% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά.

**Πίνακας 92:** Βιωσιμότητα ακμαίων αρσενικών και θηλυκών του Μάρτυρα στις ομάδες για τις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Βιωσιμότητα (αριθμός ημερών)-Μάρτυρας			
	1%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ
1	6	9	6	9
2	7	9	6	8
3	8	10	6	7
4	7	8	6	8
5	7	9	6	9
6	8	9	6	
7			7	
M.O.	7,17 <sup>a*</sup>	9 <sup>b</sup>	6,14 <sup>a</sup>	8,2 <sup>b</sup>
s	0,75	0,63	0,38	0,84
CV%	10,46	7	6,19	10,24
t, p	t=-5,966, p=0,002 <sup>*1</sup>		t=-5,809, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης του Μάρτυρα στις ομάδες για τις δύο διαφορετικές δόσεις και επαναλήψεις σύμφωνα με τον **Πίνακα 92** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 7,17 ημέρες (min=6 ημέρες και max=8 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 9 ημέρες (min=8 ημέρες και max=10 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην ομάδα για τη δόση 1% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά. Αντίστοιχα στην ομάδα για τη δόση 2% w/v παρατηρείται ότι στα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,14 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 8,2 ημέρες (min=7 ημέρες και max=9 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην ομάδα για τη δόση 2% w/v παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά.



**Πίνακας 93:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών αρσενικών και θηλυκών ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Μάρτυρας).

ΔΟΣΗ 1% + 2%	Βιωσιμότητα (αριθμός ημερών)					
	L4		L5		Μάρτυρας	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ
α/α						
1	7	8	6	9	6	9
2	7	8	7	10	7	9
3	6	7	7	8	8	10
4	6	8	6	10	7	8
5	7	9	7	8	7	9
6	6	8	7	8	8	9
7	5	8	6	9	6	9
8	6	8	7	8	6	8
9	6		6	8	6	7
10	6		6		6	8
11	5				6	9
12					6	
13					7	
M.O.	6,09 <sup>a*</sup>	8 <sup>b</sup>	6,5 <sup>a</sup>	8,67 <sup>b</sup>	6,62 <sup>a</sup>	8,64 <sup>b</sup>
s	0,70	0,53	0,53	0,87	0,77	0,81
CV%	11,49	6,63	8,15	10,03	11,63	9,38
t, p	t=-6,445, p<0,001 <sup>*1</sup>		t=-6,669, p<0,001 <sup>*1</sup>		t=-6,269, p<0,001 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 93** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται μεταξύ των δύο φύλων στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,09 ημέρες (min=5 ημέρες και max=7 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 8 ημέρες (min=7 ημέρες και max=9 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά και στις δύο διαφορετικές δόσεις στην L4.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 93** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται μεταξύ των δύο φύλων στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,5 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 8,67 ημέρες (min=8 ημέρες και max=10 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά και στις δύο διαφορετικές δόσεις στην L5.

Για την έναρξη μεταχείρισης του Μάρτυρα στις ομάδες για τις δύο διαφορετικές δόσεις σύμφωνα με τον **Πίνακα 93** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται μεταξύ των δύο φύλων στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,62 ημέρες (min=6 ημέρες και max=8 ημέρες), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 8,64 ημέρες (min=7 ημέρες και max=10 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά και στις δύο διαφορετικές ομάδες των δόσεων στο Μάρτυρα.

Από τα ανωτέρω, προκύπτει ότι με την έναρξη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στις μικρότερες προνυμφικές ηλικίες (L2, L3) οι προνύμφες αδυνατούν να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία. Αντιθέτως, στη μεταχείριση από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) καθώς και στην 5<sup>η</sup> (L5) παρατηρείται διαφορά στη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών μεταξύ των δύο φύλων στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, τόσο στο L4 αλλά και σε μεγαλύτερη ηλικία στο L5 τα θηλυκά ακμαία άτομα φαίνεται να ζουν περισσότερο από τα αντίστοιχα αρσενικά. Το ίδιο παρουσιάζεται και στην

ομάδα του Μάρτυρα. Συνεπώς, η βιωσιμότητα των ακμαίων αναλόγως με το φύλο μπορεί να επηρεαστεί από την τροποποιημένη δίαιτα των προνυμφών ανεξαρτήτως δόσης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, ξεκινώντας από το L4 και έπειτα.

**Πίνακας 94:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών αρσενικών ακμαίων στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (F<sub>3,19</sub>=10,353).

	ΑΡΣΕΝΙΚΑ - 1% w/v			
α/α	L3	L4	L5	Μάρτυρας
1	5	7	6	6
2	5	7	7	7
3	6	6	7	8
4	5	6	6	7
5	6	7	7	7
6	5		7	8
M.O.	5,33 <sup>a</sup>	6,60 <sup>b</sup>	6,67 <sup>b</sup>	7,17 <sup>b</sup>
s	0,52	0,55	0,52	0,75
CV%	9,76	8,33	7,8	10,46

Ο Πίνακας 94 παρουσιάζει τη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών των αρσενικών ακμαίων στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L3 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για την έναρξη της μεταχείρισης με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη δόση 1% w/v από την L3 παρατηρείται ότι τα αρσενικά άτομα έζησαν κατά μέσο όρο 5,33 ημέρες που είναι στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες. Ειδικότερα, τόσο στην L4 όσο και στην L5 παρατηρείται ότι τα αρσενικά άτομα έζησαν περισσότερες ημέρες (6,60 και 6,67 ημέρες αντίστοιχα) σε σύγκριση με όσα προέκυψαν από την L3. Επιπλέον, ο Μάρτυρας φαίνεται να διαφέρει στατιστικά από την L3 (7,17 ημέρες), αλλά όχι από τις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5). Συνεπώς, η λήψη τροποποιημένης διατροφής στη δόση 1% w/v φαίνεται να επηρεάζει τη βιωσιμότητα των αρσενικών ακμαίων όταν η έναρξη πραγματοποιείται σε πιο νεαρές προνυμφικές ηλικίες όπως η L3, αλλά όχι στις μεγαλύτερες (L4, L5).

**Πίνακας 95:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών θηλυκών ακμαίων στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{3,14}=4,422$ ).

	<b>ΘΗΛΥΚΑ - 1% w/v</b>			
<b>α/α</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	8	8	9	9
2	8	8	10	9
3	7	7	8	10
4		8	10	8
5		9		9
6				9
M.O.	7,67 <sup>a</sup>	8,0 <sup>ab</sup>	9,25 <sup>c</sup>	9 <sup>bc</sup>
s	0,58	0,71	0,96	0,63
CV%	7,56	8,88	10,38	7

Ο Πίνακας 95 παρουσιάζει τη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών των θηλυκών ακμαίων στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L3 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για την έναρξη της μεταχείρισης με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη δόση 1% w/v από την L3 παρατηρείται ότι τα θηλυκά άτομα έζησαν κατά μέσο όρο 7,67 ημέρες που είναι και ο ελάχιστος αριθμός ημερών με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες. Με την αύξηση της ηλικίας στην L4 η βιωσιμότητα των θηλυκών είναι 8 ημέρες, ενώ στην L5 αυξάνεται στις 9,25 ημέρες και στο Μάρτυρα είναι 9 ημέρες. Συνεπώς, η λήψη τροποποιημένης διατροφής στη δόση 1% w/v φαίνεται να επηρεάζει τη βιωσιμότητα των θηλυκών ακμαίων όταν η έναρξη πραγματοποιείται σε πιο νεαρές προνομφικές ηλικίες όπως η L3, ενώ στην L5 παρατηρείται η μέγιστη βιωσιμότητα.

**Πίνακας 96:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών αρσενικών ακμαίων στη δόση 2% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,14}=2,522$ ).

	<b>ΑΡΣΕΝΙΚΑ - 2% w/v</b>		
<b>α/α</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	6	6	6
2	5	7	6
3	6	6	6
4	6	6	6
5	6		6
6	5		6
7			7
M.O.	5,67 <sup>a</sup>	6,25 <sup>a</sup>	6,14 <sup>a</sup>
s	0,52	0,5	0,38
CV%	9,17	8	6,19

Ο Πίνακας 96 παρουσιάζει τη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών των αρσενικών ακμαίων στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για την έναρξη της μεταχείρισης με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη δόση 2% w/v δεν φαίνεται να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της L4 (5,67 ημέρες) και της L5 (6,25 ημέρες), αλλά ούτε και του Μάρτυρα (6,14 ημέρες). Συνεπώς, η διατροφή μεταξοσκωλήκων με την αυξημένη δόση του 2% w/v φαίνεται να είναι ανεξάρτητη και να μην επηρεάζει τη βιωσιμότητα των αρσενικών ακμαίων στις πειραματικές ομάδες.

**Πίνακας 97:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών θηλυκών ακμαίων στη δόση 2% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,10}=0,128$ ).

	<b>ΘΗΛΥΚΑ - 2% w/v</b>		
<b>α/α</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>Μάρτυρας</b>
1	8	8	9
2	8	8	8
3	8	9	7
4		8	8
5		8	9
M.O.	8,0 <sup>a</sup>	8,2 <sup>a</sup>	8,2 <sup>a</sup>
s	0	0,45	0,84
CV%	0	5,49	10,24

Ο Πίνακας 97 παρουσιάζει τη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών των θηλυκών ακμαίων στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για την έναρξη της μεταχείρισης με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη δόση 2% w/v δεν φαίνεται να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ της L4 (8 ημέρες) και της L5 (8,2 ημέρες), αλλά ούτε και του Μάρτυρα (8,2 ημέρες). Συνεπώς, η διατροφή μεταξοσκωλήκων με την αυξημένη δόση του 2% w/v φαίνεται να είναι ανεξάρτητη και να μην επηρεάζει τη βιωσιμότητα των θηλυκών ακμαίων στις πειραματικές ομάδες.

**Πίνακας 98:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών αρσενικών ακμαίων από την έναρξη της μεταχείρισης στην L4 στις δόσεις 1% και 2% w/v.

	<b>ΑΡΣΕΝΙΚΑ - L4</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	7	6
2	7	5
3	6	6
4	6	6
5	7	6
6		5
M.O.	6,6 <sup>a</sup>	5,67 <sup>b</sup>
s	0,55	0,52
CV%	8,33	9,17
t, p	t=2,905, p=0,017* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον Πίνακα 98 προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά άτομα διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,6 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες) στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 5,67 ημέρες (min=5 ημέρες και max=6 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα αρσενικά άτομα στη δόση 1% σε σύγκριση με τα

αντίστοιχα άτομα από τη δόση 2% w/v με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L4.

**Πίνακας 99:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών αρσενικών ακμαίων από την έναρξη της μεταχείρισης στην L5 στις δόσεις 1% και 2% w/v.

	<b>ΑΡΣΕΝΙΚΑ - L5</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	6	6
2	7	7
3	7	6
4	6	6
5	7	
6	7	
M.O.	6,67 <sup>a</sup>	6,25 <sup>a</sup>
s	0,52	0,5
CV%	7,8	8
t, p	t=1,265, p=0,242 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 99** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία αρσενικά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 6,67 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες) στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 6,25 ημέρες (min=6 ημέρες και max=7 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα αρσενικά άτομα στη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L5.

**Πίνακας 100:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών θηλυκών ακμαίων από την έναρξη της μεταχείρισης στην L4 στις δόσεις 1% και 2% w/v.

<b>ΘΗΛΥΚΑ - L4</b>		
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	8	8
2	8	8
3	7	8
4	8	
5	9	
M.O.	8,0 <sup>a</sup>	8,0 <sup>a</sup>
s	0,71	0
CV%	8,88	0
t, p	t=0, p=1,000 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 100** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα θηλυκά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 8 ημέρες (min=7 ημέρες και max=9 ημέρες) στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 8 ημέρες. Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα στη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L4.



**Πίνακας 101:** Βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών θηλυκών ακμαίων από την έναρξη της μεταχείρισης στην L5 στις δόσεις 1% και 2% w/v.

α/α	ΘΗΛΥΚΑ - L5	
	1%	2%
1	9	8
2	10	8
3	8	9
4	10	8
5		8
M.O.	9,25 <sup>a</sup>	8,2 <sup>a</sup>
s	0,96	0,45
CV%	10,38	5,49
t, p	t=2,024, p=0,112 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 101** προκύπτει ότι ο μέσος όρος της βιωσιμότητας σε αριθμό ημερών στα ακμαία θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα θηλυκά ο μέσος όρος βιωσιμότητας είναι 9,25 ημέρες (min=8 ημέρες και max=10 ημέρες) στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 8,2 ημέρες (min=8 ημέρες και max=9 ημέρες). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στη βιωσιμότητα σε αριθμό ημερών στα θηλυκά άτομα στη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L5.

#### 4.5.6 Ποσοστό (%) συζεύξεων ακμαίων

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται με τη χρήση πινάκων (**Πίνακες 102-112**) το ποσοστό (%) των συζεύξεων που πραγματοποίησαν τα ακμαία άτομα (♂-♀) μεταξοσκώληκα, έπειτα από χρήση τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις. Επιπλέον, ακολουθεί κείμενο

με τις παρατηρήσεις που προκύπτουν από τη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

**Πίνακας 102:** Ποσοστό (%) συζεύξεων αρσενικών και θηλυκών ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στη δόση 1% στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % συζεύξεων ακμαίων	1%		1%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
ΦΥΛΟ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L2</b>	-	-	-	-
<b>L3</b>	33,33	33,33	100	50
M.O.	33,33 <sup>a*</sup>		75 <sup>a</sup>	
s	-		35,36	
CV%	-		106,09	
t, p	t=-1,667, p=0,344* <sup>1</sup>			
<b>L4</b>	50	66,66	100	100
M.O.	58,33 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	11,78		-	
CV%	20,20		-	
t, p	t=-5,002, p=0,126* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	100	66,66	100	50
M.O.	83,33 <sup>a</sup>		75 <sup>a</sup>	
s	23,57		35,36	
CV%	28,29		47,15	
t, p	t=1,000, p=0,500* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	100	100	100	100
M.O.	100 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 102** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) συζεύξεων μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ακμαίων από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs,

καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) σύμφωνα με τον **Πίνακα 102** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v δεν κατάφεραν να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτή την ομάδα.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 102** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος συζεύξεων είναι 33,33 %, ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 75%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 3<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 102** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος συζεύξεων είναι 58,33 %, ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 100%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 102** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος συζεύξεων είναι 83,33 %, ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 75%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v.

Για τη μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 102** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις για την ομάδα της δόσης 1%. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 1% w/v ανέρχονται σε 100% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 100% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων για την ομάδα του Μάρτυρα στη δόση 1%.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών μεταξοσκώληκα από τη 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) δεν επηρεάζεται το ποσοστό συζεύξεων των δύο φύλων, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% w/v. Επιπλέον, παρατηρείται ότι η ομάδα του Μάρτυρα διαθέτει το μεγαλύτερο ποσοστό συζεύξεων ακμαίων των δύο φύλων (♂100% - ♀100%). Συνεπώς, η σύζευξη αρσενικών και θηλυκών ακμαίων ατόμων του μεταξοσκώληκα είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 103:** Ποσοστό (%) συζεύξεων αρσενικών και θηλυκών ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L2 – Μάρτυρας) στη δόση 2% στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % συζεύξεων ακμαίων	2%		2%	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
ΦΥΛΟ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ		ΘΗΛΥΚΑ	
επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L4</b>	33,33	33,33	50	100
M.O.	33,33 <sup>a*</sup>		75 <sup>a</sup>	
s	-		35,36	
CV%	-		106,09	
t,p	t=-1,667, p=0,344 <sup>*1</sup>			
<b>L5</b>	50	50	66,66	50
M.O.	50 <sup>a</sup>		58,33 <sup>a</sup>	
s	-		11,78	
CV%	-		20,20	
t,p	t=-1,000, p=0,500 <sup>*1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	100	75	100	100
M.O.	87,5 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	17,68		-	
CV%	20,21		-	
t,p	t=-1,000, p=0,500 <sup>*1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 103** παρουσιάζονται τα ποσοστά (%) συζεύξεων μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ακμαίων από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L2, L3, L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs τόσο από την 2<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2) όσο και από την 3<sup>η</sup> (L3) ηλικία σύμφωνα με τον **Πίνακα 103** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v δεν κατάφεραν να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 103** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 2% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος συζεύξεων είναι 33,33 %, ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 75%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 4<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 103** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 2% w/v. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος συζεύξεων είναι 50 %, ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 58,33%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων

που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 103** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις για την ομάδα της δόσης 2%. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα στη δόση 2% w/v ανέρχονται σε 87,5% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 100% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων για την ομάδα του Μάρτυρα στη δόση 2%.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται το ποσοστό των συζεύξεων των δύο φύλων, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 2% w/v. Επιπλέον, παρατηρείται ότι η ομάδα του Μάρτυρα διαθέτει το μεγαλύτερο ποσοστό συζεύξεων ακμαίων των δύο φύλων (♂87,5% - ♀100%). Συνεπώς, η σύζευξη αρσενικών και θηλυκών ακμαίων ατόμων του μεταξοσκώληκα είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 104:** Ποσοστό (%) συζεύξεων αρσενικών και θηλυκών ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Μάρτυρας).

ΔΟΣΗ 1% + 2%	Ποσοστό % συζεύξεων ακμαίων					
	L4		L5		Μάρτυρας	
	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ	ΑΡΣΕΝΙΚΑ	ΘΗΛΥΚΑ
α/α						
1	50	100	100	100	100	100
2	66,66	100	66,66	50	100	100
3	33,33	50	50	66,66	100	100
4	33,33	100	50	50	75	100
M.O.	45,83 <sup>a*</sup>	87,5 <sup>b</sup>	66,67 <sup>a</sup>	66,66 <sup>a</sup>	93,75 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
s	15,96	25,00	23,57	23,57	12,50	0,00
CV%	34,82	28,57	35,35	35,36	13,33	0,00
t, p	t=-3,873, p=0,030 <sup>*1</sup>		t=0,000, p=1,000 <sup>*1</sup>		t=-1,000, p=0,391 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 104** προκύπτει ότι το ποσοστό συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα διαφοροποιείται μεταξύ των δύο φύλων στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος ποσοστού συζεύξεων είναι 45,83% ημέρες (min=33,33 % και max=66,66 %), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 87,5 % (min=50% και max=100%). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, παρατηρείται στατιστικά μεγαλύτερο ποσοστό συζεύξεων στα θηλυκά άτομα σε σύγκριση με τα αρσενικά και στις δύο διαφορετικές δόσεις στην L4.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 104** προκύπτει ότι το ποσοστό συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται μεταξύ των δύο φύλων στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά ο μέσος όρος ποσοστού συζεύξεων είναι 66,67% ημέρες (min=50 % και max=100 %), ενώ για τα θηλυκά είναι αντίστοιχα 66,66 % (min=50% και max=100%). Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων που δέχθηκαν τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από τη 5<sup>η</sup> ηλικία στις δύο διαφορετικές δόσεις.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 104** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού (%) συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά και θηλυκά δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των διαφορετικών δόσεων. Ειδικότερα, τα αρσενικά άτομα ανέρχονται σε 93,75% και αντίστοιχα τα θηλυκά στο 100% κατά μέσο όρο. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό (%) συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων για το Μάρτυρα στις δύο διαφορετικές ομάδες των δόσεων.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) το ποσοστό των συζεύξεων των δύο φύλων επηρεάζεται στις δύο δόσεις με τα θηλυκά ακμαία άτομα να διαθέτουν σημαντικά περισσότερες συζεύξεις σε σύγκριση με τα αρσενικά. Επιπλέον, παρατηρείται ότι η ομάδα του Μάρτυρα διαθέτει το μεγαλύτερο ποσοστό συζεύξεων ακμαίων των δύο φύλων (♂93,75% - ♀100%). Συνεπώς, η σύζευξη αρσενικών και θηλυκών ακμαίων ατόμων του μεταξοσκώληκα μπορεί να επηρεάζεται όταν η τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs ξεκινάει στην 4η προνυμφική ηλικία (L4), αλλά αντισταθμίζεται στη μεγαλύτερη ηλικία (L5) όπου δεν παρατηρούνται διαφορές στα ποσοστά συζεύξεων μεταξύ των δύο φύλων.



**Πίνακας 105:** Ποσοστό (%) σύζευξης αρσενικών ακμαίων ατόμων στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{3,4}=9,799$ ).

	Σύζευξη Αρσενικών - 1% w/v			
α/α	L3	L4	L5	Μάρτυρας
1	33,33	50	100	100
2	33,33	66,66	66,66	100
M.O.	33,33 <sup>a</sup>	58,33 <sup>ab</sup>	83,33 <sup>bc</sup>	100 <sup>c</sup>
s	0	11,78	23,58	0
CV%	0	20,2	28,3	0

Ο Πίνακας 105 παρουσιάζει το ποσοστό (%) σύζευξης των αρσενικών ακμαίων στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L3 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για την έναρξη της μεταχείρισης με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη δόση 1% w/v από την L3 παρατηρείται ότι τα αρσενικά άτομα έχουν ποσοστό σύζευξης κατά μέσο όρο 33,33% που είναι και το μικρότερο ποσοστό συζεύξεων με στατιστικά σημαντική διαφορά σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες. Με την αύξηση της ηλικίας στην L4 το ποσοστό σύζευξης των αρσενικών είναι 58,33%, ενώ στην L5 αυξάνεται στο 83,33% και στο Μάρτυρα ανέρχεται στο 100%. Συνεπώς, η λήψη τροποποιημένης διατροφής στη δόση 1% w/v φαίνεται να επηρεάζει την ικανότητα σύζευξης των αρσενικών ακμαίων όταν η έναρξη πραγματοποιείται σε πιο νεαρές προνυμφικές ηλικίες όπως η L3, ενώ αυξάνεται με την αύξηση της ηλικίας της προνύμφης. Ο Μάρτυρας παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό αναφορικά με τις συζεύξεις των αρσενικών σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες.

**Πίνακας 106:** Ποσοστό (%) σύζευξης θηλυκών ακμαίων ατόμων στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{3,4}=0,667$ ).

	Σύζευξη Θηλυκών - 1% w/v			
α/α	L3	L4	L5	Μάρτυρας
1	100	100	100	100
2	50	100	50	100
M.O.	75 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
s	35,35	0	35,35	0
CV%	47,13	0	47,13	0

Ο Πίνακας 106 παρουσιάζει το ποσοστό (%) σύζευξης των θηλυκών ακμαίων στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L3 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Παρατηρείται ότι το ποσοστό των συζεύξεων για τα θηλυκά άτομα δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πειραματικών ομάδων στη δόση 1% w/v. Συνεπώς, φαίνεται ότι οι συζεύξεις των θηλυκών ακμαίων δεν επηρεάζονται από την τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs ανεξαρτήτως ηλικίας μεταχείρισης.

**Πίνακας 107:** Ποσοστό (%) σύζευξης αρσενικών ακμαίων ατόμων στη δόση 2% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (F<sub>2,3</sub>=14,779).

