



ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ, ΣΤΗΝ
ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ ΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ ΑΠΟ ΤΟΝ ΑΛΕΥΡΩΔΗ
ΤΟΥ ΚΑΠΝΟΥ *BEMISIA TABACI*»

ΜΑΡΙΑ ΤΖΑΝΟΥΔΑΚΗ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
"Εφαρμοσμένη Επιστήμη και Τεχνολογία στη Γεωπονία"

ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2020

ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘ. ΡΟΔΙΤΑΚΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

ΚΑΘ. ΓΚΟΥΜΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΚΑΘ. ΑΛΥΣΣΑΝΔΡΑΚΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΙΟΣ

**ΤΟ ΕΡΓΟ ΑΥΤΟ ΥΛΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ
ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΙΟΛΟΓΙΑΣ, ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΑΜΠΕΛΟΥ, ΛΑΧΑΝΟΚΟΜΙΑΣ,
ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ, ΤΟΥ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟΥ ΕΛΙΑΣ ΥΠΟΤΡΟΠΙΚΩΝ
ΦΥΤΩΝ ΚΑΙ ΑΜΠΕΛΟΥ**

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα Μεταπτυχιακή Διατριβή ξεκίνησε και ολοκληρώθηκε στο εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας και Ζωολογίας και Ιολογίας του τμήματος Αμπέλου, Λαχανοκομίας, Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας, του Ινστιτούτου Ελιάς Υποτροπικών φυτών και Αμπέλου.

Στην ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής συνέβαλαν οι παρακάτω, τους οποίους θα ήθελα να ευχαριστήσω μέσα από την καρδιά μου, διότι χωρίς τη βοήθεια τους θα ήταν αδύνατη η πραγματοποίηση της :

Ο ερευνητής Εμμανουήλ Ροδιτάκης, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε από την πρώτη στιγμή καθώς και για τις συμβουλές και την καθοδήγηση που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια.

Η ερευνήτρια Πολυξένη Παππή, στο εργαστήριο της οποίας έγιναν οι μοριακές αναλύσεις για τον εντοπισμό του ιού στα φυτά. Επίσης η βοήθειά της ήταν απαραίτητη τόσο στο πειραματικό μέρος όσο και στην παροχή της σχετικής βιβλιογραφίας.

Τους καθηγητές Αλυσσανδράκη Ελευθέριο και Γκούμα Δημήτριο για την πολύτιμη συμβολή τους στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας, ως μέλη της τριμελούς επιτροπής.

Η υποψήφια διδάκτωρ Μαριάννα Σταυρακάκη, η οποία με επέβλεπε από την πρώτη στιγμή και υπήρξε μία εξαιρετική συνεργάτιδα. Την ευχαριστώ πολύ για την υπομονή της ώστε να με μάθει να χειρίζομαι τον αλευρώδη, καθώς επίσης και για την βοήθεια που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος. Ακόμα θα ήθελα να της πω ένα μεγάλο ευχαριστώ και για την ψυχολογική στήριξη.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα παιδιά που δούλευαν εκείνη την περίοδο στο εργαστήριο για τη βοήθεια, τις συμβουλές και το ευχάριστο περιβάλλον στο χώρο του εργαστηρίου.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, τους φίλους μου και όλους όσους μου συμπαραστάθηκαν, ο καθένας με το δικό του τρόπο.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	V
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	VI
ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ	VIII
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	X
ABSTRACT	XII
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1 ΟΙ ΑΛΕΥΡΩΔΕΙΣ: ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΙ Η ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ	1
1.2 Ο ΒΕΜΙΣΙΑ ΤΑΒΑΧΙ.....	2
1.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ ΙΩΝ GEMINIVIRIDAE	4
1.4 ΟΙ ΙΟΙ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ ΒΕΓΟΜΟΝΙΡΟΥΣ ΚΑΙ Ο ΤΥΛΚΒ	4
1.4.1 ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ ΒΕΓΟΜΟΝΙΡΟΥΣ	4
1.4.2 Ο ΙΟΣ ΤΥΛΚΒ	5
1.5 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΥΛΚΒ ΚΑΙ Β. ΤΑΒΑΧΙ.....	7
1.6 ΦΥΤΑ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥ ΤΥΛΚΒ ΚΑΙ ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ	8
1.7 ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ.....	10
1.8 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	11
1.9 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΒΕΜΙΣΙΑ ΤΑΒΑΧΙ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΣΥΓΧΡΟΝΩΝ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ	12
1.10 Η ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΛΙΠΙΔΩΝ ΟΞΕΩΝ ΚΑΙ Ο ΤΡΟΠΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥ SPIROMESIFEN	14
1.11 ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΤΙΚΩΝ ΙΩΝ	15
1.11.1 ΑΝΟΣΟ-ΙΣΤΟΛΟΓΙΚΟ ΑΠΟΤΥΠΩΜΑ (TISSUE PRINT IMMUNOBLOTTING).....	15
1.11.2 ΑΝΟΣΟΕΝΖΥΜΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ (ENZYMELINKED IMMUNOSORBENT ASSAY, ELISA)	16
1.11.3 ΜΟΡΙΑΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ PCR	16
1.12 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	19
2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	20
2.1 ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΤΟΜΩΝ-ΦΟΡΕΩΝ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΥΛΚΒ ΚΑΙ ΠΛΗΘΥΣΜΟΙ	20
2.2 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΥΤΩΝ ΞΕΝΙΣΤΩΝ	21
2.3 ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΟΥ ΤΥΛΚΒ – ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	22
2.4 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΟΛΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΦΥΛΛΑ ΤΟΜΑΤΑΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ PCR	24
2.5 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΟΛΙΚΟΥ DNA ΑΠΟ ΤΑ ΕΝΤΟΜΑ ΚΑΙ ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΙΪΚΟΥ DNA ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ PCR	24
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	26

3.1	ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΥΛCV ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΟΜΑΤΑΣ	26
3.2	ΜΟΡΙΑΚΗ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΥΛCV ΣΕ ΣΥΛΛΕΧΘΕΝΤΑ ΕΝΗΛΙΚΑ ΑΤΟΜΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ Β. ΤΑΒΑCΙ	27
3.3	ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΑΠΟ ΑΡΧΙΚΟ ΜΟΛΥΣΜΑ ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟ	28
3.4	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ (ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΣ – ΜΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΣ) ΚΑΙ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ ΣΤΗ ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΤΟΥ ΙΟΥ ΤΥΛCV ΣΕ ΦΥΤΑ ΤΟΜΑΤΑΣ	29
4	ΣΥΖΗΤΗΣΗ	31
	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι	36
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	38

ΛΙΣΤΑ ΣΥΝΤΟΜΕΥΣΕΩΝ

Πίνακας 1: Οι συντομεύσεις που χρησιμοποιούνται μέσα στο κείμενο και στις Εικόνες / Σχήματα

Σύντμηση	Πλήρες όνομα
TYLCV	Tomato yellow leaf curl virus
TYLCSV	Tomato yellow leaf curl Sardinia virus
TYLCMaV	Tomato yellow leaf curl Malaga virus
TYLCAxV	Tomato yellow leaf curl Axarquia virus
ToLCNDV	Tomato leaf curl New Delhi virus
CYSDV	Cucurbit yellow stunting disorder virus
ToCV	Tomato chlorosis virus
SPCSV	Sweet potato chlorotic stunt virus
BYDV	Bean yellow disorder virus)
LCV	Lettuce chlorosis virus
CVYV	Cucumber vein yellowing virus
ToTV	Tomato torrado virus
TYLCAxV	Tomato yellow leaf curl Axarquia virus
TYLCCNV	Tomato yellow leaf curl China virus
TYLCGuV	Tomato yellow leaf curl Guangdong virus
TYLCIV	Tomato yellow leaf curl Indonesia virus
TYLCKaV	Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus
TYLCMaV	Tomato yellow leaf curl Malaga virus
TYLCMV	Tomato yellow leaf curl Mali virus
TYLCSV	Tomato yellow leaf curl Sardinia virus
TYLCTHV	Tomato yellow leaf curl Thailand virus
TYLCVV	Tomato yellow leaf curl Vietnam virus
TYLCV	Tomato yellow leaf curl virus
dsDNA	double stranded DNA
ssDNA	single stranded DNA
CP	capsid protein
PCR	Polymerase Chain Reaction
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay

Σύντμηση	Πλήρες όνομα
TAS-ELISA	Triple Antibody Sandwich ELISA
ANOVA	Analysis of Variance
TAE	Tris-acetate-EDTA
ΑΠΑ	Ανοικτό Πλαίσιο Ανάγνωσης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ιολογικές ασθένειες αποτελούν ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα στην καλλιέργεια της τομάτας. Αυτό οφείλεται στη σημαντική επίπτωση των προσβολών τους, αλλά και στην αδυναμία αντιμετώπισής τους. Στη χώρα μας ένας από τους πιο σημαντικούς ιούς είναι ο ιός του κίτρινου καρουλιάσματος των φύλλων της τομάτας (Tomato yellow leaf curl, TYLCV, οικογένεια *Geminiviridae*, γένος *Begomovirus*) που μεταδίδεται από αλευρώδεις. Συγκεκριμένα, ο ιός TYLCV προκαλεί μία από τις πιο σημαντικές ιολογικές ασθένειες σε καλλιέργειες τομάτας σε παγκόσμιο επίπεδο. Φυτά τομάτας μολυσμένα με τον TYLCV παρουσιάζουν έντονα συμπτώματα τα οποία προκαλούν σοβαρή απώλεια παραγωγής και η οποία μπορεί να είναι και ολοκληρωτική.

Φορέας του ιού TYLCV είναι ο αλευρώδης του καπνού *Bemisia tabaci*. (Hemiptera: Aleurodidae). Το έντομο ζημιώνει τόσο την υπαίθρια όσο και την θερμοκηπιακή τομάτα και προσβάλλει και άλλες καλλιέργειες και ζιζάνια. Ο *B. tabaci* προκαλεί ζημιές από τη νύξη των φυτικών ιστών και την απομύζηση των φυτικών χυμών, από την παραγωγή μελιτώματος και την ανάπτυξη καπνιάς και τη μετάδοση ιώσεων όπως του TYLCV. Το έντομο δύναται να καταπολεμηθεί με τη χρήση χημικών ωστόσο, κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε όλες σχεδόν τις ομάδες εντομοκτόνων, γεγονός που οφείλεται στην λανθασμένη χρήση τους.

Έχει βρεθεί πως η ηλικία του εντόμου, το φύλο, η παρουσία ενδοσυμβιωτικών βακτηρίων καθώς επίσης και ο βιότυπος του *B. tabaci* μπορούν να επηρεάσουν την ικανότητα μετάδοσης του ιού. Ωστόσο, οι μελέτες που διαφωτίζουν την σχέση μεταξύ της ανθεκτικότητας των εντόμων σε συγκεκριμένα φυτοπροστατευτικά σκευάσματα και της μετάδοσης φυτικών ιών είναι ελάχιστες και αφορούν την μετάδοση του ιού του κηλιδωτού μαρασμού της τομάτας (*Tomato Spotted Wilt Virus*, TSWV) από τον θρίπα *Frankliniella occidentalis*.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της ανθεκτικότητας του εντόμου *Bemisia tabaci* στη δραστική ουσία spiromesifen στην ικανότητα μετάδοσης του ιού TYLCV σε φυτά τομάτας. Προς τούτο, χρησιμοποιήθηκαν δύο πληθυσμοί του εντόμου, ένας ανθεκτικός στη spiromesifen (Bt482) και ένας ευαίσθητος (GR176), πληθυσμός αναφοράς. Από τον κάθε πληθυσμό αφέθηκαν ένα, τρία και έξι μολυσμένα με τον ιό έντομα σε φύλλα φυτών τομάτας. Με

εφαρμογή μοριακής τεχνικής βασισμένης στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR) διαπιστώθηκε η παρουσία του ιού τόσο στα φυτά τομάτας όσο και στα άτομα των δύο πληθυσμών και εκτιμήθηκε το ποσοστό μετάδοσης του ιού στα φυτά τομάτας για τον κάθε πληθυσμό. Μετρήθηκε ακόμη ο αριθμός των ζωντανών εντόμων ώστε να βρεθεί το κατά πόσο η ανθεκτικότητα και η παρουσία του TYLCV στο σώμα των εντόμων επηρεάζουν την επιβιωσιμότητά τους.

Από τα αποτελέσματα βρέθηκε ότι αυξανόμενου του αριθμού των εντόμων φορέων αυξάνεται και το ποσοστό των μολυσμένων φυτών κάτι που είναι εντονότερο στην περίπτωση του πληθυσμού Bt482. Τέλος, βρέθηκε σημαντική διαφορά όσον αφορά τη μετάδοση του ιού TYLCV από τους δύο πληθυσμούς στα φυτά της τομάτας. Πιο συγκεκριμένα, ο ευαίσθητος πληθυσμός παρουσίασε υψηλότερα ποσοστά μετάδοσης του ιού σε σχέση με τον ανθεκτικό, τα οποία ανήλθαν σε 93% και 40% αντίστοιχα, ενώ δεν βρέθηκε διαφορά στην πρόσληψη του ιού από τα μολυσμένα φυτά τομάτας προς αυτούς (93% για τον ευαίσθητο, 73% για τον ανθεκτικό).

ABSTRACT

Viral diseases are one of the major problems in tomato cultivation. This is due to the significant impact of their infestations, but also to the absence of therapeutic measures. One of the most important viruses in Greece is the Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV, genus *Begomovirus* (family *Geminiviridae*)) that is transmitted by the whiteflies (Aleurodidae). TYLCV causes one of the most important viral diseases in tomato crops worldwide. Tomato plants infected by TYLCV have serious symptoms that cause severe loss of production which can be total.

The TYLCV virus vector is Tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleurodidae). The insect attacks both outdoor and greenhouse tomato cultivars and infects other crops and weeds as well. *B. tabaci* damages the plant tissues by sucking the sap, favoring the appearance of sooty mould and transmitting viruses such as the TYLCV. It has been found that the age and the sex of the insect, the presence of endosymbiotic bacteria, as well as the biotype can affect the virus's ability to transmit. The insect can be treated with insecticides however, in recent years it has developed resistance to almost all groups of insecticides, due to their misuse.

The aim of the present study was to investigate the effect the *Bemisia tabaci* resistance to spiromesifen regarding the transmission of TYLC virus in tomato plants. Two insect populations, one resistant to spiromesifen (Bt482) and one sensitive (GR176), were used for this purpose. From each population one, three and six virus-infected insects were left on tomato plant leaves. Polymerase chain reaction revealed the presence of the virus in both tomato plants and individuals of both populations and estimated the rate of transmission of the virus to the tomato plants for each population. The number of insects alive was also counted to find out whether the resistance and presence of TYLCV in the body of insects can affect their survival.

The results showed that as the number of insect vectors increased, the percentage of infected plants increased. This is more pronounced in the case of the Bt482 population. The TYLCV transmission between the two populations was significantly different. More specifically, the susceptible population showed higher rates of transmission than the resistant, which was 93% and 40%, respectively, while no difference was found concerning the uptake of the virus from the infected tomato plants

(93% for the susceptible, 73% for the resistant).

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Οι αλευρώδεις: γενικά στοιχεία και η σημασία τους

Ο αλευρώδης του καπνού, *Bemisia tabaci* (Gennadius) ανήκει στην οικογένεια των αλευρωδών (Aleyrodidae) της τάξης των Ημιπτέρων (Hemiptera) (Kirk, et al. 1993; Campbell et al., 1994). Οι αλευρώδεις είναι μικρά σε μέγεθος έντομα, ο βιολογικός κύκλος των οποίων παρουσιάζει 3 στάδια ήτοι: ωό, προνυμφικές μορφές (αποτελούμενες από τέσσερις ανήλικες μορφές) και ενήλικα άτομα. Τα έντομα της οικογένειας των αλευρωδών αναπαράγονται τα μεν αρσενικά με παρθενογενετική αρρενοτοκία ενώ τα θηλυκά άτομα προέχονται από γονιμοποιημένα ωά και έχουν διπλοειδή αριθμό χρωματοσωμάτων (Blackman και Cahill, 1998; Byrne και Bellows, 1991).

