

D. BRNETIĆ

MASOVNI LABORATORIJSKI UZGOJ PARAZITSKE OSICE OPIUS CONCOLOR SZEPL., (HYMENOPTERA, OPIINAE)

UVOD

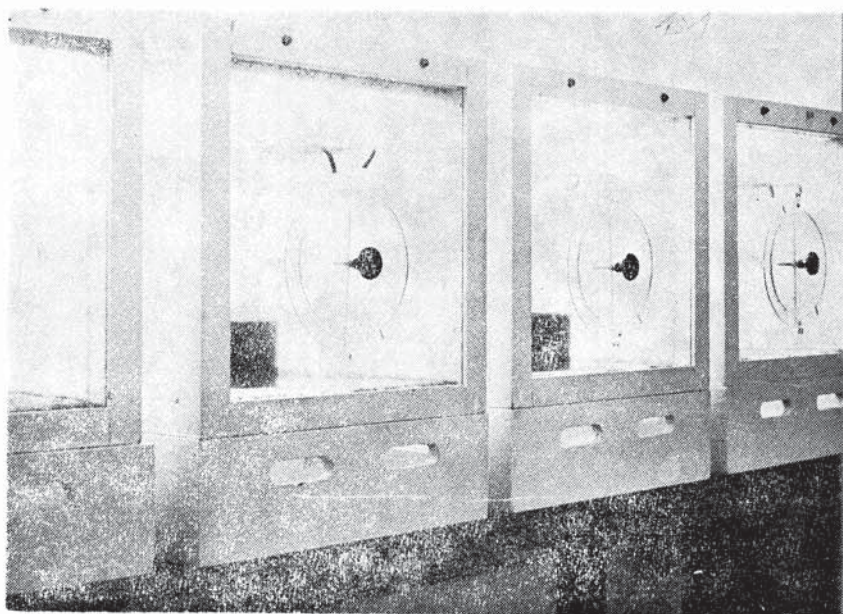
O. concolor SZEPL. je endoparazit ličinka-kukuljica maslinine muhe (*Dacus oleae*, GMEL., Diptera, Trypetidae). Međutim, laboratorijski uzgoj tog parazita u masovnim razmjerima provodi se danas na sredozemnoj voćnoj muhi (*Ceratitis capitata* WIED., Diptera, Trypetidae), jer je masovna laboratorijska proizvodnja dotične muhe relativno lako provediva (CHRISTENSON i sur. 1956, DELANOUE i SORIA 1958, FERON i sur. 1958, MITCHELL i sur. 1959, MORALES i GONZALES 1964, BRNETIĆ 1968, 1969a, 1969b, PELEG 1968, PELEG i RHODE 1970). Prema tome da bi se mogao masovno uzgajati *O. concolor*, potrebno je uspostaviti najprije masovni uzgoj sredozemne voćne muhe.

LABORATORIJSKI UZGOJ SREDOZEMNE VOĆNE MUHE

Sredozemna voćna muha je štetnik koji napada veliki broj voćnih i povrtnih kultura kao i plodove niza spontanih biljaka. Prema ispitivanjima koja su izvršena u USA njezina ličinka se može razviti u plodovima 118 biljnih vrsta što dokazuje visoki stupanj njezine fiziološke plastičnosti. Veliku fiziološku plastičnost ličinaka sredozemne voćne muhe i nekih drugih muha iz obitelji Trypetidae iskoristili su znanstveni radnici, pa su ih počeli uzgajati na umjetnoj hranjivoj podlozi. Pod umjetnom hranjivom podlogom podrazumijeva se prema definiciji GUENNELONOVE (1967) svaka prerađevina za uzgoj ličinaka, koja se po izgledu, fizikalnim svojstvima, kao i kemijskom sastavu razlikuje od hrane koju uzgajana vrsta ima na raspolaganju u prirodi.

Suvremenom načinu uzgoja ličinaka raznih voćnih muha doprinijela su mnoga istraživanja koja su provedena na Hawaiiima, a plod su rada MAEDAÉ i suradnika (1953) i FINNEYA (1956). Umjetna hranjiva podloga sastojala se je od svježih mrkvi, a upotrebljavala se je za umjetni uzgoj ličinaka orijentalne (*Dacus dorsalis* HENDEL) i sredozemne voćne muhe. Mrkve su se sjeckale i jako usitnjavale, a takvoj pulpi dodavali su se i gljivični inhibitori. Recept za takvu podlogu predviđao je 800 ml usitnjene sirove mrkve, 16 g pivskog kvasca, 15 ml 2 normalne HCL i 1,04 g butobena (n-butyl p-hydroxybenzat) kao konzervansa. Kasnije se kao gljivični inhibitor počeo koristiti sodični benzoat u količini od 0,10 do 0,15%. Drugi veći napredak nastupio je kad je sirova mrkva zamijenjena dehidriranim mrkvinim brašnom (CHRISTENSON i suradnici 1956.). DELANOUE i SO-

RIA (1958) u Tunisu uspješno su upotrebljavali plodove različitih voćnih vrsta za uzgoj ličinki sredozemne voćne muhe sve do 1957. godine, a tada su te uzgojne postupke zamijenili s havajskom formulom preinačenom povećanjem količine pivskog kvasca na 4^o/_o i upotrebom benzoeve kiseline umjesto sodičnog benzoata. FERON i suradnici (1958) imali su visoko iskorištenje jaja sredozemne voćne muhe, upotrebljavajući slični sastav hranjive podloge. Daljnjim napretkom u uzgoju spomenute muhe smatra se dodavanje mekinja u takvu umjetnu hranjivu podlogu. NADEL (1964) je uspio sastaviti jeftinu hranjivu podlogu za ličinke sredozemne voćne

