

**«ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ, Διατμηματικό Πρόγραμμα  
Μεταπτυχιακών Σπουδών μεταξύ του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής  
Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος και του Τμήματος  
Γεωπονίας Ζωϊκής Παραγωγής και Υδάτινου Περιβάλλοντος».**

**M. E. ΤΖΩΡΤΖΗ**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακή Διατριβή**

**«Μελέτη της γενετικής δομής του *Aphis gossypii*  
(Hemiptera:Aphididae) και της ανθεκτικότητας του σε  
εντομοκτόνα».**



**Νέα Ιωνία Μαγνησίας, Σεπτέμβριος 2005**

**«Μελέτη της γενετικής δομής του *Aphis gossypii* (Hemiptera:Aphididae) και της ανθεκτικότητας τους σε εντομοκτόνα».**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**Ι. Α. ΤΣΙΤΣΙΠΗΣ, Επιβλέπων Καθηγητής  
Καθηγητής Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και  
Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.**

**Δ. ΠΡΟΦΗΤΟΥ-ΑΘΑΝΑΣΙΑΔΟΥ, Μέλος Εξεταστικής Επιτροπής  
Καθηγήτρια Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστημίου  
Θεσσαλονίκης.**

**Κ. ΜΑΤΘΙΟΠΟΥΛΟΣ, Μέλος Εξεταστικής Επιτροπής  
Επίκουρος Καθηγητής Τμήματος Μοριακής Βιολογίας του  
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στην παρούσα διατριβή μελετάται η φαινοτυπική παραλλακτικότητα πληθυσμών της αφίδας *Aphis gossypii* που προέρχονται από διαφορετικούς ξενιστές καθώς και ο βιολογικός κύκλος και η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα imidacloprid και pirimicarb.

Η διατριβή αποτελείται από δυο τμήματα. Στο γενικό μέρος δίνονται πληροφορίες γενικά για τις αφίδες, για το βιολογικό τους κύκλο, τη διαδικασία της επιλογής ξενιστή και τους παράγοντες που την επηρεάζουν, την προσαρμογή τους στα φυτά-ξενιστές, τις προσαρμοσμένες φυλές σε ένα ξενιστή. Επίσης, πληροφορίες δίδονται για τις μοριακές μεθόδους, τη μέθοδο της σωματομετρίας που εφαρμόζεται σε αυτές, τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας και τέλος εν γένει για το είδος *A. gossypii*.

Στο ειδικό μέρος περιγράφονται τα υλικά και οι μέθοδοι της έρευνας, αναλύονται τα αποτελέσματα που βρέθηκαν, συζητούνται κι εξάγονται συμπεράσματα.

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Καθηγητή μου Ι. Α. Τσιτσιπή για την υπόδειξη του θέματος της πτυχιακής διατριβής μου, τις γνώσεις και τη βοήθεια που μου προσέφερε κατά τη διάρκειά της καθώς και τους κ.κ. Προφήτου και Μαθιόπουλο για τις χρήσιμες υποδείξεις τους που βελτίωσαν την παρούσα διατριβή.

Ευχαριστώ το Διδάκτορα Ι. Μαργαριτόπουλο για το ενδιαφέρον του, την καθοδήγηση και τη συνεργασία του. Καθώς και για την παροχή των στοιχείων από δείγματα αφίδων από Cucurbitaceae που στάλθηκαν από το Μουσείο Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου.

Επίσης ευχαριστώ τον Υποψήφιο Διδάκτορα Κ. Ζάρπα για την πολύτιμη βοήθεια και συνεργασία του.

Τέλος ευχαριστώ τους συμφοιτητές μου Θ. Κουρδουμπαλό και Π. Σκούρα για τη βοήθεια και τη συνεργασία κατά τη διεκπεραίωση του πειράματος.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος	4
Ευχαριστίες	5
Περίληψη	7
Σκοπός μελέτης	8
<b>A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
1. Εισαγωγή	9-10
2. Βιολογικός κύκλος	11-12
3. Εξειδίκευση αφίδων	
A) Γενικά	13-14
B) Εξέλιξη της εξειδίκευσης σε ένα ξενιστή	15-20
Γ) Δημιουργία ειδών	20-26
4. Μέθοδοι μελέτης γενετικού πολυμορφισμού στις αφίδες	
A) Σωματομετρία	27-31
B) Μοριακές μέθοδοι	32-34
5. Μηχανισμοί ανθεκτικότητας	34-36
6. <i>Aphis gossypii</i> Glover	36-39
<b>B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>	
1. Εισαγωγή	40-43
2. Υλικά και μέθοδοι	44-53
3. Αποτελέσματα	54-73
4. Συζήτηση- Συμπεράσματα	74-81
Βιβλιογραφία	82-96
Abstract	97

## Περίληψη

Το *Aphis gossypii* είναι ένα κοσμοπολίτικο, πολυφάγο είδος αφίδας. Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκε η ύπαρξη μορφολογικής παραλλακτικότητας στο είδος αυτό χρησιμοποιώντας δείγματα από καλλιεργούμενα φυτά των οικογενειών Cucurbitaceae και Malvaceae καθώς και από μη καλλιεργούμενα φυτά της οικογένειας Compositae από διάφορα μέρη του κόσμου. Στόχος ήταν να εξεταστεί αν η μορφολογική παραλλακτικότητα σχετίζεται με το φυτό-ξενιστή. Συνολικά σωματομετρήθηκαν 13 μορφολογικά χαρακτηριστικά για κάθε άτομο και τα δεδομένα αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Ανάλυσης Κανονικών Μεταβλητών (CVA). Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιεί το δείγμα αγρού ή την κλωνική σειρά ως παράγοντα ομαδοποίησης. Με βάση τη στατιστική ανάλυση προέκυψε σαφής μορφομετρική διαφοροποίηση των αφίδων που προέρχονται από τα Compositae σε σχέση με αυτά που προέρχονται από Cucurbitaceae και Malvaceae. Έτσι διαχωρίστηκαν δυο διαφορετικές φυλές ξενιστή.

Στο δεύτερο μέρος του πειράματος εξετάστηκε ο βιολογικός κύκλος 38 κλώνων του *A. gossypii* από διαφορετικά καλλιεργούμενα και μη καλλιεργούμενα φυτά που συλλέχθηκαν από διάφορα μέρη της Ελλάδας τα έτη 2002, 2003, 2004. Όπως άλλωστε ήταν αναμενόμενο όλοι οι κλώνοι βρέθηκαν ανολοκυκλικοί εκτός από έναν που βρέθηκε ενδιάμεσος κι ο οποίος συλλέχθηκε από την περιοχή της Κατερίνης (Β. Ελλάδα) από βαμβάκι το έτος 2002.

Στο τρίτο μέρος του πειράματος ελέγχθηκε η ύπαρξη ή όχι ανθεκτικότητας του *A. gossypii* στα εντομοκτόνα imidacloprid και pirimicarb με τη μέθοδο Dip-test και με τοπική εφαρμογή με μικροσύριγγα. Συγκεκριμένα συλλέχθηκαν δείγματα από 15 αγρούς από τη βόρεια και κεντρική Ελλάδα από βαμβάκι, μπάμια, καρπούζι και κολοκυνθοειδή, στα οποία εφαρμόστηκαν τα δυο εντομοκτόνα με τη μέθοδο Dip-test. Από τα παραπάνω δείγματα δημιουργήθηκαν κλώνοι οι οποίοι εκτράφηκαν σε εργαστηριακές συνθήκες σε πατάτα και στους οποίους έγινε τοπική εφαρμογή με imidacloprid με χρήση μικροσύριγγας. Καταμετρήθηκαν οι ζωντανές, νεκρές και ενδιάμεσης κατάστασης αφίδες μετά από 24, 48 και 72 ώρες. Δεν διαπιστώθηκε ανθεκτικότητα σε κανέναν από αυτούς τους κλώνους.

## ΣΚΟΠΟΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η διερεύνηση της ύπαρξης μορφολογικής διαφοροποίησης μεταξύ πληθυσμών του *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από διάφορα καλλιεργούμενα φυτά ξενιστές των οικογενειών Malvaceae και Cucurbitaceae και από διάφορα μη καλλιεργούμενα φυτά της οικογένειας Compositae από περιοχές της Ελλάδας και του εξωτερικού. Επίσης διερευνάται η κατηγορία βιολογικού κύκλου για το συγκεκριμένο είδος που συλλέχθηκε από διάφορα φυτά ξενιστές από περιοχές της βόρειας και κεντρικής Ελλάδας. Επιπλέον μελετήθηκε η ανθεκτικότητα του είδους στα εντομοκτόνα imidacloprid και pirimicarb. Τα αποτελέσματα θα βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση της επιρροής του φυτού ξενιστή στη δημιουργία φυλών του είδους *A. gossypii* οι οποίες παρουσιάζουν εξειδίκευση ως προς ένα συγκεκριμένο ξενιστή ή μια ομάδα φυτών ξενιστών. Επίσης, οι πληροφορίες που θα συλλεχθούν θα βοηθήσουν στην κατανόηση της αναγκαιότητας για χρήση των κατάλληλων καλλιεργητικών πρακτικών και μεθόδων αντιμετώπισης του συγκεκριμένου εχθρού. Ακόμη θα επιβεβαιωθεί η ανολοκυκλικότητα του είδους στην Ελλάδα και κατ' επέκταση στον Ευρωπαϊκό χώρο. Τέλος θα αποδειχθεί η αποτελεσματικότητα των εντομοκτόνων pirimicarb και κυρίως του imidacloprid στην αντιμετώπιση του είδους.

Το συγκεκριμένο θέμα και ειδικά το πρώτο μέρος που αφορά τη φαινοτυπική παραλλακτικότητα μελετάται για πρώτη φορά στην Ελλάδα και παραπέμπει σε περαιτέρω διερεύνηση των σχέσεων του είδους με την πληθώρα των ξενιστών που αποικίζει χρησιμοποιώντας κατά προτίμηση μοριακές μεθόδους ανάλυσης DNA καθώς και την εξέταση παρθενογενετικών σειρών που αποικίζουν διαφορετικά φυτά από αυτά που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη.



## A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι αφίδες είναι έντομα γνωστά με τα κοινά ονόματα μελίγκρα, ψείρα, μέλουρα και φυτόψειρα. Ξεχωρίζουν από τα άλλα φυτοφάγα έντομα λόγω: α) των αποτελεσματικών μηχανισμών διασποράς και εύρεσης ξενιστή, β) της χρησιμοποίησης, από τα περισσότερα είδη, του χυμού των φυτών ως πηγή τροφής και γ) της παρθενογένεσης. Ανήκουν στην υπεροικογένεια Aphidoidea στη σειρά *Sternorrhyncha* της τάξης *Homoptera*, στην οποία έχουν περιγραφεί περίπου 4000 είδη. Ο μεγαλύτερος αριθμός ειδών αφίδων απαντάται στις εύκρατες περιοχές και εκεί το 25% των φυτικών ειδών προσβάλλονται από αφίδες. Υπάρχουν για σχεδόν 280 εκατομμύρια χρόνια και από την αρχή είχαν μικρό μέγεθος και αναπαράγονταν παρθενογενετικά (Dixon 1998).

Είναι μικρόσωμα έντομα μήκους συνήθως 1-7 mm. Έχουν συνήθως μακριά πόδια με διάρθρους ταρσούς, μακρύ ρύγχος και κεραίες που αποτελούνται από ένα έως έξι άρθρα. Το σώμα τους είναι συνήθως μαλακό. Οι πτερωτές μορφές έχουν δύο ζεύγη διαφανών πτερύγων. Τα περισσότερα είδη είναι πολυμορφικά. Εκτός από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της υπεροικογένειας στην οποία ανήκουν, οι πιο πολλές αφίδες έχουν στο νωτιαίο τεργίτη του 5ου κοιλιακού δακτυλίου ένα ζεύγος σωληνόμορφων αποφύσεων, που ονομάζονται σιφώνια ή κεράτια (siphunculi) και στην άκρη της κοιλιάς μια απόφυση που λέγεται ουρίτσα ή ουρά (cauda). Ρόλος των σιφωνίων είναι η απελευθέρωση φερομόνης συναγερμού όταν προσβληθεί ή εκτεθεί σε κίνδυνο η αφίδα από κάποιο εχθρό, προκαλώντας τη διασπορά των υπολοίπων αφίδων που βρίσκονται πλησίον της (Dixon 1998).

Ζουν κυρίως σε τρυφερούς βλαστούς και τρυφερά φύλλα διαφόρων φυτών. Μερικά είδη είναι ριζόβια (προσβάλουν τις ρίζες) ή φυλλόβια και ριζόβια (προσβάλουν φύλλα και ρίζες) και αρκετά είναι κηκιδόβια (ζουν μέσα σε κηκίδες που δημιουργούνται στο φύλλωμα των φυτών ξενιστών τους, όπου τρέφονται π.χ. το *Pemphigus betae* Doane (Hemiptera: Aphididae)). Ζουν συνήθως σε ομάδες το ένα κοντά στο άλλο με την κεφαλή συνήθως προς τη βάση του βλαστού ή του φύλλου. Πολλά είδη δημιουργούν πυκνές αποικίες και την άνοιξη μπορεί να καλύψουν ολόκληρο το κορυφαίο μέρος των νέων βλαστών ορισμένων φυτών. Είναι έντομα

στρατηγικής "r" γι' αυτό αποικίζουν γρήγορα και αποτελεσματικά τους ξενιστές τους. Τα θηλυκά των παρθενογενετικών γενεών είναι στις περισσότερες αφίδες ζωοτόκα, ενώ της γενιάς που αναπαράγεται εγγενώς είναι ωοτόκα.

Οι αφίδες είναι μυζητικά έντομα και τρέφονται σχεδόν συνεχώς καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Αφαιρούν μεγάλη ποσότητα χυμού από τα φυτά και το νύγμα πολλών ειδών προκαλεί συστροφή των φύλλων. Τα άφθονα μελιτώδη απεκκρίματα ορισμένων ειδών ρυπαίνουν το φύλλωμα και τους καρπούς και ευνοούν την ανάπτυξη καπνιάς, που δημιουργείται από ανάπτυξη σαπροφυτικών μυκήτων. Σε πολλά είδη έχουν αναπτυχθεί σχέσεις συμβίωσης με μυρμήγκια, τα οποία συλλέγουν τα μελιτώδη απεκκρίματα προστατεύοντας τις αφίδες από διάφορους εχθρούς (Dixon 1973).

Οι αφίδες είναι από τις κυριότερες κατηγορίες εντόμων που μεταδίδουν στα φυτά παθογόνους ιούς. Ορισμένα είδη είναι φορείς πολλών ιών και προκαλούν σοβαρές ζημιές στα καλλιεργούμενα φυτά. Οι πυκνοί συνήθως πληθυσμοί τους, ο μεγάλος αριθμός γενεών το έτος, που συχνά ξεπερνά τις 10 και η μετάδοση ιών στα φυτά κατατάσσουν τις αφίδες ανάμεσα στους πιο βλαβερούς εχθρούς των καλλιεργούμενων φυτών.

Οι αφίδες είναι άφθονες, κυρίως την άνοιξη και το φθινόπωρο, και γενικά σε μετρίως θερμό και υγρό καιρό. Την άνοιξη τα παρθενογενετικά θηλυκά αναπαράγονται ταχύτατα γιατί οι συγκεκριμένες καιρικές συνθήκες και τα άφθονα τρυφερά φύλλα και βλαστοί ευνοούν την ανάπτυξή τους. Σε κλίματα όπως της Ελλάδας, οι θερμοί και ξηροί μήνες του καλοκαιριού δεν ευνοούν τη συνεχή αναπαραγωγή των αφίδων και οι πληθυσμοί τους τότε περιορίζονται σημαντικά. Στην Ελλάδα το μέγιστο του αριθμού των ειδών αφίδων όπως και των πληθυσμών τους παρατηρείται κατά το μήνα Μάιο (Τσιτσιπής et al. 1998). Οι αφίδες έχουν ένα μεγάλο αριθμό φυσικών εχθρών που συμβάλλουν στον έλεγχο των πληθυσμών τους. Μεταξύ των φυσικών εχθρών τους οι σπουδαιότεροι είναι έντομα. Μεταξύ αυτών υπάρχουν είδη Διπτέρων (Syrphidae, Cecidomyiidae), Νευροπτέρων (Chrysopidae, Hemerobiidae), Κολεοπτέρων (Coccinellidae, Carabidae, Staphylinidae), Υμενοπτέρων (Proctotrupidae, Chalcididae, Braconidae, Aphidiidae). Επιπλέον υπάρχουν είδη που ανήκουν στα αραχνοειδή καθώς και σε taxa μυκήτων, όπως είδη των γενών *Empusa*, *Entomophthora* και *Verticillium*.

## 2. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΩΝ ΑΦΙΔΩΝ

Στα ετερόοικα (μεταναστευτικά) είδη αφίδων τα ωά γεννιούνται στον φλοιό του κορμού του κύριου ξενιστή το φθινόπωρο. Η εκκόλαψη των ωών γίνεται την άνοιξη και προκύπτουν άπτερα παρθενογενετικά θηλυκά, που λέγονται θεμελιωτικά ή ιδρυτικά άτομα (*fundatrix*). Τα άπτερα αναπαράγονται παρθενογενετικά και τα άτομα επακόλουθων παρθενογενετικών γενεών παρουσιάζουν προοδευτικές μορφολογικές μεταβολές (Lees 1966). Μετά από ένα αριθμό γενεών γεννιούνται τα πτερωτά παρθενογενετικά θηλυκά (*alatae fundatrigeniae*), που διασκορπίζονται σε φυτά που ανήκουν στο ίδιο είδος με τον κύριο ξενιστή, ή μεταναστεύουν σε δευτερεύοντες ποώδεις ξενιστές. Εκεί, την άνοιξη και το καλοκαίρι, η μια παρθενογενετική γενιά διαδέχεται την άλλη. Όμως, εκτός από άπτερες μορφές παράγονται και πτερωτά παρθενογενετικά θηλυκά (*alatae alienicolae*) που μεταναστεύουν σε άλλα φυτά κι εκεί συνεχίζουν την παρθενογενετική αναπαραγωγή. Στα Aphididae παράγονται στο δευτερεύοντα ξενιστή πτερωτά θηλυτόκα (*gynoparae*) και αρσενικά κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου. Αυτά θα μεταναστεύσουν στον κύριο ξενιστή όπου τα θηλυτόκα θα γεννήσουν τα έμφυλα ωοτόκα θηλυκά (*oviparae*), τα οποία συζευγνύονται με τα αρσενικά και εναποθέτουν τα χειμερινά ωά. Στα ετερόοικα είδη παράγεται στους δευτερεύοντες ξενιστές μόνο μια μεταναστευτική μορφή, τα πτερωτά παρθενογενετικά θηλυκά, που λέγονται φυλογόνα (*sexuparae*). Αυτά γεννούν στον πρωτεύοντα ξενιστή άπτερα αρσενικά και έμφυλα ωοτόκα θηλυκά. Τα θηλυκά που επιστρέφουν στον πρωτεύοντα ξενιστή πολλές φορές παρουσιάζουν μορφολογικές διαφορές από αυτά που μεταναστεύουν την άνοιξη στους δευτερεύοντες ξενιστές (Blackman & Eastop 2000).

Στα μονόοικα (μη μεταναστευτικές αφίδες) είδη, π.χ. *Aphis rumicis* L. (Hemiptera: Aphididae) ο ετήσιος κύκλος πραγματοποιείται στο ίδιο φυτό ή σε φυτά του ίδιου είδους. Το φθινόπωρο άπτερα παρθενογενετικά θηλυκά (φυλογόνα) θα γεννήσουν ωοτόκα και αρσενικά που είναι συνήθως άπτερα αφού δε χρειάζεται να μεταναστεύσουν για να συμπληρωθεί ο βιολογικός τους κύκλος. Τα περισσότερα μονόοικα είδη σε ποώδη φυτά πιστεύεται ότι εξελίχθηκαν μέσα από την ετεροοικία ενώ αρκετά από αυτά παρουσιάζουν μεγάλη συγγένεια με ετερόοικα είδη που χρησιμοποιούν το συγκεκριμένο ποώδες φυτό ως δευτερεύοντα ξενιστή (Dixon 1998).

Ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των αφίδων είναι η τηλεσκοπική ανάπτυξη των γενεών, συνδυασμένη με την ζωοτοκία, δηλαδή η ανάπτυξη του εμβρύου αρχίζει πριν ακόμη γεννηθεί η μητέρα του, ενώ με την ενηλικίωσή της το έντομο είναι έτοιμο να γεννηθεί. Η τηλεσκοπική παραγωγή, που συντομεύει τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου σε συνδυασμό με τη ζωοτοκία επιτρέπει την ανάπτυξη μεγάλων πληθυσμών, ενώ παράλληλα οδηγεί στη μείωση της μέσης διάρκειας γενιάς των αφίδων, με αποτέλεσμα τη γρήγορη αύξηση των πληθυσμών τους. Επίσης, αυτό το χαρακτηριστικό έχει ως αποτέλεσμα οι αφίδες να συμπληρώνουν την ανάπτυξή τους σε χρόνο τρεις φορές μικρότερο από άλλα ισομεγέθη έντομα και οι πληθυσμοί τους να επιτυγχάνουν ρυθμούς αύξησης όμοιους με αυτούς μικρότερων ζώων, όπως π.χ. τα ακάρεα (Dixon 1998).

Συχνά, κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου των αφίδων εμφανίζεται το φαινόμενο της ανολοκυκλικότητας, δηλαδή έλλειψη της ικανότητας για σεξουαλική αναπαραγωγή. Έχουν βρεθεί είδη αφίδων, που είναι αποκλειστικά ανολοκυκλικά και αναπαράγονται όλο το χρόνο παρθενογενετικά. Επιπλέον, υπάρχουν είδη μερικώς ανολοκυκλικά. Στα μερικώς ανολοκυκλικά είδη οι ανολοκυκλικοί γενότυποι είτε βρίσκονται στην ίδια περιοχή μαζί με ολοκυκλικούς, είτε σε άλλες περιοχές του εύρους εξάπλωσης του είδους (Blackman & Eastop 2000). Αν και οι ανολοκυκλικοί γενότυποι έχουν την ικανότητα να αποκτήσουν ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα, να αποικίσουν ανθεκτικές ποικιλίες και να παρουσιάσουν υψηλότερο ρυθμό αύξησης από ότι οι αντίστοιχοι ολοκυκλικοί, μόνο το 3% των ειδών είναι αποκλειστικά ανολοκυκλικά (Blackman 1980). Από την άλλη πλευρά, φαίνεται, ότι η σεξουαλική αναπαραγωγή προσδίδει σημαντικές δυνατότητες προσαρμογής και επιβίωσης στις αφίδες. Ανεξάρτητα από τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα του ενός ή του άλλου τρόπου αναπαραγωγής, φαίνεται ότι ο πολυμορφισμός που παρουσιάζουν διάφορα είδη αφίδων προσδίδει σε αυτές μια μεγαλύτερη ικανότητα επιβίωσης, καθώς μπορούν και προσαρμόζονται σε διάφορα περιβάλλοντα και να αξιοποιούν περισσότερους πόρους.

### 3. ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗ ΑΦΙΔΩΝ

#### A) Γενικά

Ένας μεγάλος αριθμός ειδών αφίδων είναι εξειδικευμένος σε ένα φυτό ξενιστή και ορισμένα είδη, που είναι οικονομικώς σημαντικά, είναι εξαιρετικά πολυφάγα. Η ανάπτυξη φυλών προσαρμοσμένων σε ένα ξενιστή είναι μια διαδικασία φυσικής επιλογής όπου, νέοι πληθυσμοί αφίδων ξεπερνούν τους μηχανισμούς αντίστασης των φυτών και προσαρμόζονται σε συγκεκριμένα φυτά ξενιστές.

Οι προσαρμοσμένες φυλές σε ξενιστή στις αφίδες είναι γνωστές για πάνω από 150 χρόνια (Walker 1850) και σχεδόν τα μισά είδη εντόμων από τα 36 που έχουν μελετηθεί και έχουν φυλές, είναι αφίδες (Tomciuk 1990).

Για παράδειγμα, η αφίδα του μπιζελιού *Aphis pisum* (Harris) (Hemiptera: Aphididae), έχει δύο φυλές. Οι πληθυσμοί της είναι απομονωμένοι λόγω της εξειδίκευσής τους στο τριφύλλι (*Trifolium pratense* L. (Fabaceae)) και τη μηδική (*Medicago sativa* L. (Fabaceae)). Η προσαρμογή σε κάθε ξενιστή φαίνεται ότι είναι αποτέλεσμα της συμπεριφοράς κατά την επιλογή ξενιστή. Βρέθηκε συσχέτιση με αλληλοχημικές ουσίες κάθε ξενιστή που διεγείρουν τη διατροφή και την εναπόθεση την νυμφών (Caillaud 1999).

Η αφίδα *A. gossypii* γενικά είναι πολυφάγο είδος με γενότυπους που διαφέρουν ως προς την ικανότητά τους να αναπαράγονται σεξουαλικά και την προτίμηση ξενιστή. Μελέτη που έγινε από τους Guldmond et al. (1994) έδειξε ότι γενότυποι που συλλέχθηκαν στο χρυσάνθεμο (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev. (Asteraceae)) και αγγούρι (*Cucumis sativus* L. (Cucurbitaceae)) αποτελούν διαφορετικές φυλές. Παρατηρήθηκε πολύ χαμηλό ποσοστό αναπαραγωγής όταν παρθενογενετικές σειρές από χρυσάνθεμο αναπτύσσονταν σε αγγούρι και το αντίστροφο.

Η αφίδα *Therioaphis trifolii* (Monell) (Hemiptera: Aphididae) έχει φυλές προσαρμοσμένες στη μηδική και στο τριφύλλι (*Trifolium subterraneum* L. (Fabaceae)). Οι Sunnucks et al. (1997), σύγκριναν δείγματα του *T. trifolii* από τριφύλλι και μηδική. Χρησιμοποιώντας διάφορες τεχνικές μελέτησαν την επιβίωση και αναπαραγωγή σε διαφορετικούς ξενιστές, τη μορφολογία, το προφίλ υδρογονανθράκων της επιδερμίδας των αφίδων, τον καρύοτυπο, ενώ παράλληλα χρησιμοποίησαν και μοριακές μεθόδους (RAPD-PCR, μιτοχονδριακό DNA).

Μορφολογικές και γενετικές διαφορές βρέθηκαν, ως προς τον ξενιστή που συλλέχθηκαν οι αφίδες. Η ύπαρξη των γενετικών διαφορών απέδειξε ότι οι πληθυσμοί από τους διαφορετικούς ξενιστές αποτελούν διαφορετικές φυλές.

Επίσης φυλές προσαρμοσμένες σε ένα ξενιστή έχουν βρεθεί στα είδη *Schizaphis graminum* Rondani (Kindler & Spomer 1986), *Amphorophora rubi* (Kaltenbach.) (Blackman et al. 1977) και *Cryptomyzus galeopsidis* (Kalt) (Hemiptera: Aphididae) (Guldemon 1990a).

Χαρακτηριστικό του *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) είναι η προσαρμογή σε συγκεκριμένα φυτά ξενιστές. Οι πληθυσμοί που τρέφονται για παράδειγμα στον καπνό μπορούν να διαχωριστούν από αυτούς που προέρχονται από άλλους ξενιστές. Αυτό μπορεί να γίνει με τη μέθοδο της σωματομετρίας ή με τεχνικές ηλεκτροφόρησης (Blackman 1987, Blackman & Spence 1992, Margaritopoulos et al. 2000). Ο Blackman (1987) περιέγραψε τη μορφή που τρέφεται στον καπνό ως καινούριο είδος, το *Myzus nicotiana* Blackman (Hemiptera: Aphididae). Γινόταν αποδεκτό ότι οι συγκεκριμένοι πληθυσμοί ήταν κυρίως παρθενογενετικοί και συνεπώς δεν μπορούσαν να διασταυρωθούν με το *M. persicae*. Όμως, ο βιολογικός κύκλος του *M. nicotiana* παρουσιάζει πολυμορφισμό. Σε πολλές περιοχές που καλλιεργείται ο καπνός δεν έχει αναφερθεί σεξουαλική αναπαραγωγή. Αντίθετα, στην Ιαπωνία, στην Κεντρική Ασία και το Καζακστάν βρέθηκαν ανδροκυκλικοί πληθυσμοί του συμπλόκου *M. persicae* που τρέφονται σε καπνό. Στην Ελλάδα, παρθενογενετικές σειρές που τρέφονται σε καπνό βρέθηκαν να μεταναστεύουν από τη ροδακινιά στον καπνό. Επίσης, στη Βόρεια Ελλάδα, στις κύριες περιοχές που καλλιεργείται η ροδακινιά, ένα πολύ υψηλό ποσοστό παρθενογενετικών σειρών που τρέφεται στον καπνό και άλλους ξενιστές έχουν την ικανότητα σεξουαλικής αναπαραγωγής (Margaritopoulos et al., 2002).

Σε μελέτη που έγινε, με τη μέθοδο της RAPD-PCR, χρησιμοποιήθηκαν 63 τυχαίοι primers, για να διαχωρίσουν παρθενογενετικές σειρές *M. persicae*, που προέρχονταν από τον καπνό και άλλα φυτά ξενιστές. Και οι 63 primers που χρησιμοποιήθηκαν απέτυχαν να ανιχνεύσουν κάποια σταθερή διαφορά στο πρότυπο ζωνών μεταξύ των ομάδων. Μόνο ένας primer (OPA-18) έδωσε ένα σημαντικό πολυμορφισμό σε σχέση με το φυτό ξενιστή. Τα αποτελέσματα αυτά έδειξαν, ότι το *M. nicotiana* δεν πρέπει να θεωρείται διαφορετικό είδος από το *M. persicae*. Ωστόσο, οι αφίδες που αποικίζουν τον καπνό αποτελούν ξεχωριστή φυλή προσαρμοσμένη στο συγκεκριμένο ξενιστή (Margaritopoulos et al., 1998).

## **B) Η εξέλιξη της εξειδίκευσης σε ένα ξενιστή**

Τα περισσότερα φυτοφάγα είδη παρουσιάζουν μεγάλη εξειδίκευση ως προς ένα φυτό-ξενιστή. Έρευνες σχετικές με τη σημασία της εξειδίκευσης έχουν επικεντρωθεί στους παράγοντες που καθορίζουν την πραγματοποίηση του αποικισμού των ατόμων, ή την εναπόθεση ωών σε προτιμώμενους ή μη ξενιστές. Έχουν διακριθεί τέσσερις παράγοντες:

1. Τα χαρακτηριστικά του φυτού-ξενιστή, η χημική του σύσταση, η μορφολογία του κτλ.
2. Ο ανταγωνισμός με άλλα φυτοφάγα είδη που προσβάλλουν το ίδιο φυτό-ξενιστή.
3. Οι φυσικοί εχθροί που ψάχνουν για τροφή σε συγκεκριμένους ξενιστές κατά προτίμηση.
4. Οι ενδοειδικές αλληλεπιδράσεις: άμεση εξάρτηση από την πυκνότητα του πληθυσμού, η οποία προέρχεται από τον ενδοειδικό ανταγωνισμό ή αντίστροφη εξάρτηση από την πυκνότητα του πληθυσμού στην περίπτωση που οι αφίδες βρίσκονται σε «λάθος» ξενιστή κι αποτυγχάνουν να συζευχθούν.

Πριν αρκετά χρόνια οι Ehrlich & Raven (1964) ισχυρίστηκαν ότι η εξέλιξη δευτερευουσών ουσιών στο φυτό και η εξελικτική ανταπόκριση των φυτοφάγων εντόμων σε αυτές αποτέλεσαν τους κύριους παράγοντες που συνέβαλλαν στην εξέλιξη των πεταλούδων κι άλλων φυτοφάγων ειδών. Παρόλο που η συγκεκριμένη άποψη (προσαρμογή σε φυτό-ξενιστή) δεν ήταν καινούρια (Börner 1939) έγινε ευρέως αποδεκτή. Σήμερα όμως ο ισχυρισμός, ότι τα εξειδικευμένα είδη γενικά υπερισχύουν των μη εξειδικευμένων, αμφισβητείται γιατί οι περισσότερες μελέτες δεν αποδεικνύουν ισχυρή αρνητική συσχέτιση όσον αφορά την απόδοση μεταξύ διαφορετικών φυτών-ξενιστών: η προσαρμογή σε έναν ξενιστή ή σε μια ομάδα ξενιστών δεν έχει ως αποτέλεσμα τη μικρή δραστηριότητα για αποικισμό σε άλλους ξενιστές (Gould 1979, Rausher 1984, Via 1984, Hare & Kennedy 1986, Futuyma & Phillippi 1987, James *et al.*, 1988). Είναι πιθανό ότι πολλές άλλες μη επιτυχείς προσπάθειες δε δημοσιεύτηκαν. Επίσης πολλοί συγγραφείς έχουν ισχυριστεί ότι η αρπακτικότητα έχει παίξει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη του εύρους των ξενιστών έτσι ώστε τα φυτοφάγα είδη να προτιμούν χώρο απαλλαγμένο από εχθρούς (Lawton 1978, Bernays & Graham 1988). Όσον αφορά την εξειδίκευση των αφίδων έχουν διατυπωθεί τρεις θεωρίες-υποθέσεις:

- 1) Η υπόθεση της βέλτιστης χρήσης του φυτού-ξενιστή
- 2) Η υπόθεση που σχετίζεται με την επιφάνεια που καλύπτει ένας ξενιστής
- 3) Η υπόθεση που θεωρεί το φυτό-ξενιστή ως τόπο συνάντησης των δυο φύλων των αφίδων

#### B1) Η υπόθεση της βέλτιστης χρήσης του φυτού-ξενιστή

Μελέτες έχουν δείξει αρνητική γενετική συσχέτιση στη δραστηριότητα (για αποικισμό) της αφίδας *Acyrtosiphon pisum* στη μηδική και το τριφύλλι (Via 1991). Επίσης ο MacKenzie (1996) παρέθεσε αποδείξεις της ύπαρξης ισχυρής αρνητικής συσχέτισης μεταξύ πληθυσμών της *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) όσον αφορά τη δραστηριότητά της για αποικισμό σε κουκιά (*Vicia faba* L. (Fabaceae)) και στο *Tropaeolum majus* L. (Tropaeolaceae). Επιπλέον έχει αναφερθεί ότι συμπατρικές φυλές ξενιστών σε πολλά είδη αφίδων αποδίδουν καλύτερα στον προτιμώμενο ξενιστή τους (Blackley 1982, Guldmond 1991). Παρόλα αυτά, μελέτες που έγιναν για την *A. pisum* πάνω σε διαφορετικούς ξενιστές έδειξαν ότι κάποιες φυλές ξενιστών συμπεριφέρονται χειρότερα στον προτιμώμενο ξενιστή τους απ' ότι στους άλλους. Επιπλέον υπάρχουν πολλά μη εξειδικευμένα είδη, όπως το *Metopolophium dirhodum* (Walker) (Hemiptera: Aphididae), τα οποία μπορούν να υπερνικούν εξειδικευμένα είδη όπως το *Hyalopteroides humilis* (Walker) και το *Metopolophium albidum* Hille Ris Lambers (Hemiptera: Aphididae), που βρίσκονται πάνω στο αντίστοιχο φυτό-ξενιστή.