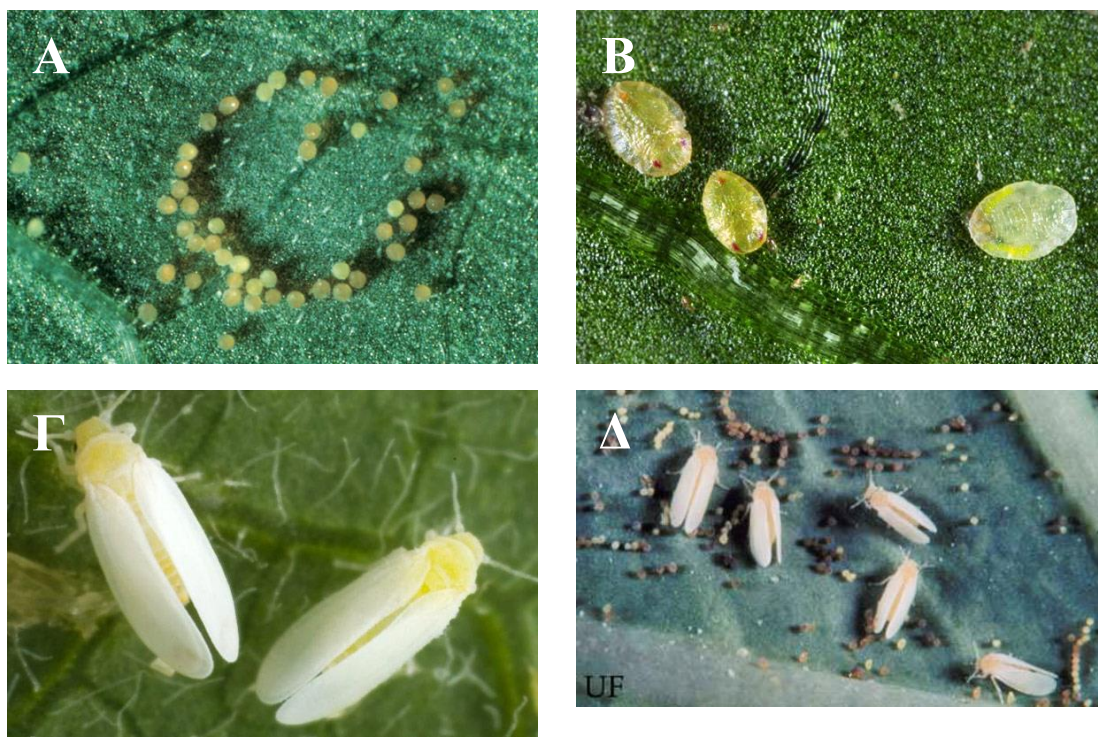
Ορισμένα άλλα είδη της συγκεκριμένης οικογένειας είναι ο αλευρώδης των θερμοκηπίων *Trialeurodes vaporariorum*, ο *Aleurothrixus floccosus*, ο *Dialeurodes citri* και ο *Parabemisia myricae* τα οποία μπορούν να προσβάλλουν τα εσπεριδοειδή (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Εξαιτίας του μεγάλου εύρους ξενιστών, του αριθμού των ειδών που περιλαμβάνονται στην οικογένεια και της εξάπλωσής τους οι αλευρώδεις κατατάσσονται ανάμεσα στους σημαντικότερους εντομολογικούς εχθρούς

των φυτών γεωργικής σημασίας (Παπαγιάννης, 2001). Μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές ζημιές είτε άμεσες στα φυτά με τη μύζηση του φυτικού χυμού (Campbell, 1994), είτε υποβαθμίζοντας έμμεσα την αξία του παραγόμενου προϊόντος με τη δημιουργία καπνιάς (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003), είτε μεταδίδοντας φυτικούς ιούς (για τα γένη *Bemisia* και *Trialeurodes*) των οποίων αποτελούν φορείς είτε διοχετεύοντας τοξίνες στα φυτά π.χ. δημιουργία ασημένιου φύλλου σε κολοκυθιά από τη δράση του *Bemisia tabaci* (Jones, 2003).

1.2 Ο *Bemisia tabaci*

Το γένος *Bemisia* περιέχει τουλάχιστον 37 είδη. Το γένος θεωρείται ότι προέρχεται από την Ασία ενώ ο *Bemisia tabaci* (Εικ. 1) από την περιοχή της Ινδίας (Fishpool και Burban 1994). Αρχικά ο *Bemisia tabaci* περιεγράφηκε ως επιβλαβές για τον καπνό στην Ελλάδα το 1899, ωστόσο είναι ιδιαίτερα πολυφάγο είδος (Jones, 2003) και το εύρος ξενιστών του περιλαμβάνει πάνω από 800 κυρίως ποώδη ετήσια είδη (Cock, 1986; Kedar et al., 2018). Η ταξινόμηση του *Bemisia tabaci* είναι πολύπλοκη επειδή το είδος παρουσιάζει ιδιαίτερα έντονο πολυμορφισμό στους μορφολογικούς χαρακτήρες (Ning et al., 2015) που είναι ικανοί να τροποποιούνται, εξαρτώμενοι από τα φυτά-ξενιστές του εντόμου (Cock, 1986).

Όπως προαναφερθεί για τους αλευρώδεις, έτσι και για τον *Bemisia tabaci* η βλάβη στα φυτά προκαλείται κυρίως με τρεις τρόπους: Α) με την άμεση τροφική δραστηριότητα Β) την επακόλουθη δευτερογενή ανάπτυξη καπνιάς μέσω της παραγωγής του μελιτώματος και Γ) τη μετάδοση άλλων φυτικών ιών. Η ανάπτυξη καπνιάς υποβαθμίζει την εμφάνιση του προϊόντος, καθυστερεί την ανάπτυξη, ενώ μειώνει και τη φωτοσυνθετική δραστηριότητα των φύλλων στα οποία αναπτύσσεται (Duffus et al., 1994). Ορισμένοι από τους ιούς που μεταδίδονται από τον *B. tabaci* παρουσιάζονται στον Πίνακα 1 (Jones, 2003).



Εικόνα 1: Στάδιο βιολογικού κύκλου του εντόμου *Bemisia tabaci*. Α: Ωά Β: προνύμφες Γ: ενήλικα Δ: Ενήλικα και ωά (Anonymus 2)

Πίνακας 2: Γένη και ιοί που μεταδίδονται με το έντομο *Bemisia tabaci*

Γένος	Ιός
<i>Begomovirus</i>	Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)
	Tomato yellow leaf curl Sardinia virus (TYLCSV)
	Tomato yellow leaf curl Malaga virus (TYLCMaIV)
	Tomato yellow leaf curl Axarqia virus (TYLCAxV)
	Tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV)
<i>Crinivirus</i>	Cucurbit yellow stunting disorder virus (CYSDV)
	Tomato chlorosis virus (ToCV)
	Sweet potato chlorotic stunt virus (SPCSV)
	Bean yellow disorder virus (BYDV)
<i>Ipomovirus</i>	Lettuce chlorosis virus (LCV)
	Cucumber vein yellowing virus (CVYV)
<i>Torradovirus</i>	Tomato torrado virus (ToTV)

1.3 Χαρακτηριστικά της οικογένειας ιών *Geminiviridae*

Η οικογένεια *Geminiviridae* περιλαμβάνει ιούς το γονιδίωμα των οποίων αποτελείται από DNA μονής έλικας (ss DNA) (Fauquet et al., 2003). Αποτελούνται από δύο παρόμοια συνδεδεμένα μέρη σε σχήμα εικοσάεδρου, ενώ το μέγεθος των ιοσωματίων κυμαίνεται στα 30nm σε μήκος και 28-30nm σε διάμετρο (Zhang et al., 2001). Η οικογένεια περιλαμβάνει εννέα γένη ήτοι τα: *Mastrevirus*, *Curtovirus*, *Topocuvirus*, *Becurtovirus*, *Grablovirus*, *Eragrovirus*, *Turncurtovirus*, *Capulavirus* και το γένος *Begomovirus* (στο οποίο ανήκει ο TYLCV, Εικ. 2) (Zerbini et al., 2017).

Οι ιοί της οικογένειας αυτής μεταδίδονται με πολλούς τύπους εντόμων. Ιοί του γένους *Begomovirus* μεταδίδονται με τους αλευρώδεις, αυτοί των γενών *Becurtovirus*, *Curtovirus*, *Grablovirus*, *Mastrevirus* και *Turncurtovirus* μεταδίδονται με τζιτζικάκια, τα μέλη του γένους *Topocuvirus* μεταδίδονται με έντομα της οικογένειας Membracidae ενώ τέλος, μέλος του γένους *Capulavirus* μεταδίδεται με αφίδες (Zerbini et al., 2017). Το γένος *Mastrevirus* προσβάλλει και μονοκότυλα και δικότυλα, τα γένη *Becurtovirus*, *Topocuvirus*, *Curtovirus*, *Grablovirus*, *Turncurtovirus* και *Capulavirus* δικότυλα (Marwal et al., 2014; Anonymous 5), το γένος *Eragrovirus* μονοκότυλα (Varsani et al., 2014). Τέλος, το γένος *Begomovirus* περιλαμβάνει ιούς που προσβάλλουν μόνο δικότυλα φυτά και μπορούν να μεταδίδονται με τον *Bemisia tabaci* (Fauquet et al., 2003).

1.4 Οι ιοί του γένους *Begomovirus* και ο TYLCV

1.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά του γένους *Begomovirus*

Στο γένος *Begomovirus* ανήκουν άνω των 320 ειδών (Anonymous, 7) Οι *begomoviruses* διαθέτουν μονομερή (monopartite) και διμερή (bipartite) γονιδιώματα (Brown et al., 2015). Μεταφέρονται από το έντομο της οικογένειας Aleyrodidae, *Bemisia tabaci*, με κυκλικό έμμονο τρόπο (Czosnek, 2007) και εντοπίζονται και στον “νέο” (κυρίως τα διμερή) και στον “παλαιό” Κόσμο (και οι δύο τύποι γονιδιωμάτων) (Brown et al., 2015). Το γονιδίωμα των διμερών ιών αποτελείται από δύο τμήματα τα οποία αναφέρονται ως DNA-A και DNA-B που το κάθε ένα έχει μέγεθος από 2,5 έως

2,6 kb. Το DNA-A των διμερών begomoviruses μπορεί να πολλαπλασιάζεται αυτόνομα και να παράγει ισωμάτια αλλά απαιτεί το DNA-B για τη διαστυστηματική μόλυνση. Από την άλλη, η οργάνωση του γονιδιώματος των μονομερών begomoviruses μοιάζει με την οργάνωση του DNA-A των διμερών ιών του γένους (Anonymous 6). Όσον αφορά τον πολλαπλασιασμό τους, οι ιοί του γένους *Begomovirus* χρησιμοποιούν τα ένζυμα και τους μηχανισμούς του κυττάρου ξενιστή καθώς δεν κωδικοποιούν την παραγωγή του ενζύμου πολυμεράση (Hanley-Bowdoin et al., 1999).



Εικόνα 2: Ισωμάτια του TYLCV

1.4.2 Ο ιός TYLCV

Ο ιός *Tomato Yellow Leaf Curl Virus* (TYLCV) αποτελεί έναν ιό που συγκαταλέγεται ανάμεσα σε αυτούς που σχετίζονται με την ασθένεια TYLCD (Tomato Yellow Leaf Curl Disease) και αποτελεί απειλή για την τομάτα σε πολλές περιοχές παγκοσμίως ενώ δύναται να προκαλέσει ολική απώλεια της παραγωγής (Czosnek και Laterrot, 1997; Sanchez-Campos et al., 1999). Στον Πίνακα. 2 αναφέρονται ορισμένα στελέχη που σχετίζονται με τη συγκεκριμένη ασθένεια. Οι πρώτες αναφορές για ζημιές προερχόμενες από την ασθένεια προέρχονται από το Ισραήλ και άλλες χώρες της Μέσης Ανατολής στα τέλη της δεκαετίας του 1930 (Cohen και Antignus, 1994; Czosnek και Laterrot, 1997). Η εξάπλωση του *B. tabaci* σε παγκόσμιο επίπεδο προκάλεσε την μετάδοση του ιού σε ποικιλία ειδών τόσο ενδημικών, ζιζανίων αλλά και καλλιεργούμενων (Rybicki και Pietersen, 1999). Ζημιές σε καλλιέργειες τομάτας οι οποίες οφείλονται στον TYLCV έχουν αναφερθεί στη Μέση και Άπω Ανατολή, Αφρική, Ευρώπη, κεντρική και βόρεια Αμερική κ.λ.π. (Czosnek και Laterrot, 1997; Kato et al., 1998; Momol et al., 1999) ενώ για πάνω από 40 χρόνια μελετάται η επιδημιολογία και τα χαρακτηριστικά του ιού (Moriones και Navas-Castillo, 2000).

Ο TYLCV διαθέτει ένα γονιδίωμα μεγέθους 2800 ζευγών βάσεων με έξι μερικώς επικαλυπτόμενα ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης (ΑΠΑ) αντίθετης κατεύθυνσης (Moriones και Navas-Castillo, 2000) όπου τα ΑΠΑ V1 και V2 εντοπίζονται στη δεξιόστροφη και των ΑΠΑ C1 έως C4 στην αριστερόστροφη κατεύθυνση. Οι πρωτεΐνες που κωδικοποιούνται σχετίζονται με τη διασυστηματική μετακίνηση των ισωματίων και την προστασία τους από πιθανή αποικοδόμηση.

Πίνακας 3: Ιοί και στελέχη του γένους *Begomovirus* που σχετίζονται με την ασθένεια TYLCD (Fauquet et al., 2008)

Πλήρης ονομασία	Ακρωνύμιο
Tomato yellow leaf curl Axarquía virus	TYLCAxV
Tomato yellow leaf curl China virus	TYLCCNV
Tomato yellow leaf curl Guangdong virus	TYLCGuV
Tomato yellow leaf curl Indonesia virus	TYLCIV
Tomato yellow leaf curl Kanchanaburi virus	TYLCKaV
Tomato yellow leaf curl Malaga virus	TYLCMaV
Tomato yellow leaf curl Mali virus	TYLCMV
Tomato yellow leaf curl Sardinia virus	TYLCSV
Tomato yellow leaf curl Thailand virus	TYLCTHV
Tomato yellow leaf curl Vietnam virus	TYLCVV
Tomato yellow leaf curl virus	TYLCV

Στην τομάτα, όταν η προσβολή γίνει σε φύλλο, ο TYLCV δείχνει να διασπείρεται πέραν από τους φυλλικούς ιστούς, ενώ στο βλαστό φαίνεται να περιορίζεται στον ιστό του ηθμού. Για να επιτευχθεί μόλυνση, θα πρέπει ο ιός να διοχετευθεί από τον *Bemisia tabaci* στον ηθμό κατά τη διάρκεια της μύζησης του φυτικού χυμού (Morionnes και Navas-Castillo, 2000). Ο απαιτούμενος αριθμός εντόμων για τη μετάδοση του ιού είναι αρκετά μικρός και αναφέρεται να είναι από πέντε (Mehta et al., 1994), ενώ υπάρχουν και αναφορές επιτυχημένης μετάδοσης από ένα ή δύο άτομα ανά φυτό (Caciagli et al., 1995).

Ο TYLCV πολλαπλασιάζεται στον πυρήνα του κυττάρου όπως οι περισσότεροι

Geminiviruses. Αρχικά, τα ισωμάτια εισέρχονται στο φλοίομα μέσω των νύξεων των εντόμων και κινούνται προς τον πυρήνα των κυττάρων. Μόλις βρεθεί εκεί, το ιϊκό DNA πολλαπλασιάζεται μέσω ενός κυλιόμενου κυκλικού μηχανισμού (rolling circle mechanism) (Laufs et al., 1995). Αφού πολλαπλασιαστεί, τα ισωμάτια εγκαταλείπουν τον πυρήνα, διασχίζουν το κυτταρόπλασμα και περνούν είτε σε παρακείμενα κύτταρα είτε εισέρχεται στους αγωγούς ιστούς όπου μεταφέρεται σε άλλα μέρη του φυτού ώστε να επιτευχθεί η διασυστηματική προσβολή του (Morionnes και Navas-Castillo, 2000).