	Σύζευξη Αρσενικών - 2% w/v		
α/α	L4	L5	Μάρτυρας
1	33,33	50	100
2	33,33	50	75
M.O.	33,33 <sup>a</sup>	50 <sup>a</sup>	87,5 <sup>b</sup>
s	0	0	17,67
CV%	0	0	20,19

Ο Πίνακας 107 παρουσιάζει το ποσοστό (%) σύζευξης των αρσενικών ακμαίων στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για την έναρξη της μεταχείρισης με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη δόση 2% w/v παρατηρείται ότι οι συζεύξεις των αρσενικών ακμαίων δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά στην L4 (33,33%) και L5 (50%). Αντίθετα, ο Μάρτυρας διαθέτει το μεγαλύτερο ποσοστό συζεύξεων στα αρσενικά άτομα (87,5%) σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες.

**Πίνακας 108:** Ποσοστό (%) σύζευξης θηλυκών ακμαίων ατόμων στη δόση 2% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (F<sub>2,3</sub>=1,9).

	Σύζευξη Θηλυκών - 2% w/v		
α/α	L4	L5	Μάρτυρας
1	50	66,66	100
2	100	50	100
M.O.	75,0 <sup>a</sup>	58,33 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
s	35,35	11,78	0
CV%	47,13	20,2	0

Ο Πίνακας 108 παρουσιάζει το ποσοστό (%) σύζευξης των θηλυκών ακμαίων στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Παρατηρείται ότι το ποσοστό των συζεύξεων για τα θηλυκά άτομα δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πειραματικών ομάδων στη δόση 2% w/v. Συνεπώς, φαίνεται ότι οι συζεύξεις των θηλυκών ακμαίων δεν επηρεάζονται από την τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs ανεξαρτήτως ηλικίας μεταχείρισης.

**Πίνακας 109:** Συζεύξεις αρσενικών ακμαίων ατόμων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στις δύο διαφορετικές δόσεις.

	<b>Σύζευξη Αρσενικών - L4</b>	
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	50	33,33
2	66,66	33,33
M.O.	58,33 <sup>a</sup>	33,33 <sup>a</sup>
s	11,78	0
CV%	20,2	0
t, p	t=3,001, p=0,205 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον Πίνακα 109 προκύπτει ότι το ποσοστό των συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά το ποσοστό συζεύξεων είναι κατά μέσο όρο 58,33% (min=50% και max=66,66%) στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 33,33%. Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στις συζεύξεις των αρσενικών ατόμων στη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L4.

**Πίνακας 110:** Συζεύξεις αρσενικών ακμαίων ατόμων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στις δύο διαφορετικές δόσεις.

<b>Σύζευξη Αρσενικών - L5</b>		
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	100	50
2	66,66	50
M.O.	83,33 <sup>a</sup>	50,0 <sup>a</sup>
s	23,58	0
CV%	28,3	0
t, p	t=1,999, p=0,295* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 110** προκύπτει ότι το ποσοστό των συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα αρσενικά το ποσοστό συζεύξεων είναι κατά μέσο όρο 83,33% (min=66,66% και max=100%) στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 50%. Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στις συζεύξεις των αρσενικών ατόμων στη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L5.

**Πίνακας 111:** Συζεύξεις θηλυκών ακμαίων ατόμων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στις δύο διαφορετικές δόσεις.

<b>Σύζευξη Θηλυκών - L4</b>		
<b>α/α</b>	<b>1%</b>	<b>2%</b>
1	100	50
2	100	100
M.O.	100 <sup>a</sup>	75 <sup>a</sup>
s	0	35,35
CV%	0	47,13
t, p	t=1,0, p=0,5* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 111** προκύπτει ότι το ποσοστό των συζεύξεων στα ακμαία θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα θηλυκά το ποσοστό συζεύξεων είναι κατά μέσο όρο 100 % στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 75% (min=50% και max=100%). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στις συζεύξεις των θηλυκών ατόμων στη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L4.

**Πίνακας 112:** Συζεύξεις θηλυκών ακμαίων ατόμων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στις δύο διαφορετικές δόσεις.

α/α	Σύζευξη Θηλυκών - L5	
	1%	2%
1	100	66,66
2	50	50
M.O.	75,0 <sup>a</sup>	58,33 <sup>a</sup>
s	35,35	11,78
CV%	47,13	20,2
t, p	t=1,0, p=0,5* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 112** προκύπτει ότι το ποσοστό των συζεύξεων στα ακμαία θηλυκά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, για τα θηλυκά το ποσοστό συζεύξεων είναι κατά μέσο όρο 75 % (min=50% και max=100%) στη δόση 1% w/v, ενώ στη δόση 2% w/v είναι αντίστοιχα 58,33% (min=50% και max=66,66%). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, δεν παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στις συζεύξεις των θηλυκών ατόμων στη

σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων με έναρξη μεταχείρισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την ηλικία L5.

#### 4.5.7 Αριθμός συζεύξεων αρσενικών

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται ο αριθμός των συζεύξεων που πραγματοποίησε κάθε ενήλικο αρσενικό άτομο μεταξοσκώληκα από την ομάδα μεταχείρισης ανά δόση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs (1% και 2% w/v) και επανάληψη. Επιπλέον, ακολουθεί κείμενο με τα σχόλια και τις παρατηρήσεις που προκύπτουν από την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

**Πίνακας 113:** Αριθμός συζεύξεων αρσενικών ακμαίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L3 με τη συγκέντρωση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

α/α	Αριθμός συζεύξεων αρσενικών - L3	
	1%	
	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	0	2
2	2	0
3	0	0
M.O.	0,67 <sup>a*</sup>	0,66 <sup>a</sup>
s	1,15	1,15
CV%	171,64	174,24
t, p	t=0,000, p=1,000 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 113** προκύπτει ότι ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων ακμαίων αρσενικών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 0,67 συζεύξεις (min=0 και max=2 συζεύξεις), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι αντίστοιχα 0,66 συζεύξεις (min=0 και max=2 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 1% w/v, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών

ατόμων στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1%. Αναφορικά με τη δόση 2% w/v παρατηρείται ότι οι προνύμφες δεν κατάφεραν να νυμφωθούν και να ολοκληρώσουν την μεταμόρφωσή τους. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτή τη δόση.

**Πίνακας 114:** Αριθμός συζεύξεων αρσενικών ακμαίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L4 στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Αριθμός συζεύξεων αρσενικών - L4			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	1	1	2	1
2	0	2	0	0
3		0	0	0
M.O.	0,5 <sup>a*</sup>	1 <sup>a</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>
s	0,71	1	1,15	0,58
CV%	142,00	100,00	171,64	175,76
t, p	t=-0,600, p=0,591* <sup>1</sup>		t=1,000, p=0,423* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 114** προκύπτει ότι ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων ακμαίων αρσενικών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 0,5 συζεύξεις (min=0 και max=1 συζεύξεις), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι αντίστοιχα 1 σύζευξη (min=0 και max=2 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 1% w/v, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1%. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων ακμαίων αρσενικών δεν διαφοροποιείται στις δύο

επαναλήψεις. Ειδικότερα, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 0,67 συζεύξεις (min=0 και max=2 συζεύξεις), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι αντίστοιχα 0,33 συζεύξεις (min=0 και max=1 σύζευξη). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 2% w/v, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο επαναλήψεις.

**Πίνακας 115:** Αριθμός συζεύξεων αρσενικών ακμαίων από έναρξη μεταχείρισης στην ηλικία L5 στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Αριθμός συζεύξεων αρσενικών - L5			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	2	1	0	1
2	2	0	1	0
3	1	1		
M.O.	1,67 <sup>a*</sup>	0,67 <sup>a</sup>	0,5 <sup>a</sup>	0,5 <sup>a</sup>
s	0,58	0,58	0	0
CV%	34,73	86,57	0,00	0,00
t, p	t=1,732, p=0,225* <sup>1</sup>		p=1,000* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 115** προκύπτει ότι ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων ακμαίων αρσενικών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v. Ειδικότερα, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 1,67 συζεύξεις (min=1 και max=2 συζεύξεις), ενώ στη 2<sup>η</sup> επανάληψη είναι αντίστοιχα 0,67 συζεύξεις (min=0 και max=1 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 1% w/v, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών



ατόμων στις δύο επαναλήψεις εντός της δόσης 1%. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων ακμαίων αρσενικών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις. Ειδικότερα, τόσο στην 1<sup>η</sup> όσο και στη 2<sup>η</sup> επανάληψη για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 0,5 συζεύξεις (min=0 και max=1 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στη δόση 2% w/v, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο επαναλήψεις.

**Πίνακας 116:** Αριθμός συζεύξεων αρσενικών του Μάρτυρα στις ομάδες για τις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs συνολικά για τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις.

	Αριθμός συζεύξεων αρσενικών - Μάρτυρας			
	1%		2%	
α/α	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη	1 <sup>η</sup> επανάληψη	2 <sup>η</sup> επανάληψη
1	1	1	1	0
2	2	2	1	1
3	1	2	1	1
4				2
M.O.	1,33 <sup>a*</sup>	1,67 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>
s	0,58	0,58	-	0,82
CV%	43,61	34,73	-	82,00
t, p	t=-1,000, p=0,423 <sup>*1</sup>		t=0,000, p=1,000 <sup>*1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με εμβάπτιση των μορεόφυλλων σε νερό για τις δύο ομάδες του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 116** προκύπτει ότι ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων ακμαίων αρσενικών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις της ομάδας για τη δόση 1% w/v. Ειδικότερα, στην 1<sup>η</sup> επανάληψη για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 1,33 συζεύξεις (min=1 και max=2 συζεύξεις), ενώ στη

2<sup>η</sup> επανάληψη είναι αντίστοιχα 1,67 συζεύξεις (min=1 και max=2 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην ομάδα για τη δόση 1% w/v, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο επαναλήψεις. Αντίστοιχα, στην ομάδα για τη δόση 2% w/v ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων ακμαίων αρσενικών δεν διαφοροποιείται στις δύο επαναλήψεις. Ειδικότερα, τόσο στην 1<sup>η</sup> όσο και στη 2<sup>η</sup> επανάληψη για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 1 σύζευξη (min=0 και max=2 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, στην ομάδα για τη δόση 2% w/v, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο επαναλήψεις.

**Πίνακας 117:** Αριθμός συζεύξεων αρσενικών ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Control).

	Αριθμός συζεύξεων αρσενικών					
	L4		L5		Μάρτυρας	
α/α	1%	2%	1%	2%	1%	2%
1	1	2	2	0	1	1
2	0	0	2	1	2	1
3	1	0	1	1	1	1
4	2	1	1	0	1	0
5	0	0	0		2	1
6		0	1		2	1
7						2
M.O.	0,8 <sup>a*</sup>	0,5 <sup>a</sup>	1,17 <sup>a</sup>	0,5 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1 <sup>a</sup>
s	0,84	0,84	0,75	0,58	0,55	0,58
CV%	105,00	168,00	64,10	116,00	36,67	58,00
t, p	t=0,592, p=0,568* <sup>1</sup>		t=1,492, p=0,174* <sup>1</sup>		t=1,593, p=0,139* <sup>1</sup>	

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 117** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του αριθμού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 0,8 συζεύξεις (min=0 και max=2 συζεύξεις), ενώ στη δόση 2% είναι

αντίστοιχα 0,5 συζεύξεις (min=0 και max=2 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, για τη L4, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο δόσεις των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 117** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του αριθμού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 1,17 συζεύξεις (min=0 και max=2 συζεύξεις), ενώ στη δόση 2% είναι αντίστοιχα 0,5 συζεύξεις (min=0 και max=1 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, για τη L5, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο δόσεις των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

Για την έναρξη μεταχείρισης με εμβάπτιση των μορεόφυλλων σε νερό για τις δύο ομάδες του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 117** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του αριθμού συζεύξεων στα ακμαία αρσενικά άτομα δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, στην ομάδα για τη δόση 1% για τα αρσενικά ο μέσος όρος αριθμού συζεύξεων είναι 1,5 συζεύξεις (min=1 και max=2 συζεύξεις), ενώ στην ομάδα της δόσης 2% είναι αντίστοιχα 1 σύζευξη (min=0 και max=2 συζεύξεις). Σύμφωνα με την ανάλυση paired t-test, για το Μάρτυρα, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ατόμων στις δύο δόσεις των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τη 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) δεν επηρεάζεται ο αριθμός των συζεύξεων των αρσενικών ακμαίων, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις. Συνεπώς, η συχνότητα των συζεύξεων των αρσενικών ατόμων του μεταξοσκώληκα είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροποποιημένης διατροφής με τις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

**Πίνακας 118:** Αριθμός συζεύξεων Αρσενικών ακμαίων στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,14}=1,312$ ).

	Αριθμός συζεύξεων Αρσενικών (μεταχείριση 1%)		
α/α	L4	L5	Μάρτυρας
1	1	2	1
2	0	2	2
3	1	1	1
4	2	1	1
5	0	0	2
6		1	2
M.O.	0,8 <sup>a</sup>	1,1667 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>
s	0,84	0,75	0,55
CV%	105	64,28	36,67

Ο Πίνακας 118 παρουσιάζει τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ακμαίων στη δόση 1% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Παρατηρείται ότι ο αριθμός των συζεύξεων για τα αρσενικά άτομα δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πειραματικών ομάδων στη δόση 1% w/v. Συνεπώς, φαίνεται ότι οι συζεύξεις των αρσενικών ακμαίων δεν επηρεάζονται από την τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών στη δόση 1% w/v  $Fe_3O_4$  NPs ανεξαρτήτως ηλικίας μεταχείρισης.

**Πίνακας 119:** Αριθμός συζεύξεων Αρσενικών ακμαίων στη δόση 1% w/v για το σύνολο των πειραματικών ομάδων ( $F_{2,14}=1,109$ ).

	Αριθμός συζεύξεων Αρσενικών (μεταχείριση 2%)		
α/α	L4	L5	Μάρτυρας
1	2	0	1
2	0	1	1
3	0	1	1
4	1	0	0
5	0		1
6	0		1
7			2
M.O.	0,5 <sup>a</sup>	0,5 <sup>a</sup>	1,0 <sup>a</sup>
s	0,84	0,58	0,58
CV%	168	116	58

Ο Πίνακας 119 παρουσιάζει τον αριθμό συζεύξεων των αρσενικών ακμαίων στη δόση 2% w/v για τις ομάδες (L4 – Μάρτυρας), καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Παρατηρείται ότι ο αριθμός των συζεύξεων για τα αρσενικά άτομα δεν διαφέρει στατιστικά σημαντικά μεταξύ των πειραματικών ομάδων στη δόση 2% w/v. Συνεπώς, φαίνεται ότι οι συζεύξεις των αρσενικών ακμαίων δεν επηρεάζονται από την τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs ανεξαρτήτως ηλικίας μεταχείρισης.

#### 4.6 Ωά

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν σε διάφορα χαρακτηριστικά των ωών του μεταξοσκώληκα. Συγκεκριμένα, γίνεται αναφορά τόσο στο υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) του εμπορικού υβριδίου (Qiufeng x Baiyu) μεταξοσκώληκα που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, όσο και στα ωά που παράχθηκαν από τα ακμαία των πειραματικών ομάδων μέσω της χρήσης Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

##### 4.6.1 Αναπαραγωγική ικανότητα και αριθμός ωών

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται μέσω της χρήσης πινάκων (Πίνακες 120 & 121) η αναπαραγωγική ικανότητα μέσω του αριθμού των ωών που παράχθηκαν από τα ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα στις διάφορες πειραματικές ομάδες, έπειτα από χορήγηση τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις. Ειδικότερα, έχουν πραγματοποιηθεί δύο στατιστικές προσεγγίσεις των δεδομένων (paired t-test & one-way Anova) και ακολουθεί κείμενο σχετικά με τις παρατηρήσεις που προκύπτουν.

**Πίνακας 120:** Αναπαραγωγική ικανότητα σε αριθμό ωών των ακμαίων για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Αναπαραγωγική ικανότητα (αριθμός ωών)	1%		2%	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
L4	982	934	773	689
M.O.	958 <sup>a*</sup>		731 <sup>b</sup>	
s	33,94		59,4	
CV%	3,54		8,13	

t,p	t=12,611, p=0,050* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	899	877	642	576
M.O.	888 <sup>a</sup>		609 <sup>b</sup>	
s	15,56		46,67	
CV%	1,75		7,66	
t,p	t=12,682, p=0,050* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	1642	1543	1564	1522
M.O.	1592,5 <sup>a</sup>		1543 <sup>a</sup>	
s	70		29,7	
CV%	4,4		1,92	
t,p	t=1,737, p=0,333* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

\*<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 120** παρουσιάζεται η αναπαραγωγική ικανότητα σε αριθμό των ωών των ακμαίων από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L4, L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στη δόση 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 2<sup>η</sup> και 3<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L2, L3) σύμφωνα με τον **Πίνακα 120** παρατηρείται ότι οι προνύμφες σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν κατάφεραν να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία. Συνεπώς, δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτή την ομάδα.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 120** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του αριθμού ωών στα ακμαία άτομα διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος αριθμού ωών είναι 958 ωά, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 731 ωά. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές και συγκεκριμένα στη δόση 1% ο αριθμός των παραγόμενων ωών είναι μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο στη δόση 2% w/v.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 120** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του αριθμού ωών στα ακμαία άτομα διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος αριθμού ωών είναι 888 ωά, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 609 ωά. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές και συγκεκριμένα στη δόση 1% ο αριθμός των παραγόμενων ωών είναι μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο στη δόση 2% w/v.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 120** προκύπτει ότι ο μέσος όρος των παραγόμενων ωών στις ομάδες του Μάρτυρα για τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, ο αριθμός των ωών στην ομάδα για τη δόση 1% w/v είναι 1592,5 ωά και αντίστοιχα για την άλλη ομάδα είναι 1543 ωά. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με την αναπαραγωγική ικανότητα σε αριθμό ωών για τις ομάδες του Μάρτυρα.

Από τα ανωτέρω προκύπτει ότι με την προσθήκη  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα από τις νεαρές ηλικίες (L2, L3) οι προνύμφες αδυνατούν να ολοκληρώσουν την μεταμόρφωσή τους. Επιπλέον, όταν η τροποποιημένη σίτιση ξεκινάει τόσο από την 4<sup>η</sup> όσο και από την 5<sup>η</sup> (L4, L5) προνυμφική ηλικία παρατηρείται ότι υπάρχουν διαφορές στον αριθμό των παραγόμενων ωών των ακμαίων και ειδικότερα με αύξηση της συγκέντρωσης στο 2% ο αριθμός των ωών μειώνεται σημαντικά. Αντιθέτως, η ομάδα του Μάρτυρα παρουσιάζει τον μεγαλύτερο μέσο όρο σε αριθμό ωών. Συνεπώς, η τροποποιημένη σίτιση των προνυμφών του μεταξοσκώληκα μπορεί να επηρεάζει την αναπαραγωγική ικανότητα των ακμαίων όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs οδηγώντας σε μειωμένη παραγωγή ωών.

**Πίνακας 121:** Αριθμός ωών και στατιστικά αποτελέσματα για όλες τις ομάδες (L3 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v (1%  $F_{3,4}=276,108$ , 2%  $F_{2,3}=234,758$ ).

	Αναπαραγωγική ικανότητα (αριθμός ωών)							
	L3		L4		L5		Μάρτυρας	
Δόση	1%		1%		1%		1%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	340	386	982	934	899	877	1642	1543
M.O.	363 <sup>a*</sup>		958 <sup>b</sup>		888 <sup>b</sup>		1592,5 <sup>c</sup>	
Δόση	2%		2%		2%		2%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	-	-	773	689	642	576	1564	1522
M.O.	-		731 <sup>a</sup>		609 <sup>a</sup>		1543 <sup>b</sup>	

\*Τα διαφορετικά λατινικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων.

Ο Πίνακας 121 παρουσιάζει την αναπαραγωγική ικανότητα σε αριθμό ωών για όλες τις ομάδες καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για τη δόση 1% w/v  $Fe_3O_4$  NPs ο αριθμός των ωών στην L3 είναι κατά μέσο όρο 363 ωά και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης με τροποποιημένη σίτιση, φτάνοντας στα 958 ωά για την L4, ενώ ο Μάρτυρας διαθέτει τον μεγαλύτερο



αριθμό ωών (1592,5 ωά) και συνεπώς παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αυτών στις ηλικίες L3, L4-L5 και στο Μάρτυρα. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στον αριθμό των παραγόμενων ωών όταν οι προνύμφες αρχίζουν την σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τις ηλικίες L4 (731 ωά), L5 (609 ωά) σε σχέση με τον Μάρτυρα (1543 ωά) όπου στην τελευταία περίπτωση παρουσιάζεται η μεγαλύτερη παραγωγή ωών.

Επομένως, με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι τόσο η δόση 1% w/v όσο και η 2% επηρεάζουν το μέσο όρο παραγωγής των ωών στα ακμαία ειδικά στις μικρότερες ηλικίες (L3). Αντιθέτως, προνύμφες μεγαλύτερης ηλικίας (L4, L5) διαθέτουν υψηλότερες τιμές αριθμού ωών στις δύο διαφορετικές δόσεις συγκριτικά με τις μικρότερες ηλικίες. Αξίζει να σημειωθεί ότι με την αύξηση της δόσης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε 2% w/v παρατηρούνται λιγότερα ωά στις προνυμφικές ηλικίες (L4-L5) σε σύγκριση με τη δόση 1% w/v. Συνεπώς, η μεγαλύτερη συγκέντρωση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα μπορεί να επιφέρει μεταβολές στην αναπαραγωγική ικανότητα των ακμαίων ανάλογα με την ηλικία με αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των παραγόμενων ωών.

#### 4.6.2 Ποσοστό (%) αναπαραγωγικής ικανότητας

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται μέσω του **Πίνακα 122** και της στατιστικής επεξεργασίας one-way Anova το ποσοστό (%) του αριθμού των ωών (αναπαραγωγική ικανότητα) που παράχθηκαν από τα ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα των πειραματικών ομάδων, έπειτα από χρήση τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις.

**Πίνακας 122:** Ποσοστό (%) αναπαραγωγικής ικανότητας και στατιστικά αποτελέσματα για όλες τις ομάδες (L3 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v (1% F<sub>3,4</sub>=623,994, 2% F<sub>2,3</sub>=24498,259).

	Ποσοστό % αναπαραγωγικής ικανότητας (αριθμός ωών)							
	L3		L4		L5		Μάρτυρας	
Δόση	1%		1%		1%		1%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	50,58	51,29	76,98	74,08	87,09	85,63	100	100
M.O.	50,94 <sup>a*</sup>		75,53 <sup>b</sup>		86,36 <sup>c</sup>		100 <sup>d</sup>	
Δόση	2%		2%		2%		2%	
Επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
%	-	-	51,09	51,08	52,18	51,56	100	100
M.O.	-		51,08 <sup>a</sup>		51,87 <sup>a</sup>		100 <sup>b</sup>	

\*Τα διαφορετικά λατινικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων.