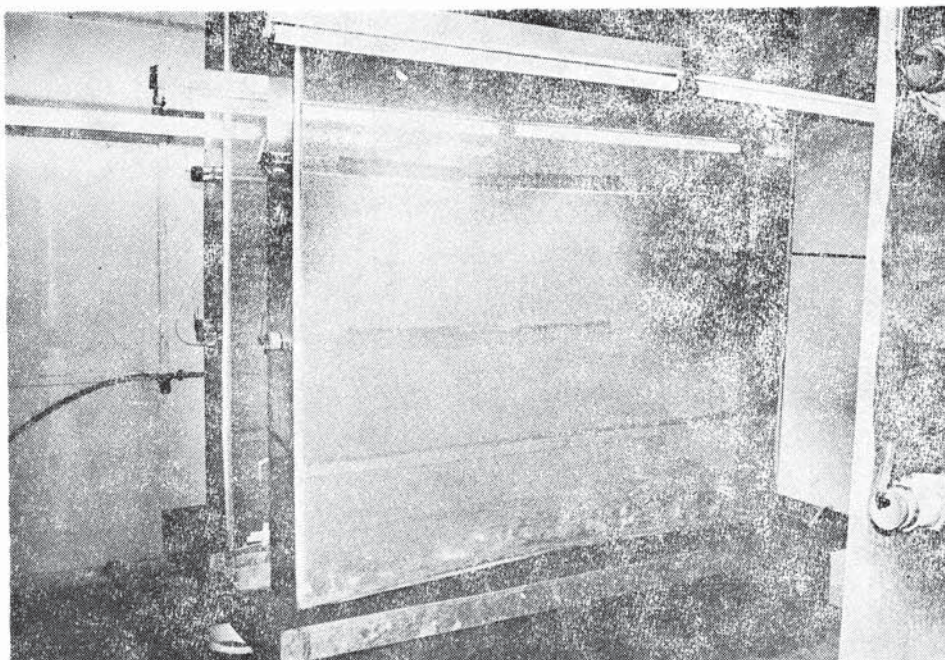


Sl. 1.— Kavezi za odrasle muhe u Station de zoologie agricole Avignon, Francuska

muhe. Ta podloga sastojala se je od pivskog kvasca, šećera i vode zakiseljenog s HCL i pomiješanog s mekinjama. Kao preservativ dodavao se nipagin (metyl-paraben) odnosno nipasol (propyl-paraben). Toj podlozi pripisuje se nedostatak, što je za njezinu pripremu potrebna topla voda i što je potreban takav okolni režim koji sprečava stvaranje kore na njezinoj površini, jer to izaziva pojačano sušenje muhinih jaja nasijanih na takvu podlogu. Međutim, hranjivost takve podloge u odnosu na ličinke sredozemne voćne muhe je velika, jer se iz 1 g suhe tvari takve podloge dobija prosječno 27 potpuno razvijenih muhinih ličinki.

U ispitivanjima koja je proveo BRNETIĆ (1968, 1969a i b.) ustanovljeno je da se umjetni uzgoj ličinki sredozemne voćne muhe može provesti

na podlogama vrlo različitog sastava. Tako je utvrđeno da je masovna proizvodnja ličinkama sredozemne voćne muhe moguća u pireu od rajčica, zatim na hranjivim podlogama koja sadrže otopine breskvinog ili šljivinog džema, odnosno na onim podlogama, koje su sastavljene od otopine meda ili od otopine šećera s hidroliziranim proteinima i vitaminima. Da bi otopine spomenutih hraniva bile pristupačne ličinkama sredozemne voćne muhe, one su se miješale s kukuruznim grizom. Prilikom tih ispitivanja je utvrđeno također, da težina dobijenih ličinkama sredozemne voćne muhe može, u određenim uvjetima, biti u obrnutoj proporciji s količinom nasijanah jaja na hranjivoj podlozi, te da stupanj iskoristavanja hraniva znatno zavisi o koncentraciji otopljenih hraniva. Na osnovu dobijenih rezultata zaključuje se da podloga, kod koje odgovarajuća hranjiva otopina sadrži 16% suhe tvari je vrlo povoljna za ishranu ličinkama spomenute muhe.



Sl. 2— Kavezi ispunjeni odraslim muhamama u Biological Control Institut, Rehovot, Israel

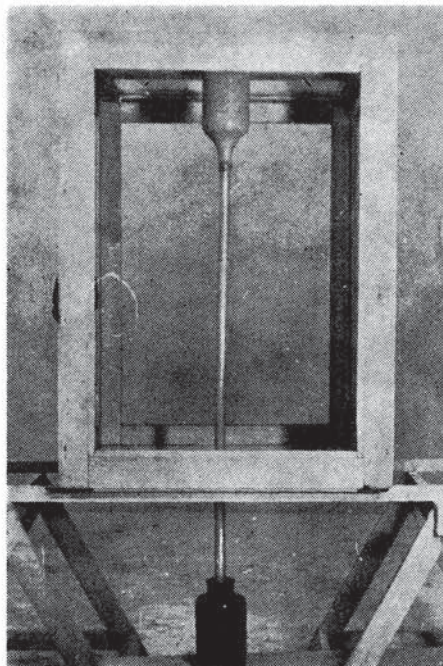
U masovnom uzgoju zrele ličinke sredozemne voćne muhe kukulje se u podmetnutom pijesku, ili piljevini. Ličinke nerado ulaze u mokri pijesak, a potpuno suhi može uvjetovati isušivanje tek nastalih kukuljica.