Ωστόσο, δεν είναι ακόμη πλήρως γνωστός ο μηχανισμός σε μοριακό επίπεδο μέσω του οποίου πραγματοποιείται η είσοδος στον πυρήνα των κυττάρων. Σε κάθε περίπτωση, μόλις τα ισωμάτια βρεθούν στον πυρήνα το μονόκλωνο DNA (ssDNA) μετατρέπεται σε δίκλωνο (dsDNA) αφού πρώτα μετασχηματιστεί σε μια ενδιάμεση μορφή (Hanley-Bowdoin et al., 1999; Morionnes και Navas-Castillo, 2000).

1.5 Αλληλεπίδραση TYLCV και *B. tabaci*

Για να καταστούν μολυσματικά, τα ισωμάτια των Begomoviruses στους οποίους ανήκει και ο TYLCV θα πρέπει να βρεθούν στους σιελογόνους αδένες των εντόμων φορέων. Αρχικά, περνούν από τα τοιχώματα του εντέρου στην αιμολέμφο των εντόμων και ακολούθως καταλήγουν στους σιελογόνους αδένες. Τα ισωμάτια για όσο βρίσκονται τόσο στον εντερικό σωλήνα όσο και στην αιμολέμφο αντιμετωπίζουν παρεμποδιστικά για την επιβίωσή τους περιβάλλοντα καθώς εκεί συνυπάρχουν μαζί με ένζυμα και ουσίες οι οποίες δύναται να τα αποικοδομήσουν. Για την μετακίνησή τους, τα ισωμάτια του TYLCV εκμεταλλεύονται τους ενδοσυμβιωτικούς μικροοργανισμούς των αλευρωδών. Στο έντομο *Bemisia tabaci*, η καψιδιακή πρωτεΐνη (capsid protein, CP) του ιού αλληλεπιδρά με συνοδές πρωτεΐνες (chaperons) οι οποίες παράγονται από το ενδοσυμβιωτικό βακτήριο *Hamiltonella*. Σχηματίζεται έτσι ένα σύμπλοκο το οποίο βοηθά στην μετακίνηση των ισωματίων μέσα στην αιμολέμφο του εντόμου φορέα (Morin et al., 1999; Morin et al., 2000; Gottlieb et al., 2010).

Έχει αναφερθεί ότι ο ιός δρα αρνητικά στη βιολογία του εντόμου φορέα. Τα έντομα φορείς του ιού ενδέχεται να παρουσιάζουν μικρότερο χρόνο ζωής σε σχέση με τους μη φορείς (Rubinstein και Czosnek, 1997) ενώ έχει παρατηρηθεί και μετάδοση του ιού από ιοφόρα αρσενικά σε θηλυκά και ιοφόρα θηλυκά σε αρσενικά αλλά δεν έχει

παρατηρηθεί μετάδοση σε άτομα του ίδιου φύλου (Ghanim και Czosnek, 2000). Επίσης, αναφέρεται πως τα θηλυκά άτομα είναι περισσότερο αποτελεσματικοί φορείς του ιού (έξι φορές) από τα αρσενικά έντομα (Martin, 1987) ενώ υπάρχει διαφορά στην ευκολία μετάδοσης τους TYLCV αναλόγως τον βιότυπο του *Bemisia tabaci* (Jones et al., 2003).

1.6 Φυτά ξενιστές του TYLCV και συμπτώματα

Ο ιός TYLCV έχει βρεθεί να προσβάλλει φυτά που ανήκουν σε διάφορες οικογένειες όπως τις Cucurbitaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae, Compositae, Convolvulaceae, Cruciferae, Euphorbiaceae, Leguminosae, Plantaginaceae, Malvaceae και Solanaceae. Μερικά από τα είδη που προσβάλλει είναι: τομάτα, φασόλι, καπνός, πετούνια κ.ά. (Παπαγιάννης, 2011). Στην τομάτα, η σοβαρότητα των συμπτωμάτων εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού κατά το οποίο πραγματοποιείται η μόλυνση. Μόλυνση σε νεαρό στάδιο προκαλεί καχεκτική ανάπτυξη, μειωμένη ζωηρότητα έως νανισμό, ενώ παρατηρούνται επίσης παραμορφώσεις στα φύλλα και καρούλιασμα αυτών προς τα επάνω ή προς τα κάτω. Επίσης, προκαλείται μεσονεύρια χλώρωση ή κιτρίνισμα στην άκρη των φύλλων (Εικ. 3Γ, Δ). Τα φύλλα παρουσιάζονται μικρότερα εξαιτίας της περιφερειακής συστροφής (Εικ. 3Α, Β). Μπορεί να παρατηρηθεί επίσης ανθόπτωση και μειωμένη καρποφορία έως ακαρπία ενώ οι παραγόμενοι καρποί είναι χαμηλότερης ποιότητας, μικρότεροι σε μέγεθος και λιγότεροι σε αριθμό. Όταν η μόλυνση πραγματοποιηθεί σε μεταγενέστερο στάδιο αναστέλλεται η καρπόδεση νέων καρπών ενώ τα νεαρά φύλλα εκπτύσσονται παραμορφωμένα και χλωρωτικά (Εικ. 3 Ε) και η κορυφή παρουσιάζει καρούλιασμα (Εικ. 3Α). Στα φυτά τομάτας τα συμπτώματα παρουσιάζονται περίπου δύο εβδομάδες μετά την μόλυνση (Παπαγιάννης, 2001).

Ο TYLCV είναι μια από τις περισσότερο καταστρεπτικές ασθένειες που προσβάλλουν την τομάτα. Δεν μεταδίδεται μηχανικά, με φυτικό χυμό ή επαφή μολυσμένων – υγιών φυτών. Η αποτελεσματικότητα της μετάδοσης αυξάνεται σημαντικά ακόμα και σε πολύ μικρό αριθμό προσβολών (βλ. παραπάνω) (Mehta et al., 1994; Caciagli et al., 1995). Ο ελάχιστος χρόνος που απαιτείται για την μετάδοση είναι 15 έως 30 λεπτά, αλλά η μέγιστη αποτελεσματικότητα μετάδοσης επιτυγχάνεται μετά από 24 ώρες. Η λανθάνουσα περίοδος είναι 21 έως 24 ώρες. Η πρόσληψη του ιού από

τα έντομα-φορείς απαιτεί ένα ελάχιστο διάστημα διατροφής στα μολυσμένα φυτά το οποίο κυμαίνεται από 15 έως 30 λεπτά και φτάνει σε ένα μέγιστο μετά από 12 ώρες. Ο ιός μεταδίδεται με έμμονο τρόπο και πολλαπλασιάζεται εντός του σώματος του αλευρώδη. Η περίοδος διατήρησής του στους αλευρώδεις είναι 20 ημέρες (Cock 1986) ενώ συχνά αυτοφυή προσβεβλημένα φυτά (ζιζάνια) δεν εκδηλώνουν συμπτώματα (λανθάνουσες μολύνσεις).





Εικόνα 3: Συμπτώματα του ιού TYLCV σε φυτά και φυτικά μέρη τομάτας *A:* Συμπτώματα TYLCV σε φύλλα τομάτας - άνω συστροφή φύλλων, μικροφυλλία και καρούλιασμα κορυφής *B:* Συστροφή φύλλων και καρούλιασμα κορυφής, *Γ:* Μεσονεύρια χλώρωση φύλλων φυτού τομάτας, *Δ:* Μεσονεύρια χλώρωση, *Ε:* φυτό τομάτας προσβεβλημένο από τον ιό TYLCV.

1.7 Στρατηγικές ελέγχου των εντόμων

Τα μέτρα ελέγχου των εντόμων μπορούν να χωριστούν σε 3 κατηγορίες: τα βιολογικά (με χρήση φυσικών εχθρών), τα χημικά (με χρήση χημικών εντομοκτόνων) και τα μηχανικά, ενώ μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης και τα καλλιεργητικά μέσα για τον έλεγχο του *Bemisia tabaci*.

Η χημική καταπολέμηση έχει φανεί ότι είναι μερικώς αποτελεσματική. Οι αλευρώδεις είναι πολυφάγα είδη και δύνανται να φτάσουν μεγάλους σε αριθμό πληθυσμούς εξαιτίας της μη ορθολογικής χρήσης των χημικών εντομοκτόνων. Μία από τις συνέπειες της μη ορθολογικής χρήσης είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στους διάφορους τύπους εντομοκτόνων από τα έντομα με χαρακτηριστικό παράδειγμα τον βιότυπο Β του *Bemisia tabaci* (Pico et al., 1996). Άλλο ένα μειονέκτημα της χημικής καταπολέμησης είναι η αρνητική επίδραση στους πληθυσμούς των φυσικών εχθρών των εντόμων (Gill, 1992). Οι αλευρώδεις έχουν πολλούς φυσικούς εχθρούς όπως τα είδη που ανήκουν στα γένη *Encarsia* και *Eretmocerus* τα οποία χρησιμοποιούνται για τον βιολογικό έλεγχο των πληθυσμών του *Bemisia tabaci* (Gerling και Mayer, 1996; Ellsworth και Martinez-Carrillo, 2001). Παρόλα αυτά, τα χημικά μέτρα μπορούν μόνο να περιορίσουν τη ζημιά από την τροφική δραστηριότητα των εντόμων ή να

καθυστερήσουν την εξάπλωση του TYLCV αλλά όχι να την καταστείλουν καθώς ο ελάχιστος αριθμός εντόμων ανά φυτό για την μετάδοσή του είναι ένα ή δύο άτομα (Caciagli et al., 1995).

Μηχανικά εμπόδια όπως σίτες (για θερμοκήπια) έχουν χρησιμοποιηθεί για την προστασία των φυτών (Cohen και Antignus, 1994) ενώ έχουν χρησιμοποιηθεί και πλαστικά πλαίσια απορρόφησης της UV ακτινοβολίας για την παρεμπόδιση των αλευρωδών να εισέλθουν σε θερμοκήπια (Antignus et al., 1998). Παρόλα αυτά, η χρήση τέτοιων μέσων δεν είναι η καλύτερη λύση καθώς είναι δαπανηρή και προκαλεί προβλήματα σκίασης, υπερθέρμανσης και μη ικανοποιητικού αερισμού (Lapidot και Friedmann, 2002).

Καλλιεργητικές πρακτικές όπως εναλλαγή καλλιεργειών, καταστροφή ζιζανίων, αλλαγές στην πυκνότητα φύτευσης κ.λπ. έχουν καλή αποτελεσματικότητα αλλά δεν εφαρμόζονται επαρκώς από τους καλλιεργητές (Hilje et al., 2001).

1.8 Ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα και μηχανισμοί ανθεκτικότητας

Η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα είναι ένα εξελικτικό φαινόμενο. Είναι ένα κληρονομούμενο γνώρισμα, το οποίο επιτρέπει στο έντομο να επιβιώνει από τις ακολουθούμενες στρατηγικές ελέγχου του πληθυσμού του με χημικά μέσα. Πιο συγκεκριμένα, η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα επιτρέπει σε ένα έντομο να επιβιώνει σε δόσεις εντομοκτόνου οι οποίες υπό κανονικές συνθήκες θα ήταν θανατηφόρες (Onstad, 2008). Εκατοντάδες είδη εντόμων, ακάρεων και άλλων αρθρόποδων έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα. Ενδεικτικά αναφέρεται πως μέχρι το 1989, περισσότερα από 500 είδη εντόμων, ακάρεων και άλλων αρθρόποδων είχαν αναπτύξει ανθεκτικότητα σε ένα ή περισσότερα εντομοκτόνα (Georghiou και Lagunes-Tejeda, 1991). Αυτό το πρόβλημα βαίνει διαρκώς αυξανόμενο. Σύμφωνα με την Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) η ανθεκτικότητα σε ένα εντομοκτόνο είναι «μια κληρονομούμενη αλλαγή στην ευαισθησία στον πληθυσμό ενός εντόμου, η οποία αντανακλάται στην επαναλαμβανόμενη αποτυχία ενός προϊόντος φυτοπροστασίας να επιτύχει τον αναμενόμενο έλεγχο του πληθυσμού του, ενώ χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες της ετικέτας» (IRAC, 2007). Η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα προκαλείται από τυχαίες μεταλλάξεις οι οποίες προστατεύουν τα έντομα από τις εφαρμογές των

εντομοκτόνων. Ο ρυθμός ανάπτυξης της ανθεκτικότητας εξαρτάται κυρίως από την πίεση της επιλογής που ασκείται στο έντομο από το εντομοκτόνο. Παρατεταμένη έκθεση ενός πληθυσμού σε μια τοξίνη αυξάνει τη συχνότητα εμφάνισης ανθεκτικών ατόμων σε αυτόν τον πληθυσμό. Η ανθεκτικότητα αναπτύσσεται γρηγορότερα σε περιβάλλον θερμοκηπίου όπου τα έντομα αναπαράγονται πολύ γρηγορότερα και υπάρχει σε μικρό βαθμό ή δεν υπάρχει καθόλου μετανάστευση ευαίσθητων ατόμων. Η ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα επισυμβαίνει από δύο κύριους μηχανισμούς:

➤ Μειωμένη σύνδεση του εντομοκτόνου στον στόχο του εξαιτίας σημειακών μεταλλαγών (π.χ. μεταλλαγές σχετικές με την ακετυλοχολινεστεράση για ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά / καρβαμιδικά εντομοκτόνα και μεταλλαγές σχετικές με τον υποδοχέα ακετυλοχολίνης για ανθεκτικότητα στα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα) (Pittendrigh et al., 2008) και

➤ Αυξημένη ικανότητα αποτοξίνωσης των εντομοκτόνων (Ranson et al., 2002; Pittendrigh et al., 2008) από ένζυμα όπως τις καρβοξυ-χολινεστεράσεις (carboxyl-cholinesterases, CCEs) (Oakeshott et al., 2005), τις τρανσφεράσες της γλουταθειόνης (glutathione-S-transferases, GSTs) (Ranson και Hemingway, 2005) και τις μονοοξυγενάσες του κυτοχρώματος P450 (Feyereisen, 2005).

Επίσης, υπάρχουν περιπτώσεις οι οποίες οφείλονται στη μειωμένη εισχώρηση των τοξινών, αποβολή των τοξινών ή ακόμα και περιπτώσεις συμπεριφορικής ανθεκτικότητας των εντόμων μέσω αποφυγής του εντομοκτόνου. Ένα έντομο δύναται να αναπτύξει παραπάνω από ένα μηχανισμούς ανθεκτικότητας (πολλαπλή ανθεκτικότητα) σε ένα ή περισσότερα εντομοκτόνα. Η διασταυρωτή ανθεκτικότητα (Cross resistance), επισυμβαίνει όταν η γενετική μεταλλαγή που καθιστά το έντομο ανθεκτικό σε ένα εντομοκτόνο το καθιστά ανθεκτικό και σε άλλα (Pittendrigh et al., 2008).

1.9 Ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *Bemisia tabaci* στα εντομοκτόνα και ανάπτυξη σύγχρονων εντομοκτόνων

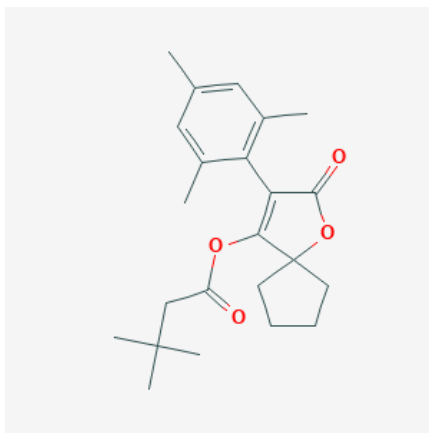
Αν και έχουν χρησιμοποιηθεί εντομοκτόνα ευρέως φάσματος για την καταπολέμηση των αλευρωδών π.χ. οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά και πυρεθρίνες,

(Denholm et al., 1996; Kontsedalov et al. 2008) η τοξικότητά τους στους ανθρώπους και τους ωφέλιμους οργανισμούς και η ανάπτυξη ανθεκτικότητας μεταξύ των βιοτύπων του *Bemisia tabaci* οδήγησε τις εταιρείες φυτοπροστατευτικών προϊόντων στη δημιουργία εντομοκτόνων φιλικών προς το περιβάλλον. Αυτά τα νέα εντομοκτόνα έχουν χρησιμοποιηθεί κατά κόρον σε προγράμματα διαχείρισης ανθεκτικότητας (Denholm et al., 1996; Horowitz et al., 2001). Η εκτεταμένη χρήση των νέων δραστικών εναντίον του *Bemisia tabaci*, πρωτεύοντος του imidacloprid και δευτερευόντως των acetamiprid και thiamethoxam της ομάδας των νεονικοτινοειδών και των ρυθμιστών ανάπτυξης benzoylphenyl ureas, pyriproxifen, αναμένεται να προκαλέσει προβλήματα ανάπτυξης ανθεκτικότητας (Kontsedalov et al. 2008). Άλλωστε, κατά τη διάρκεια των τελευταίων 30 ετών, ο *Bemisia tabaci* έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε όλες σχεδόν της ομάδες εντομοκτόνων, γεγονός που οφείλεται στη συχνή εφαρμογή εντομοκτόνων και στον μεγάλο αριθμό γενεών το χρόνο σε συνδυασμό με τον τρόπο αναπαραγωγής (Denholm et al., 1996; Horowitz et al., 2001). Έτσι, απαιτείται να αναπτυχθούν νέες δραστικές πολλές από τις οποίες θα εμφανίζουν μικρά επίπεδα τοξικότητας για το περιβάλλον, αλλά θα είναι εκλεκτικές για τα έντομα στόχους, ενώ εδώ και τουλάχιστον μία δεκαετία αναφέρονται προβλήματα ανθεκτικότητας σε ορισμένες από τις προαναφερόμενες ουσίες (Kontsedalov et al., 2008).