Ο **Πίνακας 122** παρουσιάζει την αναπαραγωγική ικανότητα για όλες τις ομάδες καθώς και τα στατιστικά αποτελέσματα μέσω της ανάλυσης one-way ANOVA. Για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs η αναπαραγωγική ικανότητα στην L3 είναι κατά μέσο όρο 50,94% και παρουσιάζει αύξηση με την ηλικία της προνύμφης με τροποποιημένη σίτιση, φτάνοντας στο 86,36% για την L4, ενώ ο Μάρτυρας διαθέτει το μεγαλύτερο ποσοστό (100%) και συνεπώς παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών αυτών σε όλες τις ηλικίες καθώς και στο Μάρτυρα. Αντίστοιχα, στη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό αναπαραγωγικής ικανότητας όταν οι προνύμφες αρχίζουν την σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από τις ηλικίες L4 (51,08%), L5 (51,87%) σε σχέση με τον Μάρτυρα (100%) όπου στην τελευταία περίπτωση παρουσιάζεται το μεγαλύτερο ποσοστό.

Επομένως, με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι τόσο η δόση 1% w/v όσο και η 2% επηρεάζουν το ποσοστό αναπαραγωγικής ικανότητας στα ακμαία ειδικά στις μικρότερες ηλικίες (L3). Αντιθέτως, προνύμφες μεγαλύτερης ηλικίας (L4, L5) διαθέτουν υψηλότερα ποσοστά αναπαραγωγικής ικανότητας στις δύο διαφορετικές δόσεις συγκριτικά με τις μικρότερες ηλικίες. Αξίζει να σημειωθεί ότι με την αύξηση της δόσης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε 2% w/v παρατηρούνται μικρότερα ποσοστά σε αριθμό ωών στις προνυμφικές ηλικίες (L4-L5) σε σύγκριση με τη δόση 1% w/v. Συνεπώς, η μεγαλύτερη συγκέντρωση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα μπορεί να επιφέρει μεταβολές στην αναπαραγωγική ικανότητα των ακμαίων ανάλογα με την ηλικία με αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των παραγόμενων ωών.

#### 4.6.3 Ποσοστό (%) γονιμοποίησης ωών

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται μέσω του **Πίνακα 123** το ποσοστό (%) των γονιμοποιημένων ωών που παράχθηκαν από τα ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα στις διάφορες πειραματικές ομάδες που δέχτηκαν τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs σε δύο διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις.

**Πίνακας 123:** Ποσοστό (%) γονιμοποίησης ωών για το σύνολο των πειραματικών ομάδων (L4 – Μάρτυρας) στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

Ποσοστό % γονιμοποίησης ωών	1%		2%	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
<b>L4</b>	76,98	74,08	51,09	51,08
M.O.	75,53 <sup>a*</sup>		51,08 <sup>b</sup>	
s	2,05		0,01	
CV%	2,71		0,02	
t, p	t=16,917, p=0,038* <sup>1</sup>			
<b>L5</b>	87,09	85,63	52,18	51,56
M.O.	86,36 <sup>a</sup>		51,87 <sup>b</sup>	
s	1,03		0,44	
CV%	1,19		0,85	
t, p	t=82,119, p=0,008* <sup>1</sup>			
<b>Μάρτυρας</b>	100	100	100	100
M.O.	100 <sup>a</sup>		100 <sup>a</sup>	
s	-		-	
CV%	-		-	
t, p	p=1,000* <sup>1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 123** παρουσιάζεται το ποσοστό (%) γονιμοποίησης ωών από τις ηλικίες έναρξης τροποποιημένης σίτισης L4 έως L5 και του Μάρτυρα από τις δύο διαφορετικές επαναλήψεις στις δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Αναφορικά με τις νεαρές προνυμφικές ηλικίες (L2, L3) με τη χρήση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών στις δύο διαφορετικές δόσεις φαίνεται να επηρεάστηκε η φυσιολογία ανάπτυξης των εντόμων με αποτέλεσμα να μην ολοκληρωθεί η μεταμόρφωσή τους. Γι' αυτό το λόγο δεν ήταν εφικτή η στατιστική επεξεργασία για αυτές τις ομάδες.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 4<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L4) σύμφωνα με τον **Πίνακα 123** προκύπτει ότι ο

μέσος όρος του ποσοστού γονιμοποίησης ωών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 75,53%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 51,08%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές και συγκεκριμένα στη δόση 1% w/v το ποσοστό των γονιμοποιημένων ωών που προέκυψαν είναι μεγαλύτερο συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v στην L4.

Για την έναρξη μεταχείρισης με προσθήκη στη διατροφή των προνυμφών Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs από την 5<sup>η</sup> προνυμφική ηλικία (L5) σύμφωνα με τον **Πίνακα 123** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού γονιμοποίησης ωών διαφοροποιείται στις δύο δόσεις. Ειδικότερα, στην δόση 1% ο μέσος όρος ποσοστού κλαδώματος είναι 86,36%, ενώ για την δόση 2% είναι αντίστοιχα 51,87%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές και συγκεκριμένα στη δόση 1% w/v το ποσοστό των γονιμοποιημένων ωών που προέκυψαν είναι μεγαλύτερο συγκριτικά με το αντίστοιχο χαρακτηριστικό στη δόση 2% w/v στην L5.

Για την μεταχείριση του Μάρτυρα σύμφωνα με τον **Πίνακα 123** προκύπτει ότι ο μέσος όρος του ποσοστού γονιμοποίησης ωών στις ομάδες του Μάρτυρα για τις δύο διαφορετικές δόσεις δεν διαφοροποιείται στις δύο ομάδες των δόσεων. Ειδικότερα, το ποσοστό γονιμοποίησης ωών τόσο για την ομάδα της δόσης 1% όσο και για τη 2% ανέρχεται στο 100%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό γονιμοποίησης ωών για τις ομάδες του Μάρτυρα.

Με βάση τα ανωτέρω προκύπτει ότι η χρήση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μπορεί να έχει επίδραση στη ανάπτυξη των προνυμφών του μεταξοσκώληκα, ιδιαίτερα όταν πραγματοποιείται από τις μικρές ηλικίες (L2, L3). Επιπλέον, η χρήση τους στις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5) μπορεί να έχει ανασταλτική δράση στο ποσοστό γονιμοποίησης των ωών από τα ακμαία άτομα και ειδικότερα όταν η δόση αυξάνεται στο 2% w/v. Αντίθετα, ο Μάρτυρας παρουσιάζει το μεγαλύτερο ποσοστό γονιμοποίησης των ωών φτάνοντας στο 100%.

#### 4.6.4 Αριθμός ωών ανά γραμμάριο από υλικό χρήσης

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται ο αριθμός των ωών ανά γραμμάριο από το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) του εμπορικού υβριδίου μεταξοσκώληκα (Qiufeng x

Baiyu) που χρησιμοποιήθηκε (**Πίνακας 124**) για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στις δύο διαφορετικές δόσεις 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και επαναλήψεις.

**Πίνακας 124:** Αριθμός ωών ανά γραμμάριο από υλικό χρήσης για τα πειράματα στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

	1%		2%	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
Αριθμός ανά γραμμάριο	4642	4583	4457	4302
M.O.	4612,5 <sup>a*</sup>		4379,5 <sup>a</sup>	
s	41,72		109,6	
CV%	0,90		2,50	
t, p	t=4,854, p=0,129 <sup>*1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 124** παρουσιάζεται ο αριθμός των ωών ανά γραμμάριο (g) από το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) που χρησιμοποιήθηκε στην διάρκεια των πειραμάτων της παρούσας μελέτης, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος ωών ανά γραμμάριο είναι 4612,5 ωά, ενώ αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v είναι 4379,5 ωά. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση paired t-test, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό των αξιοποιήσιμων ωών στις δύο δόσεις.

#### 4.6.5 Αγωνιμοποίηση ωά από υλικό χρήσης

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται ο αριθμός των αγωνιμοποίητων ωών από το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) του υβριδίου μεταξοσκώληκα (Qiufeng x Baiyu) που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Ειδικότερα, πρόκειται για τα ωά τα οποία στάλθηκαν στο εργαστήριο Σηροτροφίας και Μελισσοκομίας του ΓΠΑ για έλεγχο πιπερίτιδας (*N. bombycis*) και ενώ επώαστηκαν υπό βέλτιστες συνθήκες (υγρασίας και

θερμοκρασίας, βλ. Πίνακας 8 από Υλικά και Μέθοδοι) δεν κατάφεραν να εκκολαφθούν οι προνύμφες.

**Πίνακας 125:** Αριθμός αγονιμοποίητων ωών ανά γραμμάριο από υλικό χρήσης για τα πειράματα στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

	1%		2%	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
Αγονιμοποίητα ωά	20	85	186	193
M.O.	52,5 <sup>a*</sup>		189,5 <sup>a</sup>	
s	45,96		4,95	
CV%	87,54		2,61	
t, p	t=-4,724, p=0,133 <sup>*1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον Πίνακα 125 παρουσιάζεται ο αριθμός των αγονιμοποίητων ωών ανά γραμμάριο (g) από το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) που χρησιμοποιήθηκε στην διάρκεια των πειραμάτων της παρούσας μελέτης, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος μη γονιμοποιημένων ωών ανά γραμμάριο είναι 52,5 ωά, ενώ αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v είναι 189,5 ωά. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση paired t-test, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με τον αριθμό των αγονιμοποίητων ωών στις δύο δόσεις.

#### 4.6.6 Ποσοστό (%) εκκολαπτικότητας ωών από υλικό χρήσης

Σε αυτή την υποενότητα παρουσιάζεται το ποσοστό (%) των ωών που εκκολάφθηκαν από το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) (Πίνακας 126) του εμπορικού υβριδίου (Qiufeng x Baiyu) που χρησιμοποιήθηκε για το σύνολο των πειραματικών ομάδων στην παρούσα εργασία.

**Πίνακας 126:** Ποσοστό (%) εκκολαπτικότητας ωών ανά γραμμάριο από υλικό χρήσης για τα πειράματα στις δόσεις 1% και 2% w/v στις διαφορετικές επαναλήψεις.

	1%		2%	
	1η επανάληψη	2η επανάληψη	1η επανάληψη	2η επανάληψη
Εκκολαπτικότητα % ωών	99,56	98,14	95,82	95,51
M.O.	98,85 <sup>a*</sup>		95,66 <sup>a</sup>	
s	1		0,22	
CV%	1,01		0,23	
t, p	t=5,739, p=0,110 <sup>*1</sup>			

\* όπου διαφορετικό λατινικό γράμμα, υπάρχουν σημαντικά στατιστικές διαφορές σύμφωνα με τον έλεγχο paired t-test.

<sup>\*1</sup> η σύγκριση έχει πραγματοποιηθεί για τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αφορά στην 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> επανάληψη συνολικά σε σχέση με τη δόση 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

s= Τυπική Απόκλιση, CV= Συντελεστής Παραλλακτικότητας %.

Στον **Πίνακα 126** παρουσιάζεται το ποσοστό (%) εκκολαπτικότητας των ωών ανά γραμμάριο (g) από το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) που χρησιμοποιήθηκε στην διάρκεια των πειραμάτων της παρούσας μελέτης, καθώς και ο μέσος όρος (M.O.), η τυπική απόκλιση (s), ο συντελεστής παραλλακτικότητας (CV%) και οι τιμές t, p.

Για τη δόση 1% w/v ο μέσος όρος του ποσοστού εκκολαπτικότητας των ωών ανά γραμμάριο είναι 98,95%, ενώ αντίστοιχα για τη δόση 2% w/v είναι 95,66%. Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση paired t-test, προκύπτει ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές αναφορικά με το ποσοστό των ωών που εκκολάφθηκαν ανά γραμμάριο μεταξόσπορου.

## 4.7 Ίνα

### 4.7.1 Παρασκευάσματα ίνας προς παρατήρηση

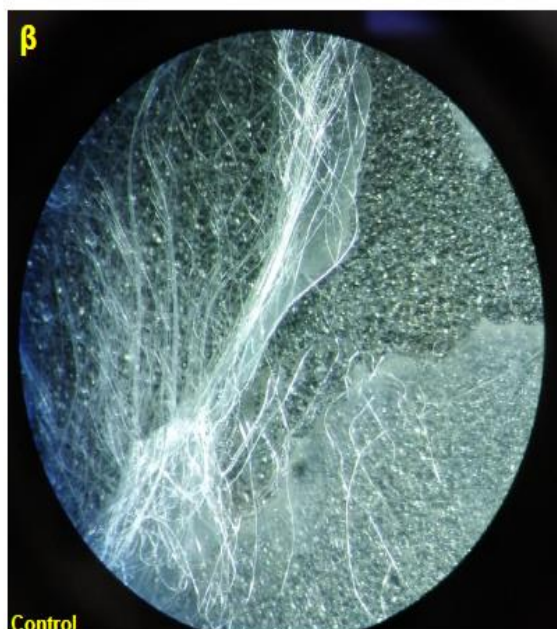
Για τη δημιουργία παρασκευασμάτων της ίνας μεταξιού προς παρατήρηση σε οπτικό μικροσκόπιο και στερεοσκόπιο έχει περιγραφεί αναλυτικά η διαδικασία στην ενότητα «Υλικά και Μέθοδοι» (βλ. παράγραφο **3.11 Υλικά και Μέθοδοι**).

Τα παρασκευάσματα ίνας τόσο στο οπτικό μικροσκόπιο όσο και στο στερεοσκόπιο απέδειξαν την ικανότητα για ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων και από

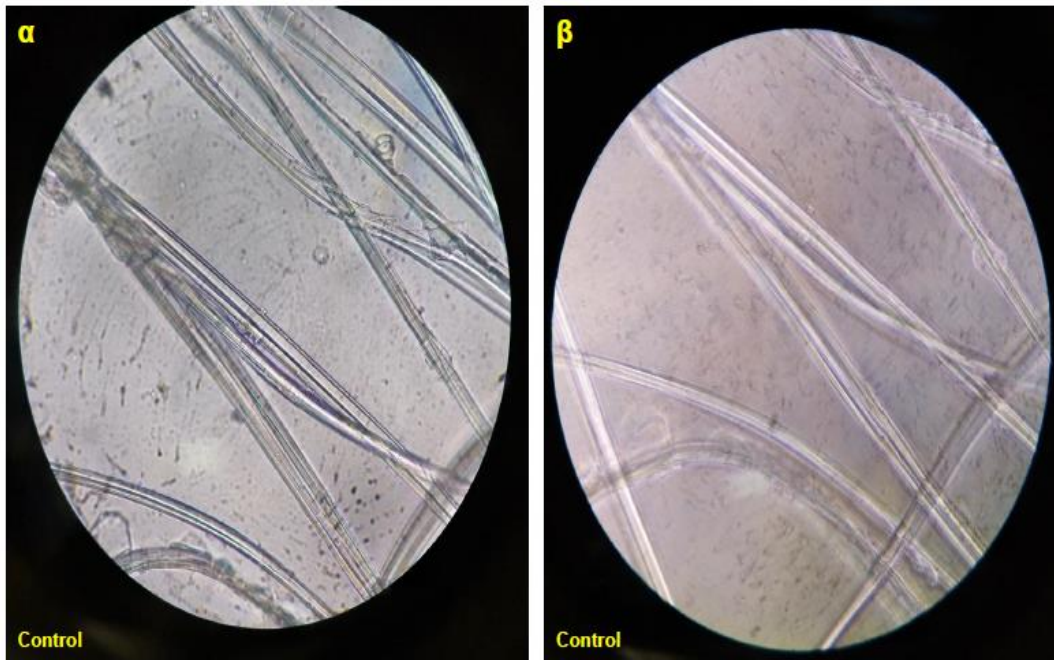


τις δύο διαφορετικές δόσεις (1% & 2% w/v) στην παραγόμενη ίνα μεταξιού. Ειδικότερα, στις ομάδες Control η ίνα έχει παραμείνει με το χαρακτηριστικό χρώμα που παράγεται από το εμπορικό υβρίδιο μεταξοσκώληκα Qiufeng x Baiyu , δηλαδή είναι λαμπερή, λεία με λευκό – γαλακτώδες χρώμα (Εικόνες 98 & 99).

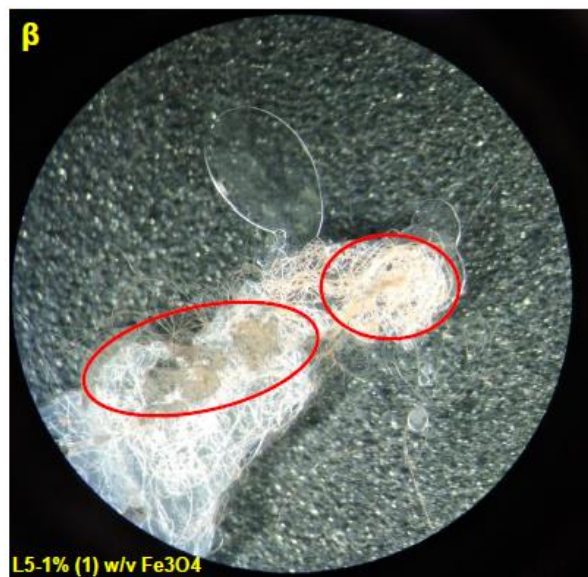
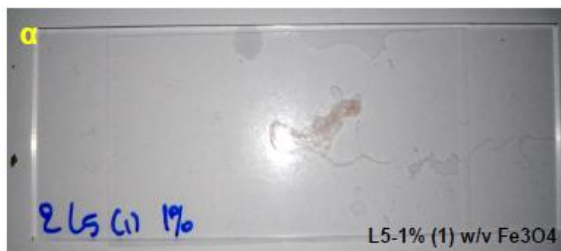
Αντιθέτως, τα παρασκευάσματα ίνας τα οποία δημιουργήθηκαν από τις ομάδες που χρησιμοποιήθηκε «τροποποιημένη διαίτα» με νανοσωματίδια  $Fe_3O_4$  παρουσιάζουν αλλαγή στο χρώμα. Συγκεκριμένα, στη δόση 1% (w/v) διακρίνεται πιο σκουρόχρωμη ίνα με «τραχιά» επιφάνεια εμπλουτισμένη με τα νανοσωματίδια  $Fe_3O_4$  που τροποποιούν κατά σημεία το χρώμα προς υποκίτρινο - πορτοκαλί - ροζ - ανοικτό κόκκινο (Εικόνες 100-103, 108-111, 116-119, 122-123). Στη δόση 2% (w/v) το παρασκεύασμα ίνας που δημιουργήθηκε διαθέτει παρόμοια χαρακτηριστικά με τη δόση 1% (w/v), πλην της διαφοράς ότι η ίνα δεν είναι τόσο σκουρόχρωμη αλλά εμφανίζει σημεία με «τραχιά» επιφάνεια λόγω της εναπόθεσης των νανοσωματιδίων  $Fe_3O_4$  χρώματος κίτρινου - πορτοκαλί – ροζ (Εικόνες 104-107, 112-115, 120-121).



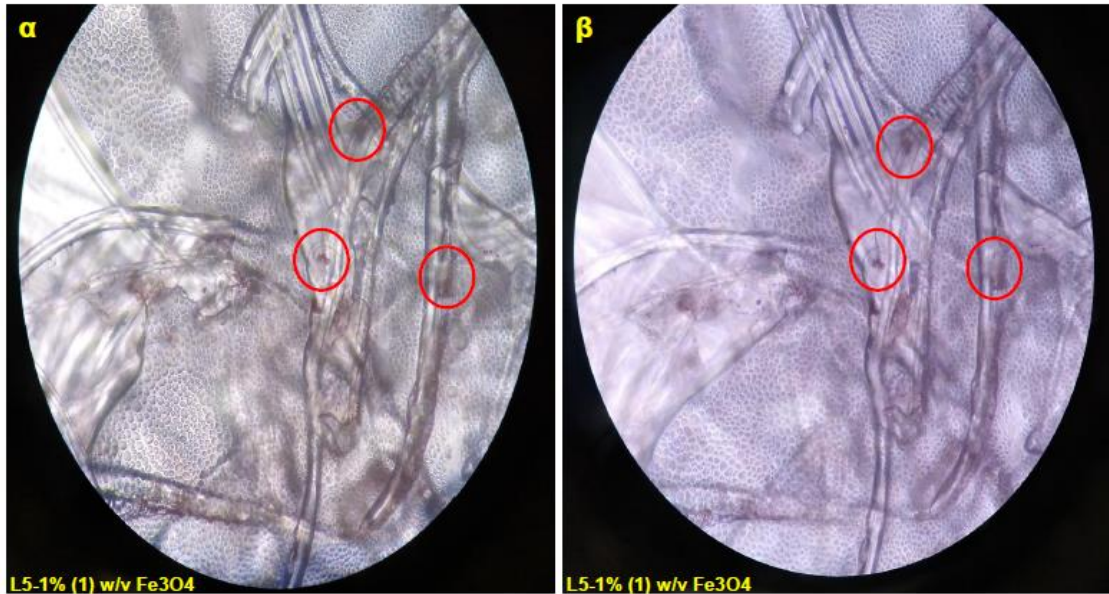
**Εικόνα 98:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού του μεταξοσκώληκα της ομάδας του Μάρτυρα, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του Μάρτυρα μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου.



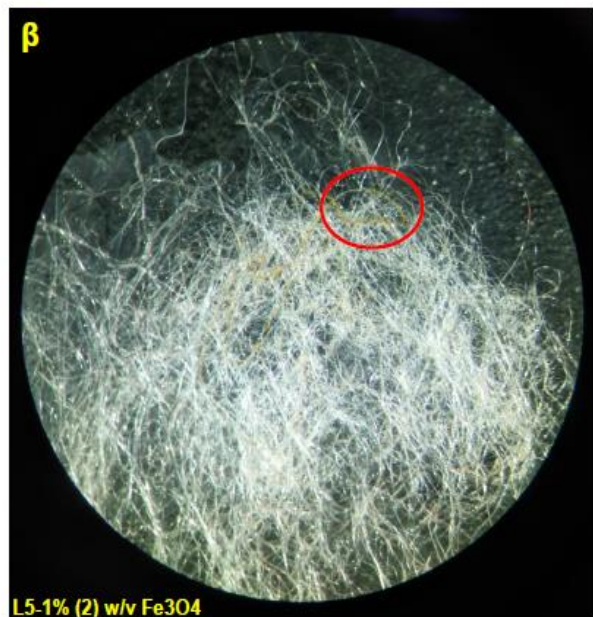
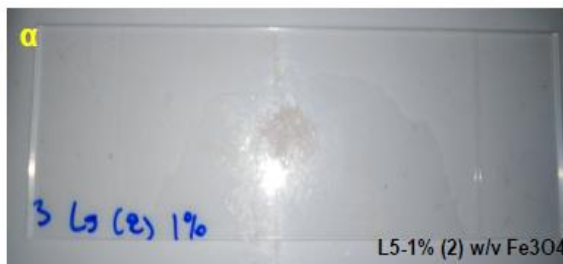
**Εικόνα 99:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του Μάρτυρα μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του Μάρτυρα μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40).