Za stvaranje puparija u optimalnim uvjetima sredine potrebio je najmanje 1 sat, a potpuno stvaranje kukuljice u pupariju nastaje u vremenskom razdoblju koje je manje od 48 sati (CHRISTENSON i FOOTE 1960).

Na 27°C preobrazba sredozemne voćne muhe traje prosječno 10 dana (MITCHELL i suradnici 1965). MITCHELL i suradnici su ustanovili da se smrtnost kukuljica može značajno povećati ako pijesak u kojem se one nalaze sadrži veću količinu vlage.

Pri kraju razvoja povećava se temperatura kukuljica u odnosu na njihovu okolinu. Ako je u malom izolatoru smješten veliki broj kukuljica, one mogu povećati temperaturu pri kraju svog razvoja do te mjere da nastaju depresivne pojave koje se očituju u njihovom povećanom ugibanju. Pojačano provjetravanje kojim se želi zadržati odgovarajuća temperaturna razina može izazvati sušenje kukuljica. Prema MITCHELLU i suradnicima to se može spriječiti održavanjem relativne zračne vlažnosti u laboratoriju na 85%.

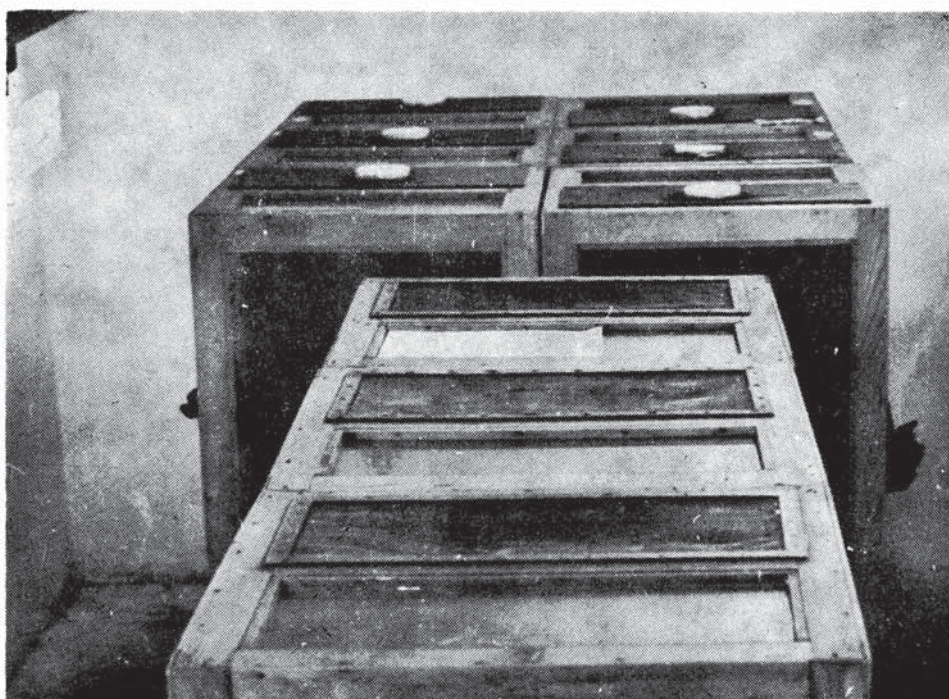
U svrhu sprečavanja bolesnih pojava u umjetnim uzgojima insekata potrebno je redovito poduzimati odgovarajuće mjere higijensko zdravstvene predohrane. No, i pored toga dolazi povremeno do raznih depresivnih pojava koje uvjetuju smanjenu proizvodnju uzgajane vrste. Kod laboratorijskog uzgoja sredozemne voćne muhe određeni su i uzročnici nekih bolesnih pojava. Tako je ustanovljeno da bakterija *Serratia marcescens* BIZIO može ugroziti odraslu muhu, njezina jaja i ličinke (BAKER i suradnici 1944, STEINHAUS 1951, 1959, MCFADDEN 1966). Također je ustanovljeno da gljivica *Beauveria Bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN djeluje štetno na odrasle jedinke, a da protozoa *Nosema* sp. može ugroziti preimaginalne razvojne oblike sredozemne voćne muhe (STEINHAUS 1959).



Sl. 3— Kavez za odrasle muhe u Institutu u Splitu

Odraslom obliku *Drosophila* sp., koji vrlo lako kontaminira umjetnu hranjivu podlogu, pripisuje se uloga prenosioca jedne nematode (*Phabditis* sp.) koja štetno djeluje na ličinke voćnih muha (KAMASAKI 1970), a FERON (usmeno priopćenje 1964) misli da je *Drosophila* sp. vektor jednog oboljenja sredozemne voćne muhe, uslijed kojeg može doći do naglog proređivanja populacije u umjetnom uzgoju.