Τα τελευταία χρόνια υπήρξαν προσπάθειες ανάπτυξης νέων δραστικών με εκλεκτικές ιδιότητες και διαφορετικούς τρόπους δράσης από τα συμβατικά εντομοκτόνα, όπως τα pymetrozine, spirotetramat, spiromesifen και spirotetramat. Το pymetrozine, ένα παράγωγο της τριαζίνης είναι ένα σχετικά εκλεκτικό εντομοκτόνο, το οποίο διακόπτει τη διατροφή των μυζητικών εντόμων οδηγώντας τα στο θάνατο (Harrewijn και Kayser, 1997; Polston και Sherwood, 2003). Σε μελέτη στην αφίδα της ροδακινιάς, *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae) βρέθηκε ότι η pymetrozine δρα μέσω ενός νέου μηχανισμού που σχετίζεται με το μονοπάτι της σεροτινίνης (Kaufmann et al., 2004), ενώ η δράση της εντοπίζεται στη λειτουργία των χορδοτονικών οργάνων (Anonymous, 8). Τα παράγωγα των σπειροκυκλικών και τετραμικών οξέων (όπως τα spirotetramat, spiromesifen και spirotetramat) είναι μια νέα κλάση εντομοκτόνων και ακαρεοκτόνων. Αυτά δρουν (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2007) ως παρεμποδιστές της καρβοξυλάσης του συνένζυμουA (acetyl-CoA carboxylase,

ACCase) και προκαλούν σημαντικές μειώσεις στην βιοσύνθεση των λιπαρών ξέων (Kontsedalov et al., 2008) και των τριγλυκεριδίων (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2007) των εντόμων.

Το spiromesifen (Εικ. 4) είναι μια δραστική ουσία που ανήκει στη νέα κλάση των σπειροκυκλικών και τετρονικών οξέων και είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική για τους αλευρώδεις και τα ακάρεα, ενώ αναπτύχθηκε στα εργαστήρια της Bayer της δεκαετία του 1990 (Bretschneider et al., 2003). Έχει εισαχθεί από πολλές χώρες και χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλα εντομοκτόνα, όπως τα νεονικοτινοειδή. Επίσης, δεν έχει παρατηρηθεί ακόμη διασταυρωτή ανθεκτικότητα με άλλα εντομοκτόνα όπως τα οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά, πυρεθρινοειδή, νεονικοτινοειδή κ.λπ. (Kontsedalov et al., 2008). Η spiromesifen είναι δραστική κυρίως εναντίον των ενήλικων σταδίων και παρουσιάζει δράση κατά ακάρεων και αλευρωδών με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο. Έχει αναφερθεί, επίσης, ότι έχει δράση τόσο κατά ωών όσο και κατά των προνυμφών των εντόμων (Kontsedalov et al., 2008).



Εικόνα 4: Το χημικό μόριο της δραστικής ουσίας spiromesifen (Anonymous 4)

1.10 Η βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων και ο τρόπος δράσης του spiromesifen

Τα λιπαρά οξέα είναι απαραίτητα στη λειτουργία των βιολογικών συστημάτων ανεξαρτήτως είδους και παίζουν σημαντικό ρόλο στη δομή και τη λειτουργία των κυττάρων. Η βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων ξεκινά με την καρβοξυλίωση του ακετυλο-CoA σε μηλονυλο-CoA με τη δράση του ενζύμου καρβοξυλάση του ακετυλο-συνενζύμου Α (ACCase). Η αντίδραση αυτή είναι μη αντιστρεπτή και ιδιαίτερος

σημαντική αφού οδηγεί στη βιοσύνθεση του παλμιτικού οξέος, το οποίο αποτελεί πρόδρομο μόριο των υπολοίπων λιπαρών οξέων με μακριά ανθρακική αλυσίδα. Το παλμιτικό οξύ παράγεται από το μηλονύλο-CoA με τη δράση του συμπλόκου ενζύμων της συνθετάσης των λιπαρών οξέων, ενώ η βιοσύνθεση των λιπαρών οξέων από το παλμιτικό καταλύεται από τις επιμηκυνάσες (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2007). Παρεμπόδιση του ενζύμου ACCase προκαλεί μειωμένη βιοσύνθεση λιπαρών οξέων με αποτέλεσμα τη διατάραξη της οργανικής ισορροπίας του εντόμου και των μηχανισμών στους οποίους τα λιπαρά οξέα εμπλέκονται όπως την παραγωγή φερομονών, τη μεταφορά και την κινητοποίηση θρεπτικών, αποθήκευση της ενέργειας και τη δομική σταθερότητα των κυττάρων (Stanley-Samuelson et al., 1988).

1.11 Εντοπισμός και ταυτοποίηση φυτικών ιών

Οι περισσότερες από τις τεχνικές οι οποίες χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό φυτικών ιών βασίζονται είτε στη χρήση ορολογικών διαγνωστικών μεθόδων ή στην εφαρμογή μοριακών τεχνικών βασισμένων στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης ή άλλων τεχνικών ενίσχυσης νουκλειικών οξέων. Μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί συνδυασμός των δύο παραπάνω μεθόδων για καλύτερα αποτελέσματα όπως έχει πραγματοποιηθεί για τον εντοπισμό του TYLCV στην τομάτα (Segbefia et al., 2015). Δοκιμές για τον εντοπισμό ιών με φυτά δείκτες τα οποία μολύνονταν με τον ιό είτε μηχανικά είτε με εμβολιασμό έχουν πλέον αντικατασταθεί με μοριακές ή ορολογικές τεχνικές. Αυτές παρέχουν αποτελέσματα εντός λίγων ημερών σε σχέση με τη χρήση φυτών δεικτών όπου η εκδήλωση των συμπτωμάτων χρειαζόταν εβδομάδες ή και μήνες (Mahy και Van Regenmortel, 2009).

1.11.1 Ανοσο-ιστολογικό αποτύπωμα (Tissue Print Immunoblotting)

Στην τεχνική ανίχνευσης με Ανοσο-ιστολογικό αποτύπωμα, οι επιφάνειες μολυσμένων φυτικών μερών (φύλλα) πιέζονται πάνω σε μια μεμβράνη κατασκευασμένη από νάilon ή νιτροσελλουλόζη. Οι ιοί οι οποίοι περιέχονται στο χυμό απορροφώνται στην μεμβράνη και ανιχνεύονται μέσω αντισωμάτων σημασμένων με κάποιο ένζυμο το οποίο δύναται να μετατρέψει ένα άχρωμο διάλυμα σε ένα χρωματισμό αδιάλυτο προϊόν. Ακόμα και μικρά μέρη ενός φύλλου αρκούν για τον

εντοπισμό κάποιου ιού. Αυτή η τεχνική επιτρέπει και την μελέτη της κατανομής του ιού σε κάποιο φυτικό όργανο π.χ. φύλλο (Mahy και Van Regenmortel, 2009). Η τεχνική αυτή έχει επίσης χρησιμοποιηθεί στον εντοπισμό του ιού TYLCV αλλά δεν απέδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα (Segbefia et al., 2015).

1.11.2 Ανοσοενζυμική δοκιμασία (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

Από το 1988 αρκετές ορολογικές μέθοδοι ανίχνευσης έχουν αναπτυχθεί για τον εντοπισμό του TYLCV βασιζόμενες σε πολυκλωνικά αντισώματα που έχουν αναπτυχθεί για τον ιό. Παρόλα αυτά τα συγκεκριμένα αντισώματα ήταν κατάλληλα μόνο για αναλύσεις τύπου Western blot (Al-Bitar και Luisoni, 1995). Ωστόσο, πρόσφατα αναπτύχθηκαν αντισώματα εξειδικευμένα για τον TYLCV και κατάλληλα για την ανίχνευση πέντε *Begomoviruses* μέσω της μεθόδου ανάλυσης TAS-ELISA (Xie et al., 2013). Πιο συγκεκριμένα, εκφράστηκε το γονίδιο της καψιδιακής πρωτεΐνης του TYLCV στο *Escherichia coli*. Ακολουθώντας, χρησιμοποιώντας την πρωτεΐνη αναπτύχθηκαν μονοκλωνικά αντισώματα κατάλληλα για εφαρμογή και την παραγωγή αποτελεσμάτων για τη μέθοδο TAS-ELISA (Wu et al., 2012).

1.11.3 Μοριακές δοκιμές PCR

1.11.3.1 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)

Οι μοριακές δοκιμές που βασίζονται στην PCR και χρησιμοποιούν εξειδικευμένους εκκινητές χρησιμοποιούνται πλέον ευρέως στην ανίχνευση φυτικών ιών. Γενικά είναι πιο ευαίσθητες τεχνικές σε σχέση με τις ανοσολογικές τεχνικές και έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση ιών σε ξυλώδη και ποώδη φυτά όπου η ELISA δεν είναι αποτελεσματική. Επειδή απαιτείται η παρουσία DNA, στους RNA-ιούς προηγείται η μεταγραφή του ιϊκού RNA σε συμπληρωματικό DNA (complementary DNA, cDNA) με αντίστροφη μεταγραφή του εκμαγείου (reverse-transcription RT-PCR). Ακολουθεί η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης όπου παρουσία τριφωσφορικών δεοξυνουκλεοτιδίων, του ενζύμου DNA πολυμεράσης και κατάλληλων εκκινητών ενισχύονται συγκεκριμένα τμήματα DNA. Ο σχηματισμός των παραγόμενων προϊόντων της PCR πραγματοποιείται σε ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης.

Για τον εντοπισμό του TYLCV έχουν αναπτυχθεί μοριακές μέθοδοι όπου με εξειδικευμένους εκκινητές δύνανται να ταυτοποιήσουν την παρουσία του ιού σε φυτά αλλά και στα έντομα-φορείς (Accotto et al., 2000; Davino et al., 2008; Segbefia et al., 2015).

1.11.3.2 Real-Time PCR

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πραγματικού χρόνου (Real-Time PCR) συνδυάζει την ενίσχυση και την ταυτοποίηση των αλληλουχιών στόχων σε μια σύνθετη αντίδραση. Κατά τη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται μοριακοί ανιχνευτές σημασμένοι με διαφορετικά είδη σρωστικών ώστε να είναι αποτελεσματικός ο ποσοτικός προσδιορισμός του ενισχυόμενου τμήματος DNA.

Η Real-time PCR είναι μια εναλλακτική στην συμβατική PCR επειδή παρουσιάζει ευκολία, ταχύτητα και επαναληψιμότητα ενώ παρουσιάζει μειωμένο κίνδυνο επιμολύνσεων. Επίσης, μπορεί να αυτοματοποιηθεί μειώνοντας έτσι το κόστος των αναλύσεων ενώ αυξάνεται ο όγκος των δειγμάτων που δύναται να μεταχειριστεί κάθε φορά. Ακόμη, δεν είναι απαραίτητη η διενέργεια ηλεκτροφόρησης των προϊόντων της PCR. Όπως και οι υπόλοιπες τεχνικές που βασίζονται στην PCR έτσι και η real-time PCR επιτρέπει την διάκριση στελεχών οι οποίοι διαφέρουν σε μικρό αριθμό νουκλεοτιδίων. Η Real-time PCR, εξαιτίας της ικανότητας ποσοτικοποίησης αποτελεί μια υψηλών δυνατοτήτων μοριακή τεχνική για εντοπισμό και ταυτοποίηση ιών. Η συγκεκριμένη τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για ανίχνευση ιών Begomoviruses τόσο στα φυτά όσο και στα έντομα δίνοντας την δυνατότητα χρησιμοποίησης της και σε άλλα πεδία έρευνας (Mason et al., 2008; Noris και Miozzi, 2015; Ammara et al., 2017).

1.11.3.3 Τεχνολογία των DNA μικροσυστοιχιών (microarrays)

Μέχρι πρότινος, η τεχνολογία των μικροσυστοιχιών χρησιμοποιούνταν κυρίως για την ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης. Τα πλεονεκτήματά της, όπως το χαμηλό κόστος και η ευκολία χειρισμού την είχαν καταστήσει την κύρια μέθοδο μελέτης της γονιδιακής έκφρασης. Η μέθοδος βασίζεται στην ικανότητα των αλυσίδων του DNA να υβριδοποιούνται όταν υπάρχει συμπληρωματικότητα. Στις μικροσυστοιχίες η υβριδοποίηση του DNA γίνεται σε ένα μικρο-πλακίδιο. Μια μικροσυστοιχία περιέχει ένα πολύ μεγάλο αριθμό τμημάτων μονόκλωνου DNA που έχει ακινητοποιηθεί σε ένα

στερεό υπόστρωμα (μικρο-πλακίδιο ή chip). Το chip περιέχει τμήματα του DNA του υπό μελέτη οργανισμού που ονομάζονται ανιχνευτές (probes) τα οποία μπορούν να υβριδοποιηθούν με τα συμπληρωματικά τμήματα του DNA ενώ, το δείγμα έχει σημανθεί με φθορίζουσα χρωστική η οποία εκπέμπει μόνο όταν βρεθεί σε δίκλωνη μορφή. Το δείγμα διέρχεται με τη μορφή διαλύματος πάνω από το chip και τα συμπληρωματικά μέρη υβριδίζονται, Με τον υβριδισμό προκύπτει φθορισμός εξαιτίας της υβριδοποίησης δείγματος και συμπληρωματικής αλυσίδας του στο chip ο οποίο καταγράφεται και αναλύεται. Από την ανάλυση του σήματος προκύπτει η ποσοτική και ποιοτική αφθονία της αλληλουχίας στόχου. Πλέον η χρήση μικροσυστοιχιών έχει επεκταθεί και σε άλλες εφαρμογές όπως για παράδειγμα στην ανίχνευση ιών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το chip των Tiberini et al. (2010) το οποίο αναπτύχθηκε και είναι ικανό να εντοπίσει περί τους 10 ιούς στην τομάτα συμπεριλαμβανομένου του TYLCV. Ωστόσο, δεν ήταν δυνατή η διάκριση των συγκεκριμένων ιών για τους probes που σχεδιάστηκαν από τα γονίδια που κωδικεύουν τις CP πρωτεΐνες τους.

1.12 Σκοπός της Μεταπτυχιακής Εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης της ανθεκτικότητας του εντόμου *Bemisia tabaci* στο εντομοκτόνο spiromesifen στη μετάδοση του ιού TYLCV σε φυτά τομάτας. Προς τούτο, αξιολογήθηκε η ικανότητα μετάδοσης του ιού από δύο στελέχη του προαναφερθέντος εντόμου, ένα ευαίσθητο και ένα ανθεκτικό στη συγκεκριμένη δραστική ουσία.

2 ΥΛΙΚΑ και ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Αναπαραγωγή εντόμων-φορέων του ιού TYLCV και πληθυσμοί

Για την διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν άτομα των πληθυσμών GR 176 και Bt 482, οι οποίοι προέρχονται ο πρώτος από την Επισκοπή της Κρήτης το 2006, ενώ ο έτερος από την περιοχή της Μούρθια της Ισπανίας και παραχωρήθηκαν στο εργαστήριο εντομολογίας του ΕΛ.Γ.Ο. ‘Δήμητρα’ το 2013. Για την “παραγωγή” των εντόμων-φορέων του ιού που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ακολουθήθηκε η παρακάτω αναφερόμενη διαδικασία.