Είναι γεγονός ότι τα φυτικά είδη διαφέρουν σημαντικά ως προς την καταλληλότητά τους ως ξενιστές για κάποια είδη αφίδων (e.g. Weber, 1985a, 1985b, 1985c). Το γεγονός αυτό σε συνδυασμό με το ότι οι παρθενογενετικές σειρές μπορούν να παραμείνουν για πολλές γενιές πάνω σε έναν ξενιστή σημαίνει ότι μικρές διαφορές στη θρεπτική αξία μπορεί να έχουν μεγάλες επιδράσεις μακροπρόθεσμα στην προσαρμογή των αποικιστών (Kindlmann & Dixon 1994). Όμως, υπάρχει αμφιβολία για το αν η αρνητική συσχέτιση, όσον αφορά την απόδοση των αφίδων σε ξενιστές διαφορετικής θρεπτικής αξίας, είναι επαρκής για τον προσδιορισμό της εξειδίκευσης σ' έναν ξενιστή. Περίπου το 10% των ετερόοικων ειδών των αφίδων μεταναστεύουν από κύριους σε δευτερεύοντες ξενιστές, οι οποίοι ανήκουν σε διαφορετικές οικογένειες π.χ. Salicaceae-Umbelliferae, Rosaceae-Graminae, Grossulariaceae-Labiatae. Στα μεταναστευτικά είδη, τα άτομα πρέπει να



μπορούν να τρέφονται και στους δυο ξενιστές. Είναι γνωστό επίσης ότι κάποιες από αυτές τις αφίδες μπορούν να συμπληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο αποκλειστικά στον πρωτεύοντα ή δευτερεύοντα ξενιστή, πράγμα που έρχεται σε αντίθεση με την εξειδίκευση σε ένα ξενιστή ως συνέπεια της προσαρμογής στη χιμεία και τη μορφολογία ενός συγκεκριμένου φυτού-ξενιστή.

#### B2) Η υπόθεση που σχετίζεται με την επιφάνεια που καλύπτει ένας ξενιστής

Η διασπορά θεωρείται ιδιαίτερα επικίνδυνη για τις αφίδες και το επίπεδο του κινδύνου που αυτές λαμβάνουν είναι σημαντικό. Η διασπορά στις αφίδες μπορεί να θεωρηθεί ως μια σειρά από "δοκιμασίες" κατά τις οποίες οι αφίδες προσγειώνονται τυχαία πάνω στο φυτό-ξενιστή και μετά από δοκιμή αποδέχονται ή όχι τον ξενιστή. Εξαιτίας της μικρής διάρκειας ζωής τους και / ή των περιορισμένων αποθεμάτων τους σε "ενέργεια" ο αριθμός των δοκιμών είναι μικρός και καθορισμένος.

Το συγκεκριμένο μοντέλο υποθέτει ότι ο πληθυσμός των αφίδων μεγαλώνει εκθετικά, πράγμα που φαίνεται να παραλλάσσει με ό,τι συμβαίνει στην πραγματικότητα. Στη φύση, κατά τη διάρκεια μιας εποχής οι πληθυσμοί τείνουν να αυξηθούν και κατόπιν να μειωθεί ο αριθμός των ατόμων σε κάθε πληθυσμό. Η φάση της αύξησης είναι καθαρά εκθετική. Υπάρχουν αποδείξεις ότι οι αφίδες αγωνίζονται για την απόκτηση των διαθέσιμων πόρων (Dixon, 1994) ενώ οι πληθυσμοί τους καταρρέουν όταν αυτοί δεν υπάρχουν. Ο ανταγωνισμός για τους διαθέσιμους πόρους έχει ως αποτέλεσμα τη διασπορά τους προκειμένου να ψάξουν γι' αυτούς παντού. Οι πληθυσμοί που παραμένουν στο φυτό συνεχίζουν να αυξάνουν εκθετικά παρά τη δραστηριότητα των φυσικών εχθρών και την υποβαθμισμένη ποιότητα του ξενιστή.

Το παραπάνω μοντέλο δείχνει ότι πολύ μικρές διαφορές στο ρυθμό αύξησης του πληθυσμού που επιτυγχάνεται σε δυο φυτά-ξενιστές ενισχύεται από την κλωνική παρθενογένεση που πραγματοποιείται για πολλές γενιές. Αυτές οι μικρές διαφορές στην αύξηση του πληθυσμού αποτελούν πλεονέκτημα για τις αφίδες στην ανεύρεση κατάλληλου φυτικού είδους όπου θα μπορέσουν να αναπτυχθούν όσο το δυνατόν καλύτερα παρά τις μεγάλες απώλειες που έχουν καθώς ερευνούν για το φυτό-ξενιστή. Αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα οι περισσότερες αφίδες να βρίσκονται στον προτιμώμενο ξενιστή όπου θα συνέβαιναν οι περισσότερες γενετικές αλλαγές, πάνω στις οποίες θα μπορούσε να δράσει η επιλογή με αποτέλεσμα τη μεγαλύτερη εξειδίκευση, όπως αλλαγές στη μορφολογία, φυσιολογία που καθιστούν το έντομο λιγότερο ικανό να εκμεταλλεύεται άλλους ξενιστές.

Είναι εμφανές ότι ο υψηλός ρυθμός αύξησης του πληθυσμού των αφίδων είναι ένας παράγοντας που τις καθιστά ικανές να αποκτήσουν μεγαλύτερη εξειδίκευση. Παρόλα αυτά, ίσως είναι ο μοναδικός παράγοντας για την αύξηση της εξειδίκευσης, γιατί κάποιες ομάδες εντόμων, οι οποίες δεν παρουσιάζουν υψηλό ρυθμό αύξησης, παρουσιάζουν εξειδίκευση.

### B3) Η υπόθεση που θεωρεί το φυτό-ξενιστή ως τόπο συνάντησης των δυο φύλων των αφίδων

Ο Ward (1987, 1991a) θεωρεί ότι η επιλογή ξενιστή ευνοεί την εξειδίκευση γιατί τα φυτά-ξενιστές δεν αποτελούν απλά το φυσικό περιβάλλον των αφίδων και μια πηγή θρεπτικών στοιχείων, αλλά επίσης αποτελούν ένα τόπο συνάντησης των σεξουαλικών ατόμων. Αν γίνεται σύζευξη πάνω στο φυτό-ξενιστή και τα σεξουαλικά άτομα συναντηθούν μόλις βρουν το φυτό-ξενιστή, τα άτομα που θα πάνε σε μη μολυσμένα φυτά-ξενιστές έχουν μικρή πιθανότητα να συζευχθούν. Αυτό σημαίνει ότι η επιλογή ευνοεί τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για την εξειδίκευση για οποιοδήποτε ξενιστή που είναι πιο δημοφιλής για αποικισμό, ακόμη κι αν άλλοι ξενιστές είναι πιο κατάλληλοι από άλλες απόψεις.

Ο Ward (1991a) δίνει τρία παραδείγματα από τη βιολογία των αφίδων προκειμένου να υποστηρίξει την υπόθεση της συνάντησης των αφίδων στο φυτό-ξενιστή:

1. Από τις αφίδες που έχουν περωτά αρσενικά και ζουν στα αγρωστώδη της Κεντρικής Ευρώπης τα μονόοικα είδη έχουν σημαντικά περιορισμένο εύρος ξενιστή την περίοδο του καλοκαιριού σε σχέση με τα ετερόοικα είδη.
2. Κάποια από τα πολυφάγα μονόοικα είδη (π.χ. *Aulacorthum solani* Kaltentbach, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) (Hemiptera: Aphididae)) δεν παράγουν περωτά αρσενικά κι αυτό γιατί η ικανότητά τους για σύζευξη στον ίδιο ξενιστή διαχωρίζει την επιλογή ξενιστή για λήψη θρεπτικών στοιχείων από την επιλογή για ανεύρεση αρσενικού.
3. Οι μη σεξουαλικές παρθενογενετικές σειρές είναι συνήθως πιο πολυφάγες από τις συγγενείς σεξουαλικές σειρές τους π.χ. η απώλεια της σεξουαλικής γενιάς διαχωρίζει το εύρος ξενιστή από την επιτυχία σύζευξης.

Βασικό στοιχείο της συγκεκριμένης υπόθεσης είναι ότι η ύπαρξη μεγάλου αριθμού περιοχών-θέσεων που μπορεί να γίνει η σύζευξη εξαρτάται από την προσγγείωση των αφίδων σε ένα συγκεκριμένο ξενιστή. Παρόλα αυτά οι van Emden *et*

*al.*, (1969) πρότειναν ότι οι φερομόνες φύλου ίσως αποδειχτεί ότι προσελκύουν περισσότερο τις αρσενικές αφίδες από ό,τι το φυτό ξενιστής. Αυτή η ιδέα υποστηρίχτηκε χάρις την παγίδευση αρσενικών ατόμων σε παγίδες που είχαν ως δόλωμα φερομόνη φύλου (Campbell *et al.*, 1990, Hardie 1991, Pickett *et al.*, 1992). Τα άτομα που παγιδεύτηκαν ήταν πολύ περισσότερα όταν στην παγίδα τοποθετήθηκε φερομόνη φύλου κι ένα κομμάτι από το φυτό (Campbell *et al.* 1990, Hardie *et al.*, 1994). Παρόλα αυτά, τουλάχιστον ένα είδος (*Sitobion fragariae* Walker (Hemiptera: Aphididae)) φαίνεται να παράγει και κυρίως να ανταποκρίνεται στη νεπελακτόνη, η οποία είναι συστατικό της φερομόνης φύλου τουλάχιστον πέντε ειδών αφίδων, από δυο φυλές. Έτσι, η φερομόνη φύλου σ' αυτή την περίπτωση δε φαίνεται να παίζει ρόλο στην εξειδίκευση (Hardie 1991). Ομοίως, ο Steffan (1983, 1987, 1990) παρουσιάζει αποδείξεις ότι η φερομόνη φύλου δεν είναι πολύ χαρακτηριστική του είδους. Σύμφωνα με τον Steffan αυτή γίνεται αντιληπτή σε μια μικρή απόσταση των 2-10 cm και στα ετερόοικα είδη ο πρωτεύοντας ξενιστής λειτουργεί ως τόπος συνάντησης των αφίδων, όπου γίνεται σεξουαλική αναπαραγωγή. Επιπλέον, δεν είναι ξεκάθαρο αν τα αρσενικά προσελκύονται ή απλά εγκαθίστανται και παγιδεύονται από παγίδες. Εργαστηριακές έρευνες σε αρσενικά χρησιμοποιώντας ηλεκτροαντενογράμματα αποκάλυψαν ότι αυτά ανταποκρίνονται στην οσμή των θηλυκών του ίδιου είδους αλλά δεν ανταποκρίνονται στην οσμή του φυτού-ξενιστή ή στην οσμή του φυτού-ξενιστή σε συνδυασμό με φερομόνη φύλου, πράγμα που έρχεται σε αντίθεση με τα πειράματα αγρού. Όμως, τα αρσενικά που τοποθετούνται σε κλωβούς θα αποικίσουν το σωστό φυτό-ξενιστή ακόμη κι αν απουσιάσουν τα θηλυκά με τα οποία θα συζευχθούν (Guldmond 1990, Pickett *et al.*, 1992, Guldmond *et al.*, 1993). Επιπλέον, σε κάποια είδη των ετερόοικων αφίδων, στα οποία τα μεταναστευτικά άτομα που επιστρέφουν στον πρωτεύοντα ξενιστή είναι μονομορφικά, τα μεταναστευτικά μονομορφικά άτομα (δηλαδή πτερωτά θηλυκά που θα γεννήσουν άπτερα έμφυλα θηλυκά και αρσενικά) είναι εκείνα που καθορίζουν τον πρωτεύοντα ξενιστή όπου γεννιούνται τα έμφυλα άτομα και συνεπώς ζευγαρώνουν.

Έτσι οι εργαστηριακές έρευνες δείχνουν ότι για την αναγνώριση του ξενιστή από το αρσενικό υπεύθυνη είναι η φερομόνη φύλου που παράγεται από τα θηλυκά που πρόκειται να συζευχθούν. Όμως, δεν είναι γνωστό ποιος είναι ο ρόλος της στην εγκατάσταση στο φυτό-ξενιστή των αρσενικών. Στα ετερόοικα είδη αφίδων τα άτομα που γεννούν τα θηλυκά, που πρόκειται να συζευχθούν, φτάνουν πρώτα στον κύριο ξενιστή το φθινόπωρο. Τα αρσενικά φθάνουν αργότερα και μπορούν να

χρησιμοποιήσουν τη φερομόνη που παράγεται από τα θηλυκά για να προσανατολιστούν. Αν αυτό γίνει, τότε η συγκεκριμένη υπόθεση ίσως να μην είναι ικανή να ερμηνεύσει ικανοποιητικά την εξειδίκευση ξενιστή στις αφίδες.

## Γ) Δημιουργία ειδών

Εκτός από την αλλοπατρική δημιουργία ειδών στην οποία πληθυσμοί από ένα προγονικό είδος απομακρύνθηκαν κι απομονώθηκαν γεωγραφικά ζώντας στο ίδιο φυτό-ξενιστή, η δημιουργία ενός είδους στα φυτοφάγα έντομα μπορεί να ξεκινήσει όταν ανεξάρτητα άτομα διαφορετικών πληθυσμών μετακινηθούν σε ένα νέο φυτό-ξενιστή. Αν αυτό συμβεί σε μια περιοχή όπου υπάρχει προγονικός πληθυσμός, μπορεί να συμβεί συμπατρική δημιουργία είδους (Bush 1975, Brooks & McLennan 1991). Το γεγονός ότι υπάρχουν μορφολογικά παρόμοια υποείδη, φυλές και βιότυποι αφίδων που διαφέρουν μόνο στη χρήση φυτών-ξενιστών έχει οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι η συμπατρική δημιουργία ειδών είναι εφικτή στις αφίδες (Müller 1971a 1985, Guldemon 1990a,b, Ward 1991b, Guldemon & MacKenzie 1994, MacKenzie & Guldemon 1994). Πράγματι, αυτή η πληροφορία είναι η μεγαλύτερη απόδειξη που υπάρχει για τη δημιουργία ειδών διαμέσου της εναλλαγής ξενιστών (Brooks & McLennan, 1991).

Υπάρχουν δυο περιπτώσεις δημιουργίας ειδών χάρη στη μετακίνηση των αφίδων σε φυτά-ξενιστές. Στην πρώτη περίπτωση η σεξουαλική αναπαραγωγή γίνεται σε άλλο φυτό-ξενιστή. Αυτό συμβαίνει όταν ένα μονόοικο είδος μετακινηθεί σε ένα άλλο φυτό-ξενιστή ή όταν ένας νέος πρωτεύοντας ξενιστής, όπου γίνεται σεξουαλική αναπαραγωγή, αποικίζεται από ένα ετερόοικο είδος. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι μονόοικες φυλές ξενιστών του *Acyrtosiphon pelargonii* (Kaltenbach) (Müller 1983), *A. solani* (Müller 1976), *A. pisum* (Müller 1971a, 1980) και *Uroleucon jaceae* (L.) και *U. cichorii* (Koch) (Hemiptera: Aphididae) (Mosbacher 1963). Φυλές ξενιστών στις οποίες έχει πραγματοποιηθεί μετακίνηση σε ένα καινούριο ξενιστή είναι οι *Cryptomyzus galeopsidis* (Kaltenbach) (Guldemon, 1990a,b, 1991) και *Myzus cerasi* (F.) (Hemiptera: Aphididae) (Dahl 1968, Gruppe 1988). Η δεύτερη περίπτωση περιλαμβάνει μετακίνηση σε ένα καινούριο δευτερεύοντα ξενιστή ενώ διατηρείται ο πρωτεύοντας ξενιστής στον οποίο γίνεται η σεξουαλική αναπαραγωγή

τόσο των προγονικών όσο και των νέων πληθυσμών. Στη συγκεκριμένη περίπτωση η πιθανότητα ροής γονιδίων ανάμεσα στους δυο πληθυσμούς είναι πολύ μεγαλύτερη σε σχέση με την πρώτη. Παραδείγματα βρέθηκαν στην αφίδα *Dysaphis crataegi* (Kaltenbach) (Stroyan 1958), *A. fabae* (Müller 1982) και *Aphis frangulae* Kaltenbach (Hemiptera: Aphididae) (Thomas 1968).

Μπορούν να διακριθούν δυο διαδικασίες απόκλισης από τον κανόνα: μια ξαφνική μετακίνηση σε ένα καινούριο φυτό-ξενιστή λόγω μιας μετάλλαξης στην αναγνώριση ξενιστή και/ή στην αναπαραγωγική δραστηριότητα, πράγμα που καθιστά το προγονικό φυτό-ξενιστή λιγότερο αναγνωρίσιμο/κατάλληλο ή μια προοδευτική, σταδιακή διαδικασία επιλογής που οδηγεί σε προσαρμογή σε ένα νέο ξενιστή. Ο εγκλιματισμός στο νέο φυτό-ξενιστή και η παρουσία της ισχυρής αρνητικής συσχέτισης όσον αφορά την απόδοση, είναι οι δυνάμεις που συμβάλλουν στην απομόνωση. Το μοντέλο της ξαφνικής μετακίνησης σε ένα νέο φυτό-ξενιστή είναι απαραίτητα το μοντέλο διαμόρφωσης της συμπατρικής φυλής ξενιστή του Bush (1975). Δεν υπάρχει αυστηρός διαχωρισμός ανάμεσα στις δυο διαδικασίες ενώ και οι δυο μπορούν να γίνουν ταυτόχρονα.

Οι αφίδες θεωρούνται ιδανικά έντομα για συμπατρική δημιουργία ειδών γιατί παρουσιάζουν: 1) εξειδίκευση ξενιστή, 2) μηχανισμό της κυκλικής παρθενογένεσης, 3) επαγωγή, 4) εναλλαγή ξενιστή, 5) παραγωγή σεξουαλικών θηλυκών και 6) παραγωγή άπτερων αρσενικών

### **1. Εξειδίκευση ξενιστή**

Παρουσιάζουν εξειδίκευση ξενιστή σε μεγάλο βαθμό ώστε το 99% όλων των ειδών να περιορίζονται σε ένα ή περισσότερα στενά συνδεδεμένα είδη φυτών (Eastop 1973), γεγονός που σχετίζεται με μια γενετικά καθορισμένη προτίμηση για ένα φυτό-ξενιστή καθώς και με υψηλή αναπαραγωγική δραστηριότητα (Guldmond 1990a, 1990b, MacKenzie 1996). Το γεγονός ότι κάθε παρθενογενετική σειρά συνήθως αποτελείται από πολλά μέλη καθένα από τα οποία έχει έναν υψηλό ενδογενή ρυθμό αύξησης προάγει την προσπάθεια για ανεύρεση ενός καλύτερου ξενιστή. Για παράδειγμα, αν σε ένα μη κατάλληλο ξενιστή παρατηρείται το ένα δέκατο της γονιμότητας σε σχέση με ένα προτιμώμενο, ο μη κατάλληλος ξενιστής πρέπει να είναι δέκα φορές πιο άφθονος για να μπορέσει να αντισταθμίσει τη διαφορά. Γι' αυτό το λόγο, παρά τις τεράστιες απώλειες που υπάρχουν κατά την ανεύρεση φυτών-ξενιστών, η εξειδίκευση δεν αποτελεί έλλειψη ικανότητας για προσαρμογή αλλά

αποτελεί βέλτιστη στρατηγική για τις αφίδες (Kindlmann & Dixon 1994, Mackenzie & Guldmond 1994, Dixon 1994).

## 2. Κυκλική παρθενογένεση

Εξαιτίας αυτού του μηχανισμού μια μεταλλαγμένη αφίδα που έχει αποικίσει ένα καινούριο φυτό-ξενιστή μπορεί να δημιουργήσει γρήγορα ένα πληθυσμό με γενετικά πανομοιότυπα θηλυκά. Αργότερα, την ίδια εποχή, παράγονται γενετικά πανομοιότυπα αρσενικά με ένα X χρωμόσωμα λιγότερο. Στα μονόοικα είδη είναι πιθανόν να γίνει σύζευξη ανάμεσα σε συγγενικά άτομα από τον ίδιο πληθυσμό. Οι απόγονοι που είναι ομόζυγοι ως προς τη μεταλλαγμένη μητέρα είναι πιθανόν να παρουσιάζουν μεγαλύτερη καταλληλότητα στο νέο ξενιστή, ενώ το μικρό μέγεθος του νεοσχηματισμένου πληθυσμού είναι πιθανό να εμποδίσει την ύπαρξη γενετικών αλλαγών με αποτέλεσμα να σταθεροποιείται το ποσοστό των καλά προσαρμοσμένων γενοτύπων.

## 3. Επαγωγή

Ο Lamarck (1809) πρότεινε πρώτος ότι μια αλλαγή στο φυσικό περιβάλλον μπορεί να δώσει έναυσμα για μια βαθιά εξελικτική αλλαγή. Αργότερα, η πρόταση αυτή αναπτύχθηκε ως θεωρία με συγκεκριμένη αναφορά σε παρασιτικά έντομα από τον Walsh (1864). Μελέτες που έγιναν πάνω σε χορτοφάγα έντομα (Singer 1983) και παρασιτοειδή (Collins & Dixon 1986) έδειξαν ότι η φυσιολογική κατάσταση του θηλυκού είναι σημαντική για την αποδοχή το ξενιστή. Στις αφίδες, για παράδειγμα, μια μεγάλη αφίδα *M. Persicae*, η οποία εκτράφηκε σε ένα υψηλής ποιότητας φυτό, αποδέχεται έναν χαμηλής ποιότητας ξενιστή δυσκολότερα από ότι ένα μικρό άτομο. Αυτό θα μπορούσε να συμβάλλει στη διατήρηση του πολυμορφισμού που βασίζεται στην επιλογή ξενιστή.

Έχει αναφερθεί ότι στις αφίδες πραγματοποιούνται αλλαγές προκαλούμενες από κληρονομικούς παράγοντες οι οποίες δίνουν "ιθαγενείς" φαινοτύπους με καλή ανταγωνιστική ικανότητα. Τέτοιες αλλαγές έχουν αναφερθεί στην αφίδα *Dysaphis anthrisci* Börner (Hemiptera: Aphididae), η οποία μετά από μια περίοδο οκτώ γενεών σε ένα φυτό μη ξενιστή, *Chaerophyllum bulbosum* L. (Apiaceae), μπόρεσε να μεταφερθεί με επιτυχία στο *C. maculatum* Wild. (Apiaceae), το οποίο πριν ήταν μη αποδεκτό. Η αλλαγή στην αφίδα συμπεριλάμβανε επίσης αλλαγές στη μορφολογία (Shaposhnikov 1985). Ομοίως, εκτρέφοντας τις αφίδες *A. pisum* και *M. persicae* σε

φυτά μη ξενιστές για επτά γενεές είχε ως αποτέλεσμα να αναπτύσσονται καλύτερα στο μη-ξενιστή (Markkula & Roukka 1970, Lowe 1973). Τόσο στην αφίδα *M. persicae* όσο και στην *A. fabae*, που εκτράφηκαν σε υποβαθμισμένης ποιότητας ξενιστές, αυξήθηκε η γονιμότητα μετά από τρεις γενιές (Mackenzie 1992).

Σε κάποιες περιπτώσεις η επαγωγή έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία φαινοτυπικών φυλών αλλάζοντας την προτίμηση του εντόμου για ένα ξενιστή ή αλλάζοντας την προτίμηση του εντόμου για ένα ξενιστή και τοποθετώντας "ξένους" φαινοτύπους σε μειονεκτική θέση όσον αφορά την ανταγωνιστική ικανότητά τους. Ως αποτέλεσμα δημιουργείται ισχυρή αρνητική συσχέτιση όσον αφορά την απόδοση εξαιτίας των προκαλούμενων φυσιολογικών και / ή μορφολογικών αλλαγών. Στην περίπτωση λοιπόν αυτή, η δημιουργία γενετικά διαφοροποιημένων φυλών καθώς το φυτό-ξενιστής αποκτά ωφέλιμα γονίδια, π.χ. επαγωγή, μπορεί να είναι ένα "κρίσιμο συστατικό" των αρχικών σταδίων σχηματισμού μιας φυλής ξενιστή.

#### **4. Εναλλαγή ξενιστή**

Περίπου το 10% των ειδών παρουσιάζουν εποχική μετακίνηση από τον αρχικό ξενιστή στον εναλλακτικό ξενιστή. Η απώλεια αυτού του τρόπου ζωής θεωρήθηκε ένας σημαντικός τρόπος δημιουργίας ειδών (Hille Ris Lambers 1950). Στην αφίδα *C. galeopsidis* η τάση της εναλλαγής ξενιστή καθορίζεται από ένα γονίδιο. Αν αυτό ίσχυε γενικά, με μία απλή μετάλλαξη θα διευκολυνόταν η αλλαγή σε μονόοικη μορφή με διαχωρισμό κατά τη διάρκεια της σύζευξης μεταξύ συγγενικών ατόμων σε ένα νέο δευτερεύοντα ξενιστή (Guldemond 1990 a,b), πράγμα που μπορεί να οδηγήσει στην ακαριαία δημιουργία είδους.

#### **5. Σεξουαλικά θηλυκά**

Γεννιούνται στο φυτό-ξενιστή και είναι συνήθως άπτερα. Επομένως είναι πολύ πιθανό η σύζευξη να γίνει πάνω στο ίδιο φυτό-ξενιστή στο οποίο αυτά γεννήθηκαν.

#### **6. Αρσενικά**

Πολλά είδη αφίδων έχουν άπτερα αρσενικά. Όταν συμβεί αλλαγή ξενιστή σε είδη με άπτερα αρσενικά, η πιθανότητα ροής γονιδίων με τη μετανάστευση των αρσενικών είναι υπερβολικά περιορισμένη. Το γεγονός ότι περίπου τα μισά από τα μονόοικα είδη έχουν άπτερα αρσενικά δείχνει ότι αυτό μπορεί να είναι ένα σημαντικό χαρακτηριστικό που διευκολύνει την αλλαγή ξενιστή στις αφίδες.

Το σενάριο που έχει επικρατήσει για τη συμπατρική δημιουργία ειδών είναι εκείνο σύμφωνα με το οποίο ο νέος πληθυσμός δεν εγκαθίσταται στο φυσικό περιβάλλον (σε φυτό-ξενιστή), το οποίο αμέσως το απομονώνει από τη ροή γονιδίων του γονικού πληθυσμού. Αυτό περιλαμβάνει δυο βήματα: 1) Ύπαρξη πολυμορφισμού στους δυο πληθυσμούς που αναπτύσσονται σε διαφορετικά φυτά-ξενιστές σε συνδυασμό με το γεγονός ότι οι λάθος ξενιστές είναι ακατάλληλοι για την επιβίωση των ατόμων κάθε πληθυσμού που επέλεξαν λάθος ξενιστή, και 2) Η επιλογή κατά των ενδιάμεσων, ετεροζυγωτών απογόνων που προκύπτει μετά τη σύζευξη δυο ομοζυγωτών γενοτύπων πρέπει να έχει ως αποτέλεσμα την αποφυγή των αρνητικών συνεπειών του υβριδισμού. Αυστηρή επιλογή κατά των υβριδίων θεωρείται απαραίτητη, όμως παρεμποδίζεται από δυο διαδικασίες: τον ανασυνδυασμό και τη ροή γονιδίων.

Ο μηχανισμός της εξέλιξης της αναπαραγωγικής απομόνωσης ονομάστηκε "ενίσχυση" (reinforcement) από τον Blair (1955) και προτάθηκε από τον Dobzhansky (1940, 1951). Η πιθανότητα παραγωγής μη προσαρμοσμένων υβριδίων μεταξύ του αρχικού και του νεοδημιουργηθέντος είδους ελαττώνεται από τη δράση γονιδίων που προάγουν τη σύζευξη ατόμων του ίδιου είδους. Αυτά τα γονίδια διαδίδονται στον πληθυσμό των ειδών μέχρι να ελαχιστοποιηθεί ή να μην υπάρχει πιθανότητα ανταλλαγής γονιδίων μεταξύ του αρχικού και του νεοδημιουργηθέντος είδους (Dobzhansky 1951). Παρόλο που ο μηχανισμός της εξέλιξης της αναπαραγωγικής απομόνωσης (reinforcement) αμφισβητείται ακόμη, παραμένει πολύ σημαντική εξελικτική διαδικασία η οποία αναμένει ένα απολύτως πειστικό παράδειγμα.

Οι Stam (1983) και Butlin (1990) πρότειναν ένα εναλλακτικό μοντέλο, το οποίο περιλαμβάνει ανταλλαγή γονιδίων. Άτομα που συζεύγνυνται νωρίς σε ένα πληθυσμό που παράγει έμφυλα άτομα αργά, είναι πιο πιθανό να συζευχθούν με μέλη ενός πληθυσμού που παράγουν έμφυλα άτομα νωρίς και αντίστροφα.

Μια συνέπεια του μηχανισμού της εξέλιξης της αναπαραγωγικής απομόνωσης (reinforcement) και / ή της ανταλλαγής γονιδίων θα μπορούσε να είναι η αλλοχρονική απομόνωση. Αυτή έχει παρατηρηθεί στις αφίδες. Τα έμφυλα άτομα του υποείδους *Acyrtosiphon pisum destructor* (Johnson) παράγονται το Νοέμβριο κι αργότερα από αυτά του *A. pisum* s.s. στον ίδιο πρωτεύοντα ξενιστή (Müller 1980).

Δυνατότητες για εφαρμογή του μηχανισμού εξέλιξης της αναπαραγωγικής απομόνωσης (reinforcement) υπάρχουν σε πολλά ετερόοικα, συμπατρικά συγγενή είδη, τα οποία μοιράζονται τον ίδιο πρωτεύοντα ξενιστή, π.χ. σύζευξη



πραγματοποιείται πάνω στο ίδιο φυτικό είδος παρόλο που μπορεί να παρέμβει και να τη διακόψει η επιλογή για χρησιμοποίηση δευτερευόντων ξενιστών. Αυτά τα είδη διαφέρουν τόσο στη σύνθεση της φερομόνης φύλου όσο και στο χρόνο απελευθέρωσής της (Pettersson 1971, Guldmond & Dixon 1994, Thieme & Dixon 1996). Για παράδειγμα, στα συγγενή είδη *C. galeopsidis* και *C. mandamanti*, τα οποία μοιράζονται τον ίδιο πρωτεύοντα ξενιστή και είναι εφικτή η ροή γονιδίων ανάμεσά τους (Guldmond 1990c), διαφέρουν ως προς το χρόνο απελευθέρωσης φερομόνης σε καθημερινή βάση και στη δραστηριότητα των αρσενικών. Το χαρακτηριστικό αυτό δεν αποδεικνύει την ύπαρξη αναπαραγωγικής απομόνωσης, αφού μπορεί να αντιπροσωπεύει εκτόπισμα χαρακτήρων μετά την αλλοπατρική δημιουργία των ειδών και τη μετέπειτα συνύπαρξή τους στην ίδια περιοχή. Παρόλα αυτά η κατανομή του δευτερευόντος φυτού-ξενιστή του *C. mandamanti* (*Lamium galeobdolon* L. (Lamiaceae)) συμπίπτει πλήρως με εκείνη του *Galeopsis*, που αποτελεί το δευτερευόντα ξενιστή του *C. galeopsidis*. Επιπλέον, η κατανομή του *C. mandamanti* πέφτει εντός της κατανομής του *C. galeopsidis* (Guldmond 1991b), η οποία τείνει να αποκλείσει την αλλοπατρική δημιουργία ειδών. Δεν είναι δυνατόν να είναι κανείς σίγουρος για τις παλιές κατανομές του φυτού-ξενιστή του *Cryptomyzus*. Παρόλα αυτά οτιδήποτε είναι γνωστό σχετικά με αυτές δεν ευνοεί την αλλοπατρική δημιουργία ειδών. Έτσι, είναι πιθανόν η διαφορά στην αναγνώριση της σύζευξης ανάμεσα στα παραπάνω συγγενή είδη να οφείλεται στο μηχανισμό εξέλιξης της αναπαραγωγικής απομόνωσης.

Στις αφίδες είναι πολύ πιθανή η συμπατρική δημιουργία ειδών γιατί : (1) επιδεικνύουν την ισχυρή αρνητική συσχέτιση όσον αφορά την απόδοση με τη χρησιμοποίηση του κατάλληλου φυτού-ξενιστή, (2) έχουν πολύ υψηλό ρυθμό αύξησης, ο οποίος μπορεί να προκαλέσει έντονη πίεση επιλογής, (3) είναι ικανές να εκμεταλλεύονται άδειες οικοθέσεις και να εμποδίζουν την επίτευξη πολυμορφισμού, που βασίζεται στο φυσικό περιβάλλον, (4) είναι ικανές να προσαρμόζονται φαινοτυπικά στα φυτά-ξενιστές και να μεταδίδουν αυτές τις προσαρμογές, ενσωματώνοντάς τις στη διαμόρφωση της φυλής ξενιστή και (5) μπορούν να ξεπεράσουν τους περιορισμούς στην εξέλιξη του μηχανισμού της αναπαραγωγικής απομόνωσης (reinforcement) ή να τους παρακάμψουν μέσω της ανταλλαγής γονιδίων (Mackenzie & Guldmond 1994).

Γενικά, η διασπορά είναι επικίνδυνη για τις αφίδες. Γι' αυτό η εξειδίκευση σ' έναν ξενιστή θα μπορούσε να φανεί ως έλλειψη προσαρμοστικότητας. Παρόλο που

είναι πιθανό η οσμή του φυτού να επηρεάσει το ρυθμό εγκατάστασης, ο προσδιορισμός του συγκεκριμένου φυτού-ξενιστή πιθανότατα συμβαίνει μετά την εγκατάσταση χάρη στην αντίδραση του εντόμου στα χημικά και / ή μορφολογικά χαρακτηριστικά του φυτού-ξενιστή. Παρόλα αυτά, όπως οι μορφολογικές, φυσιολογικές και φαινολογικές προσαρμογές, που έχουν σχέση με την εγκατάσταση των αφίδων σε συγκεκριμένα φυτά, η ανταπόκριση των αφίδων σε εξειδικευμένα ερεθίσματα (flags) κατά την επιλογή ξενιστή ίσως δεν είναι η αιτία, αλλά η συνέπεια της εξειδίκευσης σ' ένα ξενιστή (Dixon 1998).