Serratia marcescens je štapičasta, gram-negativna bakterija koje ima svuda u prirodi. Gubici koji nastaju uslijed njezinog djelovanja nisu nikad katastrofalni, te ni u najtežim slučajevima ne prelaze brojku od 20%. Da bi se spriječilo štetno djelovanje spomenutog patogena dovoljna je redovita provedba higijenskih mjera predohrane. (KAMASAKI 1970).

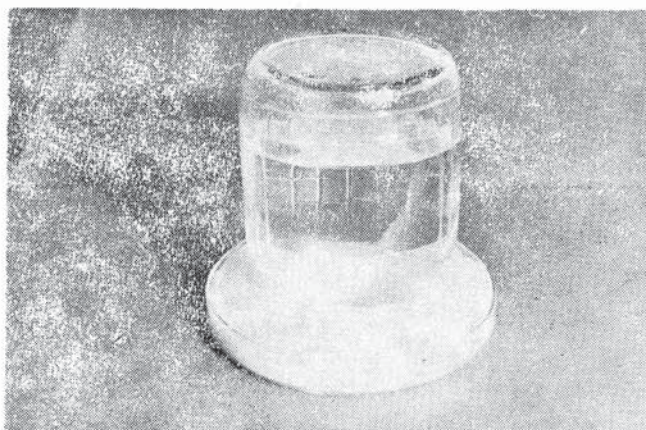


Sl. 4— Serija kaveza za odrasle muhe u Institutu u Splitu

Također ni *Beauveria bassiana* ne ugrožava ozbiljnije umjetni uzgoj voćnih muha. U laboratorijima gdje se poduzimaju odgovarajuće higijenske mjere, samo mali broj muha može uginuti od spomenute gljivice (KAMASAKI 1970).

Međutim, protozoa *Nosema* sp. može biti vrlo štetna. U nekim slučajevima ona je znala vrlo značajno prorijediti populaciju voćnih muha u umjetnom uzgoju. Inače u prirodi patogeno djelovanje spomenute protozoe nema posebnog značenja.

Nematoda *Phabditis* sp. je saprofitska vrsta. Međutim, u hranjivoj podlozi voćnih muha ona dobija patogena svojstva (SNOWBALL i suradnici 1962). Ličinke te nematode zakače se za sočne dijelove integumenata ličinka voćnih muha. Ako tih nematoda ima mnogo, svojom fizičkom nazočnošću mogu paralizirati muhine ličinke, uslijed čega se one ne mogu hraniti, pa na taj način ugibaju od gladi. Ako se ukloni vektor (*Drosophila* sp.) spomenute smetnje nestaju.



Sl. 5— Pružanje vode odraslim insektima automatskim navlaživanjem pamuka (Institut u Splitu)

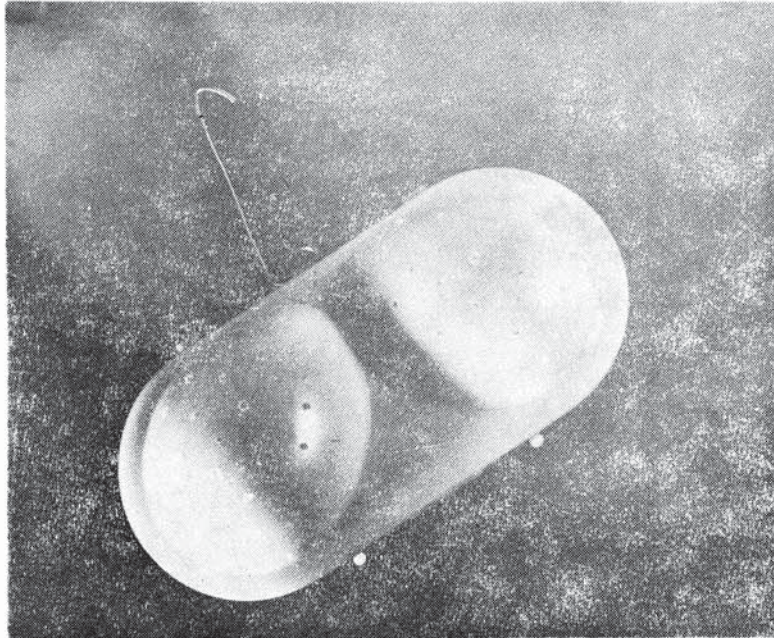
I neki drugi organizmi mogu izazvati smetnje u umjetnom uzgoju raznih voćnih muha. BAKER i suradnici (1944) izvijestili su da napad grinje (*Acarina*) može biti toliko jak da se na krilima odraslih muha držanih u kavezima znaju poredati jedna uz drugu. Međutim, vrstu te grinje nisu identificirali.

Prema izvješću KAMASAKIA (1970) u laboratorijskim uzgojima nekih voćnih muha na Havajima nastaju povremeno manje smetnje prouzrokovane jednim insektom koji djeluje kao parazit uzgajanih muha. Radi se o jednoj vrsti iz obitelji *Pteromalidae* (*Pachycrepoideus dubius* ASHMED), koja napada kukuljice raznih *Diptera* u prirodi. Pokrivanjem kukuljica uzgojenih muha s pijeskom ili piljevinom takvo parazitiranje se može u potpunosti spriječiti.