Αρχικά, συλλέχθηκαν άτομα του εντόμου *Bemisia tabaci* τα οποία ήταν γνωστό ότι αποτελούσαν φορείς του ιού TYLCV. Τα έντομα αυτά αφέθηκαν σε υγιή φυτά τομάτας προκειμένου τα φυτά να μολυνθούν και να αποτελέσουν τον ξενιστή των χρησιμοποιούμενων πληθυσμών που θα μεταχειριστούν αργότερα. Τα ενήλικα έντομα απομακρύνθηκαν από τα φυτά δύο μέρες μετά ενώ μετά από 10 ημέρες απομακρύνθηκαν και οι προνύμφες L2 σταδίου.

Ακολούθησε ο διαχωρισμός των μολυσμένων φυτών σε δύο εντομοστεγείς κλωβούς καλυμμένους με κατάλληλο δίκτυ προστασίας όπως φαίνεται στην εικόνα 5. Στον ένα κλωβό εισήχθησαν άτομα του πληθυσμού GR 176 ο οποίος είναι ευαίσθητος

στο spiromesifen, ενώ στον δεύτερο κλωβό τοποθετήθηκε ο Bt482 ο οποίος είναι ανθεκτικός στο εντομοκτόνο spiromesifen ώστε να καταστήσουμε τους δύο αυτούς πληθυσμούς φορείς του ιού TYLCV.

Όταν εγκαταστάθηκε η πειραματική φυτεία, απομονώθηκαν κάποια ιωμένα φυτά σε νέους κλωβούς ώστε να αναπαραχθούν οι προαναφερόμενοι πληθυσμοί και να δημιουργηθεί ένας ικανοποιητικός αριθμός ενήλικων εντόμων. Ακολούθως, μεταφέρθηκε αριθμός νέων ενήλικων εντόμων στα ιωμένα φυτά και τοποθετήθηκε σε clips για 72 ώρες ώστε αυτά να καταστούν φορείς του ιού.



Εικόνα 5: A: Εντομοστεγής κλωβός ανάπτυξης φυτών B: φυτάρια τομάτας εντός του εντομοστεγούς κλωβού (Τζανουδάκη, προσωπικό αρχείο).

2.2 Ανάπτυξη φυτών ξενιστών

Στο παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας (*Solanum lycopersicum* L.) ποικιλίας NMc200. Σπόροι της προαναφερόμενης ποικιλίας σπάρθηκαν σε δίσκους σποράς σε υπόστρωμα αποτελούμενο από φυτόχωμα (Neuhaus). Την σπορά ακολούθησε τοποθέτηση των δίσκων σε θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών. Οι συνθήκες ανάπτυξης των φυτών ήταν 25 ± 1 °C, ενώ η φωτοπερίοδος ορίστηκε στις 18 ώρες. Μετά την παρέλευση είκοσι ημερών επιλέχθηκαν 68 άρτια από πλευράς φυτοϋγείας και λαχανοκομικής κατάστασης φυτά τα οποία μεταφυτεύτηκαν σε πλαστικά ποτήρια όγκου 0,3L με φυτόχωμα και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ανάπτυξης ελεγχόμενων συνθηκών σε αντίστοιχες με τις προαναφερόμενες συνθήκες.

Ένα μήνα μετά την μεταφύτευση, και αφού τα φυτά βρίσκονταν στο στάδιο των 5 φύλλων, πραγματοποιήθηκε η τοποθέτηση των εντόμων φορέων, αλλά και εντόμων μη-φορέων στα φυτά τα οποία απετέλεσαν τους (Εικ. 6).



Εικόνα 6: Προσβολή από τα έντομα-φορείς του ιού TYLCV (Τζανουδάκη, προσωπικό αρχείο)

2.3 Μετάδοση του TYLCV – Δειγματοληψία και στατιστική ανάλυση

Μετά την ανάπτυξη των εντόμων-φορέων από τους δύο πληθυσμούς αυτά τοποθετήθηκαν σε τυχαία φύλλα υγιών φυτών τομάτας προκειμένου να πραγματοποιηθεί η μετάδοση του ιού TYLCV. Δύο και εννέα ημέρες μετά τη δειγματοληψία των ενήλικων εντόμων του *Bemisia tabaci* τα φυτά ψεκάστηκαν με τα σκευάσματα Sivanto (flupyradifurone) (Bayer, Γερμανία) (75 μl/100 ml) και Benevia (cyantraniliprole) (DuPont, Η.Π.Α.) (50 μl/100 ml) προκειμένου να θανατωθούν όλα τα εναπομείναντα ενήλικα άτομα ενώ τέσσερις ημέρες μετά το ψεκάσμο αφαιρέθηκαν και οι προνύμφες των εντόμων.

Μετά την πάροδο 24 ωρών, τα έντομα απομακρύνθηκαν και πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία των ενήλικων ατόμων, τα οποία αποθηκεύτηκαν σε θάλαμο ψύξης -80°C μέχρι την ανάλυσή τους στο εργαστήριο. Τα έντομα απομακρύνθηκαν με ειδική συσκευή, η οποία επέτρεπε τη συλλογή χωρίς τη θανάτωση των εντόμων. Μετά τη δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε εξαγωγή του DNA των εντόμων και αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) με εξειδικευμένους εκκινητές για τον ιό TYLCV (Davino et al., 2008) για τη διαπίστωση της παρουσίας του ιού στα έντομα. Είκοσι επτά (27) ημέρες μετά την μόλυνση πραγματοποιήθηκε η δειγματοληψία των φύλλων, ενώ συλλέχθηκε ένα κορυφαίο φύλλο από κάθε φυτό, το οποίο μεταφέρθηκε και αποθηκεύτηκε στους -80°C μέχρι την πραγματοποίηση του ιολογικού ελέγχου. Ταυτόχρονα έγινε και οπτική παρατήρηση των συμπτωμάτων (Εικ. 7). Ύστερα από τη δειγματοληψία φύλλων ακολούθησε εκχύλιση του ολικού DNA και η εφαρμογή της

μοριακής δοκιμής PCR με εξειδικευμένους εκκινητές για τον ιό TYLCV (Davino et al., 2008) για να διαπιστωθεί η παρουσία του ιού.



Εικόνα 7: Φυτά τομάτας. A: Υγιή-μάρτυρες B: Ιωμένα (Τζανουδάκη, προσωπικό αρχείο)

Για κάθε πληθυσμό (GR 176, Bt482) ένα, τρία έξι εντόμα-φορείς του ιού τοποθετήθηκαν σε ένα φύλλο υγιούς φυτού τομάτας. Για κάθε επέμβαση έγιναν πέντε επαναλήψεις. Τις επεμβάσεις απετέλεσαν οι δύο πληθυσμοί των εντόμων (ανθεκτικός, μη ανθεκτικός) ενώ ο αριθμός των φυτών απετέλεσε τις επαναλήψεις. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν τρία φυτά τομάτας (ανά πληθυσμό; GR 176, Bt482) τα οποία προσβλήθηκαν από έντομα-μη φορείς του ιού. Επίσης χρησιμοποιήθηκαν και τέσσερα καθαρά φυτά χωρίς έντομα ως μάρτυρες.

Μετρήθηκαν ο αριθμός των ζωντανών θηλυκών ενηλίκων ατόμων 24 ώρες μετά την απελευθέρωσή τους στο φυτό, καθώς επίσης και η παρουσία-απουσία του ιού στα έντομα και τα φυτά (με τη μέθοδο της PCR). Το ποσοστό μετάδοσης υπολογίστηκε ως το πηλίκο των φυτών στα οποία ενισχύθηκε τμήμα του ιϊκού DNA προς το σύνολο των φυτών της επέμβασης.

Για την εύρεση της επίδρασης της ανθεκτικότητας στο εντομοκτόνο στη διάδοση του ιού από τα φυτά στα έντομα και τη μετάδοση του ιού στα φυτά τα δεδομένα τυχαιοποιήθηκαν σύμφωνα με τον αλγόριθμο της ιστοσελίδας random.org και ομαδοποιήθηκαν σε τρεις επαναλήψεις των πέντε φυτών. Ακολούθως, αναλύθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο ανάλυσης της διασποράς (ANOVA). Όπου υπήρξε στατιστικά

σημαντική διαφορά αυτή προσδιορίστηκε με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tuckey HSD, σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

Για την εύρεση της επίδρασης της ανθεκτικότητας στο εντομοκτόνο στην επιβιωσιμότητα των θηλυκών εντόμων, υπολογίστηκε το ποσοστό των ζωντανών εντόμων ανά επανάληψη. Ακολούθως, τα δεδομένα τυχαιοποιήθηκαν σύμφωνα με τον αλγόριθμο της ιστοσελίδας random.org και ομαδοποιήθηκαν σε τρεις επαναλήψεις των πέντε φυτών. Αναλύθηκαν με τη μέθοδο της πολλαπλής ανάλυσης της διασποράς (MANOVA), με τον ένα παράγοντα να αποτελεί η παρουσία του ιού με δύο επίπεδα (ήτοι παρουσία και απουσία) στα έντομα και τον άλλο ο πληθυσμός του εντόμου με τρία επίπεδα (ήτοι ένα ή τρία ή έξι έντομα) . Όπου υπήρξε στατιστικά σημαντική διαφορά αυτή προσδιορίστηκε με τη δοκιμασία πολλαπλών μέσων του Tukey HSD, σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05.

2.4 Εκχύλιση ολικού DNA από φύλλα τομάτας και εφαρμογή μοριακής μεθόδου ανίχνευσης PCR

Για την εκχύλιση του ολικού DNA από τα φύλλα τομάτας χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο των Chatzinasiou et al. (2010) το οποίο στηρίζεται στη δέσμευση των μορίων του DNA μεμβράνη σιλικόνης.

Για την επιβεβαίωση παρουσίας του ιού στα δείγματα των φυτών της τομάτας χρησιμοποιήθηκε μοριακή δοκιμή PCR (Davino et al., 2008)

Η ανίχνευση των προϊόντων της PCR έγινε με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζη. Για την Παρασκευή της πηκτής χρησιμοποιήθηκε 1,5% αγαρόζη σε διάλυμα ηλεκτροφόρησης TAE 1X.

2.5 Εκχύλιση ολικού DNA από τα έντομα και εντοπισμός ιϊκού DNA με τη μέθοδο της PCR

Για την εκχύλιση του ολικού DNA από τα έντομα του *Bemisia tabaci* χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο των Tsagkarakou et al. (2007), ενώ

πραγματοποιήθηκε μοριακή δοκιμή PCR σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές για την επιβεβαίωση παρουσίας του ιού.

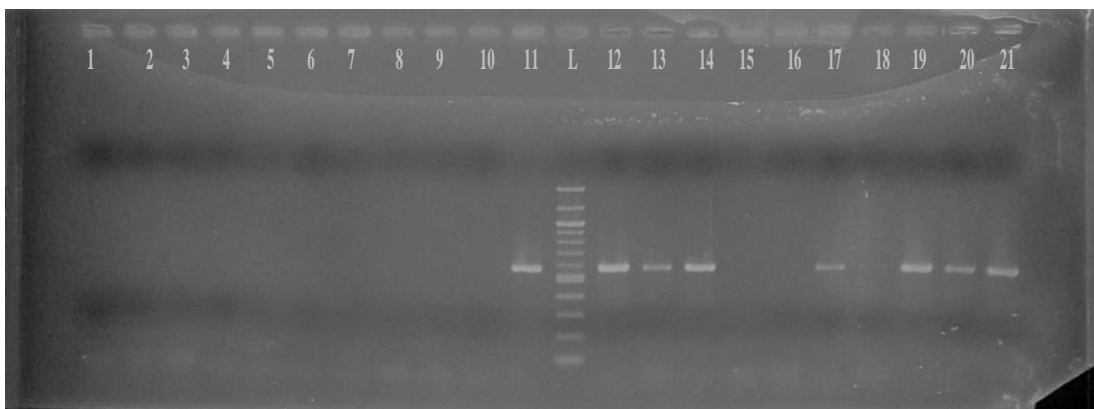
Η ανίχνευση των προϊόντων της PCR έγινε με ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης. Για την Παρασκευή της πηκτής χρησιμοποιήθηκε 1,5% αγαρόζη σε διάλυμα ηλεκτροφόρησης TAE 1X.

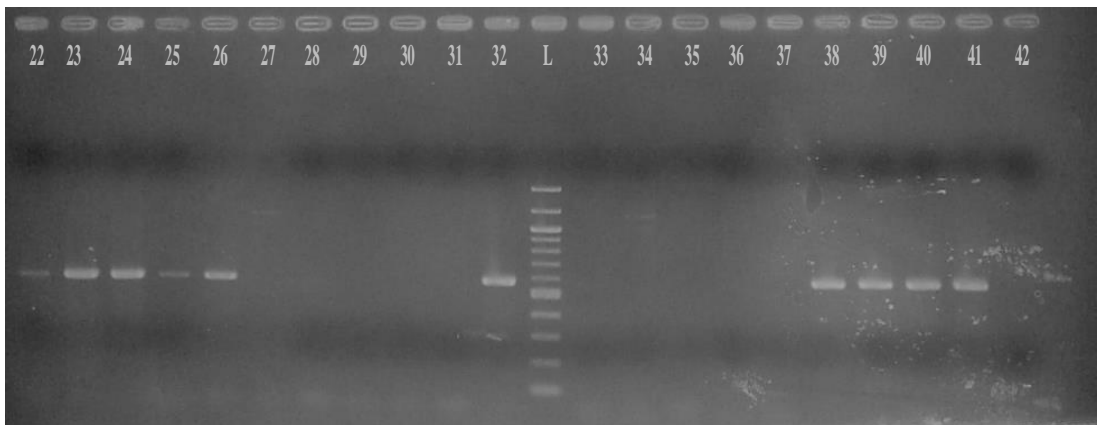
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στο παράρτημα I (σελ 48) παρουσιάζονται τα δεδομένα της επίδρασης του πληθυσμού στη μετάδοση του ιού TYLCV.

3.1 Μοριακή ανίχνευση του ιού TYLCV σε δείγματα τομάτας

Η παρουσία του ιού TYLCV στα φυτά της τομάτας επιβεβαιώθηκε με την ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αгарόζης (Εικ. 7).