Το μεγάλο ρίσκο που παίρνουν οι αφίδες με τη διασπορά τους τονίζεται από δυο από τις υποθέσεις που προτάθηκαν για την εξήγηση της εξέλιξης της εξειδίκευσης στις αφίδες. Το γεγονός ότι κάθε παρθενογενετική σειρά αποτελείται από πολλά μέλη που το καθένα έχει έναν υψηλό ρυθμό αύξησης είναι βασικό στοιχείο της υπόθεσης της θεωρίας της βέλτιστης χρήσης του φυτού-ξενιστή. Σε αυτή την περίπτωση θεωρείται πλεονέκτημα η προσπάθεια για ανεύρεση ενός καλύτερου ξενιστή, π.χ. η εξειδίκευση δεν υποδηλώνει έλλειψη προσαρμογής αλλά βέλτιστη στρατηγική. Παρόλα αυτά η συγκεκριμένη υπόθεση είναι εξειδικευμένη για τις αφίδες, ενώ η εξειδίκευση ξενιστή είναι ευρέως διαδεδομένη στα φυτοφάγα έντομα. Καθώς οι αφίδες ζευγαρώνουν πάνω στο φυτό-ξενιστή τους και είναι πιθανόν τα δυο φύλα να βρουν το ένα το άλλο αφού πρώτα βρουν ένα ξενιστή, που θα αποτελεί τον τόπο συνάντησης των δυο φύλων, τα μέλη που εγκαθίστανται σε μη προσβεβλημένο από αφίδες ξενιστή έχουν μικρή πιθανότητα ζευγαρώματος. Η επιλογή θα ευνοήσει την υπερβολική εξειδίκευση σε οποιοδήποτε ξενιστή αποικίζεται περισσότερο (Dixon 1998).

Σε κάποια είδη αφίδων υπάρχουν υποείδη που προκύπτουν συμπατρικά, τα οποία διαφέρουν ως προς τον τρόπο που χρησιμοποιούν τα φυτά-ξενιστές. Πολλά χαρακτηριστικά της βιολογίας των αφίδων έχουν ως αποτέλεσμα στις αφίδες να υφίστανται τη συμπατρική δημιουργία ειδών. Επιπλέον, κάποια από τα υποείδη παράγουν τα έμφυλα άτομά τους σε διαφορετικό χρόνο ή ζευγαρώνουν σε διαφορετικές ώρες της ημέρας, πράγμα που υποστηρίζει την αναπαραγωγική απομόνωση.

## **4. ΜΕΘΟΔΟΙ ΜΕΛΕΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΣΤΙΣ ΑΦΙΔΕΣ**

### **A) ΣΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ**

Είναι γενικώς αποδεκτό ότι η σωστή διάκριση ειδών που αποτελούν σημαντικούς εχθρούς για κάποιες καλλιέργειες συμβάλλει στον αποτελεσματικό έλεγχό τους. Στις μέρες μας έχουν επινοηθεί πολυάριθμες τεχνικές για τον ακριβή χαρακτηρισμό και τον ουσιώδη προσδιορισμό διάφορων σημαντικών εχθρών των καλλιεργειών. Όμως, οι περισσότερες από αυτές απαιτούν τη χρήση ειδικών μεθόδων για τη διατήρηση και το χειρισμό των δειγμάτων, πράγμα που πολλές φορές είναι δύσκολο να πραγματοποιηθεί. Η εξωτερική μορφολογία είναι ίσως το βασικότερο κριτήριο προκειμένου να αποφανθεί κανείς αν υπάρχουν επαρκείς διαφορές μεταξύ των ειδών. Όμως, η μέθοδος της παρατήρησης της εξωτερικής μορφολογίας (σχήμα, υφή, χρώμα του σώματος, σχέδια που πιθανόν να υπάρχουν κ.α.) του εντόμου δεν είναι εύχρηστη για τα μικρού μεγέθους έντομα όπως π.χ. οι αφίδες. Επιπλέον αυτή η μέθοδος δεν δύναται να εντοπίσει τις διαφορές ανάμεσα σε είδη που μοιάζουν αρκετά μεταξύ τους ή σε άτομα του ίδιου είδους. Για τους παραπάνω λόγους χρησιμοποιείται ευρέως η τεχνική της μορφομετρίας-σωματομετρίας.

Η σωματομετρία ως τεχνική περιλαμβάνει τη μέτρηση ορισμένων μορφολογικών χαρακτηριστικών του εντόμου και κατόπιν τη στατιστική ανάλυση των τιμών που προκύπτουν μετά τη μέτρηση. Αυτό προϋποθέτει τη δημιουργία μόνιμων παρασκευασμάτων (slides) (Εικόνα 1) με το προς εξέταση έντομο, ενώ η μέτρηση των προς μελέτη χαρακτηριστικών γίνεται σε μικροσκόπιο αντίθεσης φάσης στο οποίο υπάρχει μικρομετρική κλίμακα. Όσον αφορά τις αφίδες, ορισμένα από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που εξετάζονται συνήθως είναι: το μήκος κάποιου άρθρου της κεραίας π.χ. του 3<sup>ου</sup> (ant III), το μήκος του βασικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (base VI), το μήκος του τελικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (pt), το μήκος του τελευταίου άρθρου του ρύγχους (urs), το μήκος του μηρού (hf), το μήκος της κνήμης (ht), το μήκος του δεύτερου ταρσομερούς (ht<sub>2</sub>), το μήκος των σιφωνίων (Is), το μέγιστο πλάτος των σιφωνίων (mws), το μήκος της ουράς (lc).



**Εικόνα 1.** Μόνιμα παρασκευάσματα (slides) αφίδων για μέτρηση μορφολογικών χαρακτηριστικών.

**Εικόνα 2.** Πλευρική όψη άπτερης αφίδας (τροποποιημένο από Miyaki 1978b) όπου φαίνονται τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που εξετάζονται συνήθως, v1: μήκος του 3ου άρθρου της κεραίας (ant III), v2 : μήκος του βασικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (base VI), v3 : μήκος του τελικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (pt), v4 : μήκος του τελευταίου άρθρου του ρύγχους (urs), v5 : μήκος του μηρού (hf), v6 : μήκος του δευτέρου ταρσομερούς (ht2), v7 : μήκος των σιφωνίων (ls), v8 : μέγιστο πλάτος σιφωνίων (mws) και v9 : μήκος της ουράς.

Βασικός στόχος της σωματομετρίας είναι να εντοπίσει την παραλλακτικότητα στα μορφολογικά χαρακτηριστικά ανάμεσα στα άτομα ενός δείγματος. Η ύπαρξη παραλλακτικότητας συμβάλλει στο διαχωρισμό και προσδιορισμό των διαφορετικών ειδών που πιθανόν να υπάρχουν στο συγκεκριμένο δείγμα ή την τοποθέτηση των ατόμων του δείγματος σε διαφορετικά ταξινομικές ομάδες (taxa).

Αξιοσημείωτο είναι ότι στις μέρες μας χρησιμοποιούνται ποικίλες, πολύπλοκες ή απλές μέθοδοι στατιστικής ανάλυσης. Η πιο απλή περιλαμβάνει τον έλεγχο μη επεξεργασμένων δεδομένων και τον προσδιορισμό απλών στατιστικών παραμέτρων, όπως μέσοι όροι και τυπικά σφάλματα. Οι πιο συνηθισμένες μέθοδοι

που χρησιμοποιούνται σε μορφομετρικές μελέτες είναι:

α) Η μέθοδος της Ανάλυσης Κανονικών Μεταβλητών (Canonical Variates Analysis, CVA) (Krzanowski 1990).

β) Η μέθοδος της Ανάλυσης Κύριων Συνιστωσών (Principal Components Analysis PCA).

γ) Η μέθοδος της Διαφοροποιούσας Ανάλυσης (Discriminant Analysis).

δ) Η μέθοδος "μη παραμετρικά δέντρα ταξινόμησης".

Η ταξινόμηση των ατομικών αφίδων σε παρθενογενετικές σειρές (κλώνοι) και ο διαχωρισμός τους σε ομάδες ξενιστών (φυτικά είδη), που βασίζεται στα ατομικά μορφολογικά χαρακτηριστικά τους (μεταβλητές), εφαρμόζονται με συμβατικές μεθόδους ανάλυσης πολλαπλών μεταβλητών, όπως η ανάλυση γραμμικής διάκρισης του Fisher (Fisher's linear discriminant analysis) και η ανάλυση κανονικών μεταβλητών (Canonical Variates Analysis, CVA) (Blackman 1987, Lazzari & Voegtlin 1993, Blackman & Spence 1994). Παρόλα αυτά, οι Blackman και Spence (1992) έδειξαν ότι η κατάταξη των αφίδων που βασίζεται σε βιοχημικές τεχνικές μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική, όμως απαιτείται εξειδικευμένος εξοπλισμός και χρήση χημικών που κοστίζουν αρκετά. Επιπλέον δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία βάσει των οποίων θα γίνει η βιοχημική κατάταξη των παρθενογενετικών σειρών.

Η ανάλυση γραμμικής διάκρισης του Fisher (Fisher's linear discriminant analysis, LDF) τοποθετεί μια ατομική αφίδα σε μια ομάδα με βάση τις μεταβλητές που μετρήθηκαν στη συγκεκριμένη ατομική αφίδα, έτσι ώστε η συνάρτηση πυκνότητας να μεγιστοποιηθεί (Krzanowski 1990). Η ανάλυση κανονικών μεταβλητών (CVA) παρέχει απεικόνιση σε δυο ή τρεις διαστάσεις των παρθενογενετικών σειρών των αφίδων με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους (μεταβλητές). Η συγκεκριμένη μέθοδος εξετάζει διαχωρισμό ανάμεσα σε ένα σύνολο από ομάδες π.χ. αφίδων (Digby & Kempton 1994), που σχετίζεται με την παραλλακτικότητα εντός των ομάδων. Τελευταία προτάθηκε η εφαρμογή μιας καινούριας μεθόδου κατάταξης (Zintzaras *et al.*, 1994) για την κατάταξη των αφίδων, η οποία ονομάζεται "μη παραμετρικά δέντρα ταξινόμησης". Έχει τη μορφή ενός δέντρου που διακλαδίζεται σε ενδιάμεσους και τελικούς κλάδους. Χρησιμοποιώντας τις μετρούμενες μεταβλητές για κάθε ατομική αφίδα, κάθε διαίρεση ενός κλάδου δημιουργεί υποκλάδους, που είναι καθαρότεροι από το μητρικό κλάδο. Αυτό σημαίνει ότι χρησιμοποιεί ως κριτήριο διαχωρισμού (splitting criterion) την αύξηση της καθαρότητας (purity), όταν ένας κλάδος διαχωρίζεται σε επιμέρους κλάδους και

το μέγεθος του δέντρου ελέγχεται από μια οριακή, προκαθορισμένη τιμή του ποσοστού μη ταξινομημένων ατόμων (apparent misclassification rate, AMR) μετά από κάθε διαίρεση ενός κλάδου. Αυτή η προσέγγιση καθιστά την κατασκευή του δέντρου απλή και επομένως γρηγορότερη από την ελάττωση του μεγέθους της πολυπλοκότητας της συγκεκριμένης λειτουργίας (Breiman *et al.*, 1984). Η μέθοδος έχει το πλεονέκτημα ότι επιτρέπει την οπτική έρευνα της κατασκευής των δεδομένων σε οποιοδήποτε στάδιο αύξησης του δέντρου.

Το 1987 ο Blackman πραγματοποίησε μορφομετρικές μελέτες σε ένα μεγάλο αριθμό δειγμάτων της αφίδας *M. persicae* που συλλέχθηκαν από διαφορετικούς ξενιστές από τέσσερις ηπείρους. Έδειξε ότι οι αφίδες του είδους *M. persicae* που τρέφονται στον καπνό (*Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae)) μπορούν να διαχωριστούν με τη χρήση της ανάλυσης πολλαπλών μεταβλητών. Τελικά οι αφίδες του καπνού παρουσίασαν μορφολογική διαφοροποίηση και διαχωρίστηκαν από εκείνες που προέρχονται από άλλα φυτά-ξενιστές, γιατί αντιπροσώπευαν μια διαφορετική ομάδα γενοτύπων προσαρμοσμένη σε συγκεκριμένο φυτό-ξενιστή (Blackman 1987, Blackman & Spence 1992, Field *et al.*, 1994, Margaritopoulos *et al.*, 1998). Οι Margaritopoulos *et al.*, (1998), προκειμένου να καταλήξουν στο παραπάνω συμπέρασμα, χρησιμοποίησαν (εκτός από τη μέθοδο Ανάλυσης Κανονικών Μεταβλητών) και τη μέθοδο "μη παραμετρικά δέντρα ταξινόμησης". Η τελευταία κατέταξε τις αφίδες σε παρθενογενετικές σειρές (κλώνους) και διαχώρισε τους κλώνους που προέρχονται από διαφορετικά φυτά-ξενιστές. Η ποιότητα των αποτελεσμάτων της νέας αυτής μεθόδου εκτιμήθηκε συγκρινόμενη με συμβατικές μεθόδους, όπως είναι η LDF του Fisher και η CVA. Τα αποτελέσματα που έδωσε η μέθοδος των "μη παραμετρικών δέντρων ταξινόμησης" συμφωνούσαν απόλυτα με εκείνα που προέκυψαν με τη χρήση των συμβατικών μεθόδων ανάλυσης.

Πολλές φορές, προκειμένου να εξετασθούν οι σχέσεις ανάμεσα σε μια ομάδα συσχετιζόμενων μεταβλητών, είναι χρήσιμο να μετασχηματισθεί η αρχική ομάδα των μεταβλητών σε μια νέα ομάδα από μη συσχετιζόμενες μεταβλητές που ονομάζονται κύριες συνιστώσες. Αυτές οι νέες μεταβλητές είναι γραμμικοί συνδυασμοί των αρχικών μεταβλητών και κατατάσσονται με φθίνουσα σειρά σημαντικότητας έτσι ώστε, για παράδειγμα, η πρώτη κύρια συνιστώσα να υπολογίζει όσο το δυνατόν περισσότερη από την παραλλακτικότητα των αρχικών δεδομένων. Η τεχνική που εφαρμόζει την παραπάνω διαδικασία ονομάζεται Ανάλυση Κύριων Συνιστωσών (Principal Component Analysis, PCA). Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι κατάλληλη

στην περίπτωση που δεν υπάρχει εξαρτημένη μεταβλητή που να εξαρτάται από κάποιες ανεξάρτητες μεταβλητές, όπως συμβαίνει με την πολλαπλή παλινδρόμηση. Ο αντικειμενικός σκοπός της είναι να δει αν ένας συγκεκριμένος αριθμός από τις πρώτες συνιστώσες υπολογίζει το μεγαλύτερο μέρος της παραλλακτικότητας των αρχικών δεδομένων.

Αναμφισβήτητα, οι προαναφερθείσες στατιστικές τεχνικές συμβάλλουν σημαντικά στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων της σωματομετρίας για την ανίχνευση μορφολογικής παραλλακτικότητας. Παραπάνω, έγινε μια σύντομη περιγραφή των χρησιμοποιούμενων στατιστικών μεθόδων για την ανάλυση των δεδομένων της σωματομετρίας. Άλλωστε, σκοπός της παρούσας εργασίας δεν είναι η εκτεταμένη περιγραφή των χρησιμοποιούμενων σε πειράματα σωματομετρίας στατιστικών τεχνικών, αλλά η έμφαση της χρησιμότητας και της αξίας τους σε τέτοιου είδους πειράματα.

Τέλος, πρέπει να τονιστεί ότι η σωματομετρία, ως μέθοδος, μπορεί να βοηθήσει στο διαχωρισμό συγγενών ειδών και φυλών αφίδων και στην επίλυση ταξινομικών προβλημάτων. Η εφαρμογή της όμως παρουσιάζει περιορισμούς σχετικά με το διαχωρισμό σε επίπεδο ατόμου. Είναι λοιπόν σκόπιμο η σωματομετρία σε πληθυσμιακές μελέτες και μελέτες συστηματικής να συνοδεύεται από άλλες μεθόδους όπως π. χ. ανάλυση του DNA, ενζυμικές μελέτες, κατηγορία βιολογικού κύκλου κι επιλογή φυτού-ξενιστή.

## **B) ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ**

Ο ακριβής, αξιόπιστος προσδιορισμός των εντόμων και ειδικότερα των αφίδων χρησιμοποιώντας τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους δεν είναι πάντα εφικτός. Ακόμη κι όταν είναι εφικτός, ο προσδιορισμός των ενδοειδικών (intraspecific) στοιχείων είναι παρά πολύ δύσκολος και πολλές φορές αδύνατος.

Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται μοριακές τεχνικές που στηρίζονται στην ανάλυση του DNA προκειμένου να γίνει συστηματική κατάταξη των αφίδων. Με την ανάλυση του μιτοχονδριακού DNA μπορούν να διαφοροποιηθούν συγγενικά είδη (Footit & Bonen 1990), βιότυποι (Powers *et al.*, 1989) και παρθενογενετικές σειρές του ίδιου είδους (Martinez *et al.*, 1992), όπως και με το μικροδορυφορικό DNA (micro satellite DNA Analysis) (Llewellyn *et al.*, 1997).

Τα τελευταία χρόνια ευρεία διάδοση παρουσιάζει και η μέθοδος RAPD-PCR (τυχαία πολλαπλασιαζόμενο πολυμορφικό DNA-Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης). Ο αριθμός και το μέγεθος των πολλαπλασιαζόμενων τμημάτων DNA εξαρτάται από το μήκος και την αλληλουχία των βάσεων της απλής αλυσίδας συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων που χρησιμοποιούνται ως εκκινητές (RAPD-primers). Οι εκκινητές προσκολλώνται σε τυχαίες θέσεις στο γονιδίωμα κι ο πολυμορφισμός σ' αυτές τις θέσεις ανιχνεύεται στα παραγόμενα προϊόντα με την παρουσία ή απουσία ενός ή περισσότερων τμημάτων. Με τη μέθοδο RAPD-PCR μελετάται η παραλλακτικότητα του γενόματος χωρίς να είναι γνωστή η αλληλουχία του DNA (Williams *et al.*, 1990, Welsh & Mc Clelland 1990, Hadrys 1992).

Μια επίσης διαδεδομένη μοριακή μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η μέθοδος RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Η ανάλυση RFLP παρέχει τη δυνατότητα διάκρισης δειγμάτων σε επίπεδο είδους ή σε επίπεδο κλώνου. Το εξαγόμενο από την αφίδα πυρηνικό DNA τεμαχίζεται χρησιμοποιώντας ένζυμα περιορισμού. Τα προκύπτοντα τμήματα περιορισμού διαχωρίζονται σύμφωνα με το μέγεθός τους με ηλεκτροφόρηση. Σε κάποιες περιπτώσεις αποκαλύπτονται διαγνωστικοί πολυμορφισμοί, καθώς γίνονται ορατά ευδιάκριτα τεμάχια DNA. Όμως, στις περισσότερες περιπτώσεις τα προϊόντα της πέψης φαίνονται σαν μια κηλίδα που αποτελείται από τεμάχια DNA μεγέθους 25 kb περίπου. Το μιτοχονδριακό DNA (mt DNA) και το rDNA, περιέχουν διατηρημένες περιοχές, αλλά είναι πολύ μεγαλύτερο (περίπου 20-170 kb) και παρουσιάζουν εκτεταμένες περιοχές μεταβλητής διαδοχής-



αλληλουχίας. Η πέψη του mt DNA με ενδονουκλεάσες συνήθως έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία σχετικά μεγάλου αριθμού τεμαχίων (10-25). Το μέγεθος του μιτοχondριακού γενώματος κι ο συνδυασμός διατηρημένων και μεταβλητών περιοχών συχνά το καθιστά χρήσιμο για την εκτίμηση της παραλλακτικότητας ανάμεσα σε δυο είδη. Αναλύοντας τα αποτελέσματα της RFLP, συχνά είναι απαραίτητο να γίνουν οπτικές συγκρίσεις των παραγόμενων τμημάτων για να επιβεβαιωθεί η ταυτότητα των ειδών. Όπου γίνονται πολλαπλές συγκρίσεις είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθούν υπολογιστικά προγράμματα.

Τέλος, σε πολλές περιπτώσεις γίνεται ανάλυση της αλληλουχίας του DNA. Το ριβοσωμικό DNA (r DNA) κωδικοποιεί τη σύνθεση του ριβοσωμικού RNA (rRNA) και βρίσκεται σε ένα ή περισσότερα χρωμοσώματα σαν μακριές, η μια πίσω από την άλλη, επαναλαμβανόμενες γονιδιακές μονάδες. Οι τρεις μεγαλύτερες rRNA γονιδιακές μονάδες διαχωρίζονται από αντιγραμμένες ή μη αντιγραμμένες περιοχές (internal transcribed spacer (ITS 1 και 2) και intergenic spacer (IGS)). Τα ριβοσωμικά RNA διατηρούνται λειτουργικά κι εξελικτικά, συναντώνται παγκοσμίως στους ζώντες οργανισμούς σε πολλαπλά αντίγραφα και γι' αυτό αποτελούν ένα δυναμικό ταξινομικό δείκτη. Τα πολλαπλά αντίγραφα της επαναλαμβανόμενης μονάδας φαίνονται να εξελίσσονται στον ίδιο βαθμό οπότε συμπεριφέρονται ως απλό γονιδιακό αντίγραφο. Τα καλώς διατηρημένα rRNA γονίδια εξελίσσονται αργά και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για φυλογενετικές μελέτες σε επίπεδο κλάσης (Forster *et al.*, 1990). Η απόκλιση στην αλληλουχία είναι υψηλή εντός των ITS και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό ειδών.

Οι τεχνικές που περιγράφηκαν μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη σύγκριση δειγμάτων αφίδων σε επίπεδο είδους ή ενδοειδικό επίπεδο. Είναι γρήγορες, αξιόπιστες κι ανιχνεύουν την ύπαρξη γενετικού πολυμορφισμού. Σε πολλές περιπτώσεις οι μοριακές τεχνικές που στηρίζονται στην ανάλυση DNA μπορούν να διαφοροποιήσουν είδη τα οποία δε μπορούν να διαχωριστούν με άλλο τρόπο.

Παρόλα αυτά, οι συγκεκριμένες τεχνικές είναι υψηλής ευαισθησίας, απαιτούν καλά εξοπλισμένα εργαστήρια, ειδικευμένο προσωπικό, προσεκτικούς, λεπτούς χειρισμούς και έχουν υψηλό κόστος. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι οι παραπάνω μοριακές τεχνικές δε χρησιμοποιούνται αποκλειστικά και μόνο στις αφίδες αλλά και σε διάφορα άλλα έντομα κι οργανισμούς, π.χ. η μέθοδος RAPD-PCR έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε διάφορους οργανισμούς όπως: στελέχη βακτηρίων,

ρύζι (Welsh & Mc Clelland 1990), ποντίκια (Welsh *et al.*, 1991), συγγενή είδη του συμπλόκου *Ips grandicollis* (Eichhoff) (Cognato *et al.*, 1995) και στα ψάρια Τιλάπια (Bardakci & Skibinski 1994). Εν τούτοις η ιδιαίτερη χρησιμότητά τους στη μελέτη των αφίδων έγκειται στο ότι ανιχνεύουν την υπάρχουσα διαειδική και ενδοειδική γενετική παραλλακτικότητα (Blackman *et al.*, 1992, Cenis *et al.*, 1993).

## 5. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Οι περισσότερες μεγάλες καλλιέργειες, παγκοσμίως, απειλούνται μέχρι ενός σημείου από έντομα που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα. Η δραματική αύξηση του προβλήματος της ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα τα τελευταία 20-30 χρόνια οδήγησε τους επιστήμονες, γεωπόνους και τις βιομηχανίες παραγωγής αγροχημικών στο να συνειδητοποιήσουν την αναγκαιότητα της ορθολογικής χρήσης των εντομοκτόνων και να διαφυλάξουν την αποτελεσματικότητα των πολύτιμων χημικών προϊόντων.

Οι πιο σημαντικοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας αφορούν είτε στην αυξημένη ικανότητα των εντόμων να αποικοδομούν τα εντομοκτόνα, είτε τη δομική μεταβολή των στόχων που δρουν τα εντομοκτόνα μέσα στο έντομο.

Άλλοι πιθανοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν μειωμένη διείσδυση των εντομοκτόνων μέσω της επιδερμίδας των εντόμων και ιδιαιτερότητα συμπεριφοράς που καθιστούν ικανούς τους εχθρούς, ώστε να μειώνουν ή να αποφεύγουν την έκθεση σε τοξίνες.

### Αυξημένη αποικοδόμηση εντομοκτόνων

Οι τρεις γνωστοί τύποι αποικοδόμησης εντομοκτόνων που εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα είναι οι εξής:

- Αυξημένος οξειδωτικός μεταβολισμός των εντομοκτόνων από το κυττόχρωμα P450 **μονοοξυγενάσης**. Αυτό μπορεί να προκαλέσει ανθεκτικότητα σε όλες τις σημαντικότερες ομάδες εντομοκτόνων, εκτός από τα κυκλοδιένια. Ωστόσο τα περισσότερα στοιχεία γι' αυτό τον μηχανισμό είναι έμμεσα και βασίζονται στην ικανότητα του βουτοξειδίου του πυπερονιλίου (Piperonyl Butoxide) ή συγγενών ουσιών, που είναι γνωστές ως αναχαιτιστές του κυττοχρώματος P450 της

μονοοξυγενάσης να καταστέλλουν την ανθεκτικότητα όταν χρησιμοποιούνται ως συνεργιστές σε βιοδοκιμές.

- Αυξημένη δραστηριότητα του ενζύμου **γλουταθειόνης-τρανσφεράση** το οποίο καταλύει τη γλουταθειόνη σε μια ποικιλία αντιδρώντων υποστρωμάτων. Ο μηχανισμός αυτός είναι ουσιαστικά σημαντικός για την ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά. Για βιοχημικές αιτίες είναι απίθανο να προκαλεί αντοχή των εντόμων στις πυρεθρίνες.
- Η υδρόλυση ή δέσμευση των εντομοκτόνων από **εστεράσες**, είναι σπουδαίος παράγοντας στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα οργανοφωσφορικά και πυρεθρίνες. Ανθεκτικότητα που οφείλεται στην αυξημένη δραστηριότητα των εστερασών, μπορεί να προκύψει ή με ποιοτική αλλαγή του ενζύμου, αυξάνοντας την ικανότητα του ενζύμου να δεσμεύει τα εντομοκτόνα, ή ποσοτική αλλαγή στην παραγωγή ενός ενζύμου το οποίο ήδη υπάρχει στα ευαίσθητα άτομα

#### **Μείωση της ευαισθησίας του στόχου δράσης των εντομοκτόνων**

Δύο από τους πιο κατανοητούς, αλλαγής στόχου δράσης, μηχανισμούς, είναι αυτοί που προκαλούν ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά στην πρώτη περίπτωση και στις πυρεθρίνες στην άλλη.

- Οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά θανατώνουν τα έντομα με δέσμευση του ενζύμου **ακετυλοχολινεστεράσης**, (acetylcholinesterase –Ache-). Έτσι διακόπτουν τη μεταφορά νευρικών παλμών στη σύναψη.

Περιπτώσεις Ache με μειωμένη δέσμευση από τα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά έχει παρατηρηθεί σε πολλά είδη εντόμων και τετρανύχων. Βιοχημικός προσδιορισμός μη ευαίσθητης Ache στα εντομοκτόνα, έχει αποκαλύψει ότι τα έντομα μπορεί να φέρουν μια μεταλλαγμένη μορφή του ενζύμου, με χαρακτηριστικό να δίνει και διασταυρούμενη ανθεκτικότητα.

Οι πυρεθρίνες δρουν κυρίως στα μέρη του νευρικού άξονα που γίνεται η ανταλλαγή ιόντων Na (πύλες νατρίου-sodium channel). Ο μηχανισμός καθιστά ανθεκτικότητα του στόχου στις πυρεθρίνες με αλλαγή της πρωτεΐνης της διόδου νατρίου στις κυτταρικές μεμβράνες και ονομάζεται **knockdown resistance** ή **Kdr**.

### **Παρεμπόδιση του εντομοκτόνου να φθάσει στο στόχο**

Αφίδες με αυτό το μηχανισμό ανθεκτικότητας παράγουν αυξημένη ποσότητα ενός ενζύμου εστεράσης (**E4**) το οποίο διασπά ή δεσμεύει τα μόρια του εντομοκτόνου πριν αυτά φθάσουν στο στόχο, στο νευρικό ιστό του εντόμου. Αυτό το ένζυμο μειώνει την αποτελεσματικότητα πολλών εντομοκτόνων. Η αποτελεσματικότητά του ποικίλει ανάλογα με τη χημική σύνθεση του εντομοκτόνου. Έτσι η ανθεκτικότητα είναι μεγαλύτερη στα οργανοφωσφορικά από ότι στα καρβαμιδικά ή στις πυρεθρίνες.

Οι αφίδες μπορούν να παράγουν διαφορετική ποσότητα ενζύμου **E4**, έτσι μερικές είναι πιο ανθεκτικές από άλλες. Οπότε με βάση το επίπεδο εστεράσης **E4** ταξινομούνται ως ευαίσθητες (**S**), μετρίως ανθεκτικές (**R1**), ανθεκτικές (**R2**) και πολύ ανθεκτικές (**R3**).

### **Αλλαγή του στόχου δράσης**

Δυο νέοι τύποι ανθεκτικότητας έχουν ανακαλυφθεί στο *M. persicae* από το έτος 1990, modified acetylcholinesterase (**MACE**) (Τροποποιημένη ακετυλοχολινεστεράση) και knockdown (**Kdr**) μηχανισμός ανθεκτικότητας. Και στους δύο μηχανισμούς η πρωτεΐνη στόχος, όπου επιδρούν τα εντομοκτόνα, τροποποιείται έτσι οι αφίδες δεν είναι ευαίσθητες στη δράση των εντομοκτόνων.

Οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά εντομοκτόνα επιδρούν στην ακετυλοχολινεστεράση, αυτό το ένζυμο ρυθμίζει τη μετάδοση του χημικού μηνύματος, δια μέσου της σύναψης των νευρικών κυττάρων. Αυτή η αποδιοργάνωση του νευρικού συστήματος οδηγεί στο θάνατο. Στις αφίδες που φέρουν το μηχανισμό **MACE** το ένζυμο τροποποιείται ειδικά και είναι απρόσβλητο από τα διθειοκαρβαμιδικά, pirimicarb και triazamate.

Οι πυρεθρίνες δρουν σε ένα άλλο στόχο του νευρικού συστήματος, στην πρωτεΐνη της διόδου Νατρίου, η οποία είναι υπεύθυνη για την αποπόλωση της μεμβράνης και τη μεταφορά των σημάτων κατά μήκος των νεύρων. Τα εντομοκτόνα κρατούν τις διόδους ανοιχτές, με αποτέλεσμα την υπεδιέγερση του νευρικού συστήματος και τελικά το θάνατο του εντόμου. Αφίδες με **Kdr** έχουν μια τροποποιημένη πρωτεΐνη διόδου Νατρίου η οποία είναι απρόσβλητη και από τις πυρεθρίνες.

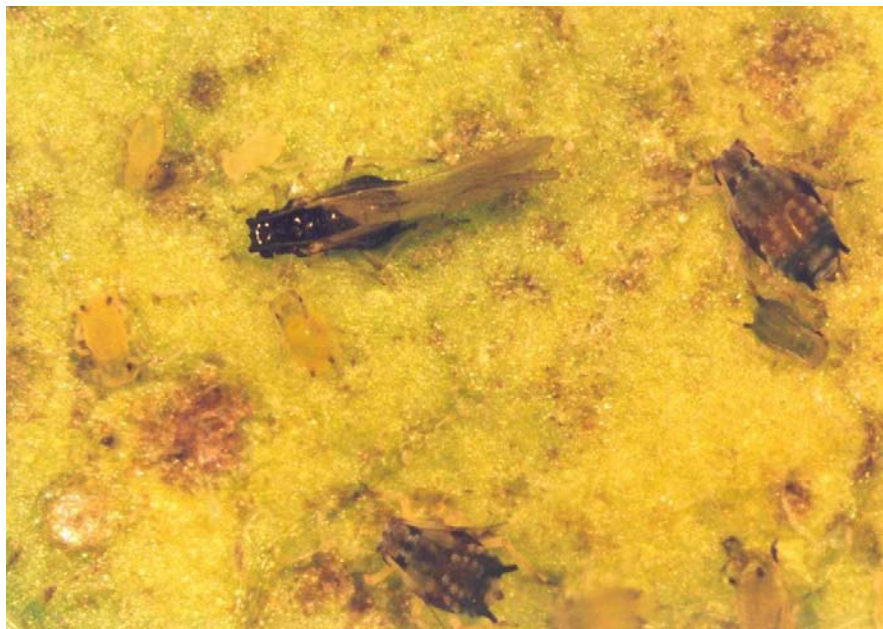
## 6. *Aphis gossypii* Glover

**Συστηματική κατάταξη:** Ανήκει στην υπερουκογένεια Aphidoidea, στην οικογένεια Aphididae, στο γένος *Aphis*, στο είδος *gossypii* και στην τάξη Hemiptera.

**Περιγραφή:** Το άπτερο ζωοτόκο παρθενογενετικό θηλυκό έχει συνήθως κίτρινο ή κιτρινοπράσινο χρώμα και διαστάσεις 1,2-2 x 0,9 mm. Σε πολλές περιπτώσεις το χρώμα του είναι πράσινο τεφρό, σκούρο πράσινο-πρασινόμαυρο ή πρασινοκίτρινο. Τα ενήλικα άτομα με μεγάλο μέγεθος έχουν σκούρο πράσινο χρώμα σχεδόν μαύρο, όμως τα ενήλικα άτομα που παράγονται σε πολυπληθείς, συνωστισμένες αποικίες, σε υψηλές θερμοκρασίες, έχουν μήκος μικρότερο από 1 mm ενώ το χρώμα τους είναι ανοιχτό κίτρινο (Εικόνα 2), σχεδόν άσπρο (Blackman & Eastop 2000). Οι οφθαλμοί τους είναι σκούρου καστανού χρώματος ενώ οι κεραίες τους είναι πιο κοντές από το σώμα τους και δε φτάνουν μέχρι τη βάση των σιφωνίων. Τα σιφώνια είναι μαύρα κι έχουν μήκος 0,14 - 0,23 του μήκους του σώματος. Η πτερωτή μορφή έχει μικρότερο μέγεθος, συγκεκριμένα έχει διαστάσεις 1,35 x 0,65 mm και άνοιγμα πτερύγων 5,1 mm. (Blackman & Eastop 2000).

**Γεωγραφική εξάπλωση:** Απαντάται σχεδόν σε όλες τις χώρες που έχουν ηπειρωτικό ή υποτροπικό κλίμα και κατά συνέπεια σε όλες τις παραμεσόγειες χώρες (Blackman & Eastop 2000).