Iako tehnika masovnog uzgoja sredozemne voćne muhe nije u svim laboratorijima jednako riješena (što je razumljivo, s obzirom da ni namjena ni mogućnosti uzgoja nisu svugdje iste), na svakom mjestu tehnološki proces proizvodnje spomenute vrste sastoji se od nekoliko odvojenih radnih faza. (FERON i suradnici 1958, MITCHELL i suradnici 1959, MORALES

i GONZALES 1964, MOURIKIS 1965, STEINER I MITCHELL 1966, GENDUSO 1967, PELEG 1968, PELEG i RHODE 1970).

Počnimo s prvom. Odrasle muhe drže se u kavezima koji su sastavljeni od raznih tvari. Kestur i osnovica su obično drveni, a strane su povezane djelomično gustom mrežom, a djelomično prozirnim pločama koje su najčešće plastične. Veličine tih kaveza različite su u raznim laboratorijima, zbog čega je različit i broj odraslih muha u njima. FERON i suradnici (1958) upotrebljavali su u početku svog rada manje kaveza u kojima su držali samo oko 1.000 odraslih muha, dok je broj odraslih jedinki u kavezima u havajskom laboratoriju iznosio oko 30.000 komada. U kaveze se postavljaju sferične plastične posude (nesilišta) koje su snabdjevene velikim brojem rupica načinjenih iglom odgovarajuće debljine. U te rupice ženke sredozemne voćne muhe polažu svoja jaja.



Sl. 6-- Tip nesilišta koji se je upotrebljavao u Station de zoologie agricole, Avignon, Francuska

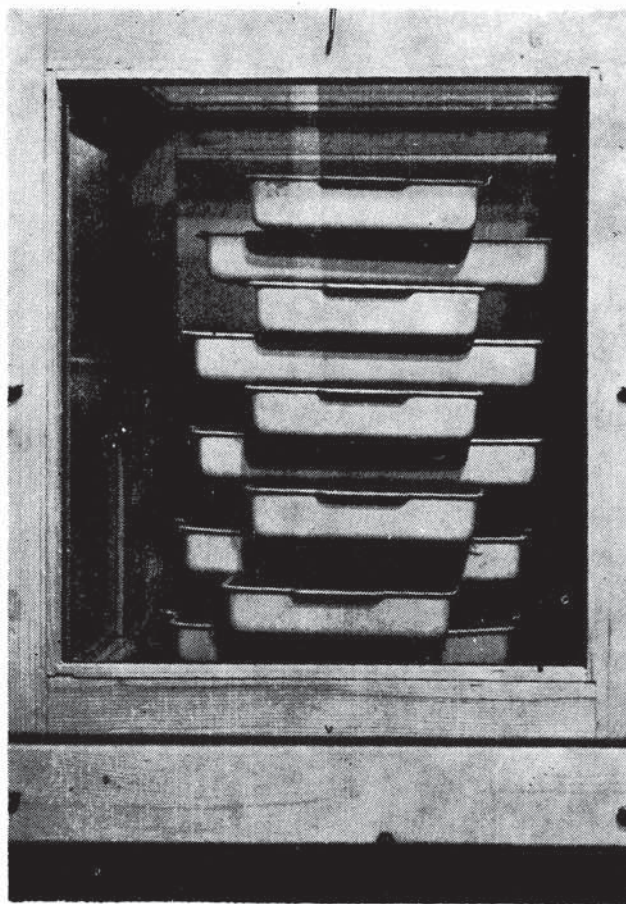
Odraslim muhama u kavezu treba osigurati vodu i hranu. Voda se može dodavati dnevno pomoću svitka namočenog pamuka. Međutim, to se danas radi automatski, jer su ti svitci povezani s izvorom vode koja ih stalno napaja. Hrana se postavlja u kavez obično u količinama koje su dovoljne za cijelo razdoblje iskorištavanja unesenih jedinki.

U optimalnim uvjetima za razvoj, ženke sredozemne voćne muhe nakon 3 — 4 dana započinu s polaganjem jaja kroz rupice na nesilištu. Jako

polaganje jaja traje u jednom kavezu oko 8 dana, nakon čega nesenje naglo opada.

Priprema umjetne hranjive podloge, sakupljanje jaja i njihovo nasijavanje na pripremljenu podlogu predstavlja posebnu fazu rada. Hranjiva podloga priprema se u velikim plastičnim ili emajliranim posudama. Nakon dobrog miješanja, hranjiva podloga se raspodijeli u plitke posude (tacne). Također i te posude moraju biti plastične ili od emajliranog lima zbog kiselina koje sadrži hranjivi supstrat. Veličina tih posuda je različita u raznim laboratorijima.

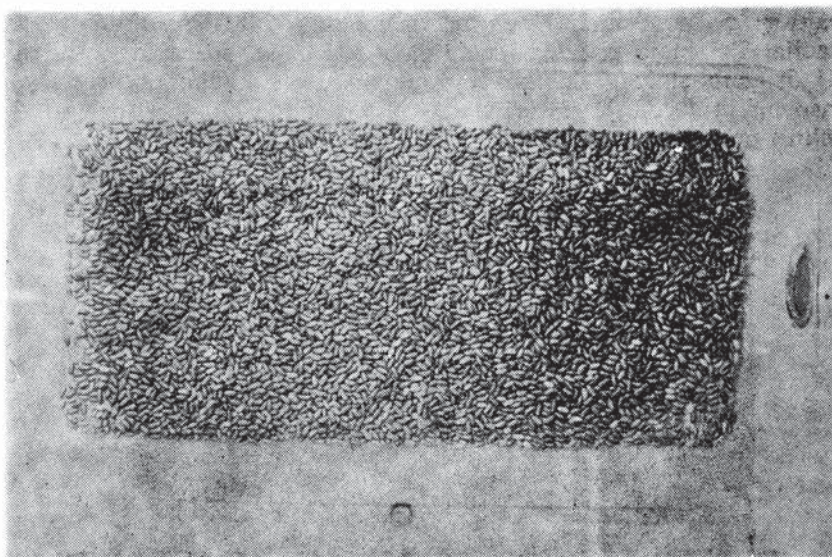
Prikupljanje jaja vrši se ispiranjem nesilišta laganim vodenim mlazom iz prskalice. To prikupljanje se provodi često, tj. više puta u jednom danu da se spriječe gubici koji nastaju sušenjem jaja.