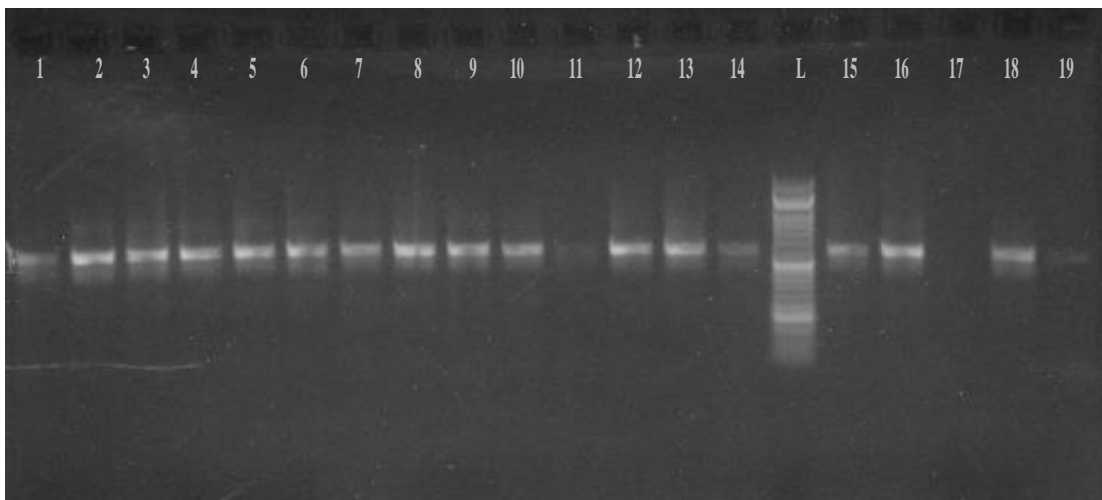


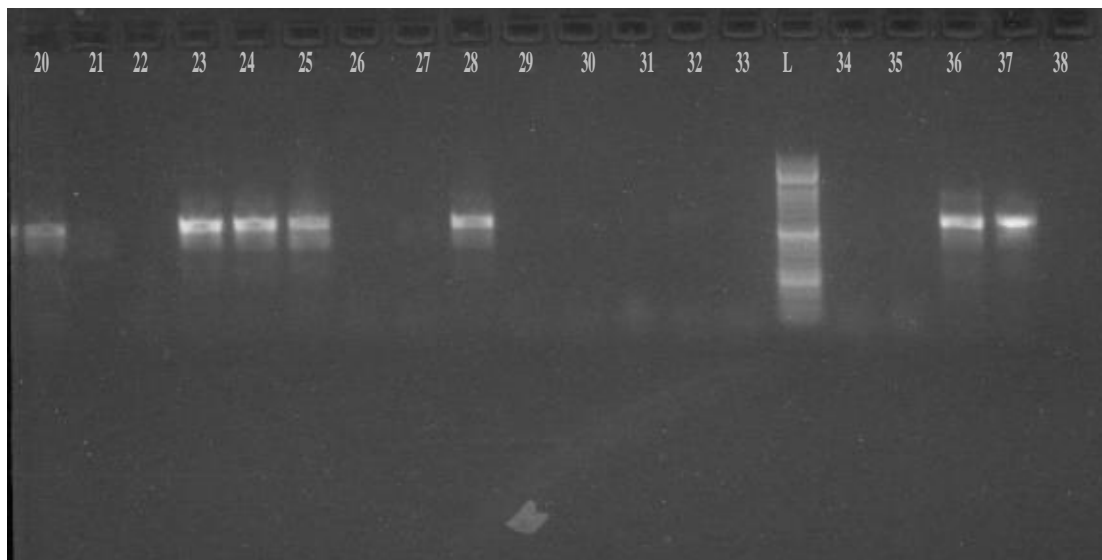


Εικόνα 7: Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων της PCR σε πηκτή αγαρόζης για την ανίχνευση του ιού TYLCV στα φυτά τομάτας. Από 1 έως 10: Αρνητικοί μάρτυρες (φυτικός ιστός από υγιή φυτά), από 11 έως 26 προσβεβλημένα φυτά από τον ευαίσθητο πληθυσμό GR 176, 27 έως 41: προσβεβλημένα φυτά από τον ανθεκτικό πληθυσμό Βι 482, 42: θετικός μάρτυρας, 43: αρνητικός μάρτυρας, L: Δείκτης μεγέθους DNA (ladder) 100bp

3.2 Μοριακή ανίχνευση του ιού TYLCV σε συλλεχθέντα ενήλικα άτομα του εντόμου *B. tabaci*

Η διαπίστωση της παρουσίας του ιού TYLCV στα ενήλικα άτομα του *B. tabaci* πραγματοποιήθηκε με τον διαχωρισμό των προϊόντων της PCR σε πηκτή αγαρόζης (βλ. Υλικά και μέθοδοι). Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην Εικόνα. 8. Τα δείγματα από τα έντομα-φορείς του ιού παρουσιάζουν τη ζώνη ενίσχυσης που υποδηλώνει παρουσία του ιού, ενώ στα έντομα μη-φορείς δεν υπάρχει παρουσία ενισχυμένης ζώνης DNA.

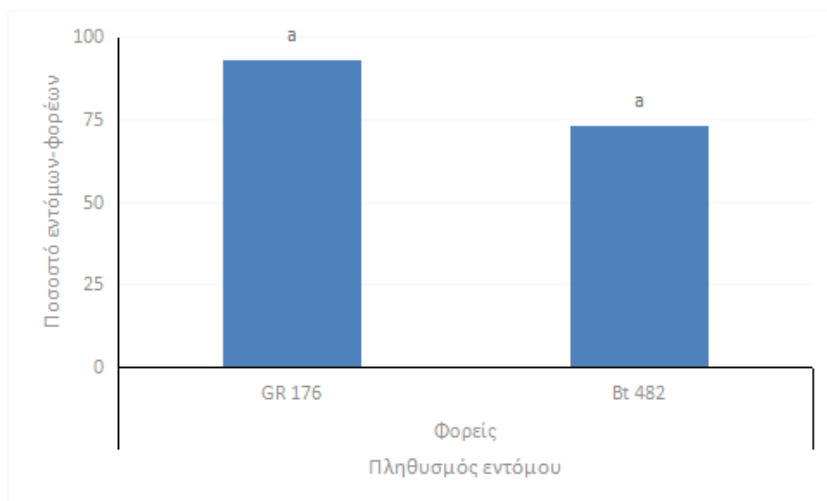




Εικόνα 8: Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων PCR για την παρουσία του ιού TYLCV στα έντομα του είδους *Bemisia tabaci*. Από 5 έως 10: Αρνητικοί μάρτυρες (φυτικός ιστός από υγιή φυτά). Από 11 έως 25: Ευαίσθητος πληθυσμός GR 176, από 26 έως 40 ανθεκτικός πληθυσμός Bt 482, NC: αρνητικός μάρτυρας, P1.1 και : θετικοί μάρτυρες. L: δείκτης μεγέθους DNA ανά 100bp (ladder)

3.3 Πρόσληψη του ιού από αρχικό μόλυσμα στο έντομο

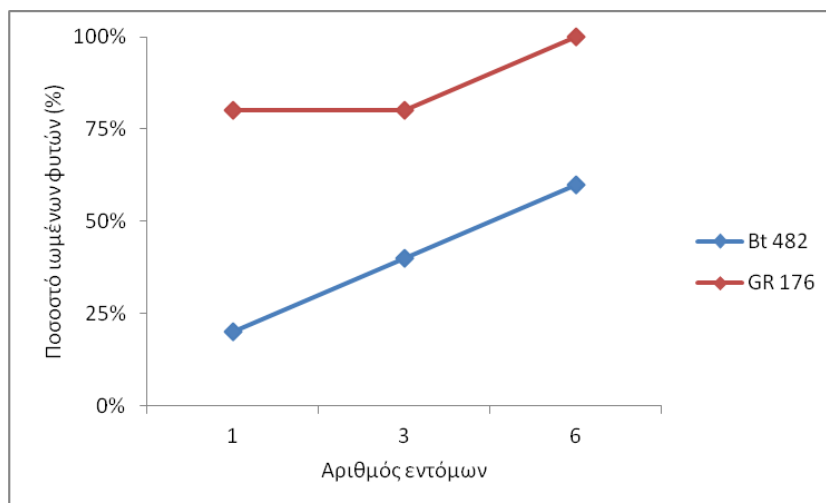
Σχετικά με τη πρόσληψη του ιού από το αρχικό μόλυσμα στους δύο πληθυσμούς του εντόμου (GR 176 και Bt 482) δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο ποσοστό των εντόμων τα οποία προσέλαβαν τον ιό (Αποτελέσματα ANOVA στο παράρτημα, Πίνακας. 5). Στη περίπτωση του GR 176 το ποσοστό εντόμων φορέων κυμάνθηκε στο 93% ενώ για τον Bt 482 αυτό ανήλθε στο 73%. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο ιός TYLCV δύναται να προσληφθεί με την ίδια ευκολία και στους δύο πληθυσμούς του εντόμου *Bemisia tabaci* χωρίς να επηρεάζεται από την ανθεκτικότητα στη spiromesifen.



Διάγραμμα. 1: Ποσοστό πρόσληψης του ιού από τα αρχικώς μολυσμένα φυτά στα άτομα του εντόμου *B. tabaci* αναλόγως του πληθυσμού. Διαφορετικοί λατινικοί χαρακτήρες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων Tukey HSD ($\alpha=0,05$).

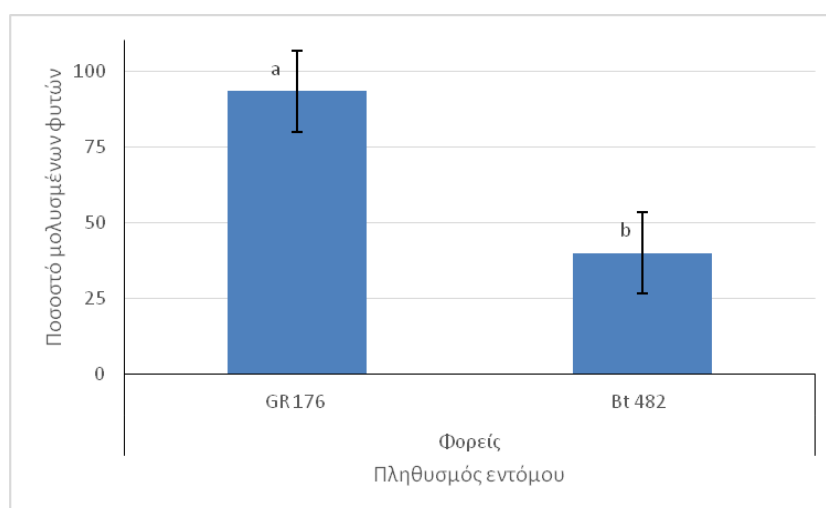
3.4 Επίδραση του πληθυσμού (ανθεκτικός – μη ανθεκτικός) και του αριθμού των εντόμων στη μετάδοση του ιού TYLCV σε φυτά τομάτας

Στο διάγραμμα 3 παρουσιάζεται το ποσοστό των μολυσμένων φυτών σε συνάρτηση με τον αριθμό των εντόμων που αφέθηκαν στα φύλλα. Φαίνεται πως αυξανόμενου του αριθμού των εντόμων αυξάνεται και το ποσοστό των μολυσμένων φυτών. Αυτό είναι εντονότερο στην περίπτωση του πληθυσμού Bt482 όπου ακολουθεί σχεδόν γραμμική αύξηση. Ωστόσο, το ποσοστό των μολυσμένων φυτών για τον πληθυσμό GR176 παραμένει υψηλότερο από αυτό του Bt482 ανεξαρτήτως του αριθμού εντόμων.



Διάγραμμα 2: Επίδραση του αριθμού των εντόμων *B. tabaci* στο ποσοστό μολυσμένων φυτών τομάτας.

Βρέθηκε επίσης στατιστικά σημαντική διαφορά όσο αφορά τη μετάδοση του ιού TYLCV από του δύο πληθυσμούς (ανθεκτικό και μη ανθεκτικό στο εντομοκτόνο spiromesifen) σε φυτά τομάτας (Διαγραμμα. 4). Ο μη ανθεκτικός πληθυσμός GR176 παρουσίασε υψηλότερα ποσοστά μετάδοσης του ιού σε σχέση με τον ανθεκτικό Bt482. Πιο συγκεκριμένα, βρέθηκε ότι το ποσοστό μετάδοσης του GR176 ανέρχεται σε 93%, ενώ το αντίστοιχο για τον ανθεκτικό πληθυσμό Bt 482 ανήλθε σε 40% υποδεικνύοντας ότι ο προαναφερόμενος πληθυσμός χαρακτηρίζεται από μικρότερη δυνατότητα μετάδοσης του ιού σε σύγκριση με τον GR176 για τον TYLCV.



Διάγραμμα 3: Ποσοστό μετάδοσης του ιού TYLCV σε φυτά τομάτας από τους πληθυσμούς GR176 και Bt482 του εντόμου *B. tabaci*. Διαφορετικοί λατινικοί χαρακτήρες υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές σύμφωνα με τη δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων Tukey HSD ($\alpha=0,05$), οι κάθετες ράβδοι υποδηλώνουν το τυπικό σφάλμα.

4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία έγινε μια προσπάθεια να μελετηθεί η επίδραση της ανθεκτικότητας του *B. tabaci* στο spiromesifen στην μετάδοση του ιού TYLCV στην τομάτα. Προς τούτο, μελετήθηκε η ικανότητα μετάδοσης του TYLCV μεταξύ δύο πληθυσμών, ενός ανθεκτικού στη προαναφερόμενη δραστική (Bt482) και ενός ανθεκτικού πληθυσμού (GR176). Χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά θηλυκά έντομα ενώ εκτιμήθηκε η ικανότητα πρόσληψης του ιού από τα θηλυκά έντομα και το ποσοστό των ζωντανών εντόμων μεταξύ των πληθυσμών φορέων και μη που χρησιμοποιήθηκαν.

Τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά έντομα του *B. tabaci* δύνανται να προσλάβουν και να μεταδώσουν τον ιό στα φυτά. Ωστόσο, στην παρούσα εργασία, για τα πειράματα μετάδοσης του ιού χρησιμοποιήθηκαν μόνο θηλυκά άτομα. Αναφέρεται βιβλιογραφικά πως το φύλο του εντόμου του *B. tabaci* επηρεάζει τα ποσοστά μετάδοσης του ιού τουλάχιστον για ορισμένους βιοτύπους του (Ning et al., 2015; Xie et al., 2012). Τα θηλυκά άτομα του συγκεκριμένου εντόμου είναι καλύτεροι φορείς του TYLCV καθώς δύνανται να μεταδώσουν τον ιό περίπου έξι φορές πιο αποτελεσματικά σε σχέση με τα αρσενικά άτομα (Martin, 1987). Μια πιθανή εξήγηση της αποτελεσματικότερης μετάδοσης του ιού μέσω του θηλυκού εντόμου πιθανώς να είναι ότι τα θηλυκά είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα αρσενικά οπότε και περιέχουν περισσότερη συγκέντρωση του ιού κάτι που έχει βρεθεί για τον συνδυασμό *B. tabaci*-TYLCV (Ning et al., 2015). Επίσης, διατρέφονται περισσότερο διοχετεύοντας

μεγαλύτερη ποσότητα σιέλου στον ηθμό του φυτού αυξάνοντας την πιθανότητα μιας επιτυχούς μετάδοσης (Ning et al., 2015). Παρόλα αυτά, αυτό φαίνεται πως δεν ισχύει πάντα καθώς στο σύμπλοκο *B. tabaci*-CCYV τα αρσενικά έντομα μεταδίδουν αποτελεσματικότερα τον ιό κάτι που υποδεικνύει ότι ο κάθε ιός δύνανται να επηρεάζει διαφορετικά την συμπεριφορά και τις ιδιότητες των εντόμων (αναφορικά με τη μετάδοση) (Lu et al., 2017). Η αποτελεσματικότερη μετάδοση των φυτικών ιών από τα θηλυκά έντομα έχει αναφερθεί και σε άλλες περιπτώσεις όπως για παράδειγμα στη μετάδοση του χλωρωτικού νανισμού του καλαμποκιού (*Maize chlorotic dwarf virus*, MCDV) από το έντομο *Graminella nigrifrons* (Homoptera: Cicadellidae) στον αραβόσιτο (Gingery et al., 2004) και την μετάδοση του ιού της ράβδωσης του ρυζιού (*Rice stripe virus*, RSV) από το έντομο *Peregrinus maidis* (Narayana et al., 1996). Ωστόσο, υπάρχουν και αναφορές που υποστηρίζουν την αντίθετη άποψη όπου τα ποσοστά μετάδοσης του ιού από τα αρσενικά είναι μεγαλύτερα σε σχέση με τα θηλυκά όπως για παράδειγμα στη μετάδοση του ιού του κηλιδωτού μαρασμού της τομάτας (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV) από τον θρίπα *Frankliniella occidentalis* (Wetering et al., 1999).