**Εύρος ξενιστών:** Είναι πολυφάγο είδος κι έχει μεγάλο εύρος ξενιστών. Ουσιαστικά πρόκειται για παμφάγο είδος. Οι Leonard et al. (1971) ανέφεραν το είδος σε 350. Οι Remaudiere & Autrigue (1985) παρατήρησαν το είδος στο Μπουρούντι σε 83 διαφορετικά είδη φυτών που άνηκαν σε 35 διαφορετικές οικογένειες. Ο Eastop (1958) το αναφέρει σε 60 είδη στη Δυτική Αφρική και σε 15 οικογένειες φυτών στην Ανατολική Αφρική. Στην Ιαπωνία, οι Higuchi & Miyazaki (1969) το βρήκαν σε φυτά που ανήκουν σε 100 οικογένειες, ενώ ο Cottier (1953) το βρήκε σε 20 οικογένειες στην Αυστραλία. Συνολικά έχουν καταγραφεί περισσότεροι από 900 ξενιστές παγκοσμίως (Inaizumi 1980). Αποτελεί σημαντικό εχθρό για το βαμβάκι και τα κολοκυνθοειδή. Επιπλέον προσβάλλει τα φυτά του γένους Citrus (εσπεριδοειδή), το καφεόδεντρο, το κακάο, τη μελιτζάνα, τη μπάμια, την πατάτα, διάφορα λαχανοκομικά είδη κ.α.



**Εικόνα 3.** Αφίδα *Aphis gossypii*, **α:** άπτερες μορφές (apterae) και **β:** πτερωτά (alatae) και πτερωτές νύμφες (alatiform nymphs).

**Βιολογία:** Έχει πολλές γενιές το έτος. Ο Paddock εξέθρεψε 60 γενιές κατά τη διάρκεια ενός έτους (Τζανακάκης 1980, Τσιτσιπής 1996). Η *A. gossypii* ευνοείται από σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες και υψηλή σχετικά υγρασία. Οι συγκεκριμένες συνθήκες απαντώνται στα πρώτα στάδια ανάπτυξης των βαμβακόφυτων (Τόλης 1986). Παρόλα αυτά είναι σχετικά ανθεκτικό είδος σε θερμό και ξηρό καλοκαίρι, σε αντίθεση με πολλά είδη αφίδων. Στην Ευρώπη παρατηρούνται ανολοκυκλικοί πληθυσμοί. Όμως ο Krings (1959) έδειξε ότι στην Αμερική αποτελεί ολοκυκλικό είδος, που διαχειμάζει με τη μορφή ωού και χρησιμοποιεί ως πρωτεύοντες ξενιστές τα είδη *Catalpa bignonioides* Walt. (Bignoniaceae) και *Hibiscus syriacus* L. (Malvaceae). Οι Inaizumi (1980) και οι Zhang & Zhong (1990) έδειξαν ότι οι πληθυσμοί του *A. gossypii* στην Ιαπωνία και Κίνα διαχειμάζουν επίσης ως ωά σε διαφορετικούς ξενιστές (*Rhamnus* spp. (Rhamnaceae), *Zanthoxylum simulans* Hance (Rutaceae), *Celastrus orbiculatus* Thunb. (Celastraceae), *Rubia cordifolia* L. (Rubiaceae), *Punica granatum* L. (Punicaceae) και *H. syriacus*), επιβεβαιώνοντας ότι ο βιολογικός κύκλος του είδους *A. gossypii* έχει υπερβολική εξελικτική ελαστικότητα.

**Ζημιές:** Εμφανίζεται κυρίως στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Προσβάλλει τα φυτά ξενιστές σε νεαρό στάδιο την άνοιξη και λιγότερο το φθινόπωρο. Σε διάφορα φυτά-ξενιστές και κυρίως στο βαμβάκι η μεγαλύτερη πυκνότητα πληθυσμού εμφανίζεται τους μήνες Απρίλιο και Μάιο (Tsitsipis *et al.*, 1998). Απομυζά χυμούς από τα νέα φύλλα και τους βλαστούς, ενώ παράλληλα εκκρίνει μελίτωμα (ζαχαρώδες απέκκριμα) σε μεγάλες ποσότητες με αποτέλεσμα το φράξιμο των στοματίων των φύλλων. Στο μελιτώδες έκκριμα αναπτύσσεται καπνιά που μαυρίζει το φυτό ενώ παράλληλα μειώνει τη φωτοσύνθεση. Μεγάλες προσβολές στα πρώιμα στάδια ανάπτυξης των φυταρίων διακόπτουν την ανάπτυξη, οι άκρες των νέων φύλλων γυρίζουν προς τα κάτω ενώ ορισμένα φυτάρια νεκρώνονται. Στην περίοδο της καρποφορίας προκαλούν κιτρίνισμα των μεγαλύτερων φύλλων και καρπόπτωση. Επίσης μειώνεται η βλαστική ικανότητα και το βάρος των σπόρων, υποβαθμίζονται οι νηματουργικές ιδιότητες των ινών και μειώνεται η εμπορική αξία του βαμβακιού. Γενικά, οικονομική ζημία στα φυτά-ξενιστές προκαλείται όταν οι πληθυσμοί των αφίδων είναι μεγάλοι και τα ωφέλιμα έντομα λίγα (Τόλης 1986). Επίσης, είναι σημαντικός φορέας αρκετών ιών των καλλιεργούμενων φυτών (Blackman & Eastop 2000).

## **B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Ανάμεσα στα διάφορα είδη αφίδων, το είδος *A. gossypii* θεωρείται μια ενδιαφέρουσα περίπτωση για περαιτέρω έρευνα αφού αποτελεί ένα κοσμοπολίτικο και υπερβολικά πολυφάγο είδος. Αποτελεί έναν από τους πιο σημαντικούς εχθρούς των λαχανοκομικών φυτών που καλλιεργούνται σε θερμοκήπια και ανοικτούς αγρούς (τομάτα, γλυκοπιπεριά, αγγούρι, πεπόνι κτλ). Επίσης είναι σοβαρός εχθρός των εσπεριδοειδών, του βαμβακιού και των ανθοκομικών καλλιεργειών. Προσβάλλει φυτά που ανήκουν σε 32 τουλάχιστον διαφορετικές οικογένειες. Έχει πολλές γενιές το έτος (Τζανακάκης 1980, Τσιτσιπής 1996). Ο Paddock εξέθρεψε 60 γενιές σε ένα έτος (Τζανακάκης 1980 και Τόλης 1986). Ως παρθενογενετικό άτομο είναι φορέας διαφόρων ιών που προσβάλλουν τα φυτά (Blackman & Eastop 2000), ενώ παράλληλα γίνεται όλο και πιο ανθεκτικό στα εντομοκτόνα (Takada & Murakami 1988). Το είδος αναπαράγεται κυρίως παρθενογενετικά σε όλο το εύρος εξάπλωσής του (Blackman & Eastop 2000), αν και σεξουαλική αναπαραγωγή έχει παρατηρηθεί σε πληθυσμούς της *A. gossypii* στην Ασία (Takada 1988) και την Αμερική (Kring 1959).

Στις διάφορες περιοχές του κόσμου το *A. gossypii* εμφανίζεται με ένα απροσδιόριστο αριθμό ανολοκυκλικών σειρών, κάποιες από τις οποίες μπορεί να παρουσιάζουν μια συγκεκριμένη προσαρμογή σε φυτά-ξενιστές. Για παράδειγμα το είδος εμφανίζεται στο χρυσάνθεμο και στο αγγούρι στα θερμοκήπια της Δυτικής Ευρώπης, όμως οι αφίδες από το χρυσάνθεμο δεν αποικίζουν το αγγούρι και αντίστροφα. Παρόλο που και οι φυλές μπορούν να εκτραφούν σε βαμβάκι (Guldmond *et al.*, 1994b), αυτή που τρέφεται στο χρυσάνθεμο μπορεί να παράγει έμφυλα άτομα κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες. Διάφοροι συγγραφείς θεωρούν τη φυλή του χρυσάνθεμου ως ανεξάρτητο είδος με το όνομα *A. parvus* Theobald. Το συγκεκριμένο παράδειγμα αποδεικνύει ότι σε κάποιες περιπτώσεις ίσως είναι απαραίτητο διαφορετικοί πληθυσμοί του *A. gossypii* να θεωρηθούν ως ευδιάκριτες ταξινομικές οντότητες.

Στην Ευρώπη, το είδος *gossypii* κατατάσσεται ως υποείδος στο σύμπλοκο *Aphis frangulae* (Stroyan 1984, Heie 1986). Πρόκειται για μια ομάδα που περιλαμβάνει στενά συσχετιζόμενα και μορφολογικά όμοια ενδογενή Ευρωπαϊκά είδη που χρησιμοποιούν το *Rhamnus frangula* ως κύριο ξενιστή. Το *A. gossypii* θεωρείται ως το μοναδικό μέλος της συγκεκριμένης ομάδας που δεν αναπαράγεται



σεξουαλικά στο *Rhamnus*. Διαχειμάζει παρθενογενετικά στη Β. Ευρώπη σε προστατευμένες θέσεις, όπως είναι τα θερμοκήπια. Με βάση τα παραπάνω το παγκοσμίου εύρους είδος *A. gossypii* προερχόμενο από την Ευρώπη αναπαράγεται μόνιμα παρθενογενετικά, είναι πολυφάγο προσαρμόζεται εύκολα κι εξαπλώνεται από την Ευρώπη σε όλα τα μέρη του κόσμου.

Η παραπάνω θεωρία αντιπροσωπεύει τους πληθυσμούς του *A. gossypii* σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας και σε διάφορους ξενιστές. Όμως η παραπάνω θεωρία έρχεται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα σχετικών ερευνών που έγιναν στην Ιαπωνία και Κίνα για το ίδιο είδος. Στις συγκεκριμένες χώρες βρέθηκε ότι το *A. gossypii* περνάει από ετήσια σεξουαλική φάση και κατά τις παρθενογενετικές γενιές είναι, όμοια με την προηγούμενη θεωρία, πολυφάγο. Στην Α. Ασία διαχειμάζει σαν αβγό σε ποικιλία μη συγγενών φυτών στα οποία συμπεριλαμβάνονται τα *Rhamnus spp.*, *Hibiscus syriacus* L. (Malvaceae), *Cellastrus orbiculatus* Thunb. (Celastraceae) και το *Rubia cordifolia* L. (Rubiaceae) (Inaizumi 1980, Zhang and Zhong 1990). Νωρίτερα, στη Β. Αμερική ο Kring (1959) έδειξε ότι το *A. gossypii* έχει ετήσια σεξουαλική φάση χρησιμοποιώντας τα *Hibiscus syriacus* L. (Malvaceae) και *Catalpa bignonioides* Walter ( Bignoniaceae) ως πρωτεύοντες ξενιστές. Ωστόσο η ύπαρξη ολοκυκλικών γενοτύπων σε κάποιες περιοχές του πλανήτη αποτελεί κίνητρο για εντατική μελέτη της κατηγορίας βιολογικού κύκλου του συγκεκριμένου είδους τόσο στην Ευρώπη όσο και στην Ελλάδα προκειμένου να εντοπισθούν τέτοιου είδους γένοτυποι σε περίπτωση που εμφανισθούν σε κάποιες καλλιέργειες.

Όπως προαναφέρθηκε το *A. gossypii* θεωρείται σημαντικός εχθρός του βαμβακιού, των κολοκυνθοειδών και πολλών καλλωπιστικών γι' αυτό κι αποτελεί αντικείμενο εντατικών προγραμμάτων ελέγχου από την αρχή του αιώνα (Sanderson, 1902). Παρόλο που υπήρχαν από πολύ παλιά αναφορές αποτυχίας ελέγχου (Boyce, 1928) η πρώτη γραπτή αναφορά για ανθεκτικότητα είναι αυτή των Ghong, Zhang & Zhai (1964), οι οποίοι ανέφεραν ανθεκτικότητα του *A. gossypii* στο demeton σε καλλιέργειες βαμβακιού στην Κίνα. Τα επόμενα χρόνια έγιναν αναφορές από όλο τον κόσμο για ανθεκτικότητα στο systox (Chang & Zhong, 1966), dichlorvos, phosphamidon, methyl parathion (Sun *et al.*, 1970) και dimethoate (Anon., 1977) στην Κίνα, στο phosalone και pirimicarb στη Ρωσία (Khodzhaev, Roslavitseva, Abdlaev & Sobchak, 1985) και στο malathion και diazinon (Inoue, 1987; Takada & Murakami, 1988) στην Ιαπωνία.

Οι Inoue (1987), Takada & Murakami (1988) και Saito (1989) βρήκαν καλή συσχέτιση σε υψηλή ενζυμική δράση (εστεράσες) κι ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα. Επιπρόσθετα, με την υψηλή δράση εστερασών οι Sun *et al.*, (1970) βρήκαν επίσης υψηλότερη δραστηριότητα ενζύμων μικτής λειτουργίας (οξειδάσες μικτής λειτουργίας) στην περίπτωση ύπαρξης ανθεκτικότητας στα οργανοφωσφορικά. Οι Furk, Powell & Heyd (1980) και Takada & Murakami (1988) δε βρήκαν συσχέτιση ανάμεσα στη δράση εστερασών και στην ανθεκτικότητα στο pirimicarb. Όμως ο Silver (1984) έδειξε ότι η ανθεκτικότητα του *A. gossypii* στο pirimicarb οφειλόταν σε μια μη ευαίσθητη χολινεστεράση.

Τουλάχιστον τέσσερις μηχανισμοί ανθεκτικότητας έχουν αναφερθεί για το *A. gossypii*. Διάφοροι συγγραφείς έχουν αναφέρει θετική συσχέτιση ανάμεσα στην ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά και στη μη εξειδικευμένη δράση εστερασών (Sun *et al.*, 1987; Takada & Murakami, 1988; Saito, 1989; O' Brien & Graves, 1992; Suzuki *et al.*, 1993; Hama *et al.*, 1995). Η ανθεκτικότητα στα καρβαμιδικά έχει αποδοθεί στην αυξημένη δραστηριότητα οξειδασών μικτής λειτουργίας ή στο συνδυασμό αυξημένης δραστηριότητας οξειδασών μικτής λειτουργίας με εστεράση μη εξειδικευμένης δράσης (Saito *et al.*, 1995). Επιπλέον, για την ίδια χημική ομάδα η ανθεκτικότητα, τόσο στο *M. persicae* όσο και στο *A. gossypii* αποδόθηκε σε μια μη ευαίσθητη, τροποποιημένη ακετυλοχολιναστεράση (MACE) (Mooges *et al.*, 1994a,b; Nauen *et al.*, 1996). Σε αντίστοιχο πείραμα ανθεκτικότητας, που έγινε στο εργαστήριο εντομολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τα έτη 2004-2005, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της στιγμιαίας εμφάπτισης σε δείγματα του *M. persicae* από καλλιέργεια ροδακινιάς από τη βόρεια και κεντρική Ελλάδα και από καλλιέργεια καπνού από τη βόρεια, κεντρική και νότια Ελλάδα επιβεβαιώθηκε για μια ακόμη φορά η ύπαρξη ανθεκτικότητας στα καρβαμιδικά και συγκεκριμένα στο pirimicarb. Στην καλλιέργεια του καπνού για τη συγκεκριμένη ομάδα εντομοκτόνων βρέθηκε να λαμβάνει το LC<sub>50</sub> τιμή μέχρι και έξι φορές υψηλότερη της συνιστώμενης δόσης. Στη ροδακινιά το pirimicarb επίσης εμφανίστηκε μέχρι και έξι φορές μεγαλύτερο. Τέλος μέσω βιοχημικών βιοδοκιμών και/ή συνεργιστικών μελετών η ανθεκτικότητα στα πυρεθροειδή αποδόθηκε στην αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα λόγω αυξημένης δράσης οξειδασών μικτής λειτουργίας (Delorme *et al.*, 1997) ή εστεράσης (Zheng *et al.*, 1988; Hama & Hosada 1988).

Τελικά, η μόνη κατηγορία εντομοκτόνων που μέχρι στιγμής δεν έχει επηρεαστεί από κάποιο από τους παραπάνω μηχανισμούς ανθεκτικότητας είναι τα

νεονικοτινοειδή με κύριο εκπρόσωπο το imidacloprid (Elbert *et al.*, 1991, 1998; Nauen *et al.*, 2001; Horowitz & Denholm, 2001). Ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο imidacloprid θα ήταν καταστροφικό για πολλές περιοχές με καλλιέργειες βαμβακιού και κολοκυνθοειδών. Έτσι είναι αναγκαίος ο αποτελεσματικός έλεγχος ανθεκτικότητας (resistance monitoring) και η αποτελεσματική διαχείριση ανθεκτικότητας (resistance management) στις συγκεκριμένες περιοχές. Όσον αφορά το *M. persicae* οι Cox *et al.*, (2001) μετά από διετή έρευνα 1999-2000 και χρησιμοποιώντας πληθυσμούς από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, δημοσίευσαν στοιχεία που δηλώνουν και στη χώρα μας την ύπαρξη ανεκτικών πληθυσμών. Τέλος στο πείραμα ανθεκτικότητας που έγινε, όπως προαναφέρθηκε, στο εργαστήριο εντομολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τα έτη 2004-2005 με τη μέθοδο της στιγμιαίας εμβάπτισης εφαρμόστηκε το εντομοκτόνο imidacloprid σε κλώνους του *M. persicae* που συλλέχθηκαν από καλλιέργεια ροδακινιάς από τη βόρεια και κεντρική Ελλάδα και από καλλιέργεια καπνού από τη βόρεια, κεντρική και νότια Ελλάδα. Αποδείχθηκε ότι η μέγιστη τιμή του παράγοντα ανοχής (RR) ήταν 9 στους κλώνους που προήλθαν από ροδακινιές και 75,7 σε εκείνους που προήλθαν από καπνό. Στην περίπτωση του καπνού, σύγκριση με τον US1L, γνωστό ευαίσθητο κλώνο προερχόμενο από την καλλιέργεια ζαχαροτεύλων στην Αγγλία το 1974 (Foster *et al.* 2003), έδειξε την εμφάνιση πληθυσμών ανεκτικών στο imidacloprid. Ωστόσο, βρέθηκαν και δύο κλώνοι με μεγαλύτερη ευαισθησία στο σκεύασμα. Στην περίπτωση της ροδακινιάς, κλώνοι περισσότερο ευαίσθητοι στο εντομοκτόνο από τον US1L βρέθηκαν σε ποσοστό 78 % του συνολικού αριθμού των δειγμάτων που εξετάστηκαν. Τα αποτελέσματα αυτά κάνουν σαφή τη διαφοροποίηση της συμπεριφοράς του εντόμου στις δύο καλλιέργειες.

## **ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **A) Σωματομετρία**

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν αφίδες που συλλέχθηκαν κατά τα

έτη 2002-2004 στην Ελλάδα και Σερβία. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν μόνιμα παρασκευάσματα (slides) που στάλθηκαν από το Μουσείο Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου, αποτελούμενα από δείγματα αφίδων από διάφορα μέρη του κόσμου που συλλέχθηκαν τις τέσσερις τελευταίες δεκαετίες (Πίνακας 1). Συγκεκριμένα, το έτος 2002 συλλέχθηκαν 76 δείγματα του *A. gossypii* από διάφορες περιοχές της Ελλάδας (Μελίκη, Βελεστίνο, Βόλος, Κατερίνη, Λεχώνια) από πεπόνι, καρπούζι, μπάμια, κολοκύθι, βαμβάκι, ιβίσκο, αγγούρι, μολόχα και πικραγγουριά. Το έτος 2003 συλλέχθηκαν εννέα δείγματα από Βόλο από χρυσάνθεμο, ένα δείγμα από Βόλο από ντάλια και τέσσερα δείγματα από Βελεστίνο από ζωχό. Τέλος, το έτος 2004 συλλέχθηκαν τέσσερα δείγματα από ζωχό από την κεντρική Ελλάδα, τρία δείγματα από Σερβία από πεπόνι και ένα δείγμα από Σερβία από ιβίσκο. Στα έτοιμα παρασκευάσματα οι αφίδες είχαν συλλεχθεί από αυτοφυή φυτά της οικογένειας Compositae από διάφορα μέρη του κόσμου και από καλλιεγούμενα φυτά της οικογένειας Cucurbitaceae στην Αγγλία

Τα δείγματα από Ελλάδα και Σερβία συλλέχθηκαν συνήθως από αγρούς μεγέθους περίπου πέντε έως δέκα στρεμμάτων σε κάθε περιοχή. Κάθε δείγμα, που αποτελούνταν από δυο έως τρία φύλλα προσβεβλημένα από αφίδες, συλλεγόταν από ένα φυτό. Το κάθε δείγμα τοποθετούνταν σε πλαστικό σακουλάκι ελαφρά διογκωμένο με αέρα, που περιείχε τεμάχιο απορροφητικού χαρτιού. Η μεταφορά τους στο εργαστήριο γινόταν σε σχετικά χαμηλή θερμοκρασία με φορητά ψυγεία που περιείχαν παγοκύστες. Από κάθε δείγμα δημιουργήθηκε κλωνική αποικία (παρθενογενετική σειρά) επιλέγοντας ένα άπτερο παρθενογενετικό θηλυκό.

Οι αφίδες από την Ελλάδα εκτράφηκαν από τρεις έως δέκα γενιές σε φύλλα πιπεριάς (*Capsicum annuum* L.) τοποθετημένα σε ειδικά κουτιά εκτροφής αφίδων (7,7cm x 4,5cm x 2cm) (Blackman 1971) σε φωτοπερίοδο L16:D8 και θερμοκρασία 23°C.

**Πίνακας 1.** Δείγματα αγρού και εργαστηριακά εκτρεφόμενες παρθενογενετικές σειρές.

Ξενιστής	Περιοχή συλλογής	Ημερομηνία συλλογής	Αριθμός παρθενογενετικών σειρών ή δειγμάτων αγρού*	Αριθμός δειγμάτων
Compositae				
<i>Chrysanthemum</i> sp.	Central Greece	1.ix.03	4	48
<i>Chrysanthemum</i> sp.	Central Greece	27.ix.03	3	30
<i>Chrysanthemum</i> sp.	Central Greece	15.x.03	2	21
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	16.v.76	1 <sup>a</sup>	19
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	25.v.76	1*	9
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	27.xi.78	1*	11
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	22.xi.87	1*	8
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	6.ix.79	1*	12
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	6.ix.79	1*	17
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	25.vii.79	1*	31
<i>Chrysanthemum</i> sp.	England, U.K.	21.v.76	1*	5
<i>Chrysanthemum</i> sp.	Gambia	24.xi.93	1*	10
<i>Sonchus oleraceus</i>	Central Greece	9.ix.03	4	39
<i>Sonchus oleraceus</i>	Central Greece	10.v.04	4	23
<i>Dahlia variabilis</i>	Central Greece	15.x.03	1	10
<i>Vernonia</i> sp.	Kenya	14.viii.70	1*	6
<i>Senecio vulgaris</i>	Lebanon	10.ii.72	1*	10
<i>Crassocephalum crepidioides</i>	New Guinea	5.x.79	1*	10
<i>Crassocephalum crepidioides</i>	New Guinea	29.ix.79	1*	10
<i>Tagetes erecta</i>	Pakistan	7.i.63	1*	10
<i>Eupatorium odoratum</i>	Thailand	1966	1*	10
<i>Zinnia angustifolia</i>	Suriname	8.xii.64	1*	10
<i>Carthamus tinctorius</i>	Brazil	11.x.71	1*	11
<i>Carthamus tinctorius</i>	Brazil	16.vi.71	1*	3
<i>Ageratum conyzoides</i>	Philippine	10.ii.55	1*	10
Cucurbitaceae				
<i>Ecballium elaterium</i>	Central Greece	5.ix.02	1	9
<i>Citrullus lanatus</i>	North Greece	8.viii.02	5	54
<i>Cucumis melo</i>	North Greece	8.viii.02	6	45
<i>Cucumis melo</i>	Serbia	25.viii.04	3*	30
<i>Cucurbita pepo</i>	Central Greece	5.viii.02	9	59
<i>Cucurbita pepo</i>	Central Greece	14.viii.02	4	38
<i>Cucumis sativus</i>	Central Greece	30.viii.02	1	6
<i>Cucumis sativus</i>	England, UK	13.ii.89	1 <sup>a</sup>	14
<i>Cucumis sativus</i>	England, UK	16.ix.87	1*	17
<i>Cucumis sativus</i>	England, UK	26.x.78	1*	20
<i>Cucumis sativus</i>	England, UK	25.vii.79	1*	13
<i>Cucumis sativus</i>	England, UK	6.ix.79	1*	11
<i>Cucumis sativus</i>	England, UK	11.ii.72	1 <sup>b</sup>	11
<i>Cucumis sativus</i>	England, UK	13.ii.89	1	9
Malvaceae				
<i>Gossypium hirsutum</i>	North Greece	8.viii.02	17	94
<i>Gossypium hirsutum</i>	Central Greece	2.viii.02	15	100
<i>Abelmoschus esculentus</i>	North Greece	8.viii.02	12	77
<i>Hibiscus syriacus</i>	Central Greece	29.viii.02	4	24
<i>Hibiscus syriacus</i>	Serbia	25.v.04	1*	10
<i>Malva sylvestris</i>	Central Greece	26.viii.02	2	17

Οι Ελληνικές παρθενογενετικές σειρές εκτράφηκαν εργαστηριακά σε πιπεριά και οι 3 αγγλικές σε <sup>a</sup>βαμβάκι και <sup>b</sup>αγγούρι.

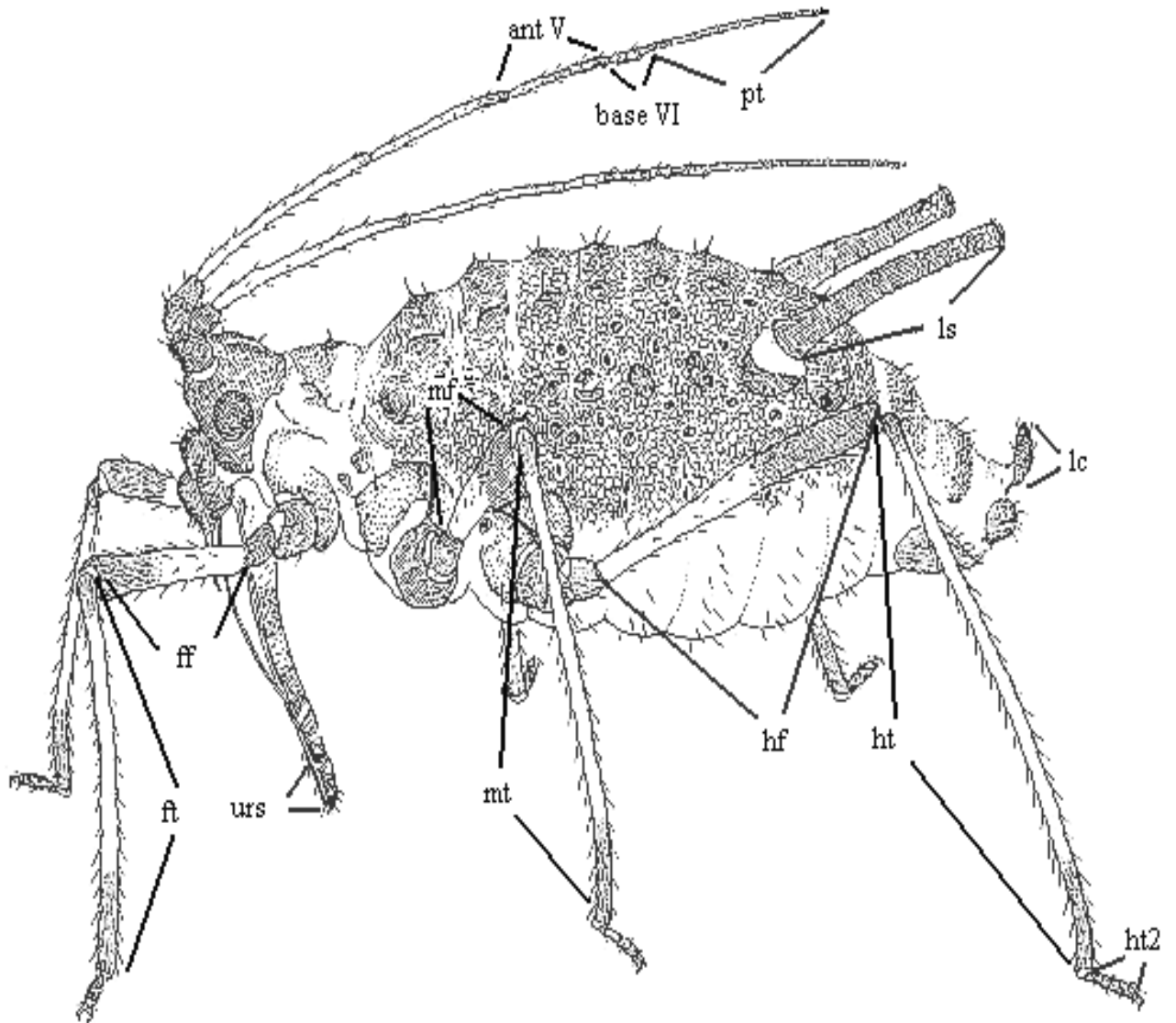
Περίπου επτά με δέκα ενήλικα άπτερα παρθενογενετικά θηλυκά από κάθε ελληνικό κλώνο διατηρήθηκαν σε πλαστικό φιαλίδιο με διάλυμα 1:3 γαλακτικού οξέος (75% w/w) και αλκοόλης (95%) έως ότου γίνουν μόνιμα παρασκευάσματα. Το ίδιο έγινε και με τα δείγματα αγρού από Σερβία. Τα μόνιμα παρασκευάσματα έγιναν με τη μέθοδο των Blackman & Eastop (2000). Οι αφίδες παρέμειναν για μια ώρα σε υδατόλουτρο στους 80°C μέσα σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα με το υγρό διατήρησης. Στη συνέχεια αφαιρέθηκε από το δοκιμαστικό σωλήνα το υγρό διατήρησης και προστέθηκε διάλυμα αλκοόλης (95%) ενώ ο σωλήνας τοποθετήθηκε για τρία λεπτά σε σκεύος με νερό που έβραζε. Κατόπιν αφαιρέθηκε το διάλυμα αλκοόλης και τοποθετήθηκε διάλυμα καυστικού καλίου (10%) ενώ ο σωλήνας τοποθετήθηκε για τέσσερα λεπτά σε σκεύος με νερό που έβραζε. Έπειτα έγιναν τρία πλυσίματα με απεσταγμένο νερό συνολικής διάρκειας 15 λεπτών. Τέλος στο δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετήθηκε άνυδρο οξικό οξύ για οκτώ λεπτά και κατόπιν γαρυφαλέλαιο για 2 ώρες. Σε αντικειμενοφόρο πλάκα τοποθετήθηκαν 4 αφίδες σε 1–2 σταγόνες Entellan (οίκου MERCK, Γερμανίας) και σκεπάστηκαν με καλυπτρίδα. Κατόπιν τα παρασκευάσματα (Εικόνα 3) παρέμειναν για 3-4 εβδομάδες σε κλίβανο θερμοκρασίας 37°C. Η σωστή θέση των αφίδων επιτευχθηκε κάτω από στερεοσκόπιο ώστε τα έντομα να έχουν σωστό προσανατολισμό για τη μέτρηση των διαφόρων μορφολογικών χαρακτηριστικών.



**Εικόνα 4.** *Aphis gossypii* σε μόνιμο παρασκεύασμα (slide).

Συνολικά σωματομετρήθηκαν 1041 ενήλικα άπτερα παρθενογενετικά θηλυκά (virginoparae) που προήλθαν από 97 παρθενογενετικές σειρές (94 από Ελλάδα και 3 από Αγγλία) και 26 δείγματα αγρού (22 από το Μουσείο Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου και 4 από τη Σερβία). Δυο από τις ελληνικές παρθενογενετικές σειρές σωματομετρήθηκαν αφού εκτράφηκαν για περίπου πέντε μήνες. Το κλωνικό υλικό του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας περιλάμβανε δυο παρθενογενετικές σειρές, που συλλέχθηκαν από αγγούρι από Αγγλία, και η μια εκτράφηκε σε βαμβάκι και η άλλη σε αγγούρι σε συνθήκες θερμοκηπίου (μη ελεγχόμενο περιβάλλον). Επιπλέον, περιλάμβανε μια παρθενογενετική σειρά που συλλέχθηκε από χρυσάνθεμο και εκτράφηκε σε βαμβάκι σε συνθήκες θερμοκηπίου (μη ελεγχόμενο περιβάλλον). Τα χρυσάνθεμα από την Ελλάδα και την Αγγλία όπως και η ντάλια από την Ελλάδα και το αγγούρι από την Αγγλία καλλιεργήθηκαν σε θερμοκήπια (Πίνακας 1). Κάθε δείγμα από αγγούρι και χρυσάνθεμο από την Αγγλία συλλέχθηκε από διαφορετικό θερμοκήπιο ενώ τα δείγματα από χρυσάνθεμο από την Ελλάδα συλλέχθηκαν από τρία θερμοκήπια.

Μετρήθηκαν συνολικά δεκατρία μορφολογικά χαρακτηριστικά (Εικόνα 5) σύμφωνα με τη μέθοδο των Parco & van Harten (1987). Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν ήταν: 1) το μήκος του τελευταίου άρθρου του ρύγχους (urs), 2) το μήκος του βασικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (base VI), 3) το μήκος του δεύτερου ταρσομερούς (ht2), 4) το μήκος του πέμπτου άρθρου της κεραίας (ant V), 5) το μήκος του τελικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (pt), 6) το μήκος της ουράς (lc), 7) το μήκος του σιφωνίου (ls), 8) το μήκος του μηρού του πίσω ποδιού (hf), 9) το μήκος της κνήμης του πίσω ποδιού (ht), 10) το μήκος της κνήμης του μεσαίου ποδιού (mt), 11) το μήκος του μηρού του μεσαίου ποδιού (mf), 12) το μήκος της κνήμης του μπροστινού ποδιού (mt) και 13) το μήκος του μηρού του μπροστινού ποδιού (ff).



**Εικόνα 5.** Πλευρική όψη άπτερης αφίδας (τροποποιημένο από Miyazaki 1987) όπου φαίνονται τα δεκατρία μορφολογικά χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν. urs: μήκος του τελευταίου άρθρου του ρύγχους, base VI: μήκος του βασικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας, ht2: μήκος δεύτερου ταρσομερούς, ant V: μήκος του πέμπτου άρθρου της κεραίας, pt: μήκος του τελικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας, lc: μήκος ουράς, ls: μήκος σιφωνίου, hf: μήκος του μηρού του πίσω ποδιού, ht: μήκος της κνήμης του πίσω ποδιού, mt: μήκος της κνήμης του μεσαίου ποδιού, mf: μήκος του μηρού του μεσαίου ποδιού, ff: μήκος μηρού του μπροστινού ποδιού, ft: μήκος κνήμης του μπροστινού ποδιού.