Sl. 7— Posude ispunjene hranjivom podlogom i nasijane jajima muhe (Istitut u Splitu)

Količina jaja koju se nasijava na jedinicu težine umjetne hranjive podloge zavisna je o vrsti podloge. Po 1 kg podloge obično se nasijava 20.000 — 30.000 jaja sredozemne voćne muhe. Brojanje jaja može se obaviti na više načina. FERON upotrebljava volumetrijski način brojanja muhinih jaja. Tim načinom određuje se pomoću pipete (10 puta) broj jaja u 1 ccm vode i pomnoži se ukupnom količinom vode kojom su jaja bila isprana. Na taj način se dobija približni broj prikupljenih jaja.

Daljnja faza je uzgoj ličinki. Posude s umjetnom hranjivom podlogom i nasijanim jajima smještaju se u posebne ormare i polažu na rešetkaste police. Na dnu takvog ormara nalazi se ladica s pijeskom. Ormar se zatvara, radi kruženja zraka, na nekoliko mjesta na stranama ormara naprave se otvori prekriveni mrežom. Po završetku razvoja ličinke iskaču



Sl. 8— Kukuljice sredozemne voćne muhe (Istitut u Splitu)

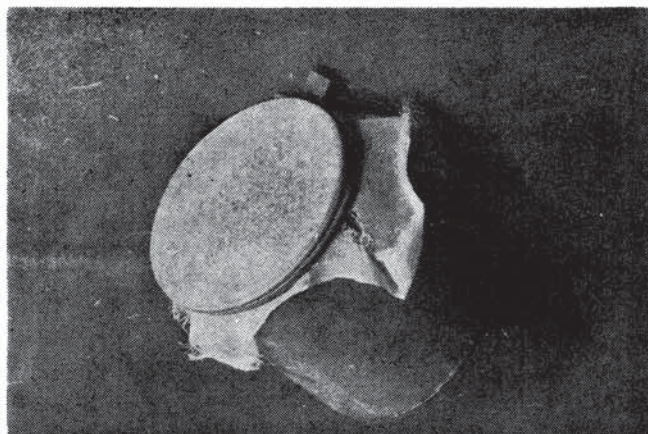
same iz hranjive podloge i padaju u ladicu na pijesak. U nekim laboratorijima ne čeka se iskakanje zrelih ličinki iz podloge, već se one odjeljuju od hranjive podloge pomoću vodenog mlaza. Razlog ovakvom postupku je slabije iskakanje ličinki zbog ljepljivosti hranjive podloge, zbog čega se priličan broj ličinki znade zakukuljiti u samoj podlozi. Međutim, sve podloge nisu jednako ljeplive, pa nije potrebno odvajanje ličinki na taj način.

Ličinke koji iskaču u ladici s pijeskom odvajaju se od pijeska prosi-
javanjem kroz sito. Na situ ostaju ličinke koje se prenose u menzuru. Na taj način se određuje približan broj proizvedenih jedinki. Naime, znade

se koliko ličinaka može stati u jednu prostornu jedinicu (oko 62.000 ličinaka/1.000 cm). Sličan postupak je i u onim laboratorijima gdje se ličinke odvajaju od hranjive podloge korištenjem vodenog mlaza.

Nakon određivanja broja proizvedenih ličinaka započinje posljednja faza rada. Ličinke, se tada raspoređuju u posude-izolatore i tu se pomiješaju s pijeskom, piljevinom odnosno perlitom. Te posude su obično od plastične mase, s poklopcem koji je najvećim dijelom svoje površine pokriven mrežom, kako bi se omogućila prozračnost. Tu se ličinke zakukulje. Broj kukuljica po jednoj posudi zavisi o veličini posude, a u raznim laboratorijima one su razne veličine. U takvim posudama-izolatorima očekuje se izkukuljenje odraslih muha čime se završava krug proizvodnog postupka.

Sredozemna voćna muha danas se uzgaja u industrijskim razmjerima zbog dva glavna razloga. U prvom slučaju proizvedene populacije se steriliziraju gama zračenjem i zatim oslobađaju radi suzbijanja prirodnih populacija. Taj biološki način suzbijanja naziva se postupkom samouništenja. U drugom slučaju ličinke sredozemne voćne muhe upotrebljavaju se za masovnu proizvodnju parazitske osice *Opius concolor*, koju se oslobađa u maslinicima sa svrhom prorjeđivanja populacija maslinine muhe.