Ύστερα από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας δεν βρέθηκαν μελέτες που να διαφωτίζουν την σχέση μεταξύ της ανθεκτικότητας των εντόμων σε συγκεκριμένες δραστικές και της μετάδοσης φυτικών ιών τουλάχιστον για τον *B.tabaci*. Παρόλα αυτά, βρέθηκαν πειραματικά δεδομένα που αφορούν τη μετάδοση του TSWV με έμμοιο τρόπο από τον θρίπα *Frankliniella occidentalis* (Zhao et al., 2015). Στην προαναφερόμενη εργασία η μετάδοση του ιού TSWV κυμάνθηκε σε χαμηλότερα ποσοστά για τον ανθεκτικό στο spinosad πληθυσμό σε σχέση με τον μη-ανθεκτικό παρόλο που η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Ωστόσο, από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας προκύπτει ότι ο ανθεκτικός πληθυσμός-φορέας (Bt482) μετέδωσε σε σημαντικά χαμηλότερο ποσοστό τον ιό στα φυτά σε σύγκριση με τον μη-ανθεκτικό (GR176) (Διαγ. 2). Επίσης, προέκυψε ότι η πρόσληψη του ιού TYLCV από τους πληθυσμούς του *B. tabaci* μπορεί να μην διαφέρει σημαντικά αλλά η διάδοση του ιού στον ανθεκτικό στο spiromesifen πληθυσμό ήταν μειωμένη (Διαγ. 1). Το μειωμένο ποσοστό πρόσληψης θα μπορούσε ενδεχομένως να αποδοθεί στη δυσκολία μετάδοσης από το μολυσμένο φυτό στο έντομο και στη δυσκολία διατήρησης του ιού στο σώμα του εντόμου. Εξάλλου, στην περίπτωση του συμπλόκου *Frankliniella occidentalis*-

TSWV τα επίπεδα της συγκέντρωσης του TSWV ήταν χαμηλότερα για τον ανθεκτικό στον spinosad πληθυσμό (αλλά και πάλι όχι στατιστικώς σημαντικά) κάτι που δείχνει μειωμένη συγκέντρωση του ιού (Zhao et al., 2015). Η αρχική συγκέντρωση του ιού στον αλευρώδη θεωρείται ένας πολύ σημαντικός παράγοντας και σχετίζεται θετικά αναφορικά με την ικανότητα μετάδοσης τόσο του TYLCV (Lapidot et al., 2001) όσο και άλλων ιών που μεταδίδονται από άλλα έντομα (Mautino et al., 2012) στα φυτά. Ωστόσο, για να μπορούσε να στοιχειοθετηθεί καλύτερα μια τέτοια άποψη θα έπρεπε να είχε πραγματοποιηθεί ποσοτικοποίηση του επιπέδου του ιού με την τεχνική της Real-Time PCR τόσο στα φυτά όσο και στα έντομα φορείς.

Η ικανότητα μετάδοσης του TYLCV από τους αλευρώδεις σχετίζεται επίσης και με την τροφική τους συμπεριφορά (Jiang et al., 2000). Έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στην τροφική συμπεριφορά του θρίπα *F. occidentalis* για τους πληθυσμούς αυτούς που απέκτησαν ανθεκτικότητα στο spinosad (Zhao et al., 2015). Οι αλλαγές αυτές συνίσταντο στην μειωμένη συχνότητα διατροφής του θρίπα για τους ανθεκτικούς πληθυσμούς. Έτσι, μπορούμε να υποθέσουμε ότι η απόκτηση ανθεκτικότητας στο spiromesifen προκάλεσε αλλαγή στη συμπεριφορά των θηλυκών ατόμων του εντόμου *B. tabaci* μειώνοντας, ενδεχομένως, τη συχνότητα μύζησης χυμών. Αυτό ίσως προκάλεσε την μειωμένη συγκέντρωση του ιού στα έντομα φορείς και δεδομένης της σχέσης της μετάδοσης του ιού-συγκέντρωσης στο έντομο, το ποσοστό της μετάδοσης ήταν μειωμένο για τα ανθεκτικά στο spiromesifen έντομα. Ωστόσο, για την απόδειξη της παραπάνω υπόθεσης είναι αναγκαία η χρήση ενός συστήματος ικανού να παρατηρεί την τροφική συμπεριφορά των εντόμων φορέων και να καθορίζει ποια δραστηριότητα συνδέεται με την μετάδοση του ιού μέσω των φορέων (Jiang et al., 2000).

Ο *B. tabaci* μπορεί να φέρει στο σώμα του συμβιωτικά βακτήρια των γενών *Portiera*, *Rickettsia*, *Hamiltonella*, *Wolbachia*, *Arsenophonus*, *Cardinium*, και *Fritschea* (Kliot et al., 2014). Οι σχέσεις μεταξύ ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα και των ενδοσυμβιωτικών μικροοργανισμών διαφέρουν μεταξύ των ειδών των εντόμων. Σε μερικές περιπτώσεις μάλιστα, η ανθεκτικότητα σχετίζεται άμεσα με τις αλλαγές στο φορτίο των μικροοργανισμών είτε αυτές αφορούν την αναλογία τους είτε την παρουσία τους αυτή καθ' αυτή (Pietri και Liang, 2018). Τα βακτήρια του γένους *Rickettsia* στον *B. tabaci* έχουν σχετιστεί με μειωμένη ανθεκτικότητα στην ουσία thiamethoxan όπως επίσης και στα acetamiprid, spiromesifen και pyriproxyfen (Kontsedalov et al. 2008;

Ghanim και Kontsedalov, 2009). Ωστόσο, οι Pan et al. (2013) αναφέρουν πως αυξημένη ανθεκτικότητα στο thiamethoxan σχετίζεται με αυξημένη παρουσία του ενδοσυμβιωτικού βακτηρίου *Rickettsia* και μειωμένη των *Porteira* και *Hamiltonella*. Από την άλλη, οι Kontsedalov et al. (2008) παρατήρησαν αυξημένη ευαισθησία στα εντομοκτόνα acetamiprid, thiamethoxam, spiromesifen και pyriproxifen σε άτομα του *B. tabaci* στα οποία τα βακτήρια του γένους *Rickettsia* ήταν παρόντα. Η σημασία αυτού του γένους των βακτηρίων είναι μεγάλη για τον *B. tabaci* καθώς αποτελούν είδος που είναι παρόν και στους δύο κύριους βιοτύπους του, τους B και Q (Kontsedalov et al., 2008). Το γεγονός ότι αναφέρονται αντικρουόμενα αποτελέσματα στη βιβλιογραφία σχετικά με την παρουσία ενδοσυμβιωτικών μικροοργανισμών και ανθεκτικότητας σε κάποιο εντομοκτόνο (π.χ. το thiamethoxan) μπορεί ίσως να εξηγηθεί από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των διαφόρων ειδών βακτηρίων, από τις διακυμάνσεις τους καθώς επίσης και από τις επιδράσεις των ξενιστών κ.λπ. (Pietri και Liang, 2018). Υπάρχουν αναφορές άμεσης εμπλοκής των συμβιωτικών βακτηρίων και των πρωτεΐνων που παράγονται από αυτά στη μετάδοση των ιών *Begomoviruses* μέσω των αλευρωδών (Ghanim et al., 2001). Επομένως θα μπορούσε να υποθεθεί (και με βάση τα παραπάνω) ότι η παρατηρούμενη διαφορά στο ποσοστό μετάδοσης του ιού μεταξύ των δύο μελετούμενων πληθυσμών (GR176 και Bt482) οφείλεται στις αλλαγές που προκαλεί η ύπαρξη της ανθεκτικότητας στα συμβιωτικά βακτήρια του εντόμου. Οι Gottlieb et al. (2010) αναφέρουν πως το συμβιωτικό βακτήριο *Hamiltonella* αυξάνει την ικανότητα του *B. tabaci* να μεταδίδει τον TYLCV, καθώς έχει βρεθεί πως η πρωτεΐνη GroEL η οποία παράγεται από το γένος *Hamiltonella* στον βιότυπο B του *B. tabaci* αλληλεπιδρά με την καψιδιακή πρωτεΐνη του TYLCV (Kliot et al., 2014). Από την άλλη, οι Kliot et al. (2014) υποστηρίζουν πως πληθυσμοί του εντόμου που διέθεταν το συμβιωτικό βακτήριο *Rickettsia* (R+) παρουσία του *Hamiltonella* μετέδωσαν τον TYLCV περισσότερο αποτελεσματικά από πληθυσμούς που δεν το είχαν (R-). Επίσης οι R+ διατήρησαν τον ιό για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και περιείχαν και υψηλότερη συγκέντρωση ιού. Αν λοιπόν ληφθεί υπόψιν η παρατήρηση των Kontsedalov et al. (2008) ότι τα υψηλά επίπεδα του βακτηρίου *Rickettsia* σχετίζονται με ευαισθησία στο spiromesifen, τότε μπορεί να υποθεθεί ότι το υψηλότερο ποσοστό μετάδοσης του ιού που παρατηρείται από τον πληθυσμό GR176 (μη-ανθεκτικό) μπορεί να οφείλεται στην υψηλότερη συγκέντρωση των συμβιωτικών βακτηρίων του γένους *Rickettsia*. Παρόλα

αυτά, δεν είναι αποδεδειγμένο ότι οι ανθεκτικοί στο spiromesifen πληθυσμοί εμφανίζουν χαμηλότερα επίπεδα του *Rickettsia* και έτσι δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί μια άμεση σύνδεση μεταξύ ανθεκτικότητας, *Rickettsia* και ικανότητας μετάδοσης του TYLCV. Σε κάθε περίπτωση, θα πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω η σχέση της συμβίωσης μεταξύ των βακτηρίων και του *B. tabaci* σε συνάρτηση με την ικανότητα και την επίδραση αυτού του συμπλόκου στη μετάδοση του ιού TYLCV.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Πίνακας 4: Επίδραση του πληθυσμού στη μετάδοση του TYLCV

AA	Individual	Αρ. εντόμων (♀)		Ανίχνευση προϊόντος PCR - TYLCV		Ποσοστό μετάδοσης στα φυτά
		Σύνολο	Ζωντανά	<i>Bemisia</i>	Φυτό	
1	GR 176 μάρτυρας	6	6	-	-	
2	GR 176 μάρτυρας	6	6	-	-	
3	GR 176 μάρτυρας	6	6	-	-	
4	Bt 482 μάρτυρας	6	4	-	-	
5	Bt 482 μάρτυρας	6	6	-	-	
6	Bt 482 μάρτυρας	6	6	-	-	
7	GR 176	1	1	+	+	80%
8	GR 176	1	1	+	+	
9	GR 176	1	1	+	+	
10	GR 176	1	1	+	+	
11	GR 176	1	0	-	+	
12	GR 176	3	2	+	-	80%
13	GR 176	3	1	+	+	
14	GR 176	3	2	+	+	
15	GR 176	3	2	+	+	
16	GR 176	3	2	+	+	
17	GR 176	6	4	+	+	100%
18	GR 176	6	1	+	+	
19	GR 176	6	5	+	+	
20	GR 176	6	2	+	+	
21	GR 176	6	2	+	+	
22	Bt 482	1	1	+	+	20%
23	Bt 482	1	1	+	-	
24	Bt 482	1	1	-	-	
25	Bt 482	1	1	+	-	
26	Bt 482	1	1	+	-	
27	Bt 482	3	3	+	-	40%
28	Bt 482	3	2	+	+	
29	Bt 482	3	2	-	+	
30	Bt 482	3	2	+	-	
31	Bt 482	3	2	+	-	
32	Bt 482	6	5	+	-	60%
33	Bt 482	6	1	+	-	
34	Bt 482	6	5	-	+	
35	Bt 482	6	6	+	+	
36	Bt 482	6	4	-	+	

Πίνακας 5 Αποτελέσματα ANOVA

Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	Άθροισμα τετραγώνων	Μέσα τετράγωνα	Fratio	Prob>F
Πληθυσμός	1	600	600	4,5	0,1012
Σφάλμα	4	533,333	133,333		
Σύνολο	5	1133,333			

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Accotto, G.P., Navas-Castillo, J., Noris, E., Moriones, E., Louro, D., 2000. Typing of tomato yellow leaf curl viruses in Europe. *Eur. J. Plant Pathol.* 106, 179–186.
- Al-Bitar, L, Luisoni, E., 1995. Tomato yellow leaf curl geminivirus: serological evaluation of an improved purification method. *EPPO Bulletin* 25:269–276.
- Ammara, Um, Al Sadi, A.M., Al-Shihi, A. και Amin I., 2017. Real-time qPCR assay for the TYLCV Titer in Relation to Symptoms - based disease severity scales. *Int J Agr Biol.* 19:145–151
- Anonymous 1: Viruses transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* in organic greenhouse crops Current situation and risks in Europe. <http://edepot.wur.nl/373607>
- Anonymous 2: <https://www.cropscience.bayer.com/en/crop-compendium/pests-diseases-weeds/pests/bemisia-tabaci>
- Anonymous 3: <https://www.bpi.gr/files/pdf/Episkophseis/fytoygeionomikes%20apaitheis/odhgies/odhgies-Tomato%20yellow%20leaf%20curl%20virus.pdf>
- Anonymous 4: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/spiromesifen#section=Top>
- Anonymous 5: <https://viralzone.expasy.org/>
- Anonymous 6: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae/392/genus-begomovirus
- Anonymous 7: <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>
- Anonymous 8: <https://www.irac-online.org/modes-of-action/>.
- Antignus, Y και Lapidot, M., 1998. Ultraviolet-Absorbing Screens Serve as Optical Barriers to Protect Crops from Virus and Insect Pests. *J Econ Entomol.* 91. 1401-1405. 10.1093/jee/91.6.1401.
- Blackman, R.L. και Cahil, M., 1998. The karyotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.*, 88, 213 215.

- Bretschneider, T., Fischer R. and Nauen, R., 2003. Spirodiclofen and spiromesifen— Novel acaricidal and insecticidal tetrone acid derivatives with a new mode of action. *Chimia*, 57:697–701.
- Brown, J.K. 1991. An update on the white-fly transmitted geminiviruses in the Americas and the Caribbean basin. *FAO Plant Protection Bulletin*, 39: 5-23.
- Brown, JK, Zerbini, FM, Navas-Castillo, J, Moriones, E, Ramos-Sobrinho, R, Silva JC, Fiallo-Olivé, E, Briddon, RW, Hernández-Zepeda, C, Idris A, Malathi VG, Martin, DP, Rivera-Bustamante, R, Ueda, S, and Varsani A., 2015. Revision of Begomovirus taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Arch Virol*.160:1593-619
- Byrne, D.N., and Bellows, T.S., 1991. Whitefly Biology. *Annu. Rev. Entomol.*, 36, 431-457.
- Caciagli, P., Bosco, D., and Albitar, L., 1995. Relationships of the Sardinian isolate of tomato yellow leaf curl geminivirus with its whitefly vector *Bemisia tabaci* Gen. *Eur. J. Plant Pathol.*, 101: 163-170
- Campbell, B.C., Steffen, Campbell, J.D., and Gill, R., 1994. Evolutionary origin of whiteflies (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) inferred from 18S rDNA sequences. *Insect Mol. Biol.*, 3:73-89.
- Chatzinasiou, E., Dovas, C.I., Papanastassopoulou, M., Georgiadis, M., Psychas, V., Bouzalas, I., Koumbati, M., Koptopoulos, G. and Papadopoulos, O., 2010. Assessment of bluetongue viraemia in sheep by real-time PCR and correlation with viral infectivity. *Journal of Virological Methods* 169: 305-315
- Cock, M.J., 1986. *Bemisia tabaci*, a literature survey on the cotton whitefly with an annotated bibliography. CAB International Institute of Biological Control. Ascot, UK, pp 121.
- Cohen, S., και Antignus, Y., 1994. Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV), a whitefly-borne geminivirus of tomatoes. *Adv. Dis. Vector Res.* 10, 259–288.
- Czosnek, H. *Tomato Yellow Leaf Curl Virus Disease: Management, Molecular Biology, Breeding for Resistance*; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2007; pp. 1–420

- Czosnek, H. και Laterrot, H., 1997. A world-wide survey of tomato yellow leaf curl viruses. *Arch. Virol.* 142, 1391–1406.
- Denholm, I., Cahill, M., Byrne, F. και Devonshire, A.L., 1996. Progress with documenting and combating insecticide resistance in Bemisia. *Progress with Documenting and Combating Insecticide Resistance in Bemisia.* 577-603.
- Duffus, J.E., Casiagli, P., Liu, H-Y., Wisler, G.C., και Li, R.H., 1996. Occurrence of tomato infectious chlorosis virus in Europe. Page 33 in: *Silverleaf Whitefly: 1996 Supplement to the Five Year Plan.* U.S. Dep. Agric. Res. Serv. No. 1996-01.
- Duggan, D., Bittner, J., Chen, Y., Meltzer, P., and Trent, J. M., 1999. Expression Profiling Using cDNA Microarrays. *Nat Genet* 21: 10–14.
- Ellsworth, P. C. και MartinezCarrillo, J. L., 2001. IPM for Bemisia tabaci: a case study from North America. *Crop Protection* 20: 853-869.
- Fauquet, C. M. και Stanley, J., 2003. Geminivirus classification and nomenclature: progress and problems. *Ann. Appl. Biol.*, 142:165-189.
- Fauquet, C.M., Briddon, R.W., Brown, J.K., Moriones, E., Stanley, J., Zerbini, M., και Zhou, X., 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Arch. Vir.*, 153: 783 821.
- Feyereisen, R., 2005. Insect cytochrome P450: *Comprehensive molecular insect science – Biochemistry and molecular biology* (ed. by LI Gilbert, K Iatrou & SS Gill) Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 1-77.
- Fishpool, L.D.C. και Burban, C., 1994. *Bemisia tabaci* the whitefly vector of African cassava mosaic geminivirus. *Trop. Sci.* 34: 55-72.
- Georghiou, G.P. και Lagunes-Tejeda, A., 1991. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods: an index of cases reported through 1989. *Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*
- Gerling, D. και Mayer, R. T., 1996. Bemisia: 1995. Taxonomy, biology, damage, control and management, pp. 702 Edited by D. G. R. T. Mayer. Andover (UK): Intercept Ltd.
- Ghanim, M, Morin, S, Czosnek, H., 2001. Rate of Tomato yellow leaf curl virus translocation in the circulative transmission pathway of its vector, the whitefly Bemisia tabaci. *Phytopathology* 91:188–196