Οι μετρήσεις έγιναν σε μικροσκόπιο με δυνατότητα αντίθεσης φάσης (Leica DRMB, Leica Mikroskopie und System GmbH, Germany) (Εικόνα 6).



**Εικόνα 6.** Μικροσκόπιο αντίθεσης φάσης (Leica DRMB) για μέτρηση μορφολογικών χαρακτηριστικών.

Για να εξεταστεί ο διαχωρισμός των διαφόρων παρθενογενετικών σειρών και δειγμάτων αγρού, που συλλέχθηκαν από διάφορα φυτά-ξενιστές, τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με τη μέθοδο της Ανάλυσης Κανονικών Μεταβλητών (Canonical Variates Analysis, CVA) (Krzanowski 1990). Κάθε παρθενογενετική σειρά ή δείγμα αγρού θεωρήθηκε ως παράγοντας ομαδοποίησης (group). Η μέθοδος της ανάλυσης κανονικών μεταβλητών θεωρείται ένα ισχυρό εργαλείο στη διάκριση των διαφόρων τάξων στις αφίδες, όταν οι παρθενογενετικές σειρές αντιμετωπίζονται στην ανάλυση ως παράγοντας ομαδοποίησης (Krzanowski 1990, Blackman 1992). Στα δεδομένα δεν έγινε καμία μετατροπή πριν την ανάλυση. Η στατιστική επεξεργασία έγινε με τα πακέτα SPSS v.10.0 και Statistica 6.0 (StatSoft Inc., 2001).

## B) Βιολογικός κύκλος

Μελετήθηκε η κατηγορία βιολογικού κύκλου σε 38 κλώνους του *A. gossypii* που συλλέχθηκαν το 2004 από διάφορες περιοχές και ξενιστές. Συγκεκριμένα εξετάστηκαν πέντε κλώνοι από βαμβάκι από Καρδίτσα, πέντε κλώνοι από βαμβάκι από Μελίκη, οκτώ κλώνοι από βαμβάκι από Κατερίνη, πέντε κλώνοι από κολοκύθι από Βόλο, έξι κλώνοι από μπάμια από Βελεστίνο, ένας κλώνος από βαμβάκι από Βελεστίνο, δυο κλώνοι από βαμβάκι από Βόλο και έξι κλώνοι από ζωχό από την περιοχή της Μελίκης και το Βελεστίνο. Επίσης εξετάστηκε η κατηγορία βιολογικού κύκλου σε εννέα κλώνους από χρυσάνθεμο από Βόλο, τέσσερις κλώνους από ζωχό από Βελεστίνο και ένα κλώνο από ντάλια που συλλέχθηκαν το 2003. Τέλος μελετήθηκαν ένας κλώνος από βαμβάκι από Κατερίνη, ένας κλώνος από ιβίσκο από Βόλο και ένας κλώνος από καρπούζι από Κατερίνη που συλλέχθηκαν το 2002.

Τα δείγματα συλλέχθηκαν συνήθως από αγρούς μεγέθους περίπου πέντε έως δέκα στρεμμάτων σε κάθε περιοχή. Κάθε δείγμα που αποτελούνταν από δυο έως τρία φύλλα προσβεβλημένα από αφίδες συλλεγόταν από ένα φυτό. Το κάθε δείγμα τοποθετούταν σε πλαστικό σακουλάκι που έκλεινε ερμητικά, περιείχε τεμάχιο απορροφητικού χαρτιού και είχε διογκωθεί με αέρα. Η μεταφορά τους στο εργαστήριο γινόταν σε σχετικά χαμηλή θερμοκρασία με φορητά ψυγεία που περιείχαν παγοκύστες.

Στο εργαστήριο δημιουργήθηκαν κλωνικές αποικίες (παρθενογενετικές σειρές). Ένα άπτερο ενήλικο παρθενογενετικό θηλυκό επιλέχθηκε από κάθε φύλλο και τοποθετήθηκε σε συνθήκες μεγάλης ημέρας [LD, (L16:D8)] στους 17°C σε ειδικά κουτιά εκτροφής αφίδων, διαστάσεων 7,7cm x 4,5cm x 2cm (Blackman 1971). Τα κουτιά ήταν κατάλληλα διαμορφωμένα ώστε στο εσωτερικό τους να τοποθετείται φύλλο πατάτας πάνω στο οποίο τρέφονταν οι αφίδες

Έπειτα από 1-3 γενιές εκτροφής των κλώνων σε LD ελέγχθηκε η κατηγορία βιολογικού κύκλου. Ο έλεγχος έγινε εκτρέφοντας τις αφίδες για τρεις γενιές σε συνθήκες μικρής ημέρας [SD, (L10:D14)] και 17°C. Ένα άπτερο παρθενογενετικό θηλυκό μεταφέρθηκε από την αποικία που ήταν σε συνθήκες μεγάλης ημέρας σε συνθήκες SD και 17°C. Στην επόμενη γενιά διατηρήθηκαν πέντε έως επτά άπτερα παρθενογενετικά θηλυκά και ελέγχθηκε η μορφή των 60-80 πρώτων απογόνων τους.

Βρέθηκαν ανολοκυκλικοί κλώνοι κι ένας ενδιάμεσος. Οι ανολοκυκλικοί κλώνοι στη δεύτερη γενιά παράγουν κυρίως άπτερα παρθενογενετικά θηλυκά και αριθμό πτερωτών παρθενογενετικών θηλυκών. Ένας κλώνος χαρακτηρίστηκε ως ενδιάμεσος αφού στη δεύτερη γενιά σε SD γέννησαν κυρίως άπτερα και πτερωτά παρθενογενετικά θηλυκά, λίγα αρσενικά και πτερωτά θηλυκά, που γέννησαν κυρίως παρθενογενετικές μορφές και λίγα ωοτόκα θηλυκά.

Αφού διαπιστώθηκε η ύπαρξη ενδιάμεσου κλώνου τοποθετήθηκαν 10 ενήλικα άπτερα πρώτης γενιάς σε 10 κουτιά εκτροφής αφίδων, από μια σε κάθε κουτί σε συνθήκες μικρής ημέρας [SD, (L10:D14)] και 17°C. Κάθε τέσσερις μέρες απομονώνονταν σε χωριστό κουτί το σύνολο των ατόμων της δεύτερης γενιάς και καταγραφόταν ο αριθμός άπτερων παρθενογενετικών ατόμων, ο αριθμός των θηλυκών πτερωτών κι ο αριθμός των αρσενικών πτερωτών. Αυτό συνεχιζόταν μέχρι το θάνατο της μάνας της πρώτης γενιάς. Επιπλέον, από το σύνολο των ατόμων της δεύτερης γενιάς απομονώνονταν σε χωριστό κουτί τα θηλυκά πτερωτά και καταγραφόταν ο αριθμός άπτερων παρθενογενετικών ατόμων και ωοτόκων (ονίπαρραε) τρίτης γενιάς.

## **Γ) Ανθεκτικότητα**

### **I. Μέθοδος στιγμιαίας εμφάνισης (RAPID DIP-TEST)**

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δείγματα *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από αγρούς της κεντρικής και βόρειας Ελλάδας από διάφορους ξενιστές το καλοκαίρι του 2004. Συγκεκριμένα συλλέχθηκαν δείγματα από δυο αγρούς με βαμβάκι από τη περιοχή Λάρισας, ένα αγρό με βαμβάκι από την περιοχή Μελίκης (νομός Ημαθίας), ένα αγρό με βαμβάκι από την Κατερίνη, πέντε αγρούς με βαμβάκι από το Βελεστίνο, ένα αγρό με βαμβάκι από τον Αλμυρό, ένα αγρό με μπάμια από το Βελεστίνο, ένα αγρό με μπάμια από την περιοχή Μελίκης, δυο αγρούς με κολοκύθι από το Βόλο κι ένα αγρό με καρπούζι από την Αλεξάνδρεια Ημαθίας.

Η συλλογή των πληθυσμών γινόταν με αποκοπή φύλλων και κορυφαίων τμημάτων φυτών προσβεβλημένων με αφίδες και τοποθέτησή τους σε πλαστικές σακούλες που περιείχαν απορροφητικό χαρτί. Οι σακούλες τοποθετούνταν σε φορητό ψυγείο προκειμένου να διατηρηθούν ζωντανές οι αφίδες μέχρι να μεταφερθούν στο εργαστήριο.

Στο εργαστήριο γινόταν προσεκτικά η συλλογή των αφίδων με λεπτό πινέλο No.000, προκειμένου να αποφευχθούν τραυματισμοί. Συλλέγονταν κυρίως ενήλικα άπτερα και νύμφες πτερωτών. Σε κάθε πλαστικό τριβλίο petri διαμέτρου 5,5 cm με καπάκι που έχει οπές για αερισμό, τοποθετήθηκε δίσκος υγρού διηθητικού χαρτιού και από πάνω ένα φύλλο πατάτας ο μίσχος του οποίου στηριζόταν σε κομμάτι βρεγμένου moss. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν 20-30 αφίδες σε διπλό πλαστικό σουρωτήρι διαμέτρου 4 cm. Κατόπιν, το σουρωτήρι βυθιζόταν αντίστοιχα στα διαλύματα εντομοκτόνου, που είχαν ετοιμαστεί αρχίζοντας πάντα από τον μάρτυρα (απεσταγμένο νερό) και συνεχίζοντας από το αραιότερο διάλυμα προς το πυκνότερο. Το σουρωτήρι κρατήθηκε βυθισμένο για δέκα δευτερόλεπτα μέσα σε κάθε διάλυμα. Αφού στραγγιζόταν καλά το σουρωτήρι αφηνόταν πάνω σε απορροφητικό χαρτί και οι αφίδες μεταφέρονταν προσεκτικά με πινέλο πάνω στο φύλλο. Το τριβλίο σκεπαζόταν και στη συνέχεια σφραγιζόταν με ταινία. Τα τριβλία τοποθετούνταν σε θάλαμο με φωτοπερίοδο L16:D8 και θερμοκρασία 17°C. Μετά από 24 ώρες μετρήθηκαν τα ζωντανά, νεκρά και ενδιάμεσης κατάστασης άτομα. Νεκρές θεωρήθηκαν όλες οι αφίδες που δεν παρουσίασαν κανένα σύμπτωμα κίνησης όταν ενοχλήθηκαν με το πινέλο. Ζωντανές θεωρήθηκαν οι αφίδες που περπατούσαν και τρέφονταν αλλά και οι ανάποδα γυρισμένες όταν εμφάνισαν έντονη έως εμφανή με γυμνό οφθαλμό κινητικότητα σε πόδια και κεραίες. Ενδιάμεσης κατάστασης θεωρήθηκαν οι αφίδες που παρουσίασαν αμυδρά συμπτώματα κίνησης όταν ενοχλήθηκαν με το πινέλο. Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν οι εμπορικές συσκευασίες από τα εξής εντομοκτόνα: pirimicarb (Pirimor G, ZENECA Hellas sa) συγκέντρωσης 50% β./ό. με συνιστώμενες δόσεις 50g/100L νερού για την καταπολέμηση του *M. persicae* στη ροδακινιά, imidacloprid (Confidor 200 SL, BAYER Ελλάς ABEE) συγκέντρωσης 20,6% β./ό. με συνιστώμενη δόση 30ml/100L νερού για την καταπολέμηση του *M. persicae* στη ροδακινιά. Για κάθε βιοδοκιμή και κάθε εντομοκτόνο χρησιμοποιήθηκαν αρκετές διαφορετικές συγκεντρώσεις εντομοκτόνου (αραιωμένες με νερό) και μάρτυρας. Πιο συγκεκριμένα, η ελάχιστη και μέγιστη συγκέντρωση για το imidacloprid ήταν 1/4096X (0,015ppm) και 1/32X (1,93ppm) αντίστοιχα. Τέλος η ελάχιστη και μέγιστη συγκέντρωση για το pirimicarb ήταν 1/128X (1,95ppm) και 4X (1000ppm) αντίστοιχα.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση των αποτελεσμάτων και υπολογισμός των συγκεντρώσεων θνησιμότητας για το 50% του πληθυσμού (LC<sub>50</sub>) κάθε βιοδοκιμής μέσω H/Y με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS v.10.0.

## II. Μέθοδος τοπικής εφαρμογής

Στην παρούσα μελέτη έγινε τοπική εφαρμογή imidacloprid σε 20 κλώνους του *A. gossypii*. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν ένας κλώνος από την περιοχή του Βελεστίνου από βαμβάκι, τρεις κλώνοι από την περιοχή του Βόλου από κολοκύθι, τρεις κλώνοι από την περιοχή της Μελίκης από βαμβάκι, ένας κλώνος από βαμβάκι από την περιοχή του Αλμυρού, πέντε κλώνοι από την περιοχή της Καρδίτσας από βαμβάκι, τέσσερις κλώνοι από την περιοχή της Κατερίνης από βαμβάκι και τρεις κλώνοι από την περιοχή του Βελεστίνου από μπάμια.

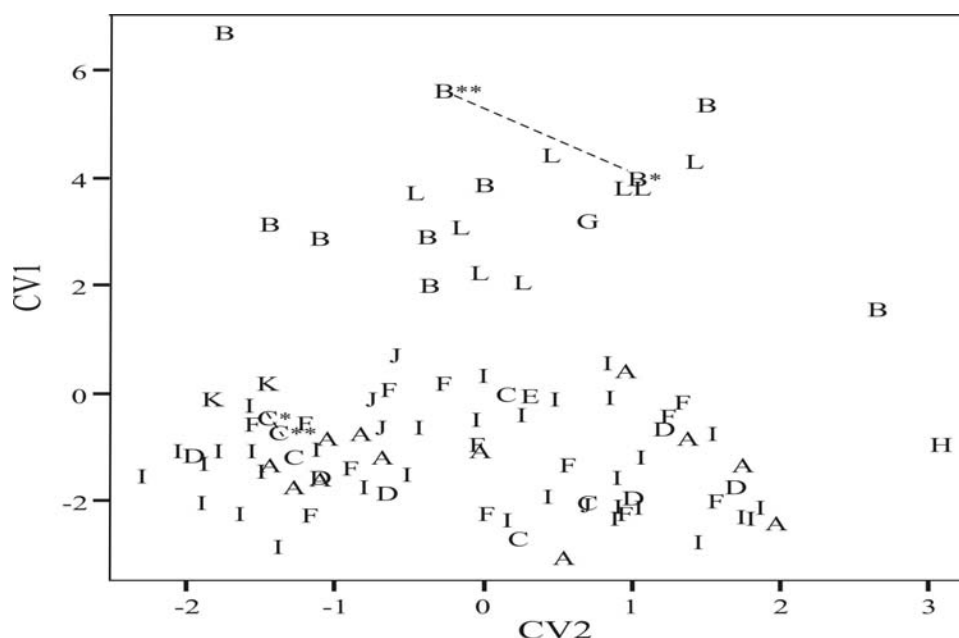
Από κάθε κλώνο συλλέγονταν 20 ενήλικα άπτερα για κάθε δόση. Η συλλογή γινόταν με λεπτό πινέλο No.000, προκειμένου να αποφευχθούν οι τραυματισμοί. Σε κάθε πλαστικό τριβλίο petri διαμέτρου 5,5 cm με καπάκι που έχει οπές για αερισμό, τοποθετήθηκε λεπτό στρώμα άγαρ και από πάνω φύλλο πατάτας πάνω στο οποίο τοποθετούνταν ένα-ένα τα άτομα και ταυτόχρονα σε κάθε άτομο τοποθετήθηκε από μια σταγόνα εντομοκτόνου με τη βοήθεια μικροσύριγγας. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε μικροσύριγγα πέντε μl και σε κάθε άτομο τοποθετήθηκαν 0,5 μl εντομοκτόνου. Το τριβλίο σκεπάστηκε και στη συνέχεια σφραγίστηκε με ταινία. Τα τριβλία τοποθετήθηκαν σε θάλαμο με φωτοπερίοδο L16:D8 και θερμοκρασία 17°C. Μετά από 24, 48 και 72 ώρες μετρήθηκαν τα ζωντανά, νεκρά και ενδιάμεσης κατάστασης άτομα. Νεκρές θεωρήθηκαν όλες οι αφίδες που δεν παρουσίασαν κανένα σύμπτωμα κίνησης όταν ενοχλήθηκαν με το πινέλο. Ζωντανές θεωρήθηκαν οι αφίδες που περπατούσαν και τρέφονταν αλλά και οι ανάποδα γυρισμένες όταν εμφάνισαν έντονη έως εμφανή με γυμνό οφθαλμό κινητικότητα σε πόδια και κεραίες. Ενδιάμεσης κατάστασης θεωρήθηκαν οι αφίδες που παρουσίασαν αμυδρά συμπτώματα κίνησης όταν ενοχλήθηκαν με το πινέλο. Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκε η εξής εμπορική συσκευασία: imidacloprid (Confidor 200 SL, BAYER Ελλάς ABEE) συγκέντρωσης 20,6% β./ό. Για κάθε βιοδοκιμή χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις με πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις εντομοκτόνου (αραιωμένες με ακετόνη) και μάρτυρας. Πιο συγκεκριμένα, η ελάχιστη και μέγιστη συγκέντρωση για το imidacloprid ήταν 0,125 ppm και 2 ppm αντίστοιχα.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση των αποτελεσμάτων και υπολογισμός των δόσεων θνησιμότητας για το 50% του πληθυσμού (LD<sub>50</sub>) κάθε βιοδοκιμής μέσω H/Y με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτο SPSS v.10.0.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Α) Σωματομετρία

Τα αποτελέσματα της επεξεργασίας με τη μέθοδο της Ανάλυσης Κανονικών Μεταβλητών, των τιμών που προέκυψαν από αφίδες που συλλέχθηκαν από την Ελλάδα τα έτη 2002-2004, έδειξαν ότι οι πληθυσμοί ομαδοποιούνται σε δυο ομάδες όπως φαίνεται χαρακτηριστικά στο Σχήμα 1.



**Σχήμα 1.** Τιμές των δυο πρώτων κανονικών μεταβλητών για 94 παρθενογενετικές σειρές του *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από φυτά των οικογενειών Malvaceae, Cucurbitaceae και Compositae από Ελλάδα. Οι παρθενογενετικές σειρές εκτράφηκαν σε πιπεριά σε 17°C και L16: D8 για 2-3 γενιές. A=*Abelmoschus esculentus*, B=*Chrysanthemum sp.*, C=*Citrullus lanatus*, D=*Cucumis melo*, E=*Cucumis sativus*, F=*Cucurbita pepo*, G=*Dahlia variabilis*, H=*Ecballium elaterium*, I=*Gossypium hirsutum*, J=*Hibiscus syriacus*, K=*Malva sylvestris*, L=*Sonchus oleraceus*. Η διακεκομμένη γραμμή ενώνει υποδείγματα της ίδιας παρθενογενετικής σειράς που μετρήθηκαν μετά από μικρής (B\*, C\*) και μεγάλης (B\*\*, C\*\*) διάρκειας εκτροφής στο εργαστήριο.

Το Σχήμα 1 δείχνει τις μέσες τιμές των δυο πρώτων κανονικών μεταβλητών (CVs ή KM) που μαζί εξηγούν το 66% της συνολικής παραλλακτικότητας ενώ παράλληλα είναι φανερή η διαφοροποίηση των παρθενογενετικών σειρών σε δυο ομάδες. Όλες οι παρθενογενετικές σειρές που προέρχονται από αυτοφυή φυτά της οικογένειας Compositae διαχωρίζονται από εκείνες που προέρχονται από καλλιεργούμενα φυτά των οικογενειών Cucurbitaceae και Malvaceae. Συγκεκριμένα διακρίνονται δυο ξεχωριστές ομάδες από τις οποίες η μια περιλαμβάνει όλες τις παρθενογενετικές σειρές από αυτοφυή Compositae και η άλλη όλες τις παρθενογενετικές σειρές από καλλιεργούμενα φυτά των οικογενειών Cucurbitaceae και Malvaceae. Ο διαχωρισμός των παρθενογενετικών σειρών σε δυο ομάδες οφείλεται κυρίως στην πρώτη κανονική μεταβλητή (CV1 ή KM1) που εξηγεί το 52% της συνολικής παραλλακτικότητας. Στον Πίνακα 2 φαίνεται ότι τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που παρουσίασαν τη μεγαλύτερη συσχέτιση με τη CV1 ήταν το μήκος του τελικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (pt), το μήκος του πέμπτου άρθρου της κεραίας (ant V), το μήκος σιφωνίου (ls) και το μήκος του τελευταίου άρθρου του ρύγχους (urs).

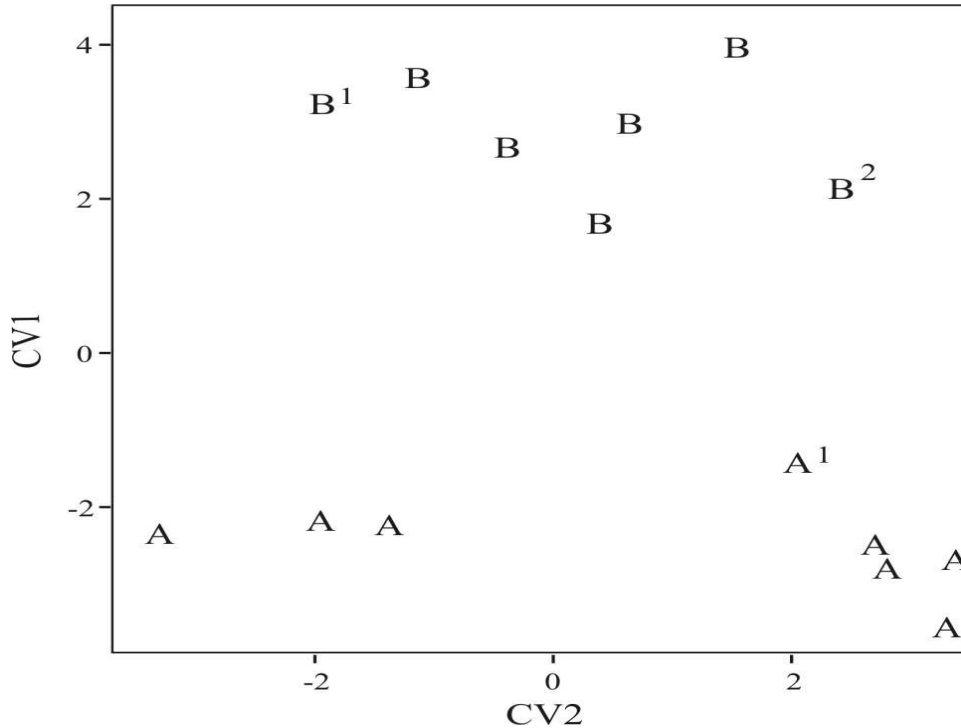
**Πίνακας 2.** Κανονικοί συντελεστές και ποσοστά συνολικής παραλλακτικότητας που εξηγούν οι κανονικές μεταβλητές (KM ή CV) για δείγματα και παρθενογενετικές σειρές *A. gossypii*.

Χαρακτηριστικά	1η CVA (Σχ. 1)		2η CVA (Σχ. 2)		3η CVA (Σχ. 3)	
	CV1	CV2	CV1	CV2	CV1	CV2
urs	0.441	-0.158	-1.156	0.346	-0.621	0.656
base vi	0.073	0.027	0.019	-0.106	-0.073	-0.036
ht ii	0.379	0.172	0.038	0.829	0.329	0.459
ant v	0.898	-0.250	0.283	-0.001	0.060	0.115
pt	-1.021	0.895	0.861	-0.317	0.660	-0.929
lc	0.133	0.582	0.302	0.320	0.233	0.094
ls	-0.746	-0.013	0.814	-0.433	0.543	-0.296
ht	0.093	0.233	0.335	0.003	0.197	0.007
hf	0.288	-0.237	0.131	0.020	0.149	-0.016
mt	-0.029	0.447	1.132	0.241	0.673	-0.315
mf	-0.004	-0.651	-0.155	0.011	-0.03	0.186
ft	0.255	0.058	0.335	-0.853	-0.279	-0.619
ff	-0.114	-0.039	-2.268	0.865	-0.808	1.181
% συνολικής παραλλακτικότητας	51.8	14.6	49.1	30.6	36.0	29.5
Correlation with the size index	R=0.74, P<0.01	R=0.63, P<0.01	R=0.22, P<0.08	R=0.73, P<0.01	R=0.84, P<0.01	R=0.43, P<0.02

Χαρακτηριστικά	4η CVA (Σχ. 4)			5η CVA (Σχ. 5)			6η CVA (Σχ. 6)		
	CV1	CV2	CV3	CV1	CV2	CV3	CV1	CV2	CV3
urs	0.783	-0.410	-0.296	0.208	-0.246	-0.099	-0.271	-0.442	-0.112
base vi	0.041	-0.071	0.375	0.086	-0.429	0.054	0.018	0.050	0.427
ht ii	0.314	0.678	-0.111	0.449	0.405	0.251	0.518	-0.090	0.430
ant v	0.317	0.221	0.508	0.410	-0.413	-0.204	0.408	-0.191	0.687
pt	-1.105	0.175	0.079	-0.691	0.644	0.966	-0.232	1.069	-0.603
lc	-0.063	0.053	0.547	0.385	-0.200	-0.121	-0.005	0.589	0.226
ls	-0.692	0.372	-1.854	-0.447	1.265	-1.402	0.587	-0.367	-0.348
ht	-0.061	0.016	0.241	0.093	-0.137	-0.195	0.097	0.165	-0.403
hf	-0.061	0.097	0.086	0.629	-0.628	0.728	0.075	0.092	-0.095
mt	-0.250	0.167	0.281	0.105	0.141	0.006	0.069	0.593	0.071
mf	0.133	-0.003	0.409	0.082	-0.261	0.228	-0.253	-0.617	-0.912
ft	-0.476	0.007	0.203	0.242	-0.173	-0.229	-0.008	0.416	1.573
ff	1.157	-0.245	-0.165	-0.570	0.460	0.307	-0.011	-0.775	-0.898
% συνολικής παραλλακτικότητας	33.4	29.4	12.6	41.0	15.6	13.3	49.2	16.1	9.0
Correlation with the size index	R=0.19, P<0.30	R=0.92, P<0.01	R=0.09, P<0.60	R=0.90, P<0.01	R=0.30, P<0.07	R=0.22, P<0.19	R=0.97, P<0.01	R=0.19, P<0.08	R=-0.09, P<0.42

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων από έτοιμα παρασκευάσματα αφίδων της συλλογής του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου, που περιλάμβαναν 12 δείγματα από χρυσάνθεμο και αγγούρι που συλλέχθηκαν από θερμοκήπια της Αγγλίας και τρεις παρθενογενετικές σειρές που εκτράφηκαν σε βαμβάκι και αγγούρι (όχι σε σταθερές συνθήκες), έδειξε διαχωρισμό των αφίδων που προέρχονται από χρυσάνθεμο από αυτές που προέρχονται από αγγούρι (Σχήμα.2). Ο διαχωρισμός σε δυο ομάδες οφείλεται κυρίως στην πρώτη κανονική μεταβλητή (CV1 ή KM1) που εξηγεί το 49.1% της συνολικής παραλλακτικότητας. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που παρουσίασαν τη μεγαλύτερη συσχέτιση με την πρώτη κανονική μεταβλητή (CV1 ή KM1) ήταν το μήκος του μηρού του μπροστινού ποδιού (ff), το μήκος του τελευταίου άρθρου του ρύγχους (urs), το μήκος της κνήμης του μεσαίου ποδιού (mt) και το μήκος του τελικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (pt) (πίνακας 2). Η δεύτερη κανονική μεταβλητή (CV2 ή KM2) εξηγεί το 30.6% της συνολικής παραλλακτικότητας διαχωρίζοντας τις αφίδες από χρυσάνθεμο σε δυο ομάδες.





**Σχήμα 2.** Τιμές των δυο πρώτων κανονικών μεταβλητών για 12 δείγματα αγρού και 3 εργαστηριακές εκτροφές (μια σε βαμβάκι και δυο σε αγγούρι, όχι σταθερές συνθήκες) παρθενογενετικών σειρών του *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από αγγούρι (B) και χρυσάνθεμο (A) από θερμοκήπια της Αγγλίας.

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης, με την ίδια μέθοδο, δεδομένων από τρία δείγματα αγρού από πεπόνι και ένα από ιβίσκο από Σερβία που συλλέχθηκαν το 2004 από 23 δείγματα αγρού από διαφορα είδη της οικογένειας Compositae που συλλέχθηκαν τα τελευταία 40 χρόνια από όλο τον κόσμο καθώς και από τρεις εργαστηριακές εκτροφές σε βαβαμβάκι και αγγούρι (όχι σταθερές συνθήκες), έδειξαν καθαρή διαφοροποίηση ανάμεσα στις αφίδες από Compositae κι εκείνες από άλλα φυτά ανεξάρτητα από το έτος και την περιοχή συλλογής του δείγματος (Σχήμα 3). Συγκεκριμένα οι αφίδες που προέρχονται από Compositae αποτελούν διαφορετική ομάδα σε σχέση με εκείνες που προέρχονται από άλλα φυτά. Τόσο η πρώτη κανονική μεταβλητή (CV1 ή KM1) όσο και η δεύτερη συμβάλλουν το ίδιο στη διαφοροποίηση σε δυο ομάδες ενώ και οι δυο μαζί εξηγούν το 65.5% της συνολικής παραλλακτικότητας.

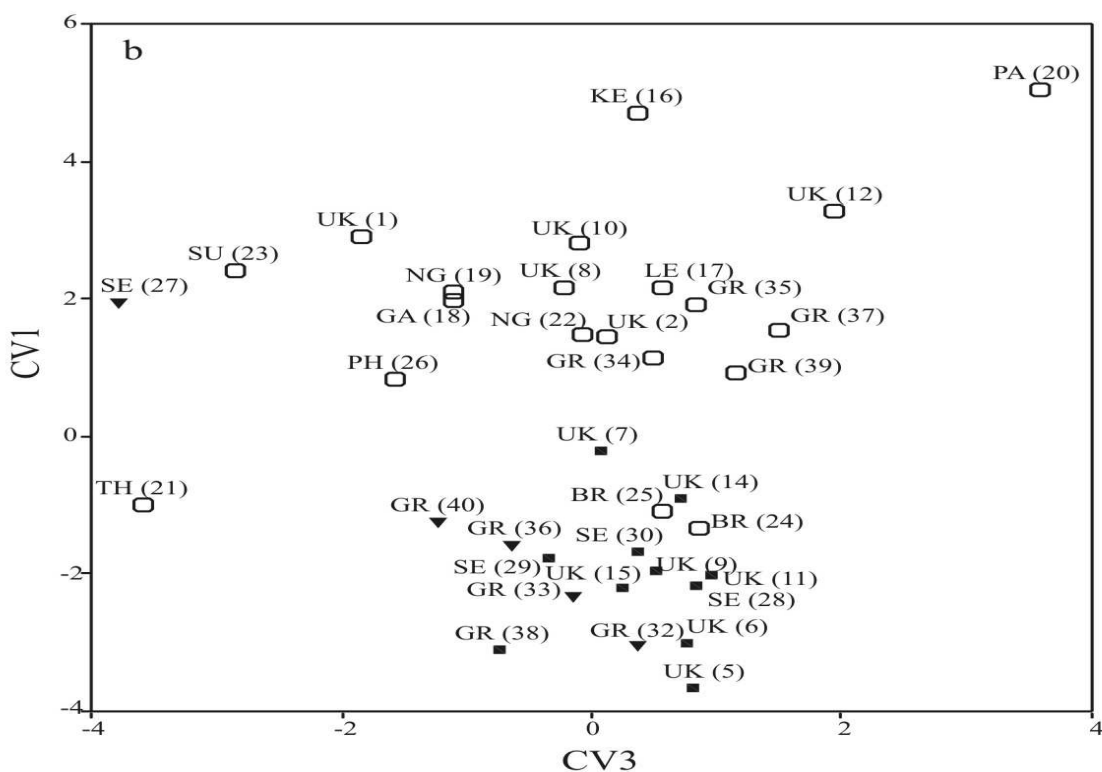


(urs) και το μήκος κνήμης του μπροστινού ποδιού (ft) (πίνακας 2). Η πρώτη κανονική μεταβλητή (CV1 ή KM1) διαχώρισε τις αφίδες σε δυο ομάδες εκτός από τα δείγματα από *S. vulgaris* και *H. syriacus* από Λίβανο και Σερβία αντίστοιχα που τοποθετήθηκαν εκτός των δυο ομάδων. Επίσης δυο δείγματα από *C. tinctorius* από τη Βραζιλία και ένα από *E. odoratum* από την Ταϊλάνδη τοποθετήθηκαν κοντά στην ομάδα με τα Cucurbitaceae.