Sl. 9— Muhine ličinke »zarobljene« između dna limenke i tila (Institut u Splitu)

LABORATORIJSKI UZGOJ OSICE OPIUS CONCOLOR

Tehnika masovnog umjetnog uzgoja *O. concolora* sastoji se u slijedećem: Odrasli oblici parazita drže se u kavezima. Voda se dodaje pomoću svitka navlaženog pamuka, bilo njihovom dnevnom izmjenom, bilo poluautomatskim ili automatskim napajanjem pamuka u kavezu. Odraslim parazitima u kavezu pruža se za hranu smjesa sastavljena od breskvinog džema, meda i kokošjeg jajeta, koja se obično premaže preko neke ravne plohe u kavezu.

Borj odraslih parazita u kavezu zavisi o njihovoj veličini. Pošto odrasle jedinke ne žive dugo u uvjetima optimalne temperature kakva vlada u laboratoriju, to se kavez periodički nadopunjava novim odraslim parazitima (GENDUSO 1967).

Domaćinove ličinke pružaju se parazitovim ženjkama u posebnoj napravi koju francuski autori nazivaju rukavac (manchon). Ta naprava sastoji se od plastičnog tubusa dugog oko 20 cm s promjerom 3 cm, preko kojeg se navlači platneni rukavac (najlonski materijal). Po svojoj dužini platneni rukavac je rasječen, a može ga se zatvoriti patentnim zatvaračem. Krajevi rukavca utičuju se u gornji i donji otvor tubusa i uz njega pričvršćuju odgovarajućim čepom.



Sl. 10— *Opius concolor* parazitira muhine ličinke kroz til (Institut u Splitu)

Zrele ličinke sredozemne voćne muhe skupljaju se prije kukuljenja i ubacuju se u prostor između platna i oplošja tubusa. Rukavac se zatvori patentnim zatvaračem i zatim se dotičnu napravu s damićinovim ličinkama unaša u kavez gdje se nalaze odrasli paraziti. Zarobljene domaćinove ličinke nađu se na taj način na dohvat parazitovim ženjkama koje svojom legalicom unašaju jaja kroz platno u žrtve.

ARROYO i suradnici (1969) upotrebljavali su namjesto spomenute naprave običnu platnenu vrećicu (dimenzije 20 x 15 cm). Takvu vrećicu punu domaćinovim ličinkama izlažu parazitiranju preko vanjske strane mreže na gornjoj strani kaveza. Ženke *O. concolora* tada kroz mrežu na kavezu i kroz platno parazitiraju domaćinove ličinke koje se u vrećici nalaze.

Tijekom vremena koje nakon toga slijedi domaćinove ličinke prelaze u stadij kukuljice, pa se istresaju u posude-izolatore. U parazitiranim domaćinovim kukuljicama razvijaju se parazitove ličinke, tu se kukulje, a nakon završene preobrazbe iskukuljeni paraziti izlaze vani otvorivši svojim mandibulama prolaz kroz svoju i domaćinovu kukuljicu.

U prvom uzgoju koji je uspostavljen u Stanici u Antibesu prinos parazita bio je prilično nizak. Iz 100 izloženih mušinih ličinka dobijalo se je tek oko 10 odraslih parazita. Kasnije je taj prinos nešto povećan, ali DELANOUE (1960) ipak smatra da on nije najpovoljniji, te da treba tražiti načine kako bi se umjetni uzgoj *O. concolora* poboljšao.

I u drugim laboratorijima prinosi *O. concolora* nisu visoki. Oni se kreću oko 20% (GENDUSO 1967, CASILLI i LA NOTE 1970).

Prema GENDUSO (1967) prinosi parazita se mogu povećavati produženim izlaganjem domaćinova ličinka parazitiranju. Međutim, tu nije riješen osnovni uvjet pravilnijeg iskorištavanja parazita i domaćina, a to je odnos između broja parazitovih ženki u kavezu i broja izloženih domaćina. To je vrlo složeno pitanje, jer zahtijeva dobro poznavanje čitavog bioekološkog kompleksa na relaciji parazit — domaćin.

Prema ispitivanjima (RAGUSA 1967) jedna parazitova ženka može snijeti i po nekoliko stotina jaja. Međutim, pošto ženka *O. concolora* znade unijeti i po nekoliko jaja u istog domaćina (GENDUSO 1967) iz kojeg se može razviti samo jedan odrasli parazit, nije poznato koliko se odraslih potomaka može očekivati prosječno po jednoj parazitovoj ženki.

Odnos spolova kod umjetno proizvedenih parazitovih potomaka nije ustaljen, a ovisi o brojčanom odnosu spolova i stupnju oplodnje ženki u roditeljskoj populaciji. Prema GENDUSO (1967) kod laboratorijskih jedinki *O. concolora* u Entomološkom institutu u Palermu na svakog mužjaka prosječno dolaze po 3 ženke.

O. concolora se uzgaja u uvjetima stalne temperature i vlage. Prema GENDUSO (1967) optimalna temperatura iznosi 26°C, a za vlažnost se smatra da se treba kretati između 70 i 80%. Što se tiče svjetla u umjetnom uzgoju obično se kombinira tijekom dana jedna alternacija svjetla i jedna alternacija mraka s podjednakim vremenskim trajanjem. Međutim, jačina svjetla nije određena i do sada nije bila predmetom posebnih razmatranja. No usprkos svim nedostacima koji prate laboratorijski uzgoj *O. concolora*, provedena su u više navrata masovna oslobađanja umjetno proizvedenih parazita. Svrha tih oslobađanja bila je ispitivanje mogućnosti upotrebe navedenog parazita za prorjeđivanje populacije maslinine muhe.