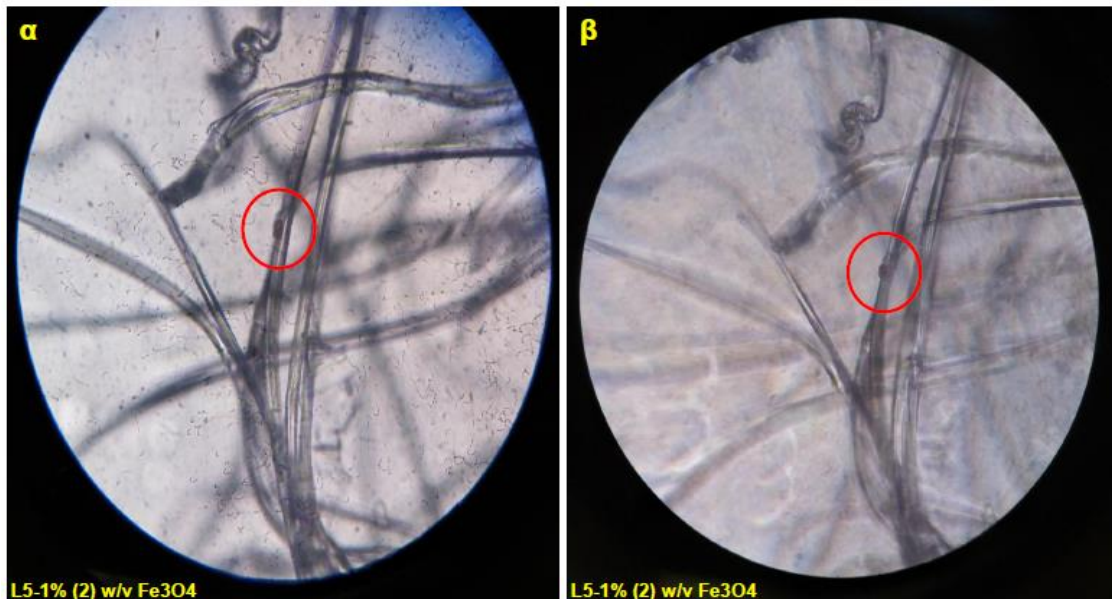
**Εικόνα 100:** α) Παρασκεύασμα σε αντικεμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L5 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L5 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



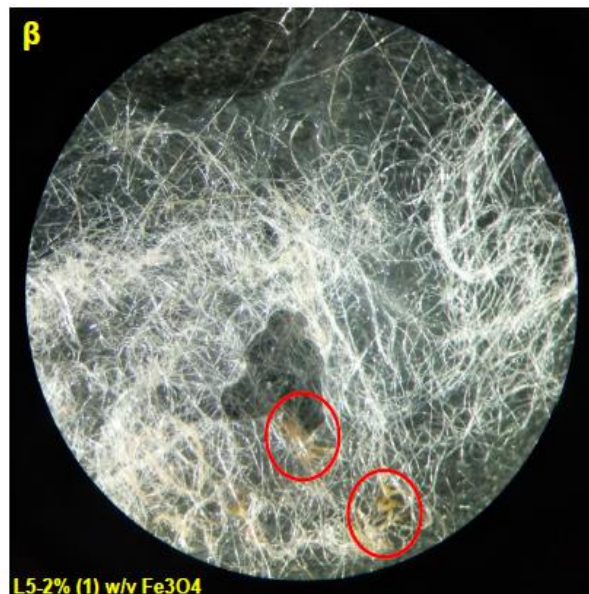
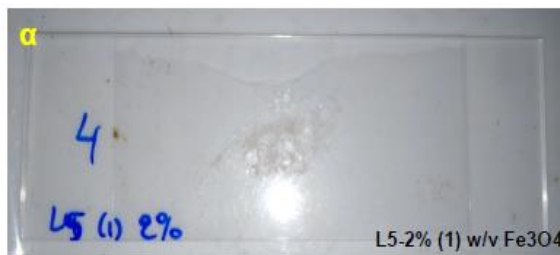
**Εικόνα 101:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



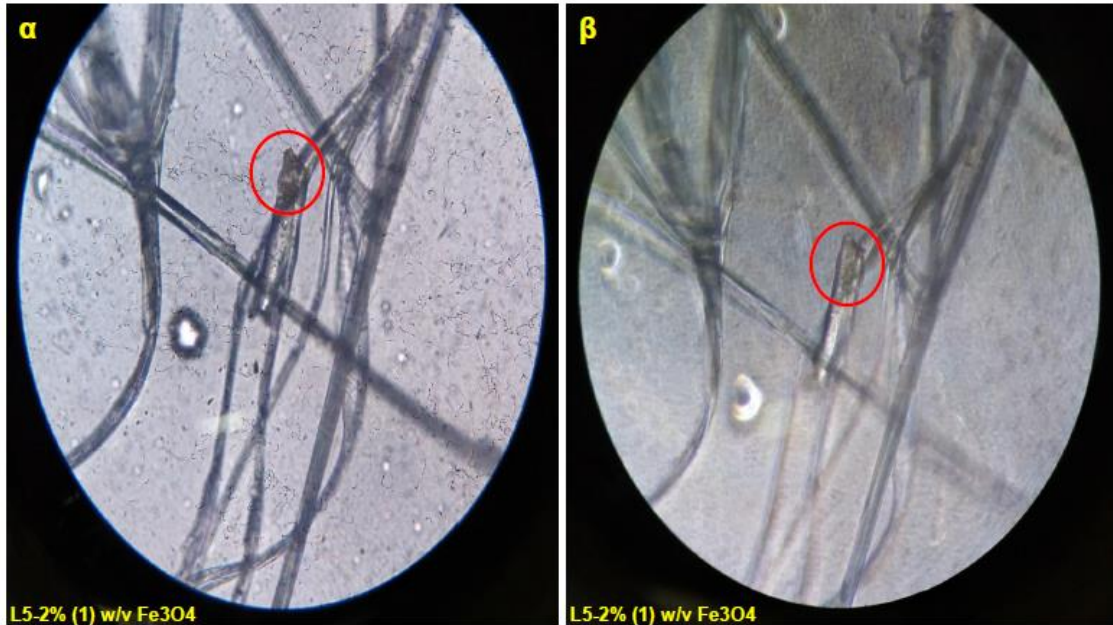
**Εικόνα 102:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L5 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L5 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



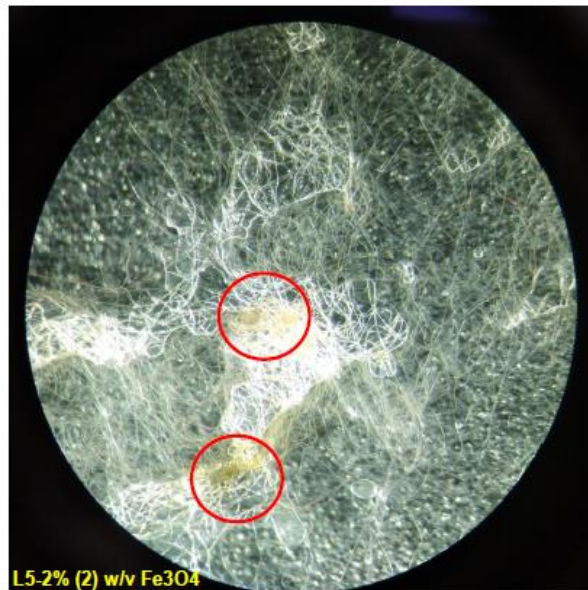
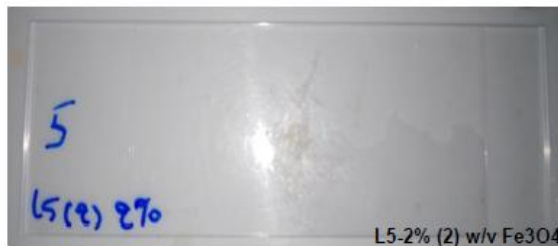
**Εικόνα 103:** α) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



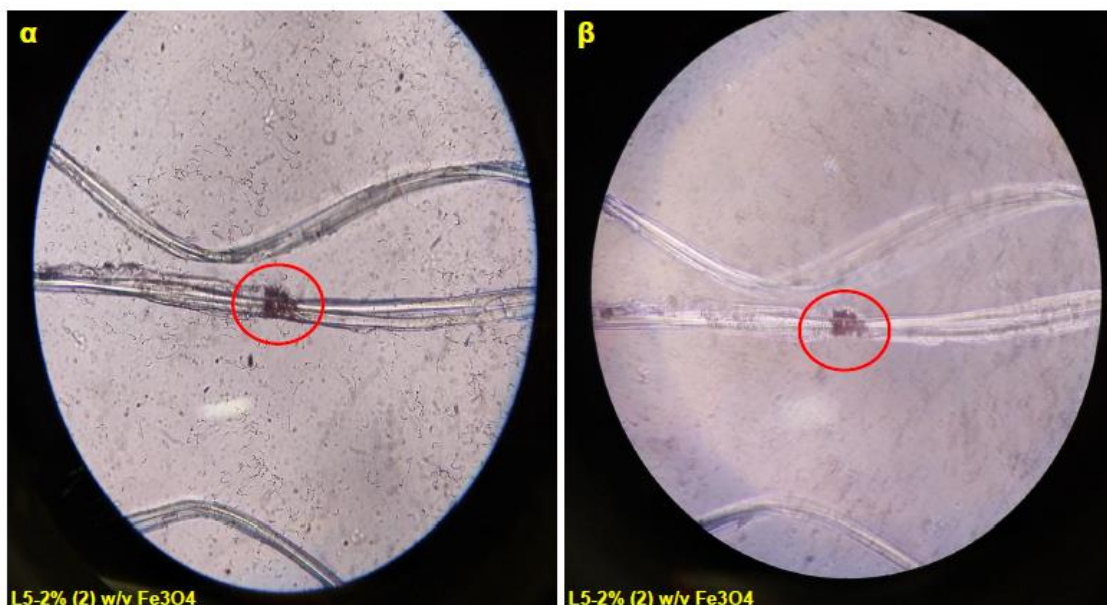
**Εικόνα 104:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L5 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L5 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 105:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



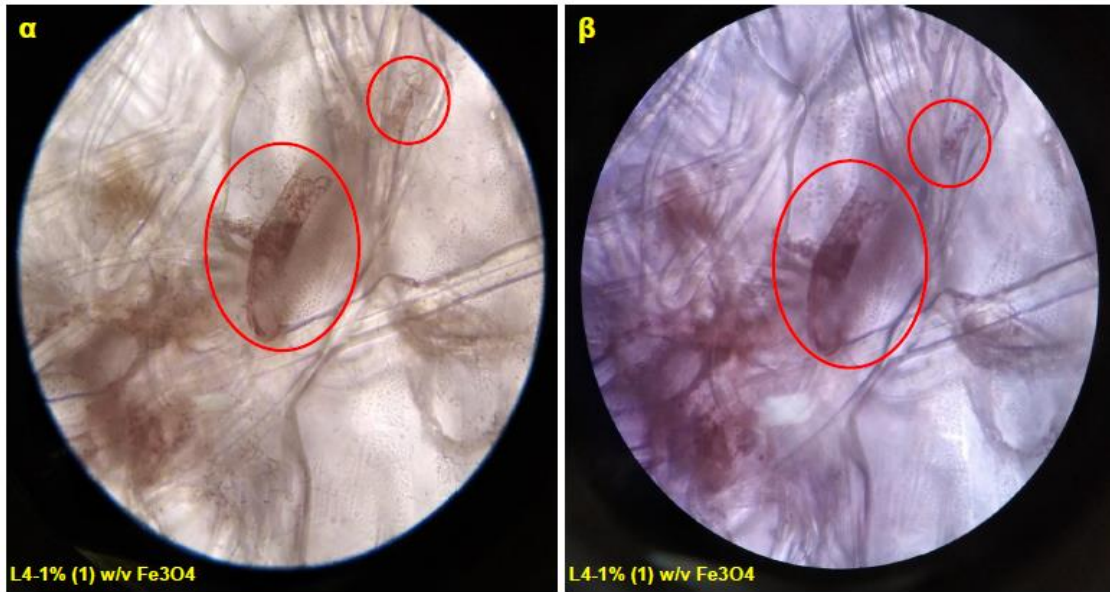
**Εικόνα 106:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L5 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L5 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



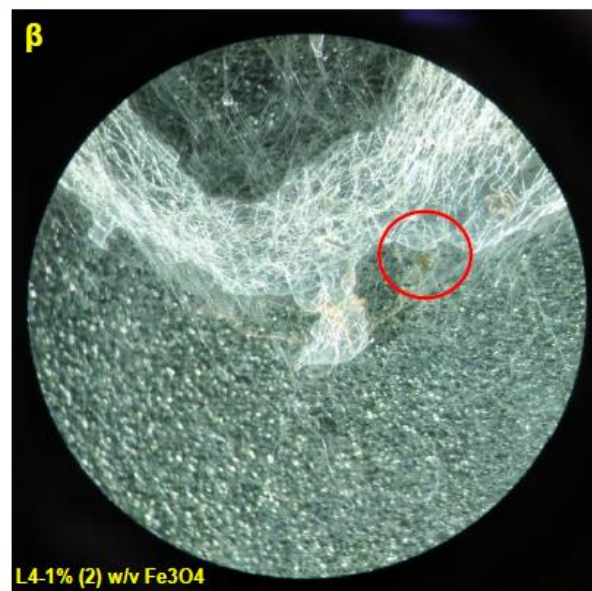
**Εικόνα 107:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L5 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 108:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L4 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L4 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



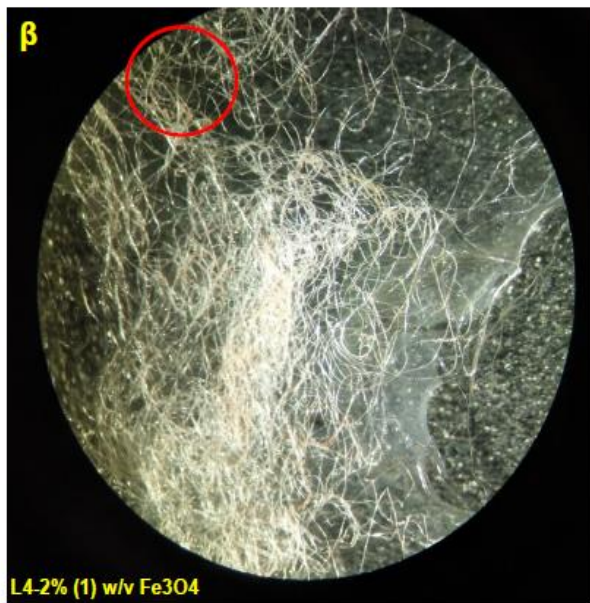
**Εικόνα 109:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 110:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L4 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L4 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).

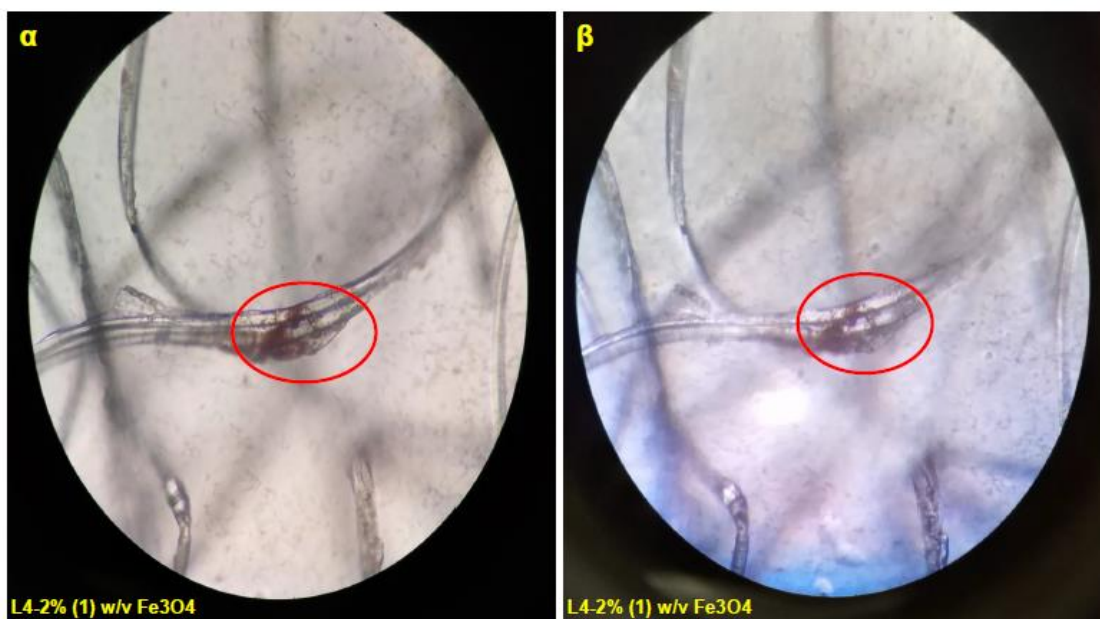


**Εικόνα 111:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).

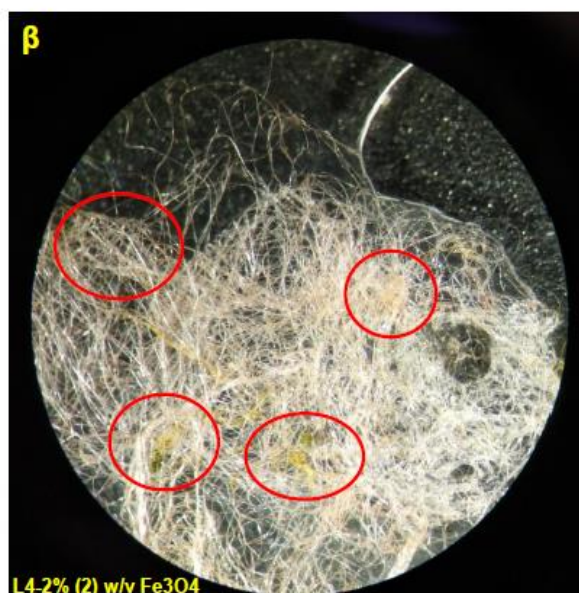
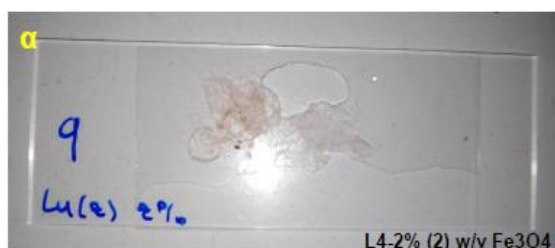


**Εικόνα 112:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L4 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L4 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).

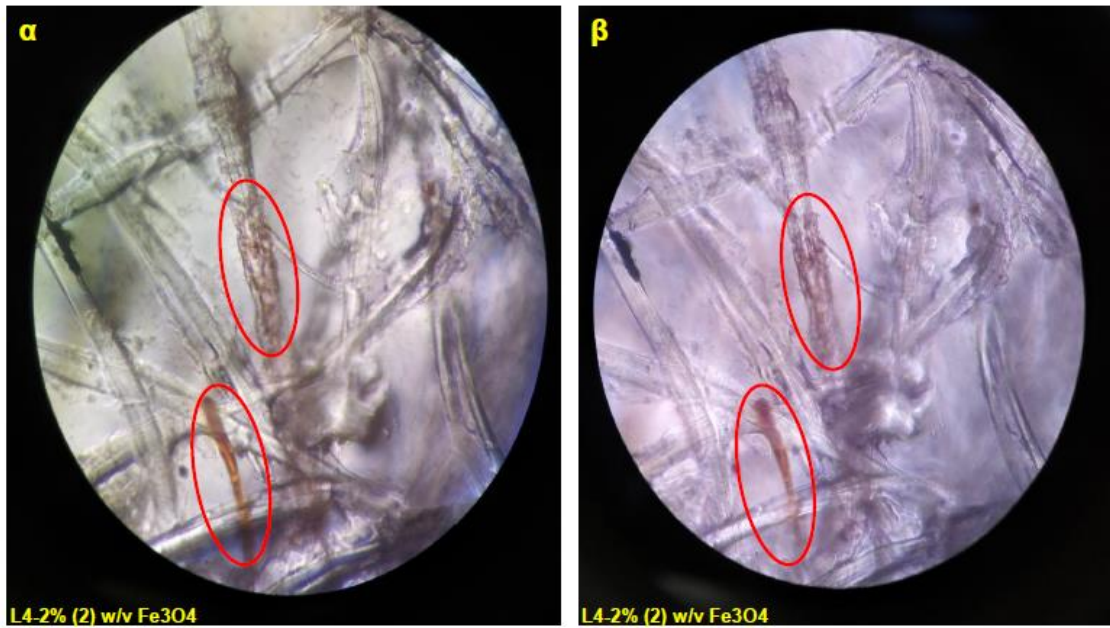




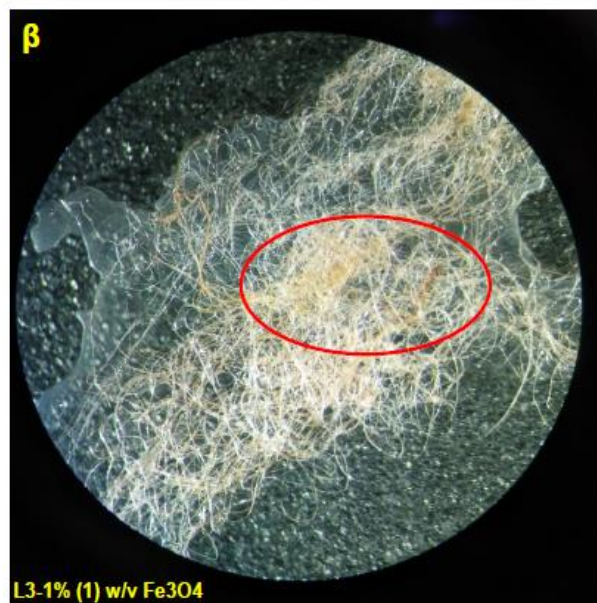
**Εικόνα 113:** α) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