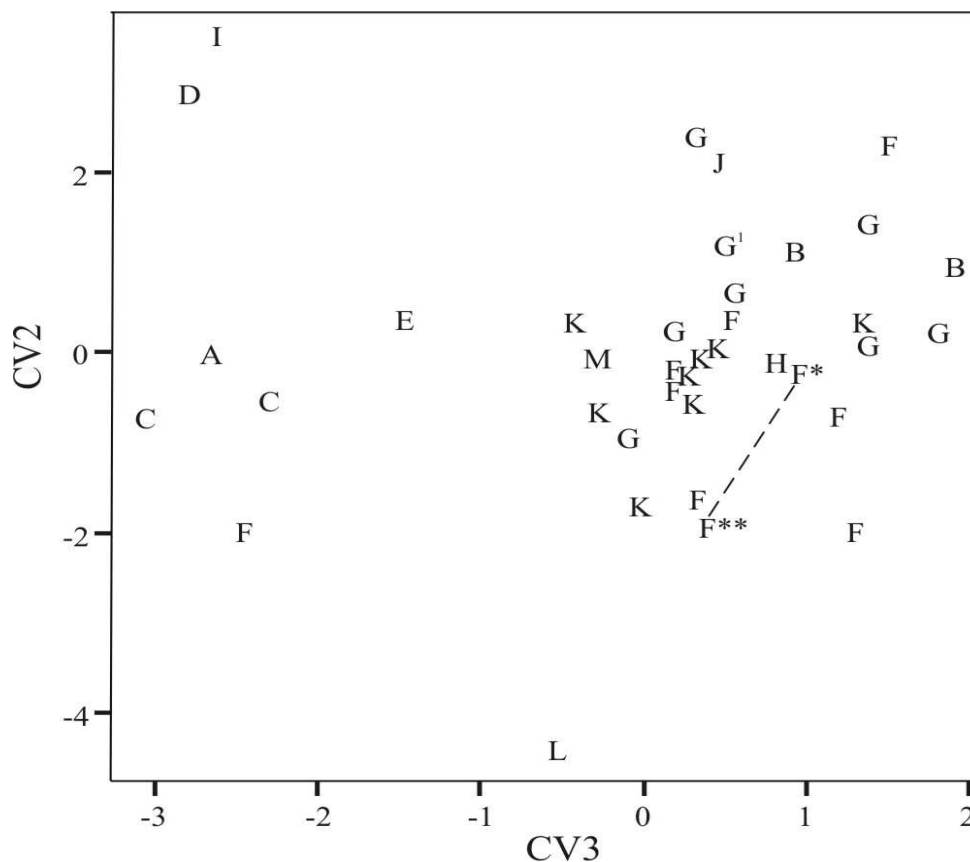
Η ανάλυση, με την ίδια μέθοδο, δεδομένων από παρθενογενετικές σειρές από βαμβάκι, μπάμια, πεπόνι και χρυσάνθεμο από την Ελλάδα σε συνδυασμό με τα δεδομένα που χρησιμοποιήθηκαν στην προηγούμενη ανάλυση εκτός από τρία δείγματα από χρυσάνθεμο από την Αγγλία (3, 4 και 13, Σχήμα.3), έδειξε διαφοροποίηση σε δυο ομάδες (Σχήμα 4α). Στην πρώτη περιλαμβάνονται δείγματα αφίδων και παρθενογενετικές σειρές από Cucurbitaceae και Malvaceae καθώς επίσης και τρία δείγματα από Compositae από τη Βραζιλία και την Ταϊλάνδη τα οποία είχαν τιμές KM1 και KM2 παρόμοιες με αυτές των παρθενογενετικών σειρών της ομάδας των Cucurbitaceae στην προηγούμενη ανάλυση. Στη δεύτερη ομάδα περιλαμβάνονται δείγματα αφίδων και παρθενογενετικές σειρές από καλλιεργούμενα και μη καλλιεργούμενα Compositae. Ο διαχωρισμός οφείλεται στις τιμές της KM1. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που παρουσίασαν τη μεγαλύτερη συσχέτιση με την πρώτη κανονική μεταβλητή (CV1 ή KM1) ήταν το μήκος του τελικού τμήματος του τελευταίου άρθρου της κεραίας (pt), το μήκος μηρού του μπροστινού ποδιού (ff), το μήκος του τελευταίου άρθρου του ρύγχους (urs) και το μήκος σιφωνίου (ls). Όπως στο προηγούμενο σχήμα έτσι κι εδώ τα δείγματα από από *S. vulgaris* και *H. syriacus* από το Λίβανο και τη Σερβία αντίστοιχα που τοποθετήθηκαν εκτός των δυο ομάδων.



ελαχιστοποιηθεί οι περιβαλλοντικές επιδράσεις στη μορφολογία. Αυτή τη φορά το δείγμα από *S. vulgaris* από το Λίβανο τοποθετήθηκε στην ομάδα με τα Compositae. Όμως το δείγμα από *E. odoratum* από την Ταϊλάνδη λόγω χαμηλής τιμής της τρίτης κανονικής μεταβλητής (CV3 ή KM3) δεν ομαδοποιήθηκε με τις αφίδες από Cucurbitaceae και Malvaceae (Σχήμα 4α).



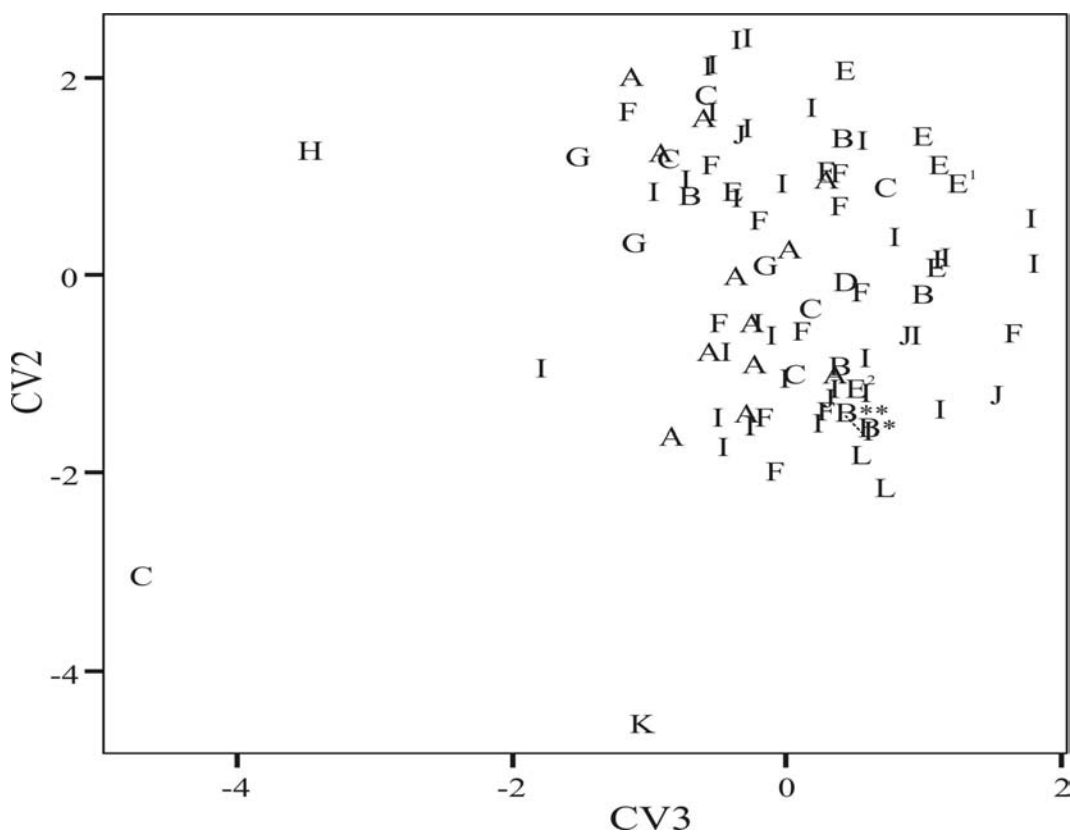
**Σχήμα 4β.** Τιμές της πρώτης και τρίτης κανονικής μεταβλητής για 24 δείγματα αγρού και 12 εργαστηριακές εκτροφές (2, 5: σε βαμβάκι, 7: σε αγγούρι, 32-40: σε πιπεριά) παρθενογενετικών σειρών του *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από Malvaceae (▼), Cucurbitaceae (■) και Compositae (○) από διαφορετικές περιοχές του κόσμου. 1 - 8, 18, 34, 35: *Chrysanthemum* sp., 9-15: *Cucumis sativus*, 16: *Vernonia* sp., 17: *Senecio vulgaris*, 19, 22: *Crassocephalum crepidioides*, 20: *Tagetes erecta*, 21: *Eupatorium odoratum*, 23: *Zinnia angustifolia*, 24-25: *Carthamus tinctorius* 26: *Ageratum conyzoides*, 27: *Hibiscus syriacus*, 28-30: *Cucumis melo*, 32, 36: *Abelmoschus esculentus*, 33, 40: *Gossypium hirsutum*, 37: *Sonchus oleraceus*, 38: *Cucurbita pepo* and 39: *Dahlia variabilis*. BR=Βραζιλία, GA=Γκάμπια, GR=Ελλάδα, KE=Κένυα, LE=Λίβανο, NG=Νέα Γουινέα, PA=Πακιστάν, PH=Φιλιππίνες, SU=Σουρινάμ, SE=Σερβία, TA=Ταϊλάνδη, UK=Ηνωμένο Βασίλειο.



**Σχήμα 5.** Τιμές της δεύτερης και τρίτης κανονικής μεταβλητής για 18 δείγματα αγρού (A-E, G, I, J, L, M) και για 19 εργαστηριακά εκτρεφόμενες παρθενογενετικές σειρές του *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από φυτά της οικογένειας Compositae από διάφορα μέρη του κόσμου. A=*Ageratum conyzoides* (Φιλιππίνες), B=*Carthamus tinctorius* (Βραζιλία), C=*Crasocephalum crepidioides* (Νέα Γουινέα), D= *Zinnia angustifolia* (Σουρινάμ), E=*Chrysanthemum* sp. (Γκάμπια), F=*Chrysanthemum* sp. (Ελλάδα), G=*Chrysanthemum* sp. (Ηνωμένο Βασίλειο), H= *Dahlia variabilis* (Ελλάδα), I=*Eupatorium odoratum* (Ταϊλάνδη), J=*Senecio vulgaris* (Λίβανο), K=*Sonchus oleraceus* (Ελλάδα), L=*Tagetes erecta* (Πακιστάν), M=*Vernonia* sp. (Κένυα). Οι ελληνικές παρθενογενετικές σειρές εκτράφηκαν σε πιπεριά στους 17 °C και L16:D8 ενώ η παρθενογενετική σειρά (G) από την Αγγλία εκτράφηκε σε βαμβάκι όχι όμως σε σταθερές συνθήκες. Η διακεκομμένη γραμμή ενώνει υποδείγματα της ίδιας παρθενογενετικής σειράς που μετρήθηκαν μετά από μικρής (F\*) και μεγάλης (F\*\*) διάρκειας παρθενογενετικής εκτροφής.

Τέλος, τα αποτελέσματα δυο ακόμη αναλύσεων με τη μέθοδο της Ανάλυσης Κανονικών Μεταβλητών κατά τις οποίες εξετάστηκαν χωριστά οι αφίδες από Compositae και χωριστά οι αφίδες από Malvaceae και Cucurbitaceae δεν έδειξαν ομαδοποίηση εντός των δειγμάτων Compositae ή εντός των δειγμάτων από Cucurbitaceae-Malvaceae. Στην ανάλυση που περιλάμβανε μόνο τα δείγματα από Compositae οι τιμές της πρώτης κανονικής μεταβλητής (CV1 ή KM1) εξήγησαν το 41% της συνολικής παραλλακτικότητας αλλά δεν έδειξε ομαδοποίηση. Όμως, στο διάγραμμα της δεύτερης κανονικής μεταβλητής (CV2 ή KM2) σε συνάρτηση με την τρίτη κανονική μεταβλητή (εξηγούν το 16 και 13% της συνολικής παραλλακτικότητας αντίστοιχα.) (Σχήμα 5) φαίνεται μια μεγάλη ομάδα που περιλαμβάνει κυρίως Ευρωπαϊκά δείγματα με ψηλές τιμές τρίτης κανονικής μεταβλητής (CV3 ή KM3) ενώ τα περισσότερα δείγματα από άλλα μέρη του κόσμου αποχωρίστηκαν από τη συγκεκριμένη ομάδα λόγω των τιμών της δεύτερης (CV2 ή KM2) ή τρίτης κανονικής μεταβλητής (CV3 ή KM3).

Τα αποτελέσματα της τελευταίας ανάλυσης κανονικών μεταβλητών η οποία περιέλαβε αφίδες από Malvaceae και Cucurbitaceae που συλλέχθηκαν από την Ελλάδα, Σερβία και Αγγλία τόσο εργαστηριακά εκτρεφόμενες παρθενογενετικές σειρές όσο και δείγματα αγρού έδειξαν ότι οι τιμές της πρώτης κανονικής μεταβλητής (CV1 ή KM1) εξηγούν το 49% της συνολικής παραλλακτικότητας και είναι παρόμοιες για τις ελληνικές παρθενογενετικές σειρές που εκτράφηκαν σε ελεγχόμενο περιβάλλον αλλά διέφεραν σημαντικά στα δείγματα αγρού και στις παρθενογενετικές σειρές που εκτράφηκαν κάτω από μη ελεγχόμενες συνθήκες. Στο διάγραμμα της δεύτερης κανονικής μεταβλητής σε συνάρτηση με την τρίτη (εξηγούν το 16 και 9% αντίστοιχα της συνολικής παραλλακτικότητας αντίστοιχα) παρατηρείται μια μεγάλη ομάδα δειγμάτων με λίγα δείγματα να αποκλίνουν από την ομάδα (Σχήμα 6). Δεν παρατηρείται ομαδοποίηση που να σχετίζεται με φυτικά είδη/γένος/οικογένεια ή περιοχή δειγματοληψίας.



**Σχήμα 6.** Τιμές της δεύτερης και τρίτης κανονικής μεταβλητής για 13 δείγματα αγρού (E, G, K, L) και 74 εργαστηριακά εκτρεφόμενες παρθενογενετικές σειρές που συλλέχθηκαν από Malvaceae και Cucurbitaceae από Αγγλία, Ελλάδα και Σερβία. A=*Abelmoschus esculentus* (Ελλάδα), B=*Citrulus lanatus* (Ελλάδα), C=*Cucumis melo* (Ελλάδα), D=*Cucumis sativus* (Ελλάδα), E=*Cucumis sativus* (Αγγλία), F=*Cucurbita pepo* (Ελλάδα), G=*Cucurbita pepo* (Σερβία), H=*Ecballium elaterium* (Ελλάδα), I=*Gossypium hirsutum* (Ελλάδα), J=*Hibiscus syriacus* (Ελλάδα), K=*Hibiscus syriacus* (Ελλάδα), L=*Malva sylvestris* (Ελλάδα). Οι παρθενογενετικές σειρές A-D, F και H-J εκτράφηκαν σε πιπεριά στους 17°C και L16:D8 ενώ οι παρθενογενετικές σειρές E<sup>1</sup> και E<sup>2</sup> εκτράφηκαν σε βαμβάκι και αγγουριά αντίστοιχα αλλά όχι σε σταθερές συνθήκες H διακεκομμένη γραμμή ενώνει υποδείγματα της ίδιας παρθενογενετικής σειράς που μετρήθηκαν μετά από μικρής (B\*) και μεγάλης (B\*\*) διάρκειας παρθενογενετικής εκτροφής.



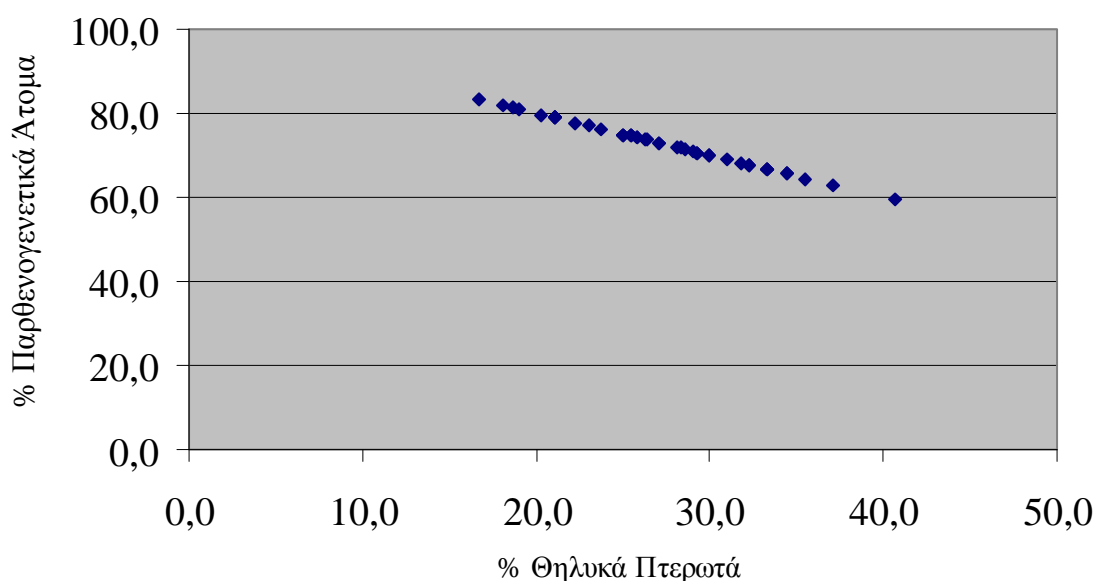
## B) Βιολογικός κύκλος

Συνολικά ελέγχθηκε η κατηγορία βιολογικού κύκλου για 55 κλωνικές αποικίες. Όλοι οι κλώνοι, ανεξάρτητα από την περιοχή, το έτος συλλογής του δείγματος και τον ξενιστή βρέθηκαν ανολοκυκλικοί εκτός από έναν που συλλέχθηκε το έτος 2002 από την περιοχή της Κατερίνης από βαμβάκι, ο οποίος βρέθηκε να είναι ενδιάμεσος (Πίνακας 3). Ουσιαστικά κυριαρχεί η ανολοκυκλική μορφή τόσο στη βόρεια όσο και στην κεντρική Ελλάδα τόσο στο βαμβάκι όσο και στο κολοκύθι, στη μπάμια, στον ιβίσκο, στο καρπούζι, στο χρυσάνθεμο, στο ζωχό και στη ντάλια. Η ανολοκυκλικότητα συνεπάγεται αδυναμία παραγωγής σεξουαλικών μορφών το φθινόπωρο. Αντιθέτως τη συγκεκριμένη εποχή εμφανίζονται μόνο θηλυκά πτερωτά τα οποία γεννούν άπτερα παρθενογενετικά άτομα τα οποία αποτελούν και τη διαχειμάζουσα μορφή.

**Πίνακας 3.** Μορφές κλωνικών αποικιών αφίδων *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Ελλάδας από διάφορους ξενιστές.

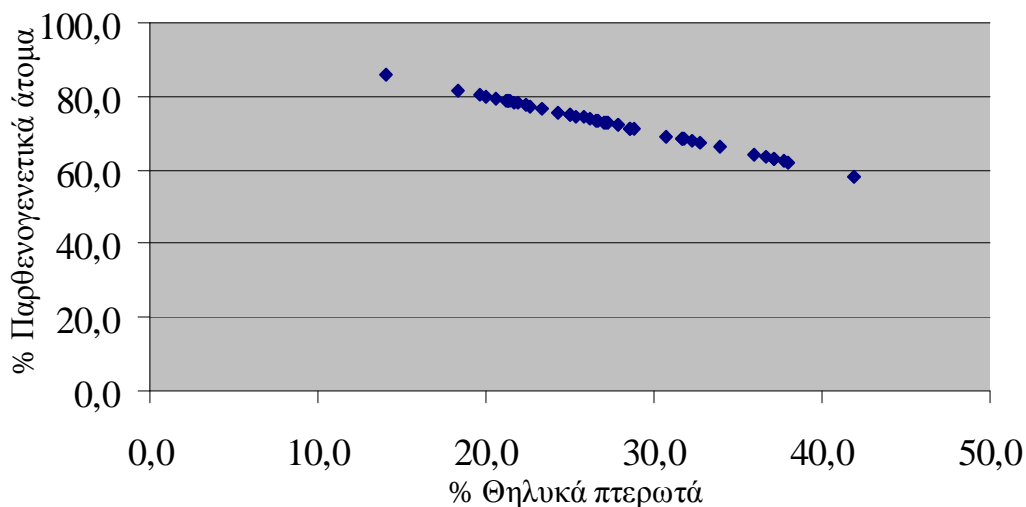
Σύνολο κλώνων	Περιοχή	Ξενιστής	Έτος	Μορφή
5	Καρδίτσα	Βαμβάκι	2004	Ανολοκυκλικός
5	Μελίκη	Βαμβάκι	2004	Ανολοκυκλικός
8	Κατερίνη	Βαμβάκι	2004	Ανολοκυκλικός
5	Βόλος	Κολοκύθι	2004	Ανολοκυκλικός
6	Βελεστίνο	Μπάμια	2004	Ανολοκυκλικός
1	Βελεστίνο	Βαμβάκι	2004	Ανολοκυκλικός
2	Βόλος	Βαμβάκι	2004	Ανολοκυκλικός
1	Κατερίνη	Βαμβάκι	2002	Ενδιάμεσος
1	Βόλος	Ιβίσκος	2002	Ανολοκυκλικός
1	Κατερίνη	Καρπούζι	2002	Ανολοκυκλικός
6	Διάφορες	Ζωχός	2004	Ανολοκυκλικός
9	Βόλος	Χρυσάνθεμο	2003	Ανολοκυκλικός
4	Βελεστίνο	Ζωχός	2003	Ανολοκυκλικός
1	Βόλος	Ντάλια	2003	Ανολοκυκλικός

Από το σχήμα 7 είναι φανερό ότι στη δεύτερη γενιά και για πέντε έως επτά μέρες από το ξεκίνημα της κυριαρχεί η άπτερη παρθενογενετική μορφή. Σε κάποιες κλωνικές αποικίες το ποσοστό παρθενογενετικών ατόμων στη δεύτερη γενιά ξεπερνά το 80% ενώ το μικρότερο ποσοστό ανέρχεται στο 60%. Αντιθέτως το μέγιστο ποσοστό θηλυκών πτερωτών μόλις ξεπερνά το 40%.



**Σχήμα 7.** Ποσοστά θηλυκών πτερωτων και παρθενογενετικών ατόμων δεύτερης γενιάς που εμφανίστηκαν 5-7 ημέρες μετά τη γέννηση του πρώτου ατόμου.

Ανάλογο φαινόμενο παρατηρείται και στα τελικώς παραχθέντα άτομα της δεύτερης γενιάς τα οποία εξετάστηκαν 15 ημέρες μετά τη γέννηση του πρώτου ατόμου (Σχήμα 8). Στις ανολοκυκλικές αποικίες που εξετάστηκαν, το μέγιστο ποσοστό παρθενογενετικών ατόμων ανέρχεται στο 85% ενώ το μικρότερο ανέρχεται στο 60%. Αντιθέτως, το μέγιστο ποσοστό θηλυκών πτερωτών μόλις ξεπερνά το 40% σε κάποιες κλωνικές αποικίες. Τα μικρά ποσοστά θηλυκών πτερωτών, η επικράτηση άπτερων παρθενογενετικών μορφών και η έλλειψη αρσενικών στη δεύτερη γενιά είναι χαρακτηριστικά των ανολοκυκλικών κλωνικών αποικιών. Τα θηλυκά πτερωτά στην αρχή της γενιάς είναι ελάχιστα, πληθαίνουν όμως με την πάροδο των ημερών μένοντας πάντα σε χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με τα παρθενογενετικά άπτερα.



**Σχήμα 8.** Ποσοστά θηλυκών πτερωτων και παρθενογενετικών ατόμων δεύτερης γενιάς που εξετάστηκαν 15 ημέρες μετά τη γέννηση του πρώτου ατόμου.

Από τον Πίνακα 4 είναι φανερό ότι στον ενδιάμεσο κλώνο από την Κατερίνη από βαμβάκι, που συλλέχθηκε το έτος 2002, κάθε μάνα πρώτης γενιάς δίνει ένα συγκεκριμένο αριθμό ατόμων ανά τέσσερις μέρες εκ των οποίων τα περισσότερα εξελίσσονται σε άπτερα παρθενογενετικά άτομα, ένα μικρό μέρος σε αρσενικά πτερωτά κι ένα ακόμη μικρότερο σε θηλυκά πτερωτά. Συγκεκριμένα ο μέσος όρος θηλυκών πτερωτών κυμάνθηκε από 0.50 έως 1.50, ο μέσος όρος αρσενικών κυμάνθηκε από 0.75 έως 2.20 και ο μέσος όρος παρθενογενετικών ατόμων κυμάνθηκε από 0.80 έως 5.90. Επίσης όλα τα άτομα δεύτερης γενιάς της εικοστής ημέρας εξελίχθηκαν σε άπτερα παρθενογενετικά άτομα όπως επίσης κι αυτά της εικοστής τέταρτης ημέρας εκτός από ένα που εξελίχθηκε σε θηλυκό πτερωτό.

**Πίνακας 4.** Μέσος αριθμός ατόμων δεύτερης γενιάς από μια μάνα πρώτης γενιάς ανά τέσσερις μέρες μέχρι το θάνατο της για τον ενδιάμεσο κλώνο από Κατερίνη από Βαμβάκι που συλλέχθηκε το 2002. Θ.Π=θηλυκά πτερωτά, Α.Π=αρσενικά, ΠΑΡΘ=παρθενογενετικά άτομα.

		<b>n</b>	<b>Mean</b>	<b>SE</b>
<b>4η Μέρα</b>	Θ.Π	10	1.50	0.27
	Α.Π	10	2.20	0.47
	ΠΑΡΘ	10	5.90	0.94
<b>8η Μέρα</b>	Θ.Π	10	1.20	0.36
	Α.Π	10	1.90	0.48
	ΠΑΡΘ	10	4.40	0.88
<b>12η Μέρα</b>	Θ.Π	10	0.70	0.30
	Α.Π	10	1.40	0.30
	ΠΑΡΘ	10	3.50	0.81
<b>16η Μέρα</b>	Θ.Π	8	0.50	0.27
	Α.Π	8	0.75	0.37
	ΠΑΡΘ	8	1.75	0.45
<b>20η Μέρα</b>	Θ.Π	5	0.00	0.00
	Α.Π	5	0.00	0.00
	ΠΑΡΘ	5	0.80	0.58
<b>24η Μέρα</b>	Θ.Π	1	1.00	
	Α.Π	1	0.00	
	ΠΑΡΘ	1	2.00	

n: βαθμοί ελευθερίας, Mean: μέσος όρος, SE: τυπικό σφάλμα

Στην τρίτη γενιά εκτός από παρθενογενετικά άτομα υπήρξαν και ωτόκα (ονίραραε) των οποίων τα ωά γονιμοποιούνται από τα αρσενικά. Αυτό σημαίνει ότι κάποια από τα θηλυκά πτερωτά της δεύτερης γενιάς ήταν ενδιάμεσα κι έδωσαν παρθενογενετικά άτομα και ωτόκα στην τρίτη γενιά. Συγκεκριμένα ο μέσος όρος παρθενογενετικών ατόμων κυμάνθηκε από 0.63 έως 2.10 ενώ των ωτόκων από 0.60 έως 2.00 (Πίνακας 5).

**Πίνακας 5.** Μέσος αριθμός ατόμων τρίτης γενιάς από τα θηλυκά πτερωτά δεύτερης γενιάς για τον ενδιάμεσο κλώνο από Κατερίνη από Βαμβάκι που συλλέχθηκε το 2002. ΠΑΡΘ=παρθενογενετικά άτομα, ΩΟΤΟΚΑ=ωοτόκα άτομα Θ.Π=θηλυκά πτερωτά.

		<b>n</b>	<b>Mean</b>	<b>SE</b>
<b>Θ.Π 4ης Μέρας</b>	ΠΑΡΘ	10	2.10	0.62
	ΩΟΤΟΚΑ	10	1.70	0.37
<b>Θ.Π 8ης Μέρας</b>	ΠΑΡΘ	10	2.10	0.67
	ΩΟΤΟΚΑ	10	1.00	0.42
<b>Θ.Π 12ης Μέρας</b>	ΠΑΡΘ	10	1.40	0.58
	ΩΟΤΟΚΑ	10	0.60	0.43
<b>Θ.Π 16ης Μέρας</b>	ΠΑΡΘ	8	0.63	0.42
	ΩΟΤΟΚΑ	8	0.75	0.53
<b>Θ.Π 20ης Μέρας</b>	ΠΑΡΘ	5	0.00	
	ΩΟΤΟΚΑ	5	0.00	
<b>Θ.Π 24ης Μέρας</b>	ΠΑΡΘ	1	0.00	
	ΩΟΤΟΚΑ	1	2.00	

n: βαθμοί ελευθερίας, Mean: μέσος όρος, SE: τυπικό σφάλμα.

Με βάση λοιπόν τα παραπάνω αποτελέσματα ο συγκεκριμένος κλώνος χαρακτηρίστηκε ενδιάμεσος αφού στη δεύτερη γενιά από κάθε τετραήμερο και από κάθε μάνα πρώτης γενιάς εμφανίστηκαν τέσσερις διαφορετικές μορφές απόγονων. Χαρακτηριστικά εμφανίστηκαν άπτερα παρθενογενετικά θηλυκά, πτερωτά παρθενογενετικά θηλυκά, αρσενικά και ενδιάμεσα θηλυκά πτερωτά με κυρίαρχη μορφή τα άπτερα παρθενογενετικά άτομα. Τα ενδιάμεσα θηλυκά πτερωτά έδωσαν κυρίως άπτερα παρθενογενετικά άτομα στην τρίτη γενιά και μικρότερο αριθμό ωοτόκων στην τρίτη γενιά.

## Γ) Ανθεκτικότητα

Στο τρίτο μέρος της μελέτης εφαρμόστηκε imidacloprid με τη μέθοδο Dip-test για ανίχνευση ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς του *A. gossypii* που συλλέχθηκαν από βαμβάκι, μπάμια, κολοκύθι και καρπούζι από αγρούς της βόρειας και κεντρικής Ελλάδας. Η μέση θανατηφόρος συγκέντρωση (LC<sub>50</sub>) παρουσίασε διακύμανση από 0.0042 ppm που εμφανίστηκε σε δείγμα που συλλέχθηκε από Βελεστίνο από μπάμια έως 0.0401 ppm που συλλέχθηκε από Μελίκη από βαμβάκι. Λαμβάνοντας ως ευαίσθητο τον πληθυσμό με το μικρότερο LC<sub>50</sub> διαπιστώθηκε ότι ο παράγοντας ανοχής (RR<sup>d</sup>) κυμαίνεται από 1.95 έως 9.52 (Πίνακας 6). Συγκρίνοντας τους πληθυσμούς ανά δυο με τη βοήθεια του t-test δε βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των πληθυσμών από διάφορες περιοχές και ξενιστές. Συγκεκριμένα έγινε σύγκριση των ορίων μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης (LC<sub>50</sub>) μεταξύ των πληθυσμών και διαπιστώθηκε ότι αλληλεπικαλύπτονται οπότε δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά πραγμα που υποδεικνύεται με το γράμμα A για όλους τους πληθυσμούς.

**Πίνακας 6.** Τοξικότητα πληθυσμών της αφίδας *A.gossypii* που συλλέχθηκαν από βαμβάκι, μπάμια, κολοκύθι και καρπούζι στο imidacloprid χρησιμοποιώντας τη

Περιοχή	Ξενιστής	N <sup>b</sup>	Ημερομηνία συλλογής	LC50 (ppm) (95% C.I <sup>c</sup> )	Slope	X <sup>2</sup>	P	RR <sup>d</sup>	
Μελίκη	Βαμβάκι	146	29.vii.2004	0.0401 (0.0139-0.0680)	A	1.23	1.56	0.82	9.52
Βελεστίνο	Βαμβάκι	171	3.viii.2004	0.0352 (0.0125-0.0589)	A	1.31	5.34	0.38	8.35
Βελεστίνο	Βαμβάκι	170	3.viii.2004	0.0283 (0.0086-0.0506)	A	1.32	1.29	0.94	6.73
Μελίκη	Μπάμια	163	29.vii.2004	0.0209 (0.0040-0.0408)	A	1.20	4.52	0.34	4.95
Βόλος	Κολοκύθι	165	27.viii. 2004	0.0161 (0.0055-0.0280)	A	1.28	0.93	0.97	3.81
Βελεστίνο	Βαμβάκι	194	9.viii.2004	0.0121 (0.0029-0.0226)	A	1.18	0.72	0.95	2.88
Λάρισα	Βαμβάκι	182	3.viii.2004	0.0115 (0.0023-0.0235)	A	1.02	1.29	0.94	2.72
Κατερίνη	Βαμβάκι	169	10. ix. 2004	0.0106 (0.0018-0.0218)	A	1.14	4.48	0.48	2.50
Αλμυρός	Βαμβάκι	156	12.viii. 2004	0.0105 (0.0022-0.0198)	A	1.38	2.21	0.70	2.49
Βελεστίνο	Βαμβάκι	135	27.viii. 2004	0.0104 (0.0019-0.0200)	A	1.37	0.76	0.94	2.47
Βελεστίνο	Βαμβάκι	145	27.viii. 2004	0.0099 (0.0018-0.0188)	A	1.44	0.83	0.94	2.34
Βόλος	Κολοκύθι	174	12.viii. 2004	0.0091 (0.0009-0.0219)	A	0.89	1.37	0.93	2.15
Αλεξάνδρεια	Καρπούζι	197	22.viii.2004	0.0082 (0.0012-0.0192)	A	0.96	1.23	0.98	1.95
Βελεστίνο	Μπάμια	171	9.viii.2004	0.0042 (0.0001-0.0180)	A	1.17	0.78	0.94	1.00

μέθοδο της στιγμιαίας εμβάπτισης.

b: σύνολο ατόμων για βιοδοκιμή, c: όρια εμπιστοσύνης για 95%, d: αναλογία ανθεκτικότητας ως προς τον πληθυσμό με το μικρότερο LC<sub>50</sub>.

**Πίνακας 7.** Τοξικότητα πληθυσμών της αφίδας *A.gossypii* που συλλέχθηκαν από βαμβάκι, μπάμια, κολοκύθι και καρπούζι στο pirimicarb χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της στιγμιαίας εμβάπτισης.

Περιοχή	Ξενιστής	N <sup>b</sup>	Ημερομηνία συλλογής	LC50 (ppm) (95% C.I. <sup>c</sup> )	Slope	X <sup>2</sup>	P	RR <sup>d</sup>	
Μελίκη	Μπάμια	160	29.vii.2004	140.54 (101.01-190.50)	A	1.86	2.48	0.65	111.37
Λάρισα	Βαμβάκι	148	22.vii.2004	63.28 (25.69-105.99)	A	1.11	1.27	0.87	50.15
Μελίκη	Βαμβάκι	166	29.vii.2004	11.33 (2.17-25.16)	B	0.77	5.59	0.47	8.98
Βελεστίνο	Βαμβάκι	174	3.viii.2004	6.97 (2.00-12.81)	B	1.22	0.68	0.98	5.52
Βελεστίνο	Βαμβάκι	158	3.viii.2004	4.41 (0.47-9.67)	B	1.12	1.02	0.91	3.50
Αλεξάνδρεια	Καρπούζι	169	22.viii.2004	4.23 (1.65-7.01)	B	1.45	3.03	0.70	3.35
Κατερίνη	Βαμβάκι	153	10. ix. 2004	2.95 (0.69-5.35)	B	1.48	0.56	0.97	2.34
Βελεστίνο	Βαμβάκι	182	27.viii. 2004	1.90 (0.26-4.03)	B	1.30	2.70	0.85	1.50
Βελεστίνο	Βαμβάκι	158	9.viii.2004	1.81 (0.13-4.22)	B	1.07	1.16	0.89	1.44
Βελεστίνο	Μπάμια	177	9.viii.2004	1.72 (0.12-4.54)	B	0.90	1.21	0.94	1.36
Βόλος	Κολοκύθι	200	12.viii. 2004	1.35 (0.15-4.81)	B	0.74	2.30	0.89	1.07
Λάρισα	Βαμβάκι	133	3.viii.2004	1.26 (0.17-2.39)	B	1.46	1.13	0.77	1.00

b: σύνολο σύνολο ατόμων για βιοδοκιμή, c: όρια εμπιστοσύνης για 95%, d: αναλογία ανθεκτικότητας ως προς τον πληθυσμό με το μικρότερο LC<sub>50</sub>.