L I T E R A T U R A

Arroyo M., Mallado L., Jimenez A. (1969): Lucha biologica contra el *Dacus oleae*. VIII Conf. F.A.O. sur la lutte contre le ravageurs et les maladies de l'olivier. Athenes 8 — 12 Mai.

Baker A. C., Stone W. E., Plummer C. C., Mchail M. (1944): Us. Dept. Agr. Misc. Publ. 531, 1 — 55.

- Brnetić D. (1968.):** Ispitivanje mogućnosti uzgoja mediteranske voćne muhe (*Ceratitis capitata* WIED.) na nekim umjetnim hranjivim podlogama. *Agrokemija* 11 — 12, 489 — 493.
- Brnetić D. (1969a):** Utjecaj broja nasijanih jaja na količinu i težinu proizvedenih lutaka pri umjetnom uzgoju mediteranske voćne muhe. *Savremena poljoprivreda* 3, 245 — 251.
- Brnetić D. (1969b.):** Utjecaj koncentracije hranjive otopine kod umjetnog uzgoja mediteranske voćne muhe. *Savremena poljoprivreda* 4, 337 — 340.
- Casilli O., La Notte F. (1970.):** Prova di lotta biologica artificiale contro la mosca delle olive a mezzo dell' *Opius c. siculus* M., eseguita in Puglia nel 1969. *Scienza e tecnica agraria. Anno X.*, 4, 133 — 149.
- Christenson L. D., Maeda S., Holloway J. R. (1956.):** Substitution of dehydrated for fresh carrots in medium for rearing fruit flies. *J. Ec. Ent.* 49, 135 — 136.
- Christenson L. D., Foote R. H. (1960.):** Biology of fruit flies. *Ann. Rev. Ent.* 5, 171 — 192.
- Delanoue P. (1960.):** Essais d' élevage artificiel d' *Opius concolor* SZEPL. parasite de *Dacus oleae* GMEL. sur *Ceratitis capitata* WIED. *Inf. Oleic. Inter. de la FIO Madrid* 10, 3 — 14.
- Delanoue P., Soria F. (1958.):** Elevage d' insectes en laboratoire *Ceratitis capitata* WIED. Rapport sur les travaux de recherches effectués en 1957. *Sta. Ent. Agr. Serv. Botan. Agr. Tunisie*, pp. 22.
- Feron M., Delanoue P., Soria F. (1958.):** Elevage massif artificiel de *Ceratitis capitata* WIED. *Entomophaga* 3, 45 — 53.
- Finney G. D. (1956.):** A fortified carrot medium for Mass culture of the Oriental Fruit Fly and certain other Tephritids. *J. E. Ent.* 49, 134.
- Genduso P. (1967.):** Attuale tecnica di allevamento dell' *Opius concolor* SZEPL. *siculus* MON. *Boll. Ist. Ent. Osser. Fit Palermo VII.*, 53, 9 — 40.
- Guennelon G. (1967.):** L'alimentation artificielle des insectes. *Rev. Zool. Agr. App.* 1 — 3, 21 — 28.
- Kamasaki H. (1970.):** Some pathoges and pests associated with Tephritid flies in the laboratory. *J. Econ. Ent.* Vol. 63, 4, 1353.
- Maeda S., Hagen K. S., Finney G. L. (1953.):** The role of microorganisms in the culture of fruit fly larvae. In third special report of the control of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis*, in Hawaiian Islands, 84 — 86. Senate, State of California.
- Mcsadden M. W. (1966.):** The bacterium *Serratia marcescens* as a pathogen of the Mexican Fruit Fly, *Anastrepha ludens*. *J. Insect Path.* 8 (4), 524 — 3.
- Mitchell S., Tanaka N., Steiner L. F. (1965.):** Methods of mass culturing Melon, Oriental and Mediterranean Fruit Flies. *U.S. Dept. Agr. ARS*, 33 — 104, 1 — 22.

- Snowball G. J., Wilson F., Lukens R. G. (1962.):** Culture and consignment techniques used for parasites introduced against Queensland fruit fly, *Strumeta tryoni*. Australian J. Agr. Res. 13, 223 — 248.
- Morales E., Gonzales T. (1964.):** Technica de reproduccion artificial de la mosca del Mediterraneo. Organ. Inter. Reg. Sanidad. Agropecuar, I, 1 — 18.
- Nadel D. (1964.):** Nephelocirani podaci
- Peleg B. (1968.):** Mass rearing of Mediterranean Fruit Fly in Costa Rica. Proc of a panel, pp. 4. Tel Aviv.
- Peleg B. A., Rhode R. H. (1970.):** New larval medium and improved pupal recovery method for the Mediterranean Fruit Fly in Costa Rica. J. Ent. Vol. 63, No 4, 1319.
- Ragusa S. (1967.):** Relation sur nombre d'oeufs q'une femelle d' *Opius c. siculus* MON. peut pondre. Ist. Ent. Agr. Univ. Palermo.
- Steinhaus E. A. (1951.):** Raport on diagnoses of diseased insects 1944 — 1950. Hilgradia 20, 629 — 78.
- Steinhaus E. A. (1959.):** *Serratia macescens* BIZIO as an insect pathogen. Calif. Agr. Exp. Sta. Ext. Serv. Leaflet 28, 3518.