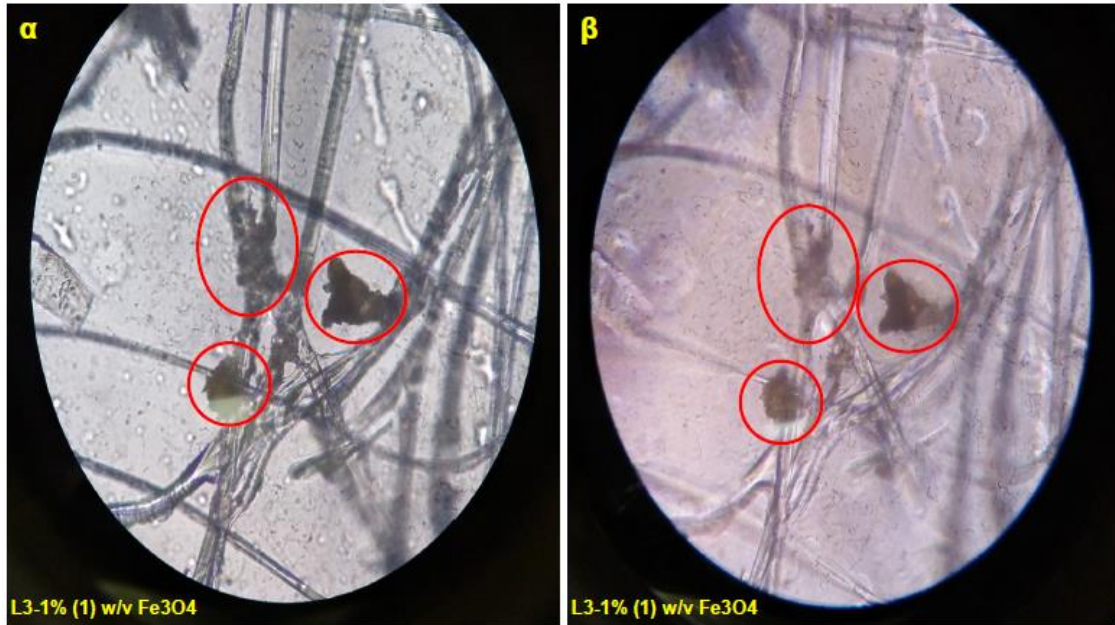
**Εικόνα 114:** α) Παρασκεύασμα σε αντικεμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L4 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L4 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



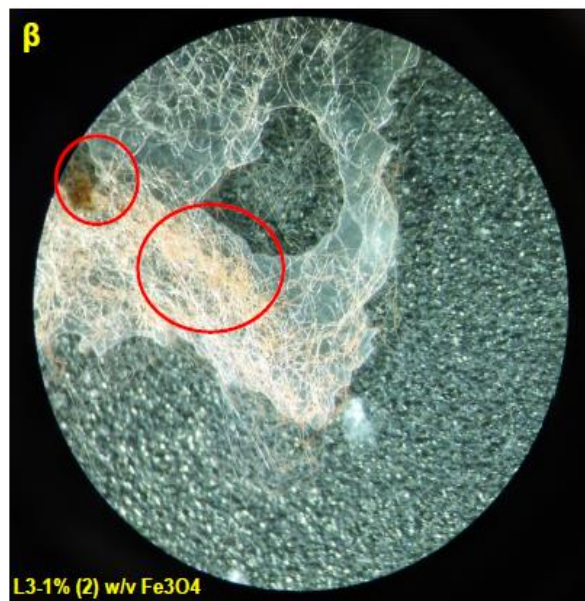
**Εικόνα 115:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L4 στη δόση 2% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



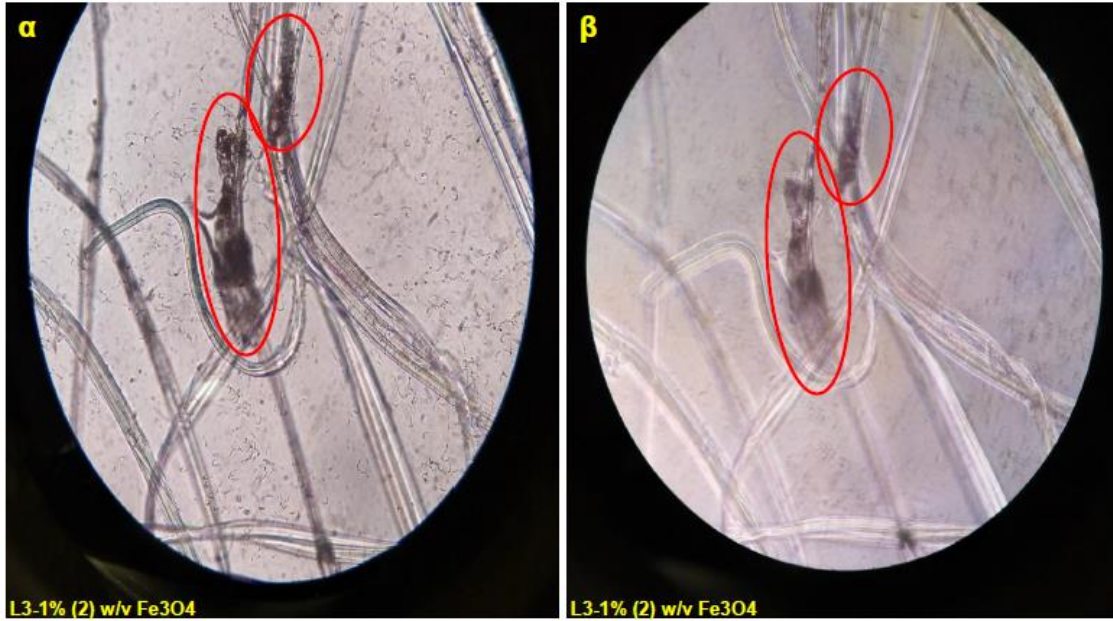
**Εικόνα 116:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L3 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L3 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



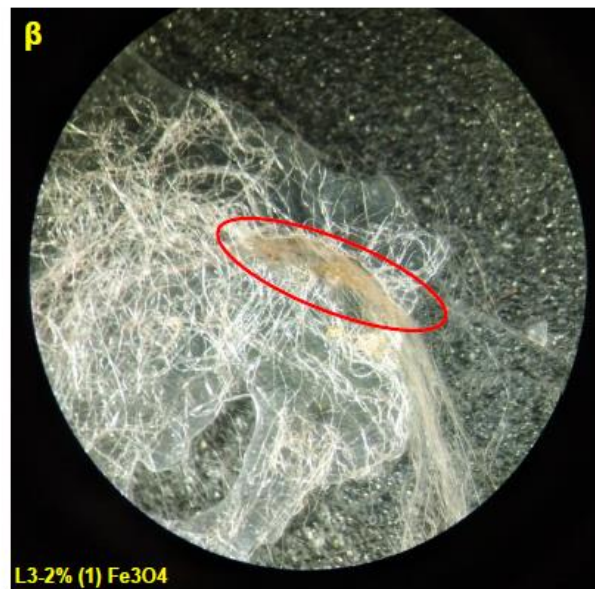
**Εικόνα 117:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L3 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L3 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 118:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L3 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L3 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



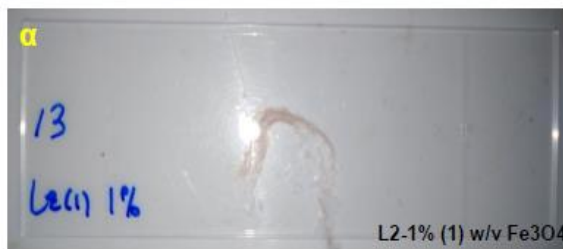
**Εικόνα 119:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L3 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L3 στη δόση 1% (2<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 120:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L3 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L3 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 121:** α) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L3 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L3 στη δόση 2% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 122:** α) Παρασκεύασμα σε αντικειμενοφόρο πλάκα με καλυπτρίδα από ίνες μεταξιού μεταξοσκώληκα της ομάδας L2 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, β) Λεπτομέρεια ιών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα L2 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (με κόκκινο οι ενδείξεις της τροποποιημένης ίνας μεταξιού).



**Εικόνα 123:** α) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L2 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης οπτικού μικροσκοπίου (x40), β) Λεπτομέρεια ινών μεταξιού μεταξοσκώληκα από την ομάδα του L2 στη δόση 1% (1<sup>η</sup> επανάληψη) w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs μέσω της χρήσης μικροσκοπίου αντίθετης φάσης (x40) (με κόκκινο οι ενδείξεις τροποποιημένης ίνας μεταξιού).

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 5.1 Εισαγωγή

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται τα συμπεράσματα και η συζήτηση που προκύπτουν από την ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειραματικού μέρους της εργασίας, που αφορά σε χορήγηση δύο διαφορετικών δόσεων νανοσωματιδίων  $Fe_3O_4$  στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα του εμπορικού υβριδίου Qiufeng x Baiyu και την ενσωμάτωσή τους στην παραγόμενη ίνα. Ακολούθως γίνεται αναφορά στις μελλοντικές προοπτικές για την ευρέως χρήση διαφόρων νανοσωματιδίων στη σηροτροφία και την παραγωγή του μεταξιού με σκοπό τις διάφορες χρήσεις της τροποποιημένης ίνας σε διάφορους τομείς (π.χ. βιομηχανία, βιοϊατρική κ.ά.).

Αξίζει να σημειωθεί πως στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές ηλικιακές ομάδες των προνυμφών του μεταξοσκώληκα (L2-L5), κάτι που δεν έχει πραγματοποιηθεί προηγουμένως από άλλους ερευνητές, καθώς η συχνότερη χρήση είναι οι μεγαλύτερες ηλικίες και κυρίως οι L4 και L5. Επιπλέον, σε αντίθεση με τα κοινά εμπορικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα όπου υπάρχουν εγκεκριμένες δόσεις των δραστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται (π.χ.  $LD_{50}$ ), σε ότι αφορά τη χρήση των νανοσωματιδίων και ιδιαίτερα στα  $Fe_3O_4$  NPs που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή την μελέτη, δεν υπάρχει συνιστάμενη δόση και ως εκ τούτου η διαλογή είναι καθαρά πειραματική με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία. Οι δόσεις  $Fe_3O_4$  NPs που χορηγήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας ως τροποποιημένη σίτιση στις προνύμφες μεταξοσκώληκα έχουν βασιστεί στα πειράματα των Nguyen A. T. 2014 και Wang et al., (2014, 2016 & 2020). Τέλος, τόσο η σύγκριση όσο και η συζήτηση πάνω στα διάφορα χαρακτηριστικά του μεταξοσκώληκα και της ίνας, έπειτα από χρήση των  $Fe_3O_4$  NPs, έχει βασιστεί στη διεθνή βιβλιογραφία σε σχέση και με άλλου είδους NPs (π.χ. Cu, Ag, Ti κ.ά.).

### 5.2 Προνύμφες

Οι προνύμφες του μεταξοσκώληκα στις οποίες έγινε χρήση τροποποιημένης σίτισης με τις δύο διαφορετικές δόσεις  $Fe_3O_4$  NPs (1% & 2% w/v) παρουσίασαν αλλαγές τόσο στα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά όσο και σε ανατομικά χαρακτηριστικά. Ειδικότερα, σε ότι αφορά την εξωτερική μορφολογία παρατηρήθηκε ότι οι προνύμφες,

ανεξαρτήτως ηλικίας έναρξης χορήγησης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, παρουσίασαν πιο σκούρο χρώμα σε όλη την επιδερμίδα πιθανώς λόγω της εναπόθεσης των σωματιδίων της κόκκινης σκόνης του σκευάσματος κάτι που έχει παρατηρηθεί και από τον Nguyen A. T. 2014 για τη δόση 1% στο αντίστοιχο σκεύασμα. Επιπλέον, έπειτα από ανατομή των προνυμφών μεταξοσκώληκα, παρατηρήθηκε πως έχει τροποποιηθεί τόσο το χρώμα της αιμολέμφου όσο και το χρώμα των μεταξογόνων αδένων. Συγκεκριμένα στη δόση 1% w/v το χρώμα της αιμολέμφου μεταβλήθηκε σε κίτρινο – πορτοκαλί με τους μεταξογόνους αδένες να διαθέτουν επίσης ένα ανοικτό κίτρινο - πορτοκαλί χρώμα, ενώ στην αυξημένη δόση 2% w/v παρατηρήθηκε πιο έντονος χρωματισμός στην αιμολέμφο που ήταν πορτοκαλί – κόκκινο και αντίστοιχα οι μεταξογόνοι αδένες διέθεταν χρώματα σκούρο πορτοκαλί – καφέ. Παρόλα αυτά, για την μεταβολή του χρώματος της αιμολέμφου και των μεταξογόνων αδένων από Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs δεν υπάρχει κάποια αντίστοιχη έρευνα στη διεθνή βιβλιογραφία προς σύγκριση, επομένως χρειάζεται περισσότερη μελέτη πάνω στα συγκεκριμένα χαρακτηριστικά.

Το βάρος των προνυμφών αποτελεί ένα ακόμη χαρακτηριστικό που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v στην 1<sup>η</sup> επανάληψη παρατηρήθηκε διαφορά στο μέσο βάρος (gr) των προνυμφών το οποίο ήταν μεγαλύτερο σε όλες τις ηλικίες (L2 έως L5) καθώς και στο Μάρτυρα, σε σχέση με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη, κάτι που πιθανό να οφείλεται στην ποιότητα του μεταξόσπορου ή των μορεόφυλλων και τη χρονική περίοδο των εκτροφών (2<sup>η</sup> επανάληψη: τέλος καλοκαιριού-αρχές φθινοπώρου). Αντίθετα, στη δόση 2% w/v δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο μέσο βάρος των προνυμφών σε καμία ηλικία, με εξαίρεση τον Μάρτυρα όπου στην 1<sup>η</sup> επανάληψη βρέθηκε μεγαλύτερο βάρος στις προνύμφες συγκριτικά με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη, ίσως για τις αιτίες που προαναφέρθηκαν. Αναφορικά με τη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων φαίνεται ότι στη δόση 1% w/v οι προνύμφες σε όλες τις ηλικίες (L2 έως L5) καθώς και ο Μάρτυρας διαθέτουν σημαντικά μεγαλύτερο μέσο βάρος σε σύγκριση με τη δόση 2% w/v. Επί προσθέτως, παρατηρείται ότι και στις δύο διαφορετικές δόσεις το βάρος των προνυμφών ήταν μικρότερο στις πιο νεαρές ηλικίες (L2, L3) συγκριτικά με τις μεγαλύτερες (L4, L5). Συνεπώς, διακρίνεται αύξηση του βάρους των προνυμφών ανάλογα με την αύξηση της ηλικίας στην οποία ξεκινάει η μεταχείριση με τροποποιημένη σίτιση στις δόσεις 1% και 2% w/v. Αξίζει να σημειωθεί πως ο Μάρτυρας διαθέτει το μεγαλύτερο μέσο βάρος και στις δύο δόσεις. Οι παρατηρήσεις σχετικά με το βάρος των προνυμφών συμφωνούν με την έρευνα των Wang et al., 2020 όπου χορηγήθηκαν οι δόσεις 2% και 5% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs με τις



προνύμφες του Μάρτυρα να παρουσιάζουν μεγαλύτερο βάρος σε σύγκριση με τις μεταχειρίσεις των NPs.

Αναφορικά με το ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών στις δύο διαφορετικές δόσεις και επαναλήψεις των 1% και 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs πραγματοποιήθηκαν δύο στατιστικές προσεγγίσεις. Ειδικότερα, με τη χρήση της μεθόδου t-test κατά ζεύγη (paired t-test) δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο δόσεις σε καμία προνυμφική ηλικία. Συνεπώς, η επιβίωση των προνυμφών δείχνει να είναι ανεξάρτητη από τη λήψη τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και αυξάνεται ανάλογα με την αύξηση της ηλικίας των προνυμφών σταδιακά από την L2 έως την L5. Τα ανωτέρω ευρήματα συμφωνούν με την έρευνα των Wang et al., 2020, Nguyen A. T. 2014, Wu et al., 2017 καθώς και των Cheng et al., 2017 όπου μέσω της χρήσης τροποποιημένης σίτισης σε προνύμφες μεταξοσκώληκα, όχι μόνο με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> αλλά και με άλλα μέταλλα όπως Cu και Ag NPs δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση στην ανάπτυξη των εντόμων. Η δεύτερη στατιστική προσέγγιση που χρησιμοποιήθηκε αναφορικά με το ποσοστό επιβίωσης των προνυμφών ήταν η ανάλυση μεταβλητότητας κατά μία διεύθυνση (one-way analysis of variance/one-way ANOVA). Συγκεκριμένα, με αυτή τη μέθοδο παρατηρήθηκε πως με τη χρήση της δόσης 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα δεν υπήρξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό επιβίωσης των εντόμων. Αντιθέτως, εάν οι προνύμφες σιτίζονται με τη δόση των 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs τότε οι διαφορές στο ποσοστό επιβίωσης είναι αυξημένες στις μεγαλύτερες ηλικίες (π.χ. L4, L5) συγκριτικά με τις πιο νεαρές. Ως αποτέλεσμα των ανωτέρω, μπορεί να προταθεί ότι η αυξημένη δόση των 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs όταν χορηγείται στη διατροφή του μεταξοσκώληκα είναι δυνατό να επιφέρει μεταβολές στη φυσιολογία της ανάπτυξης των προνυμφών ανάλογα με το ηλικιακό στάδιο του εντόμου. Τα αποτελέσματα της μεθόδου one-way ANOVA συμφωνούν με τα ευρήματα των Nguyen A. T. 2014, Cheng et al., 2017 και Ramos et al., 2020, όπου παρατηρήθηκε μία αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη των προνυμφών σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μέσω της χορήγησης Cu NPs στη διατροφή τους. Επί προσθέτως, από έρευνες των Teodoro et al., 2010 και Debnath et al., 2011 σε έντομα εχθρούς των αποθηκών όπως τα *Sitophilus oryzae* και *Rhyzopertha dominica* έπειτα από χορήγηση νανοσωματιδίων του Ag, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO και TiO<sub>2</sub> στη διατροφή τους σε διαφορετικές ηλικίες, παρατηρήθηκε δράση τοξικότητας στα έντομα. Ειδικότερα, οι μέθοδοι που οδήγησαν σε εντομοτοξικότητα με βάση τους ανωτέρω ερευνητές είναι α) κυτταρική λύση με προσκόλληση στην επιδερμίδα, β) κυτταρικός θάνατος από αλληλεπίδραση με

αναπνευστικά ένζυμα και απελευθέρωση ROS, γ) απώλεια σμηρίγγων, αποχρωματισμός και νέκρωση στην περιοχή της επιδερμίδας και δ) διακοπή λειτουργιών από δέσμευση των νανοσωματιδίων στο DNA. Συνεπώς, είναι ωφέλιμο να πραγματοποιηθούν περισσότερες έρευνες πάνω στον τρόπο δράσης των νανοσωματιδίων στις δόσεις που μπορεί να επιφέρουν τοξικότητα στο μεταξοσκώληκα όταν προστίθενται στη διατροφή του.

Ένα ακόμη σημαντικό χαρακτηριστικό που αφορά στο προνυμφικό στάδιο του μεταξοσκώληκα και πώς αυτό επηρεάζεται μέσω της χρήσης τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs αποτελεί η ικανότητα του κλαδώματος καθώς και ο «τύπος πλέξης» που προκύπτει. Ειδικότερα, η ικανότητα των προνυμφών για δημιουργία βομβυκίων χαρακτηρίστηκε ως ποσοστό (%) κλαδώματος και ο «τύπος πλέξης» χωρίστηκε σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες (Μηδενική-Αραιή-Πλήρης) ανάλογα με την ποιότητα και την πυκνότητα (αν ήταν συμπαγής ή όχι) των παραγόμενων βομβυκίων (βλ. Αποτελέσματα υποενότητα 4.2.5. αναφορικά για Ποσοστό (%) κλαδώματος και «Τύπος πλέξης»). Η σύγκριση σε κάθε τύπο πλέξης πραγματοποιήθηκε μέσω της στατιστικής μεθόδου t-test κατά ζεύγη, από όπου προέκυψε πως και στις τρεις διαφορετικές κατηγορίες στη σύγκριση μεταξύ των δύο δόσεων (1%-2% w/v) δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό κλαδώματος των προνυμφών. Συνεπώς, η διαφορετική συγκέντρωση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs δεν φαίνεται να επηρεάζει την ικανότητα για δημιουργία βομβυκίου των προνυμφών μεταξοσκώληκα και άρα είναι ανεξάρτητο την ηλικία και την έναρξη λήψης της τροποποιημένης σίτισης. Τα ανωτέρω αποτελέσματα φαίνεται να συμφωνούν με εκείνα των Cheng et al., 2017 και Ramos et al., 2020 όπου οι προνύμφες έπειτα από χορήγηση τροποποιημένης διατροφής με Cu NPs (10 mg/ml) δημιούργησαν βομβύκια με πιο αραιή πλέξη και χαμηλή πυκνότητα.

### 5.3 Νύμφες

Το επόμενο στάδιο στο βιολογικό κύκλο του μεταξοσκώληκα μετά τις προνύμφες αποτελούν οι νύμφες/χρυσάλιδες (pupae/chrysalis). Στην παρούσα εργασία παρατηρήθηκε ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του *B. mori* από την πιο νεαρή ηλικία (L2) και έπειτα τα νανοσωματίδια μπορεί να έχουν αρνητικές επιδράσεις στη δυνατότητα της μετάβασης των προνυμφών σε νύμφες και

άρα τη μη ολοκλήρωση του βιολογικού αυτού σταδίου. Επιπλέον, μέσω της χρήσης της αυξημένης δόσης των 2% w/v παρατηρήθηκε πως οι προνύμφες του μεταξοσκώληκα αδυνατούν να σχηματίσουν ολοκληρωμένα βομβύκια συγκριτικά με το Μάρτυρα. Συνεπώς, προκύπτει ίσως κάποιο θέμα τοξικότητας που επιδρά στη φυσιολογική ανάπτυξη των εντόμων και αυξάνεται με την αύξηση της δόσης από 1% στο 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Τα ανωτέρω ευρήματα συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Nguyen A. T., 2014, και Cheng et al., 2017 όπου χρησιμοποιήθηκαν Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> και Cu NPs αντίστοιχα, σε προνύμφες μεγαλύτερης ηλικίας (L5) και παρατηρήθηκε ελαφρά τοξικότητα που οδήγησε σε μειωμένη ανάπτυξη και θνησιμότητα. Αντίθετα, οι έρευνες των Ramos et al., 2020, Wu et al., 2017, Wang et al., 2020 με χρήση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (2%, 5% w/v) και Ag (10 mg/ml) NPs αντίστοιχα, αναφέρουν πως δεν υπήρξαν προβλήματα πιθανής τοξικότητας στις προνύμφες που σιτίζονταν με τροποποιημένη δίαιτα καθώς τα νανοσωματίδια πιθανώς απεκκρίθηκαν από τον οργανισμό τους. Οι διαφορές στα αποτελέσματα μεταξύ των εργασιών μπορεί να οφείλονται σε διαφορετικά στελέχη μεταξοσκώληκα που έχουν χρησιμοποιηθεί για τις μελέτες, σε διαφορετικές συνθήκες εκτροφής των προνυμφών, διαφορετικό «σκεύασμα» NPs, διαφορετική μέθοδος χορήγησης των NPs στις προνύμφες καθώς και σε διαφορετικό ηλικιακό στάδιο έναρξης της μεταχείρισης με NPs.