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε επίσης εφαρμογή pirimicarb με τη μέθοδο Dip-test για ανίχνευση ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς του *A.gossypii* που συλλέχθηκαν από βαμβάκι, μπάμια, κολοκύθι και καρπούζι από αγρούς της βόρειας και κεντρικής Ελλάδας. Η μέση θανατηφόρος συγκέντρωση (LC<sub>50</sub>) κυμάνθηκε από 1.26 έως 140.54 ppm ενώ ο παράγοντας ανθεκτικότητας κυμάνθηκε από 1.07 έως 111.37 (Πίνακας 7). Συγκρίνοντας τους πληθυσμούς ανά δυο με τη βοήθεια του t-test βρέθηκε ότι οι πληθυσμοί από μπάμια και βαμβάκι από Μελίκη και Λάρισα αντίστοιχα διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά από τους υπόλοιπους αλλά όχι μεταξύ τους. Επίσης οι υπόλοιποι δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους. Συγκεκριμένα έγινε συγκριση των ορίων μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης (LC<sub>50</sub>) μεταξύ των πληθυσμών ανά δυο και διαπιστώθηκε ότι τα όρια των δυο πρώτων

πληθυσμών αλληλεπικαλύπτονται οπότε δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά κι αυτό υποδεικνύεται με το γράμμα Α. Επιπλέον τα όρια του τρίτου πληθυσμού με τους επόμενους πάλι αλληλεπικαλύπτονται οπότε δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά κι αυτό υποδεικνύεται με το γράμμα Β. Τέλος τα όρια του πρώτου πληθυσμού με τους επόμενους (εκτός από το δεύτερο) δεν αλληλεπικαλύπτονται οπότε παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, το ίδιο συμβαίνει και με το δεύτερο πληθυσμό και τους επόμενους του.

Τέλος, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή imidacloprid με τη μέθοδο της τοπικής εφαρμογής με τη χρήση μικροσύριγγας σε 20 κλώνους από βαμβάκι, μπάμια, κολοκύθι από βόρεια και κεντρική Ελλάδα. του *A.gossypii* Η μέση θανατηφόρος δόση ( $LD_{50}$ ) κυμάνθηκε από 0.2391 έως 0.4333 ppm ενώ ο παράγοντας ανθεκτικότητας ( $RR^d$ ) κυμάνθηκε από 1.01 έως 1.81 (Πίνακας 8). Συγκρίνοντας τους κλώνους ανά δυο με τη βοήθεια του t-test βρέθηκε ότι δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους (Πίνακας 8). Συγκεκριμένα έγινε σύγκριση των ορίων μέσης θανατηφόρου δόσης ( $LD_{50}$ ) μεταξύ των πληθυσμών και διαπιστώθηκε ότι αλληλεπικαλύπτονται οπότε δε διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά πραγμα που υποδεικνύεται με το γράμμα Α για όλους τους πληθυσμούς.



**Πίνακας 8.** Τοξικότητα κλώνων της αφίδας *A.gossypii* που συλλέχθηκαν από βαμβάκι, μπάμια, κολοκύθι στο imidacloprid χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της τοπικής εφαρμογής.

Κλώνοι	Περιοχή	Ξενιστής	N	Ημερομηνία συλλογής	LD50 (ppm) (95% C.I)	Slope	X <sup>2</sup>	P	RR <sup>d</sup>	
VELC50	Βελεστίνο	Βαμβάκι	93	27.viii. 2004	0.4333 (0.3091-0.5673)	A	3.23	3.40	0.18	1.81
VOLZ8	Βόλος	Κολοκύθι	120	12.viii. 2004	0.3390 (0.2439-0.4535)	A	2.36	1.43	0.70	1.42
MELC9	Μελίκη	Βαμβάκι	120	29.vii.2004	0.3067 (0.2202-0.4065)	A	2.47	1.67	0.65	1.28
KARC6	Καρδίτσα	Βαμβάκι	100	4 .ix. 2004	0.2988 (0.2246-0.3921)	A	2.89	3.23	0.20	1.25
VOLC7	Βόλος	Βαμβάκι	100	12.viii. 2004	0.2988 (0.2246-0.3921)	A	2.89	3.23	0.20	1.25
KTC3	Κατερίνη	Βαμβάκι	120	10.ix.2004	0.2984 (0.2249-0.3853)	A	2.93	1.97	0.58	1.24
KARC10	Καρδίτσα	Βαμβάκι	120	4 .ix. 2004	0.2922 (0.2079-0.3887)	A	2.44	1.60	0.66	1.22
MELC7	Μελίκη	Βαμβάκι	100	29.vii.2004	0.2887 (0.2216-0.3721)	A	3.19	3.26	0.20	1.21
VOLZ6	Βόλος	Κολοκύθι	100	12.viii. 2004	0.2886 (0.2184-0.3754)	A	3.01	2.69	0.26	1.21
VELOK14	Βελεστίνο	Μπάμια	120	29.vii.2004	0.2883 (0.2082-0.3784)	A	2.62	0.93	0.82	1.20
KARC7	Καρδίτσα	Βαμβάκι	117	4 .ix. 2004	0.2831 (0.2010-0.3766)	A	2.47	1.61	0.66	1.18
KTC2	Κατερίνη	Βαμβάκι	100	10 .ix. 2004	0.2787 (0.2089-0.3628)	A	2.96	2.22	0.33	1.16
VELOK 13	Βέλεστίνο	Μπάμια	120	29.vii.2004	0.2787 (0.1912-0.3752)	A	2.30	1.17	0.76	1.16
MELC11	Μελίκη	Βαμβάκι	100	29.vii.2004	0.2754 (0.1988-0.3669)	A	2.63	3.47	0.18	1.15
KTC7	Κατερίνη	Βαμβάκι	100	10 .ix. 2004	0.2696 (0.2036-0.3478)	A	3.10	1.76	0.42	1.13
KTC10	Κατερίνη	Βαμβάκι	98	10 .ix. 2004	0.2656 (0.1878-0.3559)	A	2.59	3.23	0.20	1.11
VOLZ7	Βόλος	Κολοκύθι	100	12.viii. 2004	0.2533 (0.1777-0.3389)	A	2.55	3.51	0.17	1.06
KARC9	Καρδίτσα	Βαμβάκι	100	4 .ix. 2004	0.2533 (0.1777-0.3389)	A	2.55	3.51	0.17	1.06
VELOK17	Βελεστίνο	Μπάμια	120	29.vii.2004	0.2423 (0.1581-0.3311)	A	2.19	3.06	0.38	1.01
KARC8	Καρδίτσα	Βαμβάκι	100	4 .ix. 2004	0.2391 (0.1712-0.3131)	A	2.80	1.62	0.45	1.00

b: σύνολο ατόμων για βιοδοκιμή, c: όρια εμπιστοσύνης για 95%, d: αναλογία ανθεκτικότητας ως προς τον πληθυσμό με το μικρότερο LD<sub>50</sub>.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Με την παρούσα μελέτη αποδείχθηκε η ύπαρξη μιας μορφολογικά διαφορετικής και ευρέως διαδεδομένης μορφής του *A. gossypii* που αποικίζει φυτά της οικογένειας Compositae. Ο συγκεκριμένος μορφολογικός διαχωρισμός των αφίδων που τρέφονται σε Compositae σε σχέση με εκείνες που τρέφονται σε Malvaceae και Cucurbitaceae βασίστηκε στη μέθοδο της ανάλυσης κανονικών μεταβλητών (Canonical Variance Analysis, CVA). Η συγκεκριμένη μέθοδος αποτελεί σημαντικό εργαλείο για την επίλυση προβλημάτων που αφορούν στενά συσχετιζόμενα taxa αφίδων. Η συγκεκριμένη μέθοδος εφαρμόζεται αποτελεσματικά σε παρθενογενετικές σειρές αφίδων που εκτρέφονται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες (Blackman & Spence, 1994) καθώς και σε δείγματα αγρού (Blackman & De Boise, 2002).

Η θερμοκρασία είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει τη συμμετρία ή ασυμμετρία στις αφίδες ενώ η αλληλεπίδρασή της με το γενότυπο είναι περίπλοκη (Blackman & Spence, 1994). Επιπλέον το είδος και η φυσιολογική κατάσταση του φυτού-ξενιστή μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τη μορφολογία της αφίδας (Moran, 1986; Dixon, 1998; Wool & Hales, 1997; Margaritopoulos *et al.*, 2000). Φαινοτυπική πλαστικότητα λόγω αλληλεπίδρασης περιβάλλοντος και γενοτύπου έχει αποδειχθεί στο *Myzus antirrhinii* (Macchiati) (Blackman, 1987). Το *A. gossypii* χαρακτηρίζεται από φαινοτυπική πλαστικότητα (Rosenheim *et al.*, 1994). Οι Wool & Hales (1997) βρήκαν ότι τα φυτά-ξενιστές επηρέασαν περισσότερο τη μορφολογία δειγμάτων που εξετάστηκαν από διαφορές περιοχές της Αυστραλίας από ότι οι γενετικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Στην παρούσα μελέτη βρέθηκε ισχυρή επίδραση του περιβάλλοντος στη μορφολογία, όμως σε κάποιες περιπτώσεις αποδείχθηκε ομαδοποίηση λόγω γενετικών διαφορών που σχετίζονται με τον ξενιστή. Οι Wool & Hales (1997) εξέτασαν δείγματα του *A. gossypii* από την Αυστραλία, κυρίως από βαμβάκι, ιβίσκο, *Helianthus annuus* L. (Compositae), *Clerodendron sp.* (Verbenaceae) και μελιτζάνα. Δεν βρήκαν μορφολογική διαφοροποίηση ανάμεσα σε αφίδες από *Helianthus annuus* κι άλλους ξενιστές. Συμπέραναν λοιπόν ότι η μορφολογία των αφίδων επηρεάστηκε περισσότερο από το φυτό-ξενιστή που εκτράφηκαν παρά από γενετικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων. Είναι πιθανό το *A.*

*gossypii* που εισήλθε στην Αυστραλία να έχει λιγότερη γενετική παραλλακτικότητα και μάλλον δεν περιλαμβάνει τη μορφή που είναι προσαρμοσμένη στο χρυσάνθεμο. Έτσι, θα μπορούσε να εξηγηθεί και το μη αναμενόμενο αποτέλεσμα του δείγματος από *C. tinctorius* από τη Βραζιλία στην παρούσα μελέτη.

Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι τα δείγματα από *H. syriacus* (Malvaceae) από Σερβία και *S. vulgaris* (Compositae) από το Λίβανο ομαδοποιήθηκαν μαζί έξω από τις δυο βασικές ομάδες (Σχήμα 3, 4α). Με περαιτέρω εξέταση των μόνιμων παρασκευασμάτων τους παρατηρήθηκε ότι τα δείγματα αφίδων έχουν χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη δημιουργία πτερωτών ατόμων. Έτσι, παρόλο που ήταν άπτερα παρατηρήθηκε σκληρητινοποίηση στο θώρακα, σκούρου χρώματος cauda και σχετικά μακριές κεραίες. Ο πολυμορφισμός των πτερωτών είναι ένας περίπλοκος παράγοντας στη μορφολογία των αφίδων αφού τα πτερωτά διαφέρουν από τα άπτερα όχι μόνο λόγω της ύπαρξης πτερών αλλά και σε πολλά μορφολογικά χαρακτηριστικά. Τα πτερωτά αναπτύσσονται κάτω από συγκεκριμένες περιβαλλοντικές συνθήκες. Έτσι οι αποικίες αφίδων που βρίσκονται σε ενδιάμεσες συνθήκες κατά το κρίσιμο στάδιο ανάπτυξης μπορεί να δώσουν άτομα ενδιάμεσα μεταξύ άπτερων και πτερωτών. Αυτή η ενδιάμεση κατάσταση πιθανό να επιφέρει συσχετίσεις χαρακτηριστικών με τιμές κανονικών μεταβλητών (CV ή KM) που τοποθετούνται μαζί κι έξω από τις κύριες ομάδες των άπτερων.

Η μοναδική ομαδοποίηση που βρέθηκε με την παρούσα μελέτη είναι αυτή που διαχωρίζει τις αφίδες που τρέφονται σε Compositae από αυτές που δεν τρέφονται σε Compositae. Οι αφίδες που συλλέχθηκαν από Malvaceae και Cucurbitaceae από την Ελλάδα, την Αγγλία και τη Σερβία (εκτός από το δείγμα αγρού από *H. syriacus* από τη Σερβία) τοποθετήθηκαν στην ίδια ομάδα. Αυτό υποδηλώνει ότι οι ίδιοι γενότυποι αποικίζουν και τις δυο παραπάνω οικογένειες. Διαφοροποίηση για την ίδια αφίδα έχει βρεθεί και μεταξύ διαφορετικών οικογενειών φυτών από αυτές που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη. Για παράδειγμα, οι Zhang & Zhong (1990) βρήκαν στη Κίνα ότι οι ανολοκυκλικοί γενότυποι σχετίζονταν με το αγγούρι ενώ οι ολοκυκλικοί με το βαμβάκι. Επιπλέον, οι Vanlerberghe-Masutti & Chavigny (1998) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο RAPD-PCR απέδειξαν γενετική διαφοροποίηση ανάμεσα σε δυο δείγματα από Malvaceae (βαμβάκι και ιβίσκος) και δείγματα από διάφορα είδη της οικογένειας Cucurbitaceae. Επιπλέον διέθεταν ένα δείγμα από χρυσάνθεμο, το οποίο ήταν στην ίδια ομάδα με τα δυο δείγματα από Malvaceae σε αντίθεση με την παρούσα έρευνα.

Οι δυο μορφές που εντοπίστηκαν με την παρούσα έρευνα είναι γενετικά απομονωμένες ή μια από την άλλη κι αυτό γιατί οι μορφολογίες τους, που σχετίζονται με το φυτό-ξενιστή είναι σταθερές στο χώρο και το χρόνο. Συγκεκριμένα η μορφή που τρέφεται σε Compositae περιλαμβάνει δείγματα που συλλέχθηκαν τα τελευταία 40 χρόνια. Οι δυο μορφές θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως διαφορετικές φυλές ξενιστή του *A. gossypii* (Dres & Mallet, 2002). Διαφοροί συγγραφείς (Rakauskas, 2004; Blackman & Eastop, in press) υποστήριξαν ότι στην περίπτωση σημαντικών εντομολογικών έγχθρών είναι σημαντικό οι ενδοειδικές μορφές με σταθερές, αναγνωρίσιμες και οικονομικά σημαντικές ιδιότητες να προσδιορίζονται στη βιβλιογραφία με επίσημα, ενδεικτικά Λατινικά ονόματα. Είναι γενικώς αποδεκτό ότι στην προκειμένη περίπτωση ενδείκνυται η χρήση της κατηγορίας του υποείδους. Όμως, λόγω της εμφανούς πολυπλοκότητας των σχέσεων εντός της ομάδας *A. frangulae/gossypii*, προτείνουμε ότι χρειάζεται περαιτέρω ξεκαθάρισμα των σχέσεων ανάμεσα στις δυο μορφές κυρίως σε σχέση με τον πρωτεύοντα ξενιστή. Προς το παρόν επισημαίνουμε ότι το *A. gossypii* περιγράφηκε αρχικά από το βαμβάκι στη Β. Αμερική (Glover, 1877). Έτσι, η μορφή που τρέφεται στα Cucurbitaceae/Malvaceae μπορεί να περιγραφεί ως *A. gossypii sensu stricto*. Αν στο μέλλον αποδειχθεί ότι χρειάζεται κάποιο επίσημο όνομα για τη μορφή που τρέφεται στα Compositae το πιο κατάλληλο θα ήταν *A. gossypii parvus* Theobald. Το *Aphis parvus* περιγράφηκε σε καλλιεργούμενο χρυσάνθεμο στην Αίγυπτο (Theobald 1915).

Η επικρατούσα μορφή του *A. gossypii* στην Ευρώπη είναι η ανολοκυκλική. Μάλιστα πρόκειται για το μόνο μέλος της ομάδας *A. frangulae* που δεν έχει σεξουαλική φάση στο *Rhamnus frangula* και διαχειμάζει ως παρθενογενετικό θηλυκό σε προστατευμένες θέσεις. Όμως, ο Krings, (1959) ανέφερε ολοκυκλικότητα για το *A. gossypii* στο Connecticut των Η.Π.Α., το οποίο χρησιμοποιεί ως πρωτεύοντες ξενιστές το *Catalpa bignonioides* και το *Hibiscus syriacus*. Οι Inaizumi (1980), Zhang & Zhong (1990) ανέφεραν πληθυσμούς *A. gossypii* στην Ιαπωνία και Κίνα αντίστοιχα, που επίσης διαχειμάζουν ως ωά σε διάφορα μη συγγενή φυτά (*Rhamnus spp.*, *Zanthoxylum simulans*, *Celastrus orbiculatus*, *Rubia cordifolia*, *Punica granatum* και *H. Syriacus*). Επιπλέον οι Takada & Murakami (1988) ανέφεραν παραλλακτικότητα στο βιολογικό κύκλο Ιαπωνικών κλώνων και εντόπισαν τέσσερις διαφορετικές μορφές (ολοκυκλικούς, ενδιάμεσους, ανδροκυκλικούς και ανολοκυκλικούς).

Με βάση τα αποτελέσματα του δεύτερου μέρους της παρούσας μελέτης που αφορά το βιολογικό κύκλο κλώνων αφίδων που συλλέχθηκαν το έτος 2002 από περιοχές της βόρειας και κεντρικής Ελλάδας από βαμβάκι, ιβίσκο και καρπούζι, το έτος 2003 από χρυσάνθεμο, ζωχό και ντάλια και το 2004 από περιοχές της βόρειας και κεντρικής Ελλάδας από βαμβάκι, κολοκύθι, μπάμια και ζωχό, η έλλειψη σεξουαλικής αναπαραγωγής είναι το κύριο χαρακτηριστικό στο βιολογικό κύκλο του *A. gossypii* στην Ελλάδα. Αυτό συμφωνεί με αντίστοιχες έρευνες που έγιναν σε πληθυσμούς ή κλώνους του *A. gossypii* στην Ευρώπη. Επομένως το *A. gossypii* στην Ελλάδα, όπως ακριβώς και στην υπόλοιπη Ευρώπη αναπαράγεται καθ' όλη τη διάρκεια του βιολογικού του κύκλου κυρίως παρθενογενετικά (αγενώς) και διαχειμάζει ως παρθενογενετικό θηλυκό.

Η παρθενογενετική αναπαραγωγή παρατηρήθηκε σε όλες τις περιπτώσεις ανεξάρτητα από την περιοχή συλλογής και τον ξενιστή είτε αυτός είναι πρωτεύοντας (βαμβάκι, καρπούζι, μπάμια, ιβίσκος, κολοκύθι, ντάλια) είτε είναι δευτερεύοντας (ζιζάνιο-ζωχός). Εξαιρεση αποτελεί ο κλώνος που συλλέχθηκε το 2002 από βαμβάκι από την Κατερίνη, ο οποίος είναι ενδιάμεσος. Η συγκεκριμένη μορφή αναφέρεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα. Από την περιοχή της Κατερίνης από χωράφια με βαμβάκι συλλέχθηκαν δείγματα αφίδων από τα οποία έγιναν κλώνοι και κατά το έτος 2004. Οι συγκεκριμένοι κλώνοι όμως ήταν ανολοκυκλικοί.

Η εύρεση ενδιάμεσης μορφής για πρώτη φορά στην Ελλάδα η οποία εμφανίστηκε σε βαμβάκι στη Β. Ελλάδα αποτελεί κίνητρο περαιτέρω έρευνας του βιολογικού κύκλου του *A. gossypii*. Είναι σημαντικό να παρακολουθείται σε εργαστηριακό επίπεδο κάθε χρόνο ο βιολογικός κύκλος κλώνων από διάφορους ξενιστές από διάφορες περιοχές της Ελλάδας και κυρίως από Κατερίνη από βαμβάκι γιατί είναι πιθανό να εμφανιστεί ξανά ο συγκεκριμένος γενότυπος χωρίς να αποκλείεται η εύρεση ενδιάμεσων μορφών ή ολοκυκλικών μορφών και σε άλλες περιοχές με βαμβάκι. Τέλος, κρίνεται σκόπιμο να γίνει έρευνα όσο το δυνατόν περισσότερων πληθυσμών, μπορεί η συχνότητα ενδιάμεσων μορφών να είναι μικρή αλλά χρειάζεται περαιτέρω κι εντατική έρευνα.

Το *A. gossypii* έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε πολλά εντομοκτόνα κι έχουν διαπιστωθεί πολλοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας που χρησιμοποιεί η αφίδα για να επιβιώσει. Στην Ελλάδα έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά και πυρεθρίνες, όμως τα καρβαμιδικά δίνουν προστασία (Ιωαννίδης Φ.Μ., 1999). Τα

αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, όσον αφορά το pirimicarb, επιβεβαιώνουν την παραπάνω άποψη για τα ελληνικά δεδομένα. Αντίθετα οι Nauen & Elbert, 2003 διαπίστωσαν ισχυρή ανθεκτικότητα στο pirimicarb εξετάζοντας κλώνους που συλλέχθηκαν το 2001 από διάφορες Ευρωπαϊκές χώρες, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας, χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Leaf-dip test. Οι πολύ χαμηλές τιμές μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης σε σχέση με τη συνιστώμενη δόση (250ppm), με εξαίρεση τους πληθυσμούς από Μελίκη από μπάμια και από ένα χωράφι από τη Λάρισα από βαμβάκι, που προέκυψαν από την παρούσα μελέτη υποδηλώνουν έλλειψη ανθεκτικότητας για το pirimicarb. Βέβαια, οι υψηλότερες τιμές των δυο περιπτώσεων που προαναφέρθηκαν είναι μικρότερες από τη συνιστώμενη δόση. Συγκεκριμένα η υψηλή τιμή μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης (LC<sub>50</sub>), στην περιοχή της Μελίκης όπου καλλιεργείται μπάμια υποδηλώνει κάποιο επίπεδο ανοχής λόγω αλλόγιστης χρήσης του εντομοκτόνου στην καλλιέργεια. Στην προκειμένη περίπτωση ο παραγωγός χρησιμοποιεί το εντομοκτόνο σε υψηλή ποσότητα και συχνότητα, χωρίς υψηλό κόστος για να επιτύχει καλύτερη αντιμετώπιση με κίνδυνο την ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Βέβαια, επειδή κατά την παρούσα μελέτη πάρθηκε δείγμα από ένα χωράφι με μπάμια από την περιοχή της Μελίκης (μη αντιπροσωπευτικό δείγμα) κρίνεται σκόπιμο να μη γενικευθεί ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας του *A. gossypii* στο pirimicarb για την καλλιέργεια της μπάμιας στην περιοχή της Μελίκης. Τέλος, η υψηλή τιμή μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης κι ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας αφορά μια μεμονωμένη περιοχή του νομού Λάρισας, με καλλιέργεια βαμβακιού από όπου συλλέχθηκε το δείγμα. Το άλλο δείγμα που πάρθηκε από βαμβάκι από την περιοχή της Λάρισας παρουσίασε χαμηλή τιμή μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης όπως επίσης χαμηλή τιμή μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης βρέθηκε και σε πληθυσμούς άλλων περιοχών της κεντρικής Ελλάδας. Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι σε αντίστοιχο πείραμα ανθεκτικότητας που πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο εντομολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τα έτη 2004-2005, με τη μέθοδο της στιγμιαίας εμβάπτισης σε δείγματα του *M. persicae* από καλλιέργεια ροδακινιάς από τη βόρεια και κεντρική Ελλάδα και από καλλιέργεια καπνού από τη βόρεια, κεντρική και νότια Ελλάδα επιβεβαιώθηκε παρατηρήθηκε ύπαρξη ανθεκτικότητας στα καρβαμιδικά και συγκεκριμένα στο pirimicarb. Στην καλλιέργεια του καπνού για τη συγκεκριμένη ομάδα εντομοκτόνων βρέθηκε να λαμβάνει το LC<sub>50</sub> τιμή μέχρι και έξι φορές υψηλότερη της συνιστώμενης δόσης. Στη ροδακινιά το pirimicarb επίσης εμφανίστηκε μέχρι και έξι φορές μεγαλύτερο.

Η κατηγορία των νεονικοτινοειδών με κύριο εκπρόσωπο το imidacloprid είναι η μόνη κατηγορία εντομοκτόνων που δεν επηρεάζεται από κάποιο μηχανισμό ανθεκτικότητας τουλάχιστον σε ευρωπαϊκό επίπεδο (Elbert *et al.*, 1991, 1998; Nauen *et al.*, 2001; Horowitz & Denholm, 2001). Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας συμφωνούν με την παραπάνω άποψη. Συγκεκριμένα οι τιμές μέσης θανατηφόρου συγκέντρωσης (LC<sub>50</sub>), που βρέθηκαν είναι αρκετά χαμηλές ανεξάρτητα από την περιοχή συλλογής και τον ξενιστή. Αυτό γίνεται φανερό τόσο από τα αποτελέσματα που πάρθηκαν με τη μέθοδο της στιγμιαίας εμβάπτισης σε δείγματα αφίδων από διάφορους ξενιστές και περιοχές της βόρειας και κεντρικής Ελλάδας όσο και από τα αποτελέσματα που πάρθηκαν με τοπική εφαρμογή σε κλώνους από διάφορους ξενιστές που συλλέχθηκαν από τη βόρεια και κεντρική Ελλάδα. Η έλλειψη ανθεκτικότητας για το imidacloprid υποδηλώνει απουσία ή μικρή συχνότητα γονιδίων ικανών να προσδώσουν ανθεκτικότητα. Πρακτικά η έλλειψη ανθεκτικότητας στο imidacloprid οφείλεται στο ότι δεν εφαρμόζεται από τους παραγωγούς σε εκτατικές καλλιέργειες, όπως το βαμβάκι λόγω του υψηλού κόστους που το καθιστά ασύμφορο. Επιπλέον τα νεονικοτινοειδή είναι μια καινούργια σχετικά ομάδα εντομοκτόνων η οποία αποκλίνει από τα παραδοσιακά εντομοκτόνα (π.χ οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά) και δεν συνιστάται από τους γεωπόνους, οι οποίοι έχουν την τάση να προσκολλώνται σε παλιά-παραδοσιακά γεωργικά φάρμακα συστήνοντάς τα στον παραγωγό ανεξάρτητα αν είναι αποτελεσματικά ή όχι. Αυτό αποτελεί μια καλή εξήγηση έλλειψης ανθεκτικότητας ακόμη και σε μικρής έκτασης καλλιέργειες όπως είναι τα κολοκυνθοειδή. Τέλος, είναι από τα πλέον αποτελεσματικά εντομοκτόνα ως διασυστηματικά. Εδώ να σημειωθεί ότι στο πείραμα ανθεκτικότητας που έγινε, όπως προαναφέρθηκε, στο εργαστήριο εντομολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας τα έτη 2004-2005 με τη μέθοδο της στιγμιαίας εμβάπτισης εφαρμόστηκε το εντομοκτόνο imidacloprid σε κλώνους του *M. persicae* που συλλέχθηκαν από καλλιέργεια ροδακινιάς από τη βόρεια και κεντρική Ελλάδα και από καλλιέργεια καπνού από τη βόρεια, κεντρική και νότια Ελλάδα και αποδείχθηκε ότι η μέγιστη τιμή του παράγοντα ανοχής (RR) ήταν 9 στους κλώνους που προήλθαν από ροδακινιές και 75,7 σε εκείνους που προήλθαν από καπνό. Στην περίπτωση του καπνού, σύγκριση με τον US1L, γνωστό ευαίσθητο κλώνο προερχόμενο από την καλλιέργεια ζαχαροτεύτλων στην Αγγλία το 1974 (Foster *et al.* 2003), έδειξε την εμφάνιση πληθυσμών ανεκτικών στο imidacloprid. Ωστόσο, βρέθηκαν και δύο κλώνοι με μεγαλύτερη ευαισθησία στο σκεύασμα. Στην περίπτωση της ροδακινιάς, κλώνοι

περισσότερο ευαίσθητοι στο εντομοκτόνο από τον US1L βρέθηκαν σε ποσοστό 78 % του συνολικού αριθμού των δειγμάτων που εξετάστηκαν. Τα αποτελέσματα αυτά κάνουν σαφή τη διαφοροποίηση της συμπεριφοράς του εντόμου στις δύο καλλιέργειες. Η διαφορά αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί σύμφωνα με τους Devonshire *et al.* (1999) στην ανοχή στη νικοτίνη ως αποτέλεσμα της συνεχούς εκτροφής του εντόμου στον καπνό. Επιπλέον όμως, πέρα από την ανοχή στη νικοτίνη, είναι λογικό οι πληθυσμοί που μεταναστεύουν από τον πρωτεύοντα ξενιστή, που είναι η ροδακινιά, στο δευτερεύοντα, που είναι ο καπνός, να είναι αυτοί που επέζησαν μετά από επαναλαμβανόμενες εφαρμογές γεγονός που καθιστά την απαιτούμενη αυτή συγκέντρωση για την καταπολέμηση του πληθυσμού, υψηλότερη.

Η κατηγορία βιολογικού κύκλου, η φαινοτυπική παραλλακτικότητα που σχετίζεται με τα φυτά-ξενιστές και η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα είναι τρία σημαντικά θέματα άμεσα συσχετιζόμενα. Συγκεκριμένα, παρθενογενετικές σειρές αφίδων του *A.gossypii* από αγγούρι και χρυσάνθεμο παρουσίασαν διαφορετική αντίδραση στο pirimicarb (Furk *et al.*, 1980). Επίσης ο Saito (1989) εξέτασε 39 πληθυσμούς του *A.gossypii* από διαφορετικά φυτά-ξενιστές προκειμένου να εντοπίσει ή όχι ανθεκτικότητα στις οργανοφωσφορικές ενώσεις και βρήκε ότι οι αφίδες που βρέθηκαν σε αγγούρι, χρυσάνθεμο και φράουλα παρουσίασαν υψηλότερη ανθεκτικότητα από αυτές που βρέθηκαν σε πατάτα, μελιτζάνα και ιβίσκο. Άλλωστε, όταν δημιουργούνται όμοζυγα άτομα ως προς κάποιο γονίδιο ανθεκτικότητας, η παρθενογένεση τους επιταχύνει την εμφάνιση ανθεκτικότητας με εξάρσεις πληθυσμών κατά την καλλιεργητική περίοδο. Στην περίπτωση του *A. gossypii* οι πολλές παρθενογενετικές γενιές κατά τη διάρκεια του έτους ευνοούν τη δημιουργία πολλών απογόνων που φέρουν το γονίδιο ανθεκτικότητας σε ομοζυγωτή κατάσταση, εφόσον αυτό προϋπάρχει στον αρχικό πληθυσμό σε ομόζυγη κατάσταση, πράγμα που οδηγεί σε εξάρσεις ανθεκτικών πληθυσμών. Τα παραπάνω θέματα καθώς και η μεταξύ τους σχέσεις απαιτούν περαιτέρω έρευνα. Κρίσιμη κρίνεται η παρακολούθηση και εξέταση της ανθεκτικότητας (σε διάφορα εντομοκτόνα) ολοκυκλικών ή ενδιάμεσων κλωνικών αποικιών ή πληθυσμών του είδους και σύγκριση των αποτελεσμάτων με αυτά που πάρθηκαν με ανολοκυκλικές κλωνικές αποικίες ή πληθυσμούς για τα αντίστοιχα εντομοκτόνα. Η τυχόν διαπίστωση ανοχής πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπόψη στη στρατηγική αντιμετώπισης ανθεκτικότητας.