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία είναι το βάρος των νυμφών έπειτα από τη λήψη διατροφής με ενσωμάτωση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Ειδικότερα, όταν η χορήγηση των νανοσωματιδίων ξεκίνησε από τις πιο νεαρές ηλικίες (L2, L3) παρατηρήθηκε ότι μόνο στη δόση 1% w/v οι προνύμφες κατόρθωσαν να μεταμορφωθούν σε νύμφες, ενώ στην αυξημένη δόση των 2% w/v κάτι τέτοιο δεν συνέβη. Επιπλέον, στις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5) παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερο βάρος νυμφών στη δόση 1% w/v στην 1<sup>η</sup> επανάληψη σε σύγκριση με τη 2<sup>η</sup> εντός της ίδιας δόσης, ενώ στη 2% w/v δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Ειδικότερα, τόσο στη δόση 1% όσο και στη 2% w/v παρατηρείται ότι το βάρος των νυμφών στις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5) δεν διαφέρει μεταξύ τους. Επί προσθέτως, στη σύγκριση μεταξύ της δόσης 1% με τη 2% w/v παρουσιάστηκε μεγαλύτερο βάρος νυμφών στην L4 συγκριτικά με τις υπόλοιπες ομάδες. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο Μάρτυρας κατείχε το μεγαλύτερο βάρος νυμφών από όλες τις μεταχειρίσεις. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με τους Nguyen A. T., 2014, Cheng et al., 2017, και Ramos et al., 2020 όπου μέσω της χορήγησης διαφορετικών NPs (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Cu, Ag) παρατήρησαν μειωμένη ανάπτυξη και βάρος τόσο στις προνύμφες

όσο και στις νύμφες του μεταξοσκώληκα που έλαβαν τροποποιημένη διατροφή σε σύγκριση με το Μάρτυρα.

Αναφορικά με το βάρος των νυμφών, παρατηρήθηκε και η περίπτωση όπου ορισμένες προνύμφες δεν σχημάτισαν βομβύκιο για να νυμφωθούν αλλά πραγματοποίησαν νύμφωση εξωτερικά χωρίς να είναι προστατευμένες. Ειδικότερα, αυτό πραγματοποιήθηκε στις μεγαλύτερες προνυμφικές ηλικίες (L4, L5), χωρίς ωστόσο να υπάρχει κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στο βάρος των νυμφών σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις (1%, 2% w/v) και επαναλήψεις έπειτα από χρήση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αξίζει να αναφερθεί ότι ο Μάρτυρας παρουσίασε το μεγαλύτερο βάρος στις νύμφες που δεν σχημάτισαν βομβύκιο και στις δύο διαφορετικές μεταχειρίσεις σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ομάδες.

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε το ποσοστό (%) επιβίωσης των νυμφών μέσω δύο διαφορετικών στατιστικών προσεγγίσεων (t-test κατά ζεύγη & one-way ANOVA). Ειδικότερα, μέσω της χρήσης της μεθόδου one-way ANOVA παρατηρήθηκε ότι τόσο στη δόση 1% όσο και στη 2% w/v οι προνύμφες επιβιώνουν περισσότερο όσο η χορήγηση τροποποιημένης σίτισης ξεκινάει σε μεγαλύτερη προνυμφική ηλικία (L4, L5) σε σχέση με τις νεαρότερες (L2, L3). Επιπλέον, με την αύξηση της δόσης στο 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs το ποσοστό επιβίωσης μειώθηκε σημαντικά σε όλες τις πειραματικές ομάδες σε σύγκριση με τη δόση 1% w/v. Συνεπώς, η μεγαλύτερη συγκέντρωση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα μπορεί να επιφέρει τροποποιήσεις στη φυσιολογική ανάπτυξη του εντόμου ανάλογα με την ηλικία που ξεκινάει η μεταχείριση με αποτέλεσμα την μη ολοκλήρωση της νύμφωσης που οδηγεί σε θνησιμότητα. Από την άλλη πλευρά, μέσω της μεθόδου t-test κατά ζεύγη, συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις μεταξύ τους δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό επιβίωσης των νυμφών. Παρόλα αυτά, οι προνύμφες τείνουν να διαθέτουν αριθμητικά μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης στη δόση 1% w/v και όσο αυξάνονται σε ηλικία. Με βάση τα αποτελέσματα του paired t-test προκύπτει ότι με την προσθήκη Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του *B. mori* ακόμη και από την L2 δεν φαίνεται να επηρεάζεται η επιβίωσή τους και συνεπώς η ικανότητα νύμφωσης συγκρίνοντας τις δόσεις 1% και 2% w/v μεταξύ τους. Άρα προκύπτει πως η επιβίωση των νυμφών είναι πιθανό να είναι ανεξάρτητη από τη λήψη νανοσωματιδίων Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> στη διατροφή τους, αλλά να αυξάνεται με την αύξηση της προνυμφικής ηλικίας από το L2 σταδιακά μέχρι το L5.

Οι νύμφες του μεταξοσκώληκα διαθέτουν φυλετικό διμορφισμό και επομένως είναι δυνατό να διακρίνει κανείς τα θηλυκά από τα αρσενικά άτομα σε αυτό το στάδιο από εξωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, στο όγδοο κοιλιακό τους τμήμα μέσω της χρήσης στερεοσκοπίου (βλ. Υλικά και μέθοδοι υποενότητα 3.9.3). Συνεπώς, ήταν εφικτό να μελετηθεί το ποσοστό (%) φυλοκαθορισμού στις νύμφες μεταξοσκώληκα που προέκυψαν έπειτα από τροποποιημένη διατροφή με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs. Αξίζει να σημειωθεί ότι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο μεταξύ των διαφορετικών φύλων (♀-♂), όσο και μεταξύ των ίδιων φύλων (♀-♀, ♂-♂) στις διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις μέσω της μεθόδου paired t-test. Συγκεκριμένα, συγκρίνοντας τις διαφορετικές επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v μεταξύ των δύο διαφορετικών φύλων δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε καμία πειραματική ομάδα. Συνεπώς, μετά την προσθήκη 1% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών του *B. mori* από το L3 και έπειτα δεν επηρεάζεται ο καθορισμός του φύλου στις νύμφες και άρα μπορεί το χαρακτηριστικό αυτό να είναι ανεξάρτητο από τη λήψη τροποποιημένης σίτισης. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και στη σύγκριση των δύο διαφορετικών επαναλήψεων στη δόση 2% w/v, με τη διαφορά ότι στο L5 φαίνεται να προκύπτουν σημαντικά περισσότερα θηλυκά άτομα σε σχέση με τα αρσενικά. Άρα με βάση τα ανωτέρω, ίσως η προσθήκη της αυξημένης δόσης του 2% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή των προνυμφών από το L5 μπορεί πιθανώς να επηρεάζει τον φυλοκαθορισμό με αποτέλεσμα την παραγωγή περισσότερων θηλυκών ατόμων εις βάρος των αρσενικών. Στη συνέχεια της μελέτης των φύλων στις νύμφες παρατηρήθηκε ότι στις συγκρίσεις μεταξύ των ίδιων φύλων (♀-♀, ♂-♂) στις διαφορετικές δόσεις (1%-2% w/v) δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Επομένως, μπορεί η χορήγηση των  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs να μην επηρεάζει το ίδιο φύλο ανεξαρτήτως δόσης.

Επί προσθέτως, σε ότι αφορά τις νύμφες μελετήθηκε και η ικανότητα ολοκλήρωσης της μεταμόρφωσής τους μέσω ποσοστού (%). Σε αυτό το χαρακτηριστικό πραγματοποιήθηκαν ξανά δύο διαφορετικές στατιστικές προσεγγίσεις (one-way ANOVA – paired t-test) των αποτελεσμάτων. Συγκεκριμένα, μέσω της μεθόδου one-way ANOVA προέκυψε ότι τόσο στη δόση 1% όσο και στη 2% w/v το ποσοστό ολοκλήρωσης της μεταμόρφωσης στις νύμφες δεν παρουσίασε διαφορές στις νεαρές ηλικίες (L2, L3) αλλά αυξήθηκε ανάλογα με την αύξηση της ηλικίας των προνυμφών (L4, L5) που έλαβαν τροποποιημένη σίτιση σε σύγκριση και με το Μάρτυρα. Μέσω λοιπόν της χρήσης one-way ANOVA συμπεραίνεται ότι η χρήση  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs επηρεάζει το ποσοστό ολοκλήρωσης της μεταμόρφωσης των νυμφών το

οποίο μεγαλώνει όσο αυξάνεται και η ηλικία της προνύμφης και είναι μεγαλύτερο στη δόση 1% συγκριτικά με τη 2% w/v. Αντιθέτως, μέσω της μεθόδου paired t-test συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις μεταξύ τους δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην ικανότητα ολοκλήρωσης της μεταμόρφωσης των νυμφών σε καμία από τις πειραματικές ομάδες. Άρα, σύμφωνα με το t-test κατά ζεύγη το αν θα ολοκληρωθεί η μεταμόρφωση στις νύμφες είναι ανεξάρτητο από τη δόση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη σίτιση των προνυμφών, αλλά τείνει να αυξάνεται με την αύξηση της προνυμφικής ηλικίας όπου θα πραγματοποιηθεί η μεταχείριση.

Τέλος, σε ότι αφορά τα χαρακτηριστικά των νυμφών που περιεγράφηκαν ανωτέρω και αφορούν το βάρος, τα ποσοστά επιβίωσης, φυλοκαθορισμού και ολοκλήρωσης της μεταμόρφωσης πρέπει να σημειωθεί ότι δεν έχουν πραγματοποιηθεί αντίστοιχες μελέτες στη διεθνή βιβλιογραφία και συνεπώς είναι αδύνατη η σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας με άλλες. Συνεπώς, είναι επιθυμητή η περαιτέρω διερεύνηση αυτών των χαρακτηριστικών σε ίδιες ή/και διαφορετικές δόσεις των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs ή άλλων νανοσωματιδίων, στο ίδιο στέλεχος και ηλικίες μεταξοσκώληκα και με την ίδια μεθοδολογία και συνθήκες εκτροφής που ακολουθήθηκαν στο πειραματικό μέρος αυτής της μελέτης καθώς και διαφορετικές στατιστικές προσεγγίσεις.

#### **5.4 Βομβύκια**

Τα βομβύκια που δημιουργήθηκαν από προνύμφες μεταξοσκώληκα στις οποίες πραγματοποιήθηκε χορήγηση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή τους σε διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και σε διαφορετικές ηλικίες παρουσίασαν τροποποιήσεις σε διάφορα χαρακτηριστικά. Αρχικά, με βάση την εξωτερική μορφολογία παρατηρήθηκαν αλλαγές στο χρώμα των βομβυκίων. Συγκεκριμένα, τα βομβύκια που προήλθαν από τις προνύμφες της ομάδας του Μάρτυρα χαρακτηρίζονται από λαμπερό λευκό χρώμα, ενώ στις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες παρατηρούνται αποκλίσεις από αυτό. Ειδικότερα, στα βομβύκια που προέρχονται από τη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs επικρατεί κυρίως ένα σκούρο χρώμα προς το γκρι, με σημεία πορτοκαλί – κόκκινα διάσπαρτα πάνω στα βομβύκια και από τη δόση 2% w/v υπάρχει ακόμη πιο έντονο σκούρο γκρι χρώμα με πορτοκαλί σημεία διάσπαρτα στην επιφάνεια των βομβυκίων, αλλά όχι τόσο έντονα όσο αυτά που προέρχονται από τη δόση 1% w/v. Επομένως, η διαφορά στο χρώμα που

παρουσιάζεται στην εξωτερική επιφάνεια των βομβυκίων αποτελεί το πρώτο αποδεικτικό στοιχείο για την ενσωμάτωση των νανοσωματιδίων του  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  στην παραγόμενη ίνα μέσω της τροποποιημένης διατροφής των προνυμφών του μεταξοσκώληκα. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τις έρευνες των Nguyen A. T., 2014, Ramos et al., 2020 και Wang et al., 2020 όπου χρησιμοποιήθηκε  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0,05%, 0,1%, 1%, 2%, και 5% w/v) και βρέθηκε αλλαγή χρώματος στα παραγόμενα βομβύκια με την αύξηση της δόσης να οδηγεί σε σκουρότερου χρώματος γκρι βομβύκια. Επιπλέον, από έρευνες με τη χρήση διαφορετικών νανοσωματιδίων όπως  $\text{TiO}_2$ , και  $\text{Cu}$  οι Li et al., 2013, Min et al., 2015 και Wu et al., 2017 παρατήρησαν εξίσου ενσωμάτωση των NPs στην παραγόμενη ίνα του μεταξιού και αλλαγή στο χρώμα των βομβυκίων που κυμαινόταν σε πιο σκούρες αποχρώσεις του γκρι.

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση του βάρους (gr) των παραγόμενων βομβυκίων από μεταξοσκώληκες με τροποποιημένη δίαιτα μέσω της χρήσης  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs. Όταν η χορήγηση της διαφοροποιημένης σίτισης ξεκινούσε από τις πιο νεαρές προνύμφες (L2) τότε μόνο στη δόση 1% w/v ήταν δυνατό να παραχθούν βομβύκια. Αντίθετα, στις προνύμφες ηλικίας L3 έως L5 τόσο στη δόση 1% όσο και στη 2% w/v προέκυψαν βομβύκια. Συγκεκριμένα, τόσο στην L3 όσο και στις L4 & L5 στη δόση 1% w/v τα βομβύκια που παρήχθησαν στην 1<sup>η</sup> επανάληψη είχαν σημαντικά μεγαλύτερο βάρος συγκριτικά με αυτά της 2<sup>ης</sup> επανάληψης εντός της ίδιας δόσης, ενώ αντίθετα στη δόση 2% w/v δεν παρουσιάστηκαν διαφορές στα βάρη των βομβυκίων ανάμεσα στις δύο επαναλήψεις. Επιπλέον, συγκρίνοντας τις δύο δόσεις μεταξύ τους στις μεγαλύτερες προνυμφικές ηλικίες (L4, L5) τα βομβύκια που προέκυψαν από τη δόση 1% w/v διέθεταν στατιστικά σημαντικό μεγαλύτερο μέσο όρο βάρους σε σχέση με αυτά που προήλθαν από τη δόση 2% w/v. Είναι ωφέλιμο να σημειωθεί πως η ομάδα του Μάρτυρα παρήγαγε βομβύκια με το μεγαλύτερο βάρος από τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες. Τα ευρήματα αυτά συμφωνούν με την έρευνα των Wang et al., 2020 όπου από τη δόση 2% w/v προέκυψαν βομβύκια με μεγαλύτερο βάρος συγκριτικά με τη δόση 5% w/v, ενώ ο Μάρτυρας και σε αυτή την περίπτωση είχε βομβύκια με το μεγαλύτερο μέσο βάρος συγκριτικά με τις άλλες μεταχειρίσεις. Συνεπώς η μικρότερη δόση 1% w/v, στην παρούσα εργασία, οδήγησε σε πιο βαριά βομβύκια σε σύγκριση με τη 2% καθώς είναι πιθανό πως η αυξημένη δόση των  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs οδηγεί σε προβλήματα τοξικότητας και απέκκρισης των νανοσωματιδίων από τον οργανισμό των προνυμφών.

Επί προσθέτως, μελετήθηκε και το βάρος των βομβυκίων που επιλέχθηκαν τυχαία από τον πληθυσμό ώστε να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους σε ακμαία άτομα (βλ. Υλικά και μέθοδοι υποενότητα 3.5.2). Σε αυτή την περίπτωση, όπως και ανωτέρω με το βάρος των βομβυκίων, παρατηρήθηκε ότι στη δόση 1% w/v στην 1<sup>η</sup> επανάληψη τα βομβύκια διέθεταν μεγαλύτερο μέσο βάρος συγκριτικά με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της ίδιας δόσης, ενώ αντίθετα στη δόση 2% w/v δεν παρατηρήθηκε κάτι αντίστοιχο. Συγκρίνοντας όμως τις δύο διαφορετικές δόσεις μεταξύ τους, έγινε εμφανές ότι με την έναρξη τροποποιημένης σίτισης στην L5 τα βομβύκια που προήλθαν από τη δόση 1% ήταν σημαντικά πιο βαριά συγκριτικά με αυτά της 2% w/v. Η ομάδα του Μάρτυρα και σε αυτή την περίπτωση κατείχε το μεγαλύτερο μέσο βάρος των παραγόμενων βομβυκίων. Συνεπώς, είναι πιθανό πως η δόση μπορεί να έχει επίδραση στο βάρος των παραγόμενων βομβυκίων με τη χαμηλότερη δόση να προάγει μεγαλύτερα βομβύκια όπως προαναφέρθηκε και στην έρευνα των Wang et al., 2020.

Τέλος, σε ότι αφορά τα βομβύκια έγινε αξιολόγηση και του βάρους (gr) των άδειων κελυφών έπειτα από αφαίρεση της περιεχόμενης νύμφης. Με την έναρξη χορήγησης τροποποιημένης διατροφής από τις πιο νεαρές ηλικίες (L2, L3) παρατηρήθηκε ότι μόνο στη δόση 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs ήταν εφικτό οι προνύμφες να παράγουν βομβύκια, ενώ στη δόση 2% w/v δεν συνέβη κάτι αντίστοιχο. Επιπλέον, στη δόση 1% w/v και στην 1<sup>η</sup> επανάληψη στην L4 παρατηρήθηκε ότι τα άδεια κελύφη κατείχαν μεγαλύτερο βάρος συγκριτικά με τη 2<sup>η</sup> επανάληψη εντός της ίδιας δόσης, ενώ στη δόση 2% w/v δεν υπήρχε καμία διαφορά μεταξύ των δύο επαναλήψεων. Η L4 παρουσίασε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά στα βάρη των άδειων κελυφών όπου όσα προέρχονταν από τη δόση 1% w/v ήταν πιο βαριά σε σύγκριση με αυτά από τη 2% w/v. Παρόλα αυτά, κάτι παρόμοιο δεν παρατηρήθηκε στη μεγαλύτερη προνυμφική ηλικία L5. Αξίζει να σημειωθεί πως η ομάδα του Μάρτυρα κατείχε τα βομβύκια με το μεγαλύτερο βάρος άδειου κελύφους σε σύγκριση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις. Συνεπώς, η χορήγηση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην αυξημένη δόση των 2% w/v μπορεί να έχει κάποια τοξική επίδραση στις προνύμφες μικρότερης ηλικίας (L2, L3). Επιπλέον, σε προνύμφες ηλικίας L4 φαίνεται πως η δόση 1% w/v είναι δυνατό να οδηγήσει στην παραγωγή άδειων κελυφών με μεγαλύτερο βάρος συγκριτικά με την αυξημένη δόση των 2% w/v. Παρόλα αυτά, για τις ηλικίες L2 έως L4 δεν υπάρχει κάποια αντίστοιχη έρευνα στη διεθνή βιβλιογραφία ώστε να μπορούν τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα. Για την ηλικία όμως L5 οι έρευνες των Nguyen A. T., 2014 και Wang et al., 2020 επιβεβαιώνουν πως σε μικρότερες δόσεις τα Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs οδηγούν σε



αυξημένο βάρος σε άδεια κελύφη, ενώ και εδώ η μεταχείριση του Μάρτυρα διαθέτει τις μεγαλύτερες τιμές στο αντίστοιχο χαρακτηριστικό σε σύγκριση με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες.

## 5.5 Ακμαία

Το στάδιο που ακολουθεί έπειτα από την πλήρη μεταμόρφωση της προνύμφης είναι αυτό του ακμαίου ατόμου. Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η αξιολόγηση των ενήλικων ατόμων μεταξοσκώληκα που προέκυψαν έπειτα από τροποποιημένη διατροφή μέσω της χρήσης Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Αρχικά, όταν η χορήγηση των νανοσωματιδίων ξεκίνησε από τις πολύ νεαρές ηλικίες (L2, L3) τότε αποδείχθηκε ότι από την L2 κανένα άτομο δεν κατάφερε να ενηλικιωθεί, ενώ στην L3 ήταν δυνατό να προκύψουν ακμαία μόνο στη δόση 1% w/v. Αντιθέτως, στις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5) οι προνύμφες κατάφεραν να ολοκληρώσουν τη μεταμόρφωσή τους έπειτα από χορήγηση Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs και στις δύο διαφορετικές δόσεις και επαναλήψεις. Συνεπώς, μπορεί η χρήση των νανοσωματιδίων του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> να έχει κάποια δράση τοξικότητας στις προνύμφες του μεταξοσκώληκα και ιδιαίτερα στις νεαρές ηλικίες (L2, L3), ενώ δεν φαίνεται να επηρεάζει τις πιο ώριμες προνύμφες (L4, L5). Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τις έρευνες των Nguyen A. T., 2014, Cheng et al., 2017, Ramos et al., 2020 και Wang et al., 2020 όπου χρησιμοποιήθηκαν νανοσωματίδια Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Cu, Ag, TiO<sub>2</sub> σε διάφορες συγκεντρώσεις και βρέθηκε ότι οι νεαρές προνύμφες είναι πιο ευαίσθητες ιδιαίτερα σε μεγάλες δόσεις συγκριτικά με εκείνες μεγαλύτερης ηλικίας. Από την άλλη μεριά, οι Wu et al., 2017 ανέφεραν ότι με τη χρήση Cu NPs δεν επηρεάστηκε η αύξηση και ανάπτυξη των προνυμφών. Τα αποτελέσματα των ερευνών δύναται να διαφέρουν στον τύπο των νανοσωματιδίων, το στέλεχος μεταξοσκώληκα, την ηλικία των προνυμφών, τις συνθήκες εκτροφής, την μεθοδολογία χορήγησης των NPs που χρησιμοποιήθηκαν σε σύγκριση με την παρούσα εργασία.

Αναφορικά με τα ενήλικα άτομα έγιναν παρατηρήσεις και στην εξωτερική μορφολογία των εντόμων, στην ηθολογία τους και κατά πόσα αυτή παρέκκλινε από το «φυσιολογικό». Αρχικά, τα ακμαία άτομα της ομάδας του Μάρτυρα που δεν είχαν δεχτεί την μεταχείριση με τα Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs παρουσίαζαν τα χαρακτηριστικά του εμπορικού υβριδίου μεταξοσκώληκα (Qiufeng x Baiyu) που ήταν χρώμα σώματος λευκό έως ανοικτό μπεζ, γενικότερη «φυσιολογική» κατάσταση με κανονικά

σχηματισμένες πτέρυγες και κεραίες, ομοιόμορφα κατανεμημένο «τρίχωμα» (λέπια), κανονική συμπεριφορά με φυσιολογική βάδιση και τα αρσενικά στην παρουσία των θηλυκών χτυπούσαν ρυθμικά και έντονα τις πτέρυγές τους δημιουργώντας θόρυβο (συμπεριφορά σύζευξης). Αντιθέτως, τα ενήλικα που προέκυψαν έπειτα από τροποποιημένη διατροφή των προνυμφών με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs απέκλιναν από την ανωτέρω περιγραφή της ομάδας του Μάρτυρα. Ειδικότερα, τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά άτομα χαρακτηρίζονται από πιο σκούρο χρώμα σώματος που κυμαίνεται από κιτρινωπό έως σκούρο μπεζ, οι πτέρυγες δεν είναι σωστά αναπτυγμένες και είναι κακοσχηματισμένες με εγκοπές στις κορυφές ή/και τσαλακωμένες, διαθέτουν μικρότερες σε μέγεθος κεραίες, υπάρχει έλλειψη ομοιόμορφα κατανεμημένου «τριχώματος» με περιοχές σαν μπαλώματα γυμνά στο σώμα. Επιπλέον, η συμπεριφορά παρέκκλινε από τη φυσιολογική καθώς τα έντομα είχαν αργή και μη συγχρονισμένη βάδιση, μέρος του σώματός τους έγερνε από τη μία πλευρά (απώλεια ισορροπίας πιθανό λόγω δυσμορφίας των πτερύγων) και τα αρσενικά στην παρουσία θηλυκών ατόμων δεν χτυπούσαν τόσο έντονα και ρυθμικά τις πτέρυγές τους. Συνεπώς, τόσο η δόση 1% όσο και η 2% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs όταν προστίθεται στη διατροφή των προνυμφών του μεταξοσκώληκα οδηγεί σε πιθανή δράση τοξικότητας που παρεμβαίνει στη φυσιολογία των εντόμων με περισσότερες αποκλίσεις τόσο μορφολογικές όσο και ηθολογικές σε σύγκριση με την ομάδα του Μάρτυρα.

Στη μελέτη των ενήλικων ατόμων προστέθηκε και το βάρος (gr) τους. Όπως προαναφέρθηκε με την έναρξη της χορήγησης Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην L2 δεν προέκυψε κανένα ακμαίο, ενώ στην L3 μόνο στη δόση 1% w/v υπήρξαν ενήλικα άτομα τα οποία δεν παρουσίαζαν διαφορές μεταξύ των δύο επαναλήψεων εντός της ίδιας δόσης. Επιπλέον, για τις ηλικίες (L4, L5) δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο μέσο βάρος των ακμαίων ατόμων μεταξοσκώληκα ούτε εντός επαναλήψεων στην ίδια δόση, αλλά ούτε συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις μεταξύ τους (1%-2% w/v). Αξίζει να αναφερθεί ότι η ομάδα του Μάρτυρα κατείχε το μεγαλύτερο βάρος στα ακμαία άτομα. Με βάση τα ανωτέρω, φαίνεται πως το βάρος των ακμαίων που προκύπτουν έπειτα από τροποποιημένη διατροφή είναι ανεξάρτητο από τη δόση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs που θα χρησιμοποιηθεί.

Το ποσοστό (%) επιβίωσης των ακμαίων αξιολογήθηκε μέσω δύο διαφορετικών στατιστικών προσεγγίσεων (one-way ANOVA – paired t-test) των αποτελεσμάτων. Μέσω της χρήσης της μεθόδου one-way ANOVA προέκυψε ότι δεν υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό επιβίωσης των ακμαίων στις ηλικίες L4,

L5 καθώς και στο Μάρτυρα σε καμία από τις δύο διαφορετικές δόσεις (1%-2% w/v). Στα ίδια συμπεράσματα καταλήγει και η μέθοδος paired t-test για τις προνυμφικές ηλικίες L4, L5 καθώς και την ομάδα του Μάρτυρα συγκρίνοντας τις δύο δόσεις μεταξύ τους. Συνεπώς, η επιβίωση των ενήλικων ατόμων μεταξοσκώληκα είναι ανεξάρτητη από τη δόση χορήγησης Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών.

Είναι γνωστό πως τα ενήλικα άτομα του μεταξοσκώληκα χαρακτηρίζονται από αναπαραγωγική ωριμότητα και φυλετικό διμορφισμό μεταξύ αρσενικών και θηλυκών. Επομένως, όπως και στην περίπτωση των νυμφών, δύναται να πραγματοποιηθεί η μελέτη του ποσοστού (%) καθορισμού του φύλου των ακμαίων. Αξίζει να σημειωθεί ότι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν τόσο μεταξύ των διαφορετικών φύλων (♀-♂), όσο και μεταξύ των ίδιων φύλων (♀-♀, ♂-♂) στις διαφορετικές δόσεις (1% και 2% w/v) και επαναλήψεις μέσω της μεθόδου paired t-test. Συγκεκριμένα, συγκρίνοντας τις διαφορετικές επαναλήψεις εντός της δόσης 1% w/v μεταξύ των δύο διαφορετικών φύλων δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές σε καμία πειραματική ομάδα. Συνεπώς, μετά την προσθήκη 1% w/v Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στη διατροφή των προνυμφών του *B. mori* από το L3 και έπειτα δεν επηρεάζεται ο καθορισμός του φύλου στα ακμαία και άρα μπορεί το χαρακτηριστικό αυτό να είναι ανεξάρτητο από τη λήψη τροποποιημένης σίτισης. Παρόμοια αποτελέσματα παρουσιάστηκαν και στη σύγκριση των δύο διαφορετικών επαναλήψεων στη δόση 2% w/. Στη συνέχεια της μελέτης των φύλων στα ενήλικα παρατηρήθηκε ότι στις συγκρίσεις μεταξύ των ίδιων φύλων (♀-♀, ♂-♂) στις διαφορετικές δόσεις (1%-2% w/v) δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Επομένως, μπορεί η χορήγηση των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs να μην επηρεάζει το ίδιο φύλο ανεξαρτήτως δόσης.

Η βιωσιμότητα των ακμαίων ατόμων μεταξοσκώληκα που προήλθαν από μεταχείριση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs, μετρήθηκε σε αριθμό ημερών και αξιολογήθηκε με βάση το φύλο (♀-♂). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα από την στατιστική επεξεργασία με τη μέθοδο paired t-test προκύπτει ότι σε όλες τις ηλικίες (L3 έως L5) στη σύγκριση μεταξύ των δύο επαναλήψεων εντός της ίδιας δόσης, τόσο για την 1% όσο και για τη 2% w/v, τα θηλυκά άτομα έζησαν σημαντικά περισσότερο από τα αντίστοιχα αρσενικά. Τα ίδια αποτελέσματα προκύπτουν συγκρίνοντας τις δύο δόσεις μεταξύ τους (1%-2% w/v). Επί προσθέτως, η βιωσιμότητα στα δύο φύλα ήταν μικρότερη όταν η μεταχείριση ξεκίνησε σε νεαρή ηλικία (L3) και εμφάνισε τάση αύξησης στις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5) και στις δύο δόσεις. Επομένως, η χορήγηση τροποποιημένης διαίτας με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs

μπορεί να επηρεάσει τη βιωσιμότητα των ακμαίων ατόμων και ειδικότερα οδηγεί σε μακροβιότερα θηλυκά σε σύγκριση με τα αρσενικά ανεξαρτήτου δόσης και ηλικίας.

Το ποσοστό (%) των συζεύξεων των ακμαίων αξιολογήθηκε για κάθε φύλο χωριστά και χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος paired t-test για την σύγκριση μεταξύ τους. Με βάση τα αποτελέσματα στη σύγκριση μεταξύ των δύο επαναλήψεων εντός της ίδιας δόσης, τόσο για την 1% όσο και για τη 2% w/v, φαίνεται να μην προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό των συζεύξεων που πραγματοποιήθηκαν από αρσενικά και θηλυκά ακμαία άτομα. Παρόλα αυτά, συγκρίνοντας τις δύο δόσεις μεταξύ τους (1%-2% w/v), παρατηρείται ότι με τη χορήγηση τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs στην L4 τα θηλυκά άτομα κατέχουν σημαντικά περισσότερες συζεύξεις σε σύγκριση με τα αντίστοιχα αρσενικά άτομα. Κάτι παρόμοιο δεν παρατηρήθηκε στην L5 αλλά ούτε και στην ομάδα του Μάρτυρα. Επιπλέον, στη σύγκριση του ποσοστού συζεύξεων στα αρσενικά άτομα και στις δύο δόσεις, παρατηρείται ότι όταν η έναρξη μεταχείρισης ξεκινάει σε πιο νεαρές ηλικίες (L3), τότε το ποσοστό συζεύξεων είναι μικρότερο και αυξάνεται με την αύξηση της ηλικίας (L4, L5) κάτι που δεν παρατηρήθηκε στην περίπτωση των θηλυκών ατόμων. Άρα, το ποσοστό των συζεύξεων φαίνεται να επηρεάζεται από τη χορήγηση τροποποιημένης σίτισης με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs κυρίως για τα αρσενικά άτομα και όχι για τα θηλυκά. Εφόσον δεν υπάρχει διαθέσιμη βιβλιογραφική πηγή προς σύγκριση χρειάζεται περαιτέρω έρευνα αναφορικά με τα ακμαία άτομα μεταξοσκώληκα για να αποφευχθεί η πιθανότητα πειραματικού σφάλματος σε αυτή τη μελέτη.

Τέλος, αναφορικά με τα ακμαία μελετήθηκε και ο αριθμός των συζεύξεων των αρσενικών ατόμων που προήλθαν από μεταχειρίσεις με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Με τη χρήση της μεθόδου paired t-test προέκυψε ότι στη σύγκριση μεταξύ των δύο επαναλήψεων εντός της ίδιας δόσης, τόσο για την 1% όσο και για τη 2% w/v, φαίνεται να μην προκύπτουν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον αριθμό των συζεύξεων που πραγματοποίησαν τα ακμαία αρσενικά. Επιπλέον, τα ίδια συμπεράσματα προκύπτουν συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις μεταξύ τους (1%-2% w/v). Συνεπώς, οι φορές που θα συζευχθεί ένα ενήλικο αρσενικό άτομο μεταξοσκώληκα δεν επηρεάζονται από την ηλικία έναρξης χρήσης και δόσης των Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs.

Έρευνες πάνω στη δράση των νανοσωματιδίων σε βιολογικά χαρακτηριστικά στο στάδιο των ακμαίων ατόμων μεταξοσκώληκα δεν έχουν πραγματοποιηθεί ώστε να μπορεί να γίνει σύγκριση με τη βιβλιογραφία και συνεπώς είναι αναγκαία η περαιτέρω έρευνα προς αυτή την κατεύθυνση.

## 5.6 Ωά

Πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση τόσο των ωών που παρήχθησαν από τα ακμαία άτομα των ομάδων που υποβλήθηκαν σε τροποποιημένη σίτιση με  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs, όσο και στο υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) που χρησιμοποιήθηκε για το πειραματικό μέρος της παρούσας εργασίας. Ειδικότερα, μελετήθηκε η αναπαραγωγική ικανότητα των ενήλικων ατόμων μεταξοσκώληκα μέσω του αριθμού των παραγόμενων ωών με τη χρήση δύο στατιστικών προσεγγίσεων (paired t-test - one-way ANOVA). Μέσω της χρήσης της μεθόδου paired t-test συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές δόσεις μεταξύ τους (1%-2% w/v) τόσο στην L4 όσο και στην L5 βρέθηκε ότι στη δόση 1% τα θηλυκά παρήγαγαν σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό ωών σε σύγκριση με τη 2% w/v. Συμπερασματικά, με την αύξηση της δόσης στο 2% w/v ο αριθμός των παραγόμενων ωών μειώνεται σημαντικά και άρα τα  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs είναι δυνατό να επηρεάσουν αρνητικά την αναπαραγωγική ικανότητα των ενηλίκων όσο αυξάνεται η συγκέντρωσή τους. Μέσω της χρήσης της μεθόδου one-way ANOVA προκύπτει ότι ο αριθμός των ωών ανά ηλικία χορήγησης των  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs διαφέρει σημαντικά, τόσο στη δόση 1% όσο και στη 2%, και τείνει να αυξάνεται με την αύξηση της προνυμφικής ηλικίας. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ομάδα του Μάρτυρα χαρακτηρίζεται από τον μεγαλύτερο αριθμό παραγόμενων ωών. Με βάση τα ανωτέρω προκύπτουν παρόμοια συμπεράσματα (όπως και με το t-test κατά ζεύγη), καθώς όσο αυξάνεται η ηλικία στην οποία γίνεται χρήση των νανοσωματιδίων τόσο περισσότερα ωά παράγονται, ενώ όσο αυξάνεται η δόση στο 2% w/v ο αριθμός των ωών μειώνεται συγκριτικά με την 1% w/v.

Η αναπαραγωγική ικανότητα των ενηλίκων ατόμων μεταξοσκώληκα σε συνάρτηση με τα παραγόμενα ωά εκφράστηκε και ως ποσοστό (%) και προσεγγίστηκε στατιστικά με τη μέθοδο one-way ANOVA. Ειδικότερα, στη δόση 1% w/v  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs παρατηρείται στατιστικά σημαντική διαφορά στο ποσοστό αναπαραγωγικής ικανότητας το οποίο τείνει να αυξάνεται σταδιακά ανάλογα με την αύξηση της ηλικίας (από L3 έως L5) στην οποία χορηγούνται τα νανοσωματίδια. Αντίθετα, στη δόση 2% w/v οι ηλικίες L4 και L5 δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους αλλά μόνο με την ομάδα του Μάρτυρα. Είναι ωφέλιμο να αναφερθεί ότι ο Μάρτυρας διαθέτει το μεγαλύτερο ποσοστό αναπαραγωγικής ικανότητας συγκριτικά με τις υπόλοιπες πειραματικές ομάδες. Συνεπώς, η προσθήκη  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  NPs στη διατροφή προνυμφών μεταξοσκώληκα είναι δυνατό να επηρεάσει την αναπαραγωγική ικανότητα των ενηλίκων ατόμων που προκύπτουν και εξαρτάται από το ηλικιακό στάδιο καθώς και τη

δόση των νανοσωματιδίων. Επιπλέον, με την αύξηση της δόσης στο 2% w/v παρατηρείται μείωση στο ποσοστό αναπαραγωγικής ικανότητας των ακμαίων ατόμων σε σύγκριση με την 1% w/v.

Τα ωά που προέκυψαν από τις πειραματικές ομάδες μέσω της χρήσης Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs αξιολογήθηκαν και με βάση του ποσοστού (%) γονιμοποίησής τους. Συγκρίνοντας τις δύο δόσεις μεταξύ τους (1%-2% w/v) τόσο στην L4 όσο και στην L5, στη δόση 1% υπήρχε στατιστικά μεγαλύτερο ποσοστό γονιμοποιημένων ωών σε σχέση με τη 2% w/v. Συμπερασματικά, φαίνεται πως η αυξημένη δόση 2% w/v που χορηγείται μέσω της διατροφής των προνυμφών στις μεγαλύτερες ηλικίες (L4, L5) παρουσιάζει προβλήματα στην γονιμοποίηση των ωών από τα ακμαία άτομα.

Το υλικό χρήσης (μεταξόσπορος) του εμπορικού υβριδίου (Qiufeng x Baiyu) που χρησιμοποιήθηκε για το πειραματικό μέρος στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε ως προς ορισμένες παραμέτρους που αφορούν τον αριθμό των ωών ανά γραμμάριο μεταξόσπορου, τα αγονιμοποίητα ωά από το υλικό χρήσης καθώς και το ποσοστό (%) εκκολαπτικότητα των ωών του μεταξόσπορου. Μέσω της χρήσης της μεθόδου paired t-test προέκυψε ότι δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές σε καμία από τις παραμέτρους που προαναφέρθηκαν. Επομένως, ο μεταξόσπορος που χρησιμοποιήθηκε για τις μεταχειρίσεις με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs ήταν ασφαλής ως προς τη χρήση του.

Συμπερασματικά, και για τα παραγόμενα ωά που προήλθαν από ακμαία με τροποποιημένη σίτιση με Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs δεν υπάρχει διαθέσιμη σύγκριση με αντίστοιχα βιβλιογραφικά δεδομένα και έτσι απαιτείται περισσότερη έρευνα στα στάδια του μεταξοσκώληκα που δεν αφορούν την παραγωγή του μεταξιού.

## 5.7 Ίνα

Σκοπός της μελέτης της παρούσας εργασίας αποτελεί η παραγόμενη ίνα μεταξιού έπειτα από σίτιση των προνυμφών του μεταξοσκώληκα με διαφορετικές δόσεις Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> NPs. Για την επίτευξη του ανωτέρου στόχου δημιουργήθηκαν παρασκευάσματα ίνας προς παρατήρηση τόσο σε στερεοσκόπιο όσο και σε μικροσκόπιο τόσο οπτικό όσο και αντίθετης φάσης (βλ. υποενότητα 4.7.1). Μέσω της παρατήρησης των παρασκευασμάτων της ίνας αποδείχτηκε ότι τα νανοσωματίδια του Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> στις δόσεις 1% και 2% w/v διαθέτουν την ικανότητα ενσωμάτωσης στο παραγόμενο μετάξι.

Η αξιολόγηση που πραγματοποιήθηκε αφορά στην εξωτερική μορφολογία της παραγόμενης ίνας. Ειδικότερα, στην ομάδα του Μάρτυρα, έπειτα από παρατήρηση των παρασκευασμάτων, η ίνα διακρίνεται λαμπερή και λεία με το χρώμα της να κυμαίνεται από λευκό έως γαλακτώδες. Στα παρασκευάσματα που προήλθαν από την μεταχείριση με τη δόση 1% w/v η ίνα φαίνεται να είναι πιο σκουρόχρωμη με χαρακτηριστική «τραχιά» επιφάνεια πιθανώς από τα ενσωματωμένα νανοσωματίδια  $Fe_3O_4$  που της προσδίδουν επίσης χρώμα υποκίτρινο έως πορτοκαλί και σε άλλες περιπτώσεις ροζ έως ανοικτό κόκκινο κατά σημεία. Αντίστοιχα, παρασκευάσματα ίνας από τη μεταχείριση με τη δόση 2% w/v παρουσιάζουν παρόμοια χαρακτηριστικά με αυτά της 1% w/v, όπως η τραχιά επιφάνεια λόγω των  $Fe_3O_4$  NPs, πλην του γεγονότος ότι η ίνα δεν είναι τόσο σκουρόχρωμη και ο χρωματισμός της κυμαίνεται από κίτρινο έως πορτοκαλί, ενώ σε κάποια δείγματα εμφανίζει ροζ αποχρώσεις. Οι παρατηρήσεις που περιεγράφηκαν ανωτέρω συμφωνούν με τις έρευνες των Nguyen A. T., 2014, Ramos et al., 2020 και Wang et al., 2020 όπου μέσω της χρήσης διαφορετικών συγκεντρώσεων  $Fe_3O_4$  NPs διαπιστώθηκε η ικανότητα ενσωμάτωσης τους στην παραγόμενη ίνα μεταξιού και μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (Scanning Electron Microscopy - SEM), εφόσον είχε προηγηθεί η τροποποίηση της διατροφής των προνυμφών. Επιπλέον, οι Li et al., 2013, Min et al., 2015, Cheng et al., 2017, και Wu et al., 2017 αναφέρουν ικανότητα ενσωμάτωσης και άλλων νανοσωματιδίων σε διάφορες συγκεντρώσεις όπως  $TiO_2$ , Cu, και Ag στο παραγόμενο μετάξι μέσω της χορήγησής τους κατά τη διάρκεια σίτισης των προνυμφών του μεταξοσκώληκα.

## 5.8 Μελλοντικές προοπτικές χρήσης των νανοσωματιδίων στη σηροτροφία

Η σίτιση μεταξοσκωλήκων με τροποποιημένες διατροφές που περιέχουν νανοσωματίδια είναι μια πιο «πράσινη στρατηγική» για την παραγωγή ινών μεταξιού με βελτιωμένες ιδιότητες και νέες λειτουργίες. Διαφορετικές μελέτες έχουν ήδη καταδείξει την εγκυρότητα αυτής της φυσικής και *in situ* προσέγγισης για την παραγωγή προηγμένων και πολυλειτουργικών ινών από μετάξι από την ανάλυση της δομής τους και την αξιολόγηση των ιδιοτήτων τους. Βρέθηκε ότι τα νανοσωματίδια μπορούν να εισέλθουν στους μεταξογόνους αδένες των μεταξοσκωλήκων και να ενσωματωθούν με επιτυχία στην παραγόμενη ίνα χωρίς να αλλάξουν τη δομή και τα χαρακτηριστικά τους, γεγονός που επιτρέπει τη δημιουργία σύνθετων υλικών που

συνδυάζουν τα πλεονεκτήματα τόσο των νανοϋλικών όσο και του μεταξιού. Τα νανοσωματίδια επηρεάζουν τη μετάβαση της διαμόρφωσης από α-έλικα και τυχαία πηνία σε β-φύλλο στην ίνα μεταξιού, που σε συνδυασμό με τις μοναδικές φυσικές, χημικές και βιολογικές τους ιδιότητες οδηγούν σε βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων των μεταξωτών ινών ή/και σε νέες λειτουργικότητες. Ωστόσο, οι υψηλές συγκεντρώσεις νανοσωματιδίων στις τροποποιημένες διατροφές μπορεί να είναι τοξικές για την ανάπτυξη των προνυμφών του μεταξοσκώληκα, ενώ μειώνουν τις μηχανικές ιδιότητες των μεταξωτών ινών.

Δεδομένου ότι οι ίνες μεταξιού με εκτεταμένη εφαρμογή μπορούν δυνητικά να παραχθούν σε μεγάλη κλίμακα χρησιμοποιώντας αυτήν την αποτελεσματική και πιο «πράσινη στρατηγική», θα πρέπει να διεξαχθούν περαιτέρω μελέτες στο μέλλον για να κατανοηθεί πώς τα νανοσωματίδια που χορηγούνται στη διατροφή επηρεάζουν την ανάπτυξη των προνυμφών του μεταξοσκώληκα, πώς κατανέμονται στους ιστούς, τι είναι η θανατηφόρα δόση στις τροποποιημένες δίαιτες για τη διασφάλιση της ανάπτυξης των προνυμφών και ποιοι είναι οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην πρόσληψη των νανοσωματιδίων στους μεταξογόνους αδένες. Επιπλέον, οι φυσικοχημικές παράμετροι των νανοϋλικών όπως οι διαστάσεις, το σχήμα, η επιφανειακή επίστρωση και η διαλυτότητα αναμένεται να έχουν σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα ενσωμάτωσής τους και θα πρέπει να διευκρινιστούν περαιτέρω. Με λεπτομερή γνώση των παραγόντων που επιτρέπουν την πρόσληψη νανοσωματιδίων στους μεταξογόνους αδένες, η ενσωμάτωσή τους σε ίνες μεταξιού μπορεί να μεγιστοποιηθεί οδηγώντας στην παραγωγή καινοτόμων πολυλειτουργικών μεταξωτών υλικών που ταιριάζουν στο αίτημα νέων βιοϊατρικών εφαρμογών. Αυτή η πιο «πράσινη στρατηγική» μπορεί εύκολα να κλιμακωθεί, ανοίγοντας έναν νέο δρόμο για τη μεγάλης κλίμακας παραγωγή βιώσιμων προηγμένων υλικών από μετάξι.



## 6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### 6.1 Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

**Ali, M.A., Rehman I., Iqbal A., Din, S., Rao, A.Q., Latif, A., Samiullah, T.R., Azam, S., Husnain, T.,** 2014. Nanotechnology: a new frontier in agriculture. *Adv. Life Sci.*, 1, 129 – 138.

**Aruga H.** 1994. Principles of sericulture. A. A. Balkema / Rotterdam.

**Asakura T., Sugino R., Okumura T., Nakazawa Y.** 2002. The role of irregular unit, GAAS, on the secondary structure of Bombyx mori silk fibroin studied with <sup>13</sup>C CP/MAS NMR and wide-angle X-ray scattering. *Protein Science*, Vol. 11, Issue 8, pages 1873 – 1877.