Τελειώνοντας να σημειωθεί ότι με την παρούσα εργασία αποδείχθηκε η ύπαρξη συγκεκριμένης φυλής-ξενιστή του *A.gossypii* που αποικίζει το χρυσάνθεμο



ενώ παράλληλα εντοπίστηκε ενδιάμεσος πληθυσμός του που προήλθε από την περιοχή της Κατερίνης από βαμβάκι. Με βάση αυτό αναμένεται η εμφάνιση στην Ελλάδα, εκτός των κλασικών ανολοκυκλικών πληθυσμών κι ενδιάμεσων ή/και ολοκυκλικών. Τέλος εξετάστηκε η ύπαρξη ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα imidacloprid και pirimicarb με δυο διαφορετικές μεθόδους. Τελικά αποδείχθηκε ότι τα συγκεκριμένα εντομοκτόνα σε γενικές γραμμές είναι αποτελεσματικά. Βέβαια το συγκεκριμένο θέμα απαιτεί περαιτέρω έρευνα κατά την οποία θα χρησιμοποιηθούν περισσότερα δείγματα και κλωνικές αποικίες από περισσότερες περιοχές της βόρειας, κεντρικής και νότιας Ελλάδας καθώς και εφαρμογή περισσότερων εντομοκτόνων από διάφορες χημικές οικογένειες. Σημαντική κρίνεται και η μελλοντική μελέτη, σε εργαστηριακό επίπεδο, της φαινοτυπικής παραλλακτικότητας δειγμάτων ή/και κλωνικών αποικιών του *A. gossypii* από διάφορα φυτά-ξενιστές και διάφορα μέρη του κόσμου προκειμένου να εντοπισθούν συγκεκριμένες φυλές-ξενιστή και να προσδιοριστούν υποείδη του. Τέλος, εξίσου σημαντική είναι η μελλοντική μελέτη σε εργαστηριακό επίπεδο, κλωνικών αποικιών από διάφορους ξενιστές, από διάφορα μέρη του κόσμου προκειμένου να εντοπισθούν πληθυσμοί που η κατηγορία του βιολογικού τους κύκλου να παρεκκλίνει από την τυπική ανολοκυκλικότητα που επικρατεί στην Ελλάδα.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Anon.** (1977) Experiments on the control of resistant cotton aphids with omethoate. *Acta Entomologica Sinica*, **20**, 479-481.
- Bardakci, F. Skibinski, D.O.F.** (1994) Application of the rapid technique in *Tilapia* fish-species and subspecies identification *Heredity*, **73**, 117-123.
- Bernays, R. and Graham, M.** (1988) On the evolution of host specificity in phytophagous arthropods. *Ecology*, **69**, 886-892.
- Blackley,** (1982) Biotic unpredictability and sexual reproduction: Do aphid genotypic-host genotype interactions favour aphid sexuality? *Oecologia*, **52**, 396-399.
- Blackman, R.L.** (1971) Variation in the photoperiodic response within natural populations of *Myzus persicae* (Sulzer). *Bulletin of Entomological Research*, **60**, 533-546.
- Blackman, R.L.** (1980) Chromosomes and parthenogenesis in aphids. pp. 133-148. *In* Blackman, R.L., Hewitt, G.M. & Ashburner, M. (Eds), *Insect Cytogenetics*. Blackwell, Oxford:
- Blackman, R.L.** (1987) Morphological discrimination of a tobacco-feeding form from *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) and a key to New World *Myzus* (*Nectarosiphon*) species. *Bulletin of Entomological Research*, **77**, 713-730.
- Blackman, R.L.** (1988) Rearing and Handling Aphids. *in* Minks, A.K. & Harrewijn, P. (Eds.). *World Crop Pests, Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control*. Volume B, Elsevier, Amsterdam.
- Blackman, R.L.** (1992) The use of ordination techniques to discriminate within pest aphid species complexes. pp. 261-275. *in* Sorensen, J.T. & Footit R. (Eds). *Ordination in the Study of Morphology, Evolution and Systematic of Insects*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Blackman, R.L. & Spence, J.M.** (1992) Electrophoretic distinction between the peach-potato aphid *Myzus persicae* and the tobacco aphid *Myzus nicotianae* (Homoptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, **82**, 161-165

- Blackman, R.L. & Spence, J.M.** (1994) The effects of temperature on aphid morphology, using a multivariate approach. *European Journal Entomology*, **91**, 7-22
- Blackman R.L & Eastop V.F.** (2000) Aphids on the World's Crops. An Identification And Formation Guide. Second Edition. John Wiley & Sons, London.
- Blackman R.L & Eastop V.F.** (in press) Taxonomic Issues. In Van Emden, H.F. & Harrington, R. (Eds). *Aphids as Crop Pests*. CAB International, Wallingford, U.K.
- Blackman, R.L, Eastop, V.F. & Hills M.** (1977) Morphological and cytological separation of *Amphorophora-Buckton* (Homoptera: Aphididae). Feeding on European raspberry and blackberry (*Rubus spp.*). *Bulletin of Entomological Research*, **67**, 285-296.
- Blair W.F.** (1955) Mating call and stage of speciation in the *Microphyla olivacea-M. carolinensis* complex. *Evolution*, **9**, 469-480.
- Börner C.** (1939) Anfälligkeit, Resistenz und Immunität der Reben gegen Reblaus. Allgemeine Gesichtspunkte zur Frage der Spezialisierung von Parasiten; die harmonische Beschränkung des Lebensraums. *Zeitschrift für Hygiene Zoologie Schädlingsbekämpfung*, **31**, 274-285, 301-308, 325-334.
- Boyce A. M.** (1928) Studies on the resistance of certain insects to hydrocyanic acid. *Journal of Economic Entomology* **21**, 715-720.
- Breiman, L., Friedman, J.H., Olson, R.A., & Stone, C.J.** (1984) *Classification and Regression Trees*. Wadsworth, Belmont, CA.
- Brooks, D.R. & McLennan, D.A.** (1991) *Phylogeny, Ecology and Behaviour*. University of Chicago Press, Chicago.
- Bush, G.L.** (1975) Sympatric speciation in phytophagous parasite insects. pp. 187-206. In Price, P.W. (Eds), *Evolutionary Strategies of Parasitic Insects and Mites*. Plenum, New York.
- Butlin, R.K.** (1990) Divergence in emergence time of host races due to differential gene flow. *Heredity*, **65**, 47-50.
- Caillaud, M.C** (1999) Behavioural correlates of genetic divergence due to host specialization in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **91**, 227-232.
- Campbell, C.A.M., Dawson, G.W., Griffiths, D.C., Pettersson, J., Pickett, J., Wadhams, L.J. & Woodcock, C.M.** (1990) The sex attractant pheromone of

- the damson-hop aphid *Phorodon humuli* (Homoptera: Aphididae). *Journal of Applied Ecology*, **16**, 3455-3465.
- Cenis J.L., Perez P. & Fereres A. 1993.** Identification of aphid (Homoptera: Aphididae) species and clones by Random Amplified Polymorphic DNA. *Annals of the Entomological Society of America*, **86**, 554-550.
- Chatfield C. & Collins A.J.** (1995) *Introduction To Multivariate Analysis*. Chapman & Hall, London.
- Chang G.S. & Zhong T.S.** (1966) Studies on systox-resistance in various morphs of *Aphis gossypii* Glover. *Acta Entomologica Sinica*, **15**, 201-216.
- Cognato A.I., Rogers S.O., Teale S.A.** (1995) Species diagnosis and phylogeny of the *Ips grandicollis* group (Coleoptera: Scolytidae) using random amplified polymorphic DNA. *Annals of Entomological Society of America*, **88**, 397-405.
- Collins, M.D. & Dixon, A.F.G.** (1986) The effect of egg depletion on the foraging behaviour of an aphid parasitoid. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **102**, 342-352.
- Cottier, W.** (1953) Aphids of New Zealand. *Bull. NZ Dep. Scient. Ind. Res*, **106**, 382pp.
- Dahl, M.L.** (1968) Biologische und morphologische Untersuchungen bei dem Formenkreis der schwarzen Kirchenlaus *Myzus cerasi* (F.) (Homoptera: Aphididae) *Deutsche Entomologische Zeitschrift, NF*, **15**, 281-312.
- Delorme, R., Auge, D., Bethenod, M.T. & Villatte F.** (1997) Insecticide resistance in a strain of *Aphis gossypii* from Southern France. *Pestical Science*, **49**, 90.
- Digby, P.G.N. & Kempton, R.A.** (1994) *Multivariate Analysis of Ecological Communities*. Chapman and Hall, London.
- Dixon, A.F.G.** (1973) Metabolic acclimatization to seasonal changes in temperature in sycamore aphid *Drepanosiphum platanoides* (SCHR) and lime aphid *Eucallipterus tiliae*. *L. Oecologia*, **13**, 205-210.
- Dixon, A.F.G.** (1994) Individuals, populations and patterns. pp. 449-476. In Leather, S.R., Watt, A.D., Mills, W.J. & Walters, K.F.A. (Eds), *Individuals, Populations and Patterns in Ecology*. Intercept, Andover.
- Dixon, A.F.G.** (1998) *Aphid Ecology*. Second Edition, Chapman and Hall, London, U.K.
- Dixon, A.F.G. & Kundu, R.** (1994) Ecology of host alternation in aphids. *European Journal of Entomology*, **91**, 63-70.

- Dobzhansky, T.** (1940) Speciation as a stage in evolutionary divergence. *American Naturalist*, **74**, 312-321.
- Dobzhansky, T.** (1951) *Genetics and the Origin of Species*. Third Edition, Columbia University Press, New York.
- Dres, M. & Mallet, J.** (2002) Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B* **357**, 471-492.
- Eastop, V.F.** (1958) A study of the Aphididae of East Africa. *Colonial Research Publication*, HMSO London, 126pp.
- Eastop, V.F.** (1973) Deductions from the present day host plants of aphids and related insects. In *Insect/Plant Relationships. Symposium of the Royal Entomological Society*. London. Vol. 6, pp. 157-178.
- Elbert, A., Becker, B., Hartwig, J. & Erdelen, C.** (1991) Imidacloprid-a new systematic insecticide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*, **44**, 113-136.
- Elbert, A., Nauen, R. & Leicht, W.** (1998) Imidacloprid, a novel chloronicotinyl insecticide, biological activity and agricultural importance. *Insecticides with novel modes of action, mechanism and application.*(Eds), 50-73.
- Ehrlich, P.R. & Raven, P.H.** (1964) Butterflies and plants: a study in coevolution. *Evolution*, **18**, 586-608.
- Field, L.M., Javed, N., Stribley, M.F. & Devonshire, A.L.** (1994) The peach-potato aphid *Myzus persicae* and the potato aphid *Myzus nicotianae* have the same esterase-based mechanisms of insecticide resistance. *Insect molecular Biology*, **3**, 143-148.
- Footit, R.C. & Bonen L.** (1990) Analysis of aphid species using mitochondrial DNA techniques. In Peters, D.C., Webster, J.A. & Chlouber, C.S. (Eds.). *Proceedings, Aphid-plant Interactions: Populations to Molecules*. Oklahoma State University, Stillwater.
- Footit RG, Mackauer, J.** (1990) Morphometric variation within and between populations of the pine aphid, *Cinara nigra* (Wilson) (Homoptera: Aphidoidea, Lachnidae). *Western North America Canadian Journal Of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **68**, 1410-1419
- Forster C, Ott G, Forchhammer K & Sprinzl M.** (1990) Interaction of a selenocysteine-incorporating transfer-RNA with elongation factor-TU from *Escherichia coli*. *Nucleic Acids Research*, **18** ,487-491.

- Furk C., Powell D.F. & Heyd S.,** (1980) Pirimicarb resistance in the melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *Plant pathology*, **29**, 191-196.
- Futuyma, D.J. & Phillippi, T.E.** (1987) Genetic variation and covariation in responses to host plants by *Alsophila pometaria* (Lepidoptera: Geometridae). *Evolution*, **41**, 269-279.
- Ghong, K., Zhang, G. & Zhai, G.** (1964) Resistance of cotton aphids to demeton. *Journal of Entomology*, **13**, 1
- Gould, F.** (1979) Rapid host range evolution in a population of the polyphagous mite *Tetranychus urticae*. *Evolution*, **33**, 791-802.
- Gruppe, A.** (1988) Electrophoretische Untersuchungen zur Unterscheidung der Subspecies von *Myzus cerasi* F. (Hom., Aphididae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **105**, 460-465.
- Guldemond, J.A.** (1990a) *On aphids, their host plants and speciations*. PhD Thesis, Wageningen University, The Netherlands.
- Guldemond, J.A.** (1990b) Choice of host plant as a factor in reproductive isolation of the aphid genus *Cryptomyzus* (Homoptera: Aphididae). *Ecological Entomology*, **15**, 43-51.
- Guldemond, J.A.** (1990c) Evolutionary genetics of the aphid *Cryptomyzus* with a preliminary analysis of the inheritance of host preference, reproductive performance and host alternation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **57**, 65-76.
- Guldemond, J.A.** (1991a) Biosystematic and morphometric study of the *Cryptomyzus galeopsidis alboapicalis* complex (Homoptera: Aphididae), with a key to and notes on the *Cryptomyzus* species of Europe. *Netherlands Journal of Zoology*, **41**, 1-31.
- Guldemond, J.A.** (1991b) Host plant relationships and life cycles in the aphid genus *Cryptomyzus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **58**, 21-30.
- Guldemond J.A. & Dixon, A.F.G.** (1994) Specificity and daily cycle of release of sex pheromones in aphids: a case of reinforcement? *Biological Journal of the Linnean Society*, **52**, 287-303.
- Guldemond, J.A., Dixon, A.F.G., Pickett, J.A. Wadhams, L.J., & Woodcock, C.M.** (1993) Specificity of sex pheromones and the role of host plant odour in the olfactory attraction of males and mate recognition in the aphid *Cryptomyzus*. *Physiological Entomology*, **18**, 137-143.

- Guldmond, J.A., Wouter T. T. & De Vrijer P.W.F.** (1994) Host Races of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) on Cucumber and Chrysanthemum. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **23**, 1235-1240.
- Hama, H. & Hosada, A.** (1988) Individual variation of aliesterase activity in field populations of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). *Applied Entomology and Zoology*, **23**, 109.
- Hama, H., Ando, S., Hosada, A., Suzuki, K. & Takagi, Y.** (1995) Insecticide resistance in cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera:Aphididae).IV. Susceptibility of four clones separated from vivipara of field populations to various insecticides. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, **39**, 117.
- Hardie, J.** (1991) Contribution of sex pheromone to mate location and reproductive isolation in aphid species (Homoptera: Aphidinae). *Entomologia Generalis*, **16**, 249-256.
- Hardie, J., Storer, J.R., Nottingham, S.F., Peace, K., Harrington, R., Merritt, L.A., Wadhams, L.J. & Wood, D.K.** (1994) The interaction of sex pheromone and plant volatiles for field attraction of male bird-cherry aphid, *Rhopalosiphum padi*. *Brighton Crop Protection Conference*, pp. 1223-1230.
- Hardys H., Balick M., and Scierwater B.** (1992). Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*, **1**, 55-63.
- Hare, J.D. and Kennedy, G.G.** (1986) Genetic variation in plant-insect associations: survival of *Leptinotarsa decemlineata* populations on *Solanum carolinense*. *Evolution*, **40**, 1031-1043.
- Hawksworth, D.L.** (1993) The Identification and Characterization of Pest Organisms. *Proceedings of the Third Workshop on the Ecological Foundations of Sustainable Agriculture (WEFSA III)*, June 1993, Egham, Surrey, England.
- Heie, O.E.** (1986) The Aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark. III. Family Aphididae: Subfamily Pterocommatinae and Tribe Aphidini of Subfamily Aphidinae. *Fauna entomologica scandinavica*, **25**, 190.
- Higuchi, H. and Miyazaki, M.** (1969) A tentative catalogue of host plants of Aphidoidea in Japan. *Insecta Matsum. Suppl*, **5**, 66pp.
- Hille Ris Lambers, D.** (1950) Host plants and aphid classification. In *Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Congress in Entomology*, 1948, Stockholm. pp. 141-148.
- Hille Ris Lambers, D.** (1966) Polymorphism in Aphididae. *Annual Review of*

- Entomology*, **11**, 47-48.
- Horowitz, A. R. & Denholm, I.** (2001) Impact of insecticide resistance mechanisms on management strategies. pp.323-328 in Ishaaya, I.(Eds) *Biochemical sites important in insecticide action and resistance*. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag.
- Ilharco, F. A. and A. van Harten.** (1987) Systematics. pp. 51-77. in Minks, A.K. & Harrewijn, P. (Eds). *Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control*. Volume A. Amsterdam, Elsevier.
- Inaizumi, M.** (1980) Studies of the life-cycle and polymorphism of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Special Bulletin of the College of Agriculture, Utsunomiya University*, **37**, 1-32.
- Inoue, M.** (1987) Relationship between esterase activity and susceptibility to organophosphorus insecticides of the cotton aphid. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, **31**, 404-406.
- Ιωαννίδης, Φ.Μ.** (1999) Προβλήματα ανθεκτικότητας των εντόμων στα εντομοκτόνα στην Ελλάδα. Αντιμετώπιση της Ανθεκτικότητας των Εντόμων στα Εντομοκτόνα. Θεσ/νίκη 1999.σελ. 39-54.
- James, A.C., Jakubchak, J., Riley, M.P. & Jaenike, J.** (1988) On the causes of monophagy in *Drosophila quinaria*. *Evolution*, **42**, 626-630.
- Kawada, K.** 1987. Polymorphism and morph determination. In Minks, A.K. & Harrewijn, P. (Eds). *Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control*, Volume 2A, Elsevier, Amsterdam.
- Kephalogianni T.E., Tsitsipis J.A., Margaritopoulos J.T., Zintzaras E., Delon R., Blanco Martin I. & Schwaer W.** (2002) Variation in the life cycle and morphology of the tobacco host-race of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) in relation to its geographical distribution. *Bulletin of Entomological Research*, **92**, 301-307.
- Khodzhaev S.T., Roslavytseva S.A., Abdulaev E. & Sobchak M.N.** (1985) Resistance of the cotton aphid to insecticides. *Zashchita Rastenii*, **12**, 30.
- Kindler S.D, Spomer S.M.** (1986) Biotypic status of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) isolates. *Environmental Entomology*, **15**, 567-572
- Kindlman, P. & Dixon, A.F.G..** (1994) Evolution of host range in aphids. *European Journal of Entomology*, **91**, 91-96.
- Kring, J.B.** (1959) The life cycle of *Aphis gossypii* Glover, an example of facultative



- migration. *Annals of Entomological Society of America*, **52**, 284-6.
- Krzanowski, W.J.** (1990) *Principles of Multivariate Analysis*. Clarendon Press, Oxford.
- Lamarck, J.B.** (1809) *Philosophie Zoologique* (1984 Translation, Trans.). Chicago University Press, Chicago.
- Lawton, J.H.** (1978) Host-plant influences on insect diversity: the effects of time and space. *Symposium of the Royal Entomological Society of London*, **9**, 105-125.
- Lazzari S.M.N & Voegtlin, D.J** (1993) Morphological variation in *Rhopalosiphum padi* and *R. insertum* (Homoptera: Aphididae) related to host-plant and temperature. *Annals of the Entomological Society of America*, **86**, 26-36.
- Lees, A.D.** (1966) The control of polymorphism in aphids. *Advanced Insect Physiology*, **3**, 207-277.
- Leonard M.D, Walker H.G & Enari, L** (1971). Host-plants of *Aphis gossypii* at Los Angeles State and County Arboretum, Arcadia, California (Homoptera: Aphididae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, **73**, 9
- Llewellyn, k.S., Brookes, S.P., Harrington, R., Loxdale, H.D., Sunnucks, P. & Edwards, K.** (1997) Using microsatellite DNA to study aphid genetic heterogeneity in UK. In *Abstract Volume of Fifth International Symposium of Aphids*. Leon University, Leon, Spain.
- Lowe, H.B.J.** (1973) Variation in *Myzus persicae* (Sulz) (Hemiptera, Aphididae) reared on different host-plants. *Bulletin of Entomological Research*, **62**, 549-556.
- Mackenzie, A.** (1992) The evolutionary significance of host-mediated conditioning. *Antenna*, **16**, 141-150.
- Mackenzie, A. & Guldemand, J.A.** (1994) Sympatric speciation in aphids. II. Host race formation in the face of gene flow. pp. 379-396. In Leather, S.R., Watt, A.D., Mills, N.J. & Walters, K.F.A. (Eds). *Individuals, Populations and Patterns in Ecology*. Intercept, Andover.
- Mackenzie, A.** (1996) A trade-off for host plant utilization in the black bean aphid, *Aphis fabae*. *Evolution*, **50**, 155-162.
- Margaritopoulos, J.T., Mamuris, Z. & Tsitsipis, J.A.** (1998). Attempted discrimination of *Myzus persicae* (Sulzer) and *Myzus nicotianae* Blackman (Homoptera: Aphididae) by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction technique. *Annals of the Entomological Society of America*, **91**,

602-607.

- Margaritopoulos J.T., Tsitsipis J.A., Zintzaras E. & Blackman R.L.** (2000) Host-correlated morphological variation of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) population in Greece. *Bulletin of Entomological Research* (2000), **90**, 233-244.
- Margaritopoulos, J.T., Tsitsipis, J.A., Goundoudaki, S. & Blackman, R.L.** (2002) Life cycle variation of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) in Greece. *Bulletin of Entomological Research*, **92**, 309-320.
- Margaritopoulos J.T., Blackman R.L, Tsitsipis J.A. & Sannino L.** (2003) Co-existence of different host-adapted forms of the *Myzus persicae* group (Hemiptera: Aphididae) in southern Italy. *Bulletin of Entomological Research*, **93**, 131-135.
- Markkula, M. & Roukka, K.** (1970) Resistance of plants to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* Harris (Hom.m Aphididae). *Annales Agriculturae Fenniae*, **9**, 127-132.
- Martinez D, Moya A, Latorre A, et al.** (1992) Mitochondrial DNA variation in *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) populations from 4 spanish localities. *Annals of the Entomological Society of America*, **85**, 241-246
- Miyazaki, M.** (1987) Forms and Morphs of Aphids. In Minks, A.K & Harrewijn. P. (Eds). *Aphids. Their Biology, Natural Enemies and Control*. Volume 2A, Elsevier, Amsterdam.
- Moores, G.D., Devine, G.J. & Devonshire, A.L.** (1994a) Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **49**, 114-120.
- Moores, G.D., Devine, G.J. & Devonshire, A.L.** (1994b) Insecticide resistance due to insensitive acetylcholinesterase in *Myzus persicae* and *Myzus nicotianae*. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases*, 413-418.
- Moran, A.N.** (1986) Morphological adaptation to host plants in *Uroleucon* (Homoptera: Aphididae). *Evolution* **40**, 1044-1050.
- Mosbacher, G.C.** (1963) Über die Nahrungswall bei *Dactynotus* Raf. (Aphididae) I. Die Wirtspektren der Gruppe *D. jacae* (L.) s. lat. und *D. cichorii* (Koch) s. lat. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **51**, 378-428.
- Müller, F.P.** (1971) Isolationmechanismen zwischen sympatrischen bionomischen Rassen am Beispiel der Erbsenblattlaus *Acyrtosiphon pisum* (Harris)

- (Homoptera: Aphididae). *Zoologisches Jahrbuch Abteilung Systematik und Oecologische Geographie der Tiere*, **98**, 131-152.
- Müller, F.P.** (1976) Host and non-host in subspecies of *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) and intraspecific hybridizations (Homoptera: Aphididae). *Symposium Biologia Hungarica*, **16**, 187-190.
- Müller, F.P.** (1980) Wirtzpflanzen, Generationsfolge und Reproduktive Isolationintraspezifiker Formen von *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **28**, 145-157.
- Müller, F.P.** (1982) Das Problem *Aphis fabae*. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **94**, 432-446.
- Müller, F.P.** (1983) Untersuchungen zur Blattläuse der Gruppe *Acyrtosiphon pelargonii* im Freiland-Insektarium. *Zeitschrift für Angewandte Zoologie*, **70**, 351-367.
- Nauen, R., Strobel, J., Otsu, K., Tietjen, K., Erdelen, C. & Elbert, A.** (1996) Aphicidal activity of imidacloprid against a carbamate and organophosphate resistant Japanese strain of the tobacco feeding form of *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) closely related to *Myzus nicotianae*. *Bulletin of Entomological Research*, **86**, 165-171.
- Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., Elbert, A., Jeschke, P. & Tietjen, K.** (2001) Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides. pp. 77-105 in Ishaaya, I. (Eds) *Biochemical Sites Important in Insecticide Action and Resistance*. Berlin, Heidelberg, Springer Verlag.
- O' Brien, P.J. & Graves, J.B.** (1992) Insecticide resistance and reproductive biology of *Aphis gossypii* Glover. *Southwest Entomology*, **17**, 115.
- Petterson, J.** (1971) An aphid sex attractant II. Histological, ethological and comparative studies. *Entomologica Scandinavica*, **2**, 81-93.
- Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M. & Hardie, J.** (1992) The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology*, **37**, 67-90.
- Powers, T.O., Jensen S.G, Kindler S.D, Strycker C.J. & Sandall, L.J.** (1989) Mitochondrial-DNA divergence among greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes. *Annals of the Entomological Society of America*, **82**, 298-302.
- Rakauskas, R.** (2004) What is the (aphid) subspecies? pp.165-170 in Simon, J.-C., Dedryver, C.-A., Rispe, C. & Hullé, M.(Eds) *Aphids in a New Millennium*.

INRA, Paris.

- Rausher, M.D.** (1984) Trade-offs in performance on different hosts: evidence from within- and between-site variation in the beetle *Deloyala guttata*. *Evolution*, **38**, 582-595.
- Remaudiere, G. & Autrigue, A.** (1985) Contribution á l'ecologie des aphides africains. *Etude FAO Production Vegetale et Protection des Plantes* no. 64, 214pp.
- Richards, O.W.** (1961) An introduction to the study of polymorphism in insects. In Kennedy, J.S. (Ed.). *Insect Polymorphism. Symposia of the Royal Entomological Society of London*.
- Rosenheim, J.A., Wilhoit, R. & Golfer, R.G.** (1994) Seasonal biology and polymorphism of the cotton aphid, *Aphis gossypii*, in California. pp.125-131 in *Beltwide Cotton Conference, Memphis, TN*.
- Saito, T.** (1989) Insecticide resistance of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera:Aphididae). I. Susceptibility to several insecticides and esterase activity of field populations collected in the Shizuoka Prefecture. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*, **33**, 204-210.
- Saito, T., Hama, H. & Suzuki, K.** (1995) Insecticide resistance in clones of cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae), and synergistic effect of esterase and mixed function oxidase inhibitors. *Japanese Journal Applied Entomology and Zoology*, **39**, 151.
- Sanderson, E.D.** (1902) *Insects Injurious to Staple Crops*. New York: John Wiley.
- Shaposhnikov, G.K.H.** (1985) The main features of the evolution of aphids. In *Proceedings of the International Aphidological Symposium at Jablonna*, pp. 19-99. Warsaw: Polska Akademia Nauk, Instytut Zoologii.
- Silver A.R.J.** (1984) The biochemical nature of pirimicarb resistance of *Aphis gossypii* Glover. Ph.D Thesis, University of Reading, UK.
- Singer, M.C.** (1983) Determinants of multiple host use by a phytophagous insect population. *Evolution*, **37**, 389-403.
- Sokal, R.R.** (1952) Variation in a local population of *Pemphigus*, *Evolution* **6**, 296-315.
- Sokal, R.R.** (1962) Variation and co-variation of characters of alatae *Pemphigus populi-transversus* in eastern North America. *Evolution*, **16**, 227-245.
- Sokal, R.R., Bird, J. and Riska, B.** (1980) Geographic variation in *Pemphigus*

- populicaulis* in eastern North America. *Biological Journal of The Linnean Society*, **14**, 163-200.
- Stam, P.** (1983) The evolution of reproductive isolation in closely adjacent plant populations through different flowering time. *Heredity*, **50**, 105-118.
- Steffan, A.W.** (1983) Zur pheromonalem Kommunikation bei der Geschlechterfindung von Blattläusen (Homoptera: Aphidinea). *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft*, 168.
- Steffan, A.W.** (1987) Fern und Nahorientierung geflügelter Gynoparae und Sexualis Männchen bei Blattläusen (Homoptera: Aphidinea: Aphididae). *Entomologia Generalis*, **12**, 235-258.
- Steffan, A.W.** (1990) Courtship behaviour and possible pheromone spread by hind leg raising in sexual females of aphids (Homoptera: Aphidinae). *Entomologia Generalis*, **15**, 33-49.
- Stroyan, H.L.G.** (1958) Contribution to the taxonomy of some British species of *Sappaphis* Matsumura 1918 (Homoptera, Aphidoidea). *Biological Journal of the Linnean Society*, **43**, 644-713.
- Stroyan, H.L.G.** (1984) Aphids-Pterocommatinae and Aphidinae (Aphidini). *Handbooks for the Identification of British Insects*, 2,6, 232.
- Sun Q., Feng G.L., Yuan J.G., Zhu P. & Gong K.Y.** (1970) Biochemical mechanism of resistance of cotton aphids to organophosphorus insecticides. *Acta Entomologica Sinica*, **30**, 13-20.
- Sun Q., Feng G.L., Yuan J.G., Zhu P. & Gong K.Y.** (1987) Biochemical mechanism of resistance of cotton aphids to organophosphorus insecticides. *Acta Entomologica Sinica*, **30**, 13.
- Sunnucks, P., Driver F., Brown W.V., Carver M., Hales D.F. & Milne W.M.** (1997) Biological and genetic characterization of morphologically similar *Therioaphis trifolii* (Hemiptera: Aphididae) with different host utilization. *Bulletin of Entomological Research*, **87**, 425-436.
- Suzuki, K., Hama, H. & Konno Y.** (1993) Carboxylesterase of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Homiptera: Aphididae), responsible for fenitrothion resistance as a sequestering protein. *Applied Entomology and Zoology*, **28**, 439.
- Takada, H.** (1988) Interclonal variation in the photoperiodic response for sexual morph production of japanese *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Applied Entomology*, **106**, 188-197

- Takada, H. & Murakami Y.** (1988) Esterase variation and insecticide resistance in Japanese *Aphis gossypii* Glover. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **48**, 37-41.
- Thieme, T. & Dixon, A.F.G.** (1996) Mate recognition in the *Aphis fabae* complex: daily rhythm of release and specificity of sex pheromones. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **79**, 85-89.
- Theobald, F.V.** (1915) African Aphididae Pt. II. *Bulletin of Entomological Research* **6**, 103-153.
- Thomas, K.H.** (1968) Die Blattläuse aus der engere Verwandtschaft von *Aphis gossypii* Glover und *A. frangulae* Kaltenbach unter besonderer Berücksichtigung ihres Vorkommens an Kartoffel. *Entomologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde in Dresden*, **35**, 337-389.
- Τζανακάκης M.E.** (1980) *Μαθήματα Εφαρμοσμένης Εντομολογίας. Ειδικό μέρος.* Έκδοση: Υπηρεσία Δημοσιευμάτων, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο, Θεσσαλονίκη.
- Τόλης, Ι.Α.** (1986) *Βαμβάκι: Εχθροί, Ασθένειες, Ζιζάνια.* Αθήνα.
- Tomiuk, J.** (1990) Genetic stability in aphid clones and its implication for host-plant interactions. pp. 273-288. In Campbell, R.K. & Eikenbary, R. D. (Eds). *Aphid-Plant Genotype Interactions*. Amsterdam: Elsevier Press.
- Τσιτσιπής, Ι.Α.** (1996) *Εφαρμοσμένη Εντομολογία.* Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
- Tsitsipis, J.A., Lykouressis, D., Katis, N., Avgelis, A.D., Gargalianou, J., Papapanayotou, A. & Kokinis, G.M.** (1997) Aphid species diversity demonstrated by suction trap captures in different areas in Greece. In *Proceedings of Sixth International Symposium of Aphids, "Aphids in natural and Managed Ecosystems"*, 5 September 1997, Leon, Spain.
- Van Emden, H.F., Eastop, V.F., Hughes, R.D. & Way, M.J.** (1969) the ecology of *Myzus persicae*. *Annual Review of Entomology*, **14**, 197-270.
- Vanlerberghe-Masutti, F. & Chavigny, P.** (1998) Host-based genetic differentiation in the aphid *Aphis gossypii* Glover, evidenced from RAPD fingerprints. *Molecular Ecology*, **7**, 905-914.
- Via, S.** (1991) The genetic structure of host plant adaptation in a spatial patchwork: Demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution*, **45**, 827-852.
- Via, S.** (1984) The quantitative genetics of polyphagy in an insect herbivore. II.

- Genetic correlations in larval performance within and among hosts. *Evolution*, **38**, 896-905.
- Walker, F.** (1850) Description of aphids. *Annals of the Magazine of Natural History*, **2**, 14-28.
- Walsh, B.D.** (1864) On phytophagic varieties and polyphagous species. *Proceedings of the Entomological Society of Philadelphia*, **3**, 403-430.
- Ward, S.A.** (1987) Cyclical parthenogenesis and the evolution of host range in aphids. pp. 39-44. In Holman, J., Pelikan, J, Dixon, A.F.G. & Weisman, L. (Eds), *Population Structure, Genetics and Taxonomy of Aphids and Thysanoptera*. SPB Academic Publishing, The Hague.
- Ward, S.A.** (1991a) Reproduction and host selection by aphids: the importance of 'rendevous' hosts. pp. 202-226. In Bailey, W. & Ridsdill-Smith, J. (Eds), *Reproductive Behaviour in Insects*. Chapman & Hall, London.
- Ward, S.A.** (1991b) Theoretical perspectives on sympatric speciation in aphids (Homoptera: Aphidinea: Aphididae). *Entomologia Generalis*, **16**, 177-192.
- Weber, G.** (1985a) On the ecological genetics of *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera, Aphididae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **100**, 100-110.
- Weber, G.** (1985b) On the ecological genetics of *Metopolophium dirhodum* (Walker) (Hemiptera, Aphididae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, **100**, 451-458.
- Weber, G.** (1985c) Genetic variability in host plant adaptation of the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **38**, 49-56.
- Welsh J., & McClelland. M.** (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res*, **18**, 7212-7218
- Welsh J., Peterson C., & McClelland, M.** (1991). Polymorphisms generated by arbitrary primed PCR in the mouse: application to strain identification and genetic mapping. *Nucleic Acids Research*, **19**, 303-306.
- Williams, J.G.K., Kubelik, A.R., Livak K.J., Rafalski, J.A, & Tingey S.V.** (1990) DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, **18**, 6531-6535.
- Williams, J.G.K, Hanafey M.K, Rafalski J.A. & Tingey S.V.** (1993). Genetic analysis using Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Methods of Enzymology*, **218**, 704-740.

- Wool, D. & Hales, D.F.** (1997) Phenotypic plasticity in Australian Cotton Aphid (Homoptera: Aphididae): Host Plant Effects on Morphological Variation. *Annals of the Entomological Society of America*, **90**, 316-328.
- Zhang, G.X. & Zhong, T.S.** (1990) Experimental studies on some aphid life cycle patterns and the hybridization of sibling species. In Campbell, R.K. & Eikenbary, R.D. (Eds), *Aphid-Plant Genotype Interactions*. Elsevier, Amsterdam, 37-50.
- Zheng, B.Z., Gao, X.W., Wang Z.G. & Cao B.J.** (1988) Preliminary studies of pyrethroid resistance in melon-cotton aphid (*Aphis gossypii* Glover) in Beijing suburbs and northern region of Hebei province. *Acta Phytohylogica.Sinica*, **15**, 55.
- Zintzaras E., Brown N.P. & Kowald A.** (1994). Growing a classification tree using the apparent misclassification rate. *Computer Applications in the Biosciences*, **10**, 263-271.
- Zintzaras, E., Margaritopoulos, J.T. & Tsitsipis, J.A.** (1999) Statistical tree classification of aphids based on morphological characteristics. *Computers and Electronics in Agriculture*, **24**, 165-175.



## Abstract

*Aphis gossypii* is a polyphagous species with a worldwide distribution. In this study we examined the morphological variation of *A. gossypii* using samples from various host-plants belonging to Cucurbitaceae and Malvaceae and non-cultivated plants belonging to Compositae from different parts of the world. Our aim was to examine if morphological variation is correlated with the host-plant. Specifically, we used samples of *A. gossypii* which were collected from Cucurbitaceae and Malvaceae from Europe and from Compositae from various parts of the world. Totally 13 morphological characters were measured and the data was analysed by the method called "Canonical Variance Analysis (CVA)". This method uses the field sample or clonal lineage as grouping factor. According to the results of the analysis, there was found a clear morphometric separation of the aphids originating from Compositae and those originating from Cucurbitaceae and Malvaceae. So there are two different host races of *A. gossypii*.

In the second part of the study we examined the life-cycle of 38 clonal lineages of *A. gossypii* from different cultivated and non-cultivated plants which were collected from different parts of Greece in 2002, 2003 and 2004. We wanted to see if there are any holocyclic populations in Greece. In the study, we found only anolocyclic clonal lineages and one intermediate clonal lineage which was collected on cotton in 2002 from Katerini (North Greece). This is the first record of such a life cycle category in Greece and Europe.

In the third part of the study we tested the resistance of *A. gossypii* to imidacloprid and pirimicarb using two different methods: dip-test and topical application. We collected samples of aphids from 15 fields from north and central Greece from cotton, okra, watermelon and zucchini and we applied imidacloprid and pirimicarb by the dip-test. Additionally, we made clonal lineages in the lab and we applied imidacloprid topically. We checked aphids after 24, 48 and 72 hours. The results were analysed using SPSS v.10.0. No resistance was found but on certain occasions a certain degree of tolerance was found (e.g. the samples of aphids which were collected on okra from Meliki and we applied pirimicarb, the samples of aphids which were collected on cotton from Larisa and we applied pirimicarb).

To sum up, with this study we found that there are two different host races of *A. gossypii*. The first one concludes the aphids originating from Compositae and the second those originating from Cucurbitaceae and Malvaceae. Secondly we confirmed the existence of anolocyclic populations in Greece and Europe. Additionally we found one intermediate clonal lineage which was collected on cotton in 2002 from Katerini. Last but not least we found no resistance of *A. gossypii* to imidacloprid and pirimicarb. These results can be used for further study.