**Ashaben, P., Mitesh, P., Xiaoyan Y., Ashim, K. M.,** 2014. Recent Advances in Protein and Peptide Drug Delivery: A Special Emphasis on Polymeric Nanoparticles, *Protein Pept. Lett.*, 21(11), 1102 – 1120.

**Beard J.,** 1992. Warding off bullets by a spider's tread. *New scientist* 1847, 18.

**Bhanoo S. N.,** 2011. Silk Production Takes a Walk on the Wild Side. *New York Times* 20 May 2011.

**Bhviripudi, S., Mile E., Iii S.A.S., Zare, A.T., Dresselhaus, M.S., Belcher, A.M., Kong, J.,** 2007. CVD Synthesis of Single-Walled Carbon Nanotubes from Gold Nanoparticle Catalysts, *J. Am. Chem. Soc.*, 1516 – 7.

**Birla, S.S., Tiwari, V.V., Gade, A.K., Ingle, A.P., Yadav, A.P., Rai, M.K.,** 2009. Fabrication of silver nanoparticles by *Phoma glomerata* and its combined effect against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*, *Lett. Appl. Microbiol.*, 48, 173 – 179.

**Borror D. J., Triplehorn C. A., and Johnson N. F.,** 1986. An introduction to the study of insects, 6th Edition, Sanders College Publishing, Philadelphia, pp. 875.

**Bououdina, M.S., Rashdan, J.L., Bobet, Y., Ichianagi,** 2013. Nanomaterials for biomedical applications: synthesis, characterization, and applications. *J. Nanomater.*, 1 - 4.

**Bragg W. H.** 1915, The Structure of Magnetite and the Spinel, *Nature*, volume 95, page 561

**Bzdek, B.R., Zordan, C.A., Iii, G.W.L., Murray, V., Bzdek, B.R., Zordan, C.A., Iii, G.W.L., Murray, V., Bzdek, B.R., Zordan, C.A., Iii G.W.L., Johnston M.V.,** 2011. Nanoparticle Chemical Composition During New Particle Formation, *Aerosol Sci. Technol.*, 45, 1041 - 1048.

**Cai L., Shao H., Hu X., and Zhang Y.** 2015. Reinforced and Ultraviolet Resistant Silks from Silkworms Fed with Titanium Dioxide Nanoparticles. *ACS Sustainable Chem. Eng.* DOI: 10.1021/acsuschemeng.5b00749

**Cao, J., Hu, X.,** 2009. Synthesis of gold nanoparticles using halloysites. *J. Surf. Sci. Nanotechnol.* 7, 813 – 815.

**Chatterjee J., Haik Y., Chen C.J.** 2003. Size dependent magnetic properties of iron oxide nanoparticles, [Journal of Magnetism and Magnetic Materials](#), [Volume 257, Issue 1](#), February 2003, Pages 113-118

**Cheng L., Huang H., Chen S., Wang W., Dai F., Zhao H.** 2017. Characterization of silkworm larvae growth and properties of silk fibres after direct feeding of copper or silver nanoparticles. *Mater. Des.*, 129, 125–134.

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

**Debnath, N., Das, S., Seth, D., Chandra, R., Bhattacharya, S.C., Goswami, A.**, 2011. Entomotoxic effect of silica nanoparticles against *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Pest. Sci.*, 84, 99 – 105.

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

**Delfani, M., Firouzabadi, M.B., Farrokhi, N., Makarian, H.**, 2014. Some physiological responses of black-eyed pea to iron and magnesium nanofertilizers. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 45, 530 – 540.

**Denlinger D. L.**, 2002. Regulation of diapause. *Annual Review of Entomology*, 47: 93 – 122.

**Ealias, A.M, Saravanakumar, M.P.**, 2017. A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application, *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, IOP Publishing, 263.

**Foelix R. F.**, 1996. *Biology of Spiders*, 2nd end. Oxford University Press, Georg. Thieme Verlag, New York.

**Gade, A.K., Bonde, P., Ingle, A.P., Marcato, PD, Duran, N, Rai, M.K.**, 2008. Exploitation of *Aspergillus niger* for synthesis of silver nanoparticles. *J. Biobased. Mater Bioenergy.*, 2, 243 – 247.

**Ganesh, K., Archana, D.**, 2013. Review Article on Targeted Polymeric Nanoparticles: An Overview, *Am. J. Adv. Drug Deliv.* 3(3), 196 – 215.

**Ganga G.**, 2003. *Comprehensive sericulture volume 2*. Science Publishers Inc.

**Garthwaite G. R.**, 2005. *The Persians*. Oxford & Carlton: Blackwell Publishing Ltd.

**Ghafariyan, M.H., Malakouti, M.J., Dadpour, M.R., Stroeve, P., Mahmoudi, M.**, 2013. Effects of magnetite nanoparticles on soybean chlorophyll. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 10645 – 10652.

**Goldsmith M. R., Shimada T. and Abe H.**, 2005. The genetics and genomics of the Silkworm *Bombyx mori*. *Annual Reviews Entomology*, 50: 71 – 100.

**Goswami, A., Roy, I., Sengupta, S., Debnath, N.**, 2010. Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens. *Thin Solid Films*, 519, 1252 – 1257.

**Heera, P., Shanmugam, S.**, 2015. Review Article Nanoparticle Characterization and Application: An Overview *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 4(8), 379 - 386.

**Hett, A.**, 2004. *Nanotechnology: small matters, many unknown*. Zurich, Switzerland: Swiss Re.

- 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 C.E., Booksurge, Charleston, South Carolina.
- Hodoroaba, V., Rades, S., Unger W.E.S.**, 2014. Inspection of morphology and elemental imaging of single nanoparticles by high- resolution SEM / EDX in transmission mode, Surf. Interface Anal., 1 - 4.
- Hollander D. H.**, 1994. Intertitial cystitis and silk allergy. Med. Hypothese 43, pp. 155.
- Imtiyaz, H., Singh N. B., Email, A. Singh, Singh H., Singh S.C.**, 2016. Green synthesis of nanoparticles and its potential application, Biotechnol. Lett., 38 (4), 545 - 560.
- Inoue S., Tanaka K., Tanaka H., Ohtomo K., Kanda T., Imamura M., Quan G-X., Kojima K., Yamashita T., Nakajima T., Taira H., Tamura T., Mizuno S.**, 2004. Assembly of the silk fibroin elementary unit in endoplasmic reticulum and a role of L-chain for protection of alpha1,2-mannose residues in N-linked oligosaccharide chains of fibrohexamerin/P25. Eur J Biochem, 271(2): p. 356-66.
- Jores, K., Mehnert, W., Drecusler, M., Bunyes, H., Johan, C., Mader, K.**, 2004. Investigation on the stricter of solid lipid nanoparticles and oil-loaded solid nanoparticles by photon correlation spectroscopy, field flow fractionasition and transmission electron microscopy. J Control Release.,17, 217 – 27.
- Kaplan D. L., Lombardini S. J., Muller W. S. and Fossey S. A.**, 1991. Biomaterials: Novel materials from biological source (Ed. D. Byron), Stockton Press, New York.
- Kerkam, K., Viney, C., Kaplan, D. and Lombardi S.**, 1991. Liquid crystallinity of natural silk secretions. Nature 349, 596–598.
- Kumar, A.S., Ansary, A.A., Ahmad, A., Khan, M.I.**, 2007. Extracellular biosynthesis of CdSe quantum dots by the fungus, *Fusarium oxysporum*. J. Biomed. Nanotechnol., 3, 190 – 194.
- Kumar, S., Bhanjana, G., Sharma, A., Sarita, Sidhu M.C., Dilbaghi N.**, 2015. Herbicide loaded carboxymethyl cellulose nanocapsules as potential carrier in agrinanotechnology. Sci. Adv. Mater., 7,1143 – 1148.
- Laad, M., Jatti, V.K.S.**, 2016. Titanium oxide nanoparticles as additives in engine oil J. KING SAUD Univ. - Eng. Sci. 0 – 6.
- 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.
- Lim S. H., Kim Y. T., Lee S. P., Rhee I. J., Lim J. S. and Lim B. H.**, 1990. Sericulture Training Manual, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Agriculture Services Bulletin 80.
- Lubec G., Holaubek J., Feldl C., Lubec B. and Strouhal E.**, 1993. Use of silk in ancient Egypt. Nature, 362 (6415): 25.
- Machado, S., Pacheco, J.G., Nouws, H.P.A., Albergaria, J.T., Delerue-Matos, C.**, 2015. Characterization of green zero-valent iron nanoparticles produced with tree leaf extracts. Sci.Total Environ. 533, 76 – 81.

- Maekawa H., Takada N., Mikitani K., Ogura T., and Miyajima N.,** 1988. Nucleolus organizers in the wild silkworm *Bombyx mandarina* and the domesticated silkworm *B. mori*. *Chromosoma*, 96: 263 – 269.
- Mahesha H. B., Thejaswini P. H., Honnaiah S.** 2000. Haemolymph proteins of F1 progeny raised from ethyl methanesulfonate treated silkworm *Bombyx mori* L., *Indian Journal of Sericulture*, Vol. 39 No 2 pp. 139 – 144 ref. 27
- Marsalek, R.,** 2014. Particle Size and Zeta Potential of ZnO. *APCBEE Procedia*, 9, 13 – 7.
- Martens, D.C., Westermann, D.T.,** 1991. Fertilizer applications for correcting micronutrient deficiencies. In: Alloway B.J., editor. *Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production*. Springer, 549 – 553.
- McNamara K., Tofail S.A.M.,** 2017. Nanoparticles in biomedical applications, *Advances in Physics*:X, 2(1), 54 – 88.
- Meng Z. and Xu J.,** 2000. Studies on the chromosome structure and its variation of China mulberry wild silkworm. *Canye Kexue*, 26: 5 – 9.
- Minoura N., Aiba S., Gotoh Y., Tsukada M. and Mai Y.,** 1995. Attachment and growth of cultured fibroblast cells on silk protein matrices. *J. Bromed Master Res.*, 29 1215.
- Mittal A.K., Yusuf C., Uttam C.B.,** 2013. Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts, *Biotechnol. Adv.*, 31 (2), 346 - 356.
- Moy R. L., Lee A. and Zalka A.,** 1991. Commonly used suture materials in skin surgery. *Am. Fam. Physician.*, 44, 2123.
- Mudshinge S.R, Deore A.B., Patil S., Bhalgat C.M.,** 2011. Nanoparticles: Emerging carriers for drug delivery. *Saudi Pharm. J.*, 19, 129 - 41.
- Nakamura T., Banno Y. and Fuji H.,** 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., Banno Y., Nakada T., Nho S. K. 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.
- Narayanan K.B., Sakthivel N.,** 2010. Biological Synthesis of metal nanoparticles by microbes, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 156, 1 - 13.
- Nguyen A. T.,** 2014. Functional silk-based materials: from understanding to control of self-assembling process. A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy, Nus Graduate School for Integrative Sciences and Engineering, National University of Singapore, 2014.
- Oprică L. and Bălăsoiu M.,** 2020, Nanoparticles: an overview about their classifications, synthesis, properties, characterization and applications, *J. Exp. Molec. Biol.* 2019, Tome XX, No 4:43 – 60
- Otsuki R.,** 1997. Silkworm egg production. *Scienc. Publisher, Inc.*, pp. 194 (Translated from Japanese).

**Pangi, Z., Beletsi, A., Evangelatos, K.,** 2003. PEG-ylated nanoparticles for biological and pharmaceutical application. *Adv. Drug Del. Rev.*, 24, 403 – 19.

**Parkhe A.D., Seeley S. K., Gardner K., Thompson L., Lewis R. V.** 1997. Structural studies of spider silk proteins in the fiber. *Journal of Molecular Recognition*, Vol. 10, Issue 1, pages 1-6

**Parveen, K., Banse V., Ledwani L.,** 2016. Green synthesis of nanoparticles: Their advantages and disadvantages, *AIP Conference Proceedings*, 1724, (1).

**Pérez-de-Luque A., Rubiales, D.,** 2009. Nanotechnology for parasitic plant control. *Pest. Manag. Sci.*, 65, 540 – 545.

**Peteu, S.F., Oancea, F., Siciua, O.A., Constantinescu, F., Dinu, S.,** 2010. Responsive polymers for crop protection. *Polymers*, 2, 229 – 251.

**Pradhan, S., Patra, P., Das, S., Chandra, S., Mitra, S., Dey, K.K.,** 2013. Photochemical modulation of biosafe manganese nanoparticles on *Vigna radiata*: a detailed molecular biochemical, and biophysical study. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 13122 – 13131.

**Rai, M., Yadav, A., Bridge, P., Gade, A.,** 2009. Myconanotechnology: a new and emerging science. In: Rai MK, Bridge PD (eds) *Applied mycology*, vol 14. CAB International, New York, 258 – 267.

**Rai, M., Yadav, A., Gade A.,** 2008. Current trends in phytosynthesis of metal nanoparticles. *Crit. Rev. Biotechnol.* 28(4), 277 – 284.

**Ramos N., Miranda M. S., Franco A. R., Silva S. S., Azevedo J., Dias I. R., Reis R. L., Viegas C., and Gomes M. E.,** 2020. Toward Spinning Greener Advanced Silk Fibers by Feeding Silkworms with Nanomaterials, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 8, 11872–11887. <https://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c03874>

**Sau T.K., Rogach A.L.,** 2010. Nonspherical noble metal nanoparticles: colloid-chemical synthesis and morphology control. *Adv. Mater* 22(16), 1781 – 1804.

**Searle, M.S. and Ciani B.,** 2004. Design of beta-sheet systems for understanding the thermodynamics and kinetics of protein folding. *Curr Opin Struct Biol*, 14(4): p. 458-64.

**Sharma V., Rao L.J.M.,** 2014. An overview on chemical composition, bioactivity and processing of leaves of *Cinnamomum tamala*. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 54, 433 – 48.

**Sharma, V.K., Yngard, R.A., Lin, Y.,** 2009. Silver nanoparticles: green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 145, 83 – 96.

**Shi J., Lua S., Du N., Liu X. Y. and Song J.,** 2008. Identification, recombinant production and structural characterization of four silk proteins from the Asiatic honeybee *Apis cerana*. *Biomaterials*, 29: 2820.

**Shimada T., Kurimoto Y., and Kobayashi M.,** 1995. Phylogenetic relationship of silk-moths inferred from sequence data of the arylphorin gene. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 4: 223 – 234.

**Shyla, K.K., Natarajan, N., Nakkeeran, S.,** 2014. Antifungal activity of zinc oxide, silver and titanium dioxide nanoparticles against *Macrophomina phaseolina*. *J. Mycol. Plant Pathol.*, 44, 268 – 273.

- Singh P., Kim Y-J, Zhang D., Yang D.-C.**, 2016. Synthesis of nanoparticles from Plants and Microorganisms, *Trends Biotechnol.*, 34 (7), 588 - 599.
- Subramanya G. and Bishop C.**, 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.
- Sutherland T. D., Young J. H., Weisman S., Hayashi C. Y. and Merritt D. J.**, 2010. Insect silk: one name, many materials. *Annual Review of Entomology*, 55: 171 – 188.
- Tai, C. Y., Tai, C., Chang, M., Liu H.**, 2007. Synthesis of Magnesium Hydroxide and Oxide Nanoparticles Using a Spinning Disk Reactor *Ind. Eng. Chem. Res.*, 5536 – 41.
- Tazima Y.**, 1984. Silkworm moths. In: Mason IL (ed.) *Evolution of Domesticated Animals*, pp. 416 – 424. Longman, London.
- Teodoro, S., Micaela, B., David, K.W.**, 2010. Novel use of nano-structured alumina as an insecticide. *Pest. Manag. Sci.*, 66, 577 – 579.
- Tiwari, D.K., Behari J., Sen P.**, 2008. Application of Nanoparticles in Waste-Water Treatment. *World Appl. Sci. J.*, 3, 417 – 33.
- Tzitzinakis M., Harizanis P. and Perdikaris A.**, 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.
- Wali, M., Safia, H., Warda, K.**, 2018. Phytosynthesized nanoparticles as an alluring step for antimicrobial drug delivery: A brief Introduction. *Int. J. Chem.*, 6(1): 2092 - 2097.
- 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.
- Wiechers, J.W., Musee, N.**, 2010. Engineered Inorganic Nanoparticles and Cosmetics: Facts, Issues, Knowledge Gaps and Challenge. *J Biomed Nanotechnol.*, 6, 408 - 431.
- Wu G., Song P., Zhang D., Liu Z., Li L., Huang H., Zhao H., Wang N., Zhu Y.**, 2017. Robust composite silk fibers pulled out of silkworms directly fed with nanoparticles. *Int. J. Biol. Macromol.*, 104, 533–538.
- 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., Chen Y. Y. and Jiang Y. H.**, 2002. A brief report on the breeding of special silkworm varieties “Xinmiao” and “Mingri”. *Sericologia* 42: 425 – 429.
- Xu, M. and Lewis R.V.**, 1990. Structure of a protein superfiber: spider dragline silk. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87(18): p. 7120-4.
- Yamauchi Y., Hoffer C., Yamamoto A., Takeda H., and Ishihara R.**, 2000. cDNA and deduced amino acid sequences of apolipoprotein-III from *Bombyx mori* and *Bombyx mandarina*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 43: 16 – 21.

**Yang, N., Aoki, K.,** 2005. Voltammetry of the silver alkylcarboxylate nanoparticles in suspension. *Electrochim. Acta*, 50: 4868 – 4872.

**Yukuhiro K., Sezutsu H., Itoh M. Shimizu K. and Banno Y.,** 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.

**Zhong J., Ma M., Li W., Zhou j., Yan Z., He D.** 2014. Self-assembly of regenerated silk fibroin from random coil nanostructures to antiparallel  $\beta$ -sheet nanostructures. *Biopolymers*, Vol. 101, Issue 12, pages 1181 – 1192.

## 6.2 Ελληνική βιβλιογραφία

**Λούλιας 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 ΓΠΑ.

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

**Περίσση Μαρία,** 2013. Σύνθεση, χαρακτηρισμός και αξιολόγηση της AC θερμικής απόκρισης υδατοδιαλυτών νανοσωματιδίων  $Fe_3O_4$ . Διπλωματική εργασία στα πλαίσια του ΠΜΣ «Φυσική και Τεχνολογία Υλικών», Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη 2013.

**Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών,** 1947. Σημειώσεις Εργαστηρίου.

**Σηροτροφικό Εργαστήριο Αθηνών,** 1965. Αρχεία Εργαστηρίου.

**Σταμπολής Γ. Κ.,** 1959. «Η σηροτροφία και τα προϊόντα μετάξης». Βιβλιοθήκη ΓΠΑ.

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

**Τζιτζινάκης Μ.,** 2012. Διαγνωστικοί δείκτες πληθυσμών του μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* αξιοποιήσιμων στην ελληνική σηροτροφία. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής, Εργαστήριο Σηροτροφίας & Μελισσοκομίας, Αθήνα.

**Τζώνου Α.** 2008. Ιατρική Στατιστική με μια Ματιά. Επιστημονικές εκδόσεις Παρισιάνου Α.Ε., σελ. 58 – 60, 64 – 66.

**Τσαούση Γεωργία Μαρία,** 2010. Σύνθεση Μαγνητίτη από Υδατικά Διαλύματα Δισθενούς και Τρισθενούς Σιδήρου. Διπλωματική εργασία, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Σχολή Μηχανικών Μεταλλείων – Μεταλλουργών, Τομέας Μεταλλουργίας και Τεχνολογίας των Υλικών, Αθήνα 2010.

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

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

### 6.3 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. Ζ/10073/12-7-2005 έγγραφο της Νομαρχίας Έβρου.

### 6.4 Βιβλιογραφία εικόνων γενικού μέρους – πηγές από διαδίκτυο

<https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/bombyx-mandarina>

<https://1.bp.blogspot.com/lwqkEpVd6JU/V0bT5IY32vI/AAAAAAAAAD0o/tmViITh15I4TYQBti4Zb6vCiZH973lyggCKgB/s1600/P1280914.JPG>

<https://pbs.twimg.com/media/FSesZHCWQAIy3Sy?format=jpg&name=small>

[https://www.researchgate.net/figure/Stages-of-life-history-of-mulberry-silk-worm-Bombyx-mori\\_fig5\\_330924824](https://www.researchgate.net/figure/Stages-of-life-history-of-mulberry-silk-worm-Bombyx-mori_fig5_330924824)

<https://www.sciencephoto.com/media/372813/view/silkworm-eggs>

[https://imgc.artprintimages.com/img/print/bombyx-mori-common-silkmoth-eggs-on-mulberry-leaf\\_u-1-pzr13r0.jpg?artPerspective=n](https://imgc.artprintimages.com/img/print/bombyx-mori-common-silkmoth-eggs-on-mulberry-leaf_u-1-pzr13r0.jpg?artPerspective=n)

<https://i.ytimg.com/vi/lkcZHb0ErPE/maxresdefault.jpg>

<https://libraryexhibits.uvm.edu/omeka/exhibits/show/uvmtrees/white-mulberry/sericulture>

<https://www.worldhistory.org/Silk/>

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

<https://transportgeography.org/contents/chapter1/emergence-of-mechanized-transportation-systems/silk-road-arab-sea-routes-12th-century/>

<https://www.nhm.ac.uk/discover/what-are-spider-webs-made-of.html>

<https://trc-leiden.nl/trc-needles/materials/fibres/wild-silk>

[https://superoxy.life/product\\_tag/52428698\\_.html](https://superoxy.life/product_tag/52428698_.html)

[http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal\\_Fibres.html](http://wwwchem.uwimona.edu.jm/courses/CHEM2402/Textiles/Animal_Fibres.html)

[https://www.researchgate.net/figure/Schematic-structure-of-a-silk-thread-in-the-silkworm-cocoon-Image-modified-from\\_fig1\\_332303637](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-structure-of-a-silk-thread-in-the-silkworm-cocoon-Image-modified-from_fig1_332303637)

<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/silk-glands>



<https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/uv-vis-spectroscopy-principle-strengths-and-limitations-and-applications-349865>

<https://ywcmatsci.yale.edu/xrd>

<https://www.jasco-global.com/principle/principles-of-infrared-spectroscopy-4-advantages-of-ftir-spectroscopy/>

<https://www.lasercomponents.com/uk/application/photon-correlation-spectroscopy/>

<https://www.purdue.edu/ehps/rem/laboratory/equipment%20safety/Research%20Equipment/em.html>

<https://www.ccber.ucsb.edu/ucsb-natural-history-collections-botanical-plant-anatomy/transmission-electron-microscope>

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2022/ma/d1ma00960e>

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnano.2021.811056/full>

<https://www.mdpi.com/2309-608X/7/12/1033>

[https://pubs.acs.org/cms/10.1021/acs.jafc.9b06615/asset/images/medium/jf9b06615\\_0004.gif](https://pubs.acs.org/cms/10.1021/acs.jafc.9b06615/asset/images/medium/jf9b06615_0004.gif)

[https://www.researchgate.net/figure/Smart-delivery-of-nano-encapsulated-herbicide-in-the-crop-weed-environment-16\\_fig2\\_346518016](https://www.researchgate.net/figure/Smart-delivery-of-nano-encapsulated-herbicide-in-the-crop-weed-environment-16_fig2_346518016)