- Ghanim, M. και Czosnek, H., 2000. *Tomato yellow leaf curl geminivirus* (TYLCV-Is) is transmitted among whiteflies (*Bemisia tabaci*) in a sex-related manner. *J. Virol.* 74:4738–4745.
- Ghanim, M. και Kontsedalov, S., 2009. Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Pest. Manage. Sci.* 65: 939–942
- Gill, R. J., 1992. A review of the sweetpotato whitefly in Southern California. *Pan-Pac. Entomol.* 68, 144-152.
- Gingery, R. E., Anderson, R. J. και Redinbaygh, M. G., 2004. Effect of Environmental Conditions and Leafhopper Gender on Maize Chlorotic Dwarf Virus Transmission by *Graminella nigrifrons* (Homoptera: Cicadellidae). *J. Econ. Entomol.* 97: 768-773.
- Gottlieb, Y., Zchori-Fein, E., Mozes-Daube, N., Kontsedalov, S., Skaljac, M., Brumin, M., Sobol, I., Czosnek, H., Vavre, F., Fleury, F. και Ghanim, M., 2010. The transmission efficiency of *Tomato yellow leaf curl virus* by the whitefly *Bemisia tabaci* is correlated with the presence of a specific symbiotic bacterium species. *J. Vir.* 84:9310-9317.
- Hanley-Bowdoin, L., Settlage, S.B., Orozco, B.M., Nagar S., και Robertson, D., 2000. Geminiviruses: models for plant DNA replication, transcription, and cell cycle regulation. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 35:105–140
- Harrewijn, P. και Kayser, H., 1997. Pymetrozine, a fast-acting and selective inhibitor of aphid feeding. In situ studies with electronic monitoring of feeding behaviour. *Pesticide Science* 49: 130-140
- Hilje, L., Costa, H. S. και Stansly, P. A., 2001. Cultural practices for managing *Bemisia tabaci* and associated viral diseases. *Crop Protection* 20, 801-812.
- Horowitz, A.R. και Kontsedalov, S., 2005 - Archives of insect, Biotypes B and Q of *Bemisia tabaci* and their relevance to neonicotinoid and pyriproxyfen resistance
- Inoue-Nagata Alice, K, Lima Mirtes, F., και Gilbertson Robert, L., 2016. A review of geminivirus diseases in vegetables and other crops in Brazil: current status and approaches for management. *Hortic. Bras.*, 34(1), 8-18.

- Insecticide Resistance Action Committee 2007. Resistance Definition: <http://www.irac-online.org/about/resistance/>.
- Jiang, Y. X., Blas, C. D., Barrios, L. και Fereres, A., 2000. Correlation between whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) feeding behavior and transmission of tomato yellow leaf curl virus. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 93, 573–579.
- Jones, D.R. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *Eur. J. Plant Pathol.*, **109**: 195–219.
- Jupin, I., de Kouchkovky, F., Jouanneau, F., Gronenborn, B. 1994. Movement of tomato yellow leaf curl virus geminivirus (TYLCV): involvement of the protein encoded by ORF C4. *Virology* 204, 82–90.
- Kato, K., Onuki, M., Fuji, S. και Hanada, K. 1998. The first occurrence of tomato yellow leaf curl virus in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in Japan. *Ann. Phytopathol.Soc. Jpn.* 64, 552–559.
- Kaufmann, L., Schürmann, F., Yiallourous, M., Harrewijn, P. και Kayser, H., 2004. The serotonergic system is involved in feeding inhibition by pymetrozine. Comparative studies on a locust (*Locusta migratoria*) and an aphid (*Myzus persicae*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 138: 469–483.
- Kedar, S.C. & Saini, Rk και Malllaiah, K. 2018. Whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) as influenced by host plants in Haryana. *Ind J Ent* 80.
- Kirk, A.A., και Lacey, L. A., 1993. The status of *Bemisia tabaci* (Hom, Aleyrodidae), *Trialeurodes vaporariorum* (Hom, Aleyrodidae) and their natural enemies in Crete.” *Entomophaga* 38: 405-410.
- Kliot, A., Cilia M., Czosnek, H. και Ghanim, M., 2014. Implication of the Bacterial Endosymbiont *Rickettsia* spp. in Interactions of the Whitefly *Bemisia tabaci* with Tomato yellow leaf curl virus. *J. Virol.* 88: 5652–5660
- Kontsedalov S., 2008. Toxicity of spiromesifen on the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. *Pest. Manage. Sci.* 65:5–13.
- Kontsedalov, S., Zchori-Fein, E., Chiel, E., Gottlieb, Y., Inbar M. και Ghanim, M., 2008. The presence of *Rickettsia* is associated with increased insecticide

- susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. *Pest. Manage. Sci.* 64: 789–792
- Lapidot, M. και Friedmann, M., 2002. Breeding for resistance to whitefly-transmitted geminiviruses. *Ann. of Appl. Biol.* 140, 109-127.
- Lapidot, M., Friedmann, M., Pilowsky, M., Ben-Joseph, R. και Cohen, S., 2001. Effect of host plant resistance to Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) on virus acquisition and transmission by its whitefly vector. *Virology* 91, 1209–1213.
- Laufs, J., Traut, W., Heyraud, F., Matzeit, V., Rogers, S.G., Schell, J. και Gronenborn, B., 1995. In vivo cleavage and joining at the viral origin of replication by replication initiator protein of tomato yellow leaf curl virus. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* 92, 3879–3883.
- Lu, S, Li J. και Wang, X., 2017. A Semipersistent Plant Virus Differentially Manipulates Feeding Behaviors of Different Sexes and Biotypes of Its Whitefly Vector. *Viruses.* 9(1):4. doi:10.3390/v9010004
- Mahy, B. W. J. και Van Regenmortel, M. H. V., 2009. *Desk Encyclopedia of Plant and fungal Virology.* Academic Press.ISBN: 9780123751485
- Markham, P.G., Bedford, I.D., Liu S., και Pinner, M.S., 1994. The transmission of geminiviruses by *Bemisia tabaci*. *Pestic. Sci.*, 42: 123-128.
- Martin, J. H., 1987. An identification guide to common whitefly pest species of the world (Homoptera Aleyrodidae). *Tropical Pest Management* 33:298-322.
- Martins, A.J., Ribeiro, C.D., Bellinato, D.F., Peixoto, A.A. και Valle, D., 2012. Effect of Insecticide Resistance on Development, Longevity and Reproduction of Field or Laboratory Selected *Aedes aegypti* Populations. *PLOS ONE* 7: e31889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031889>
- Marwal, A., Sahu, A. K., Gaur R.K., 2014. Transmission and host interaction of Geminivirus in weeds-Plant Virus–Host Interaction, 143-161
- Mason G., Caciagli G.P., Accotto G. και Noris E., 2008. Real - time PCR for the quantitation of Tomato yellow leaf curl Sardinia virus in tomato plants and in *Bemisia tabaci*. *J. Virol. Methods*, 147: 282–289

- Mautino, G. C., Sacco D. Ciuffo M., Turina M. και Tavella I., 2012. Preliminary evidence of recovery from tomato spotted wilt virus infection in *Frankliniella occidentalis* individuals. *Ann. Appl. Biol.* 161: 266–276.
- Momol, M.T., Simone, G.W., Dankers, W., Sprengel, R.K., Olson, S.M., Mimol, E.A., Polston, J.E. και Hiebert, E., 1999. First report of tomato yellow leaf curl virus in tomato in south Georgia. *Plant Dis.* 83, 487.
- Morin, S., Ghanim, M., Sobol, I. και Czosnek, H., 2000. The GroEL protein of the whitefly *Bemisia tabaci* interacts with the coat protein of transmissible and non-transmissible begomoviruses in the yeast two-hybrid system. *Virology* 276:404–416.
- Morin, S., Ghanim, M., Zeidan, M., Czosnek, H., Verbeek, M. και van den Heuvel, J.F.J.M., 1999. A GroEL homologue from endosymbiotic bacteria of the whitefly *Bemisia tabaci* is implicated in the circulative transmission of *Tomato yellow leaf curl virus*. *Virology* 30:75-84.
- Moriones, E.1. και Navas-Castillo, J., 2000. Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Res.* 71:123-34.
- Narayana, Y. D. και Muniyappa, V., 1996. Virus-vector relationships of a planthopper (*Peregrinus maidis*)-borne sorghum stripe tenuivirus. *Int. J. Pest Manage.* 42: 165–170.
- Nauen, R., Bretschneider, T., Elbert, A., Fischer, R. και Tieman, R., 2003. Spirodiclofen and spiromesifen. *Pestic. Outlook* 14:243–46.
- Navas-Castillo, J., Fiallo-Olivé, E. και Sánchez-Campos, S., 2011. Emerging Virus Diseases Transmitted by Whiteflies. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 49:219-248
- Ning, W., Shi, X., Liu, B., Pan, H., Wei, W., Zeng, Y., Sun, X., Xie, W., Wang, S., Wu, Q., Cheng, J., Peng, Z. και Zhang, Y., 2015. Transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Virus by *Bemisia tabaci* as Affected by Whitefly Sex and Biotype. *Sci. Rep.* 5: 10744.
- Noris, E. και Miozzi, L., 2015. Real-time PCR protocols for the quantification of the begomovirus tomato yellow leaf curl Sardinia virus in tomato plants and in its insect vector. *Methods in Molecular Biology* 1236:61-72.

- Noris, E., Vaira, A.M., Caciagli, P., Masenga, V., Gronemborn, B. και Accotto, G.P., 1998. Amino acids in the capsid protein of tomato yellow leaf curl virus that are crucial for systemic infection, particle formation, and insect transmission. *Virology* 72: 10050–10057.
- Oakeshott, J.G., Claudianos, C., Campbell, P.M., Newcomb, R.D. και Russell, R.J., 2005. Biochemical genetics and genomics of insect esterases: *Comprehensive molecular insect science – Pharmacology* (ed. by LI Gilbert, K Iatrou & SS Gill) Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 309-381.
- Onstad, D.W. και Guse, C.A., 2008. Concepts and complexities of population genetics: *Insect resistance management: Biology, economics and prediction* (ed. by DW Onstad) Elsevier, USA, pp. 69-88.
- Padidam, M., Beachy, R.N. και Fauquet, C., 1995. Classification and identification of geminiviruses using sequence comparisons. *J. Gen. Virol.* 76, 249–263.
- Pico, B., Diez, M.-J. και Nuez, F., 1996. Viral diseases causing the greatest economic losses to the tomato crop. II. The tomato yellow leaf curl virus - a review. *Scientia Hort.* 67, 151-196.
- Pietri, J. E. και Liang, D., 2018. The Links Between Insect Symbionts and Insecticide Resistance: Causal Relationships and Physiological Tradeoffs. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 111: 92–97
- Pittendrigh, B.R., Margam, V.M., Sun, L. και Huesing, J.E., 2008. Resistance in the postgenomics age: *Insect resistance management: Biology, economics and prediction* (ed. by DW Onstad) Elsevier, USA, 39-68.
- Poiston, J.E. και Sherwood, T., 2003. Pymetrozine Interferes with transmission of Tomato Yellow Leaf Curl Virus by the whitefly *Bemisia tabaci*. *Phytoparasitica* 31: 490-498.
- Ranson, H. & Hemingway, J., 2005 *Glutathione transferases: Comprehensive molecular insect science – Pharmacology* (ed. by LI Gilbert, K Iatrou & SS Gill) Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 383-402.
- Ranson, H., Claudianos, C., Orтели, F., Abgrall, C., Hemingway, J. και Sharakhova, M.V., 2002. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. *Science* 298: 179-181

- Rubinstein, G. και Czosnek, H., 1997. Long-term association of *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) with its whitefly vector *Bemisia tabaci*: effect on the insect transmission capacity, longevity and fecundity. *J. Gen. Virol.* 78:2683-2689.
- Rybicki, E.P. και Pietersen, G. 1999. Plant virus disease problems in the developing world. *Adv. Virus Res.* 53, 127–175.
- Rybicki, E.P., Briddon, R.W., Brown, J.K., Fauquet, C.M., Maxwel, D.P., Stanley, J., Harrison, B.D., Markham, P.G., Bisaro, D.M. και Robinson, D., 2000. Family Geminiviridae. In: Van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E., Estes, M., Lemon, S., Maniloff, J., Mayo, M.A., McGeoch, D., Pringle, C., Wickner, R. (Eds.), *Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Academic Press, New York, pp. 285–297.
- Sanchez-Campos, S., Navas-Castillo, J., Camero, R., Soria, C., Di'az, J.A. και Moriones, E., 1999. Displacement of tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) -Sr by TYLCV-Is in tomato epidemics in Spain. *Phytopathol.* 89: 1038–1043.
- Segbefia, M., Amoatey, H.M., Quartey, E., Nunoo, J. και Kusi-Adjei, R., 2015. Detection of TYLCV in Ten Genotypes of Tomato (*Solanum spp L.*) using Serological and Molecular Techniques in a Coastal Savanna Zone of Ghana. *J. Nat. Sci. Res.*, 5: 17-24.
- Stanley-Samuelson, D. W., Jurenka, R. A., Cripps, C., Blomquist, G. J. και de Renobales, M., 1988. Fatty acids in insects: Composition, metabolism, and biological significance. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 9: 1–33.
- Su, Q., Pan H., Liu, B., Chu, D., Xie, W., Wu Q., Wang, S., Xu, B. και Zhang, Y., 2013. Insect symbiont facilitates vector acquisition, retention, and transmission of plant virus. *Sci. Rep.*, 3: 1367
- Tiberini, A., Tommasoli, L., Barba, M. και Hadidi, A., 2010. Oligonucleotide microarray-based detection and identification of 10 major tomato viruses. *J. Virol. Methods*, 168:133-140.
- van de Wetering, F., van der Hoek, M., Goldbach ,R. και Peters, D., 1999. Differences in tomato spotted wilt virus vector competency between males and females of *Frankliniella occidentalis*. *Entomol. Exp. Appl.*, 93:105–112.

- Varsani, A., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Hernández-Zepeda, C., Idris, A., Brown, J. K., Martin, D. P., 2014. Establishment of three new genera in the family *Geminiviridae*: *Becurtovirus*, *Eragrovirus* and *Turncurtovirus*. *Arch Virol* 159: 2193–2203
- Wartig, L., Kheyr-Pour, A., Noris, E., De Kouchkovsky, F., Jouanneau, F., Gronemborn, B. και Jupin, I., 1997. Genetic analysis of the monopartite tomato yellow leaf curl geminivirus: roles of V1, V2, and C2 ORFs in viral pathogenesis. *Virol.* 228, 132–140.
- Wu, JX, Shang, H.L, Xie, Y, Zhou, X.P., (2012) Monoclonal antibodies against the whitefly-transmitted Tomato yellow leaf curl virus and their application in virus detection. *J Integr Agric.* 11:263–268.
- Xie W., Xu, Y. X. & Jiao, X. G., 2012. High efficient of females of B-type *Bemisia tabaci* as males in transmitting the whitefly-borne tomato yellow leaf curl virus to tomato plant with q-PCR method confirmation. *Commun. Integr. Biol.* 5: 543–545.
- Xie, Y, Jiao, X, Zhou, X, Liu, H, Ni, Y., Wu, J., 2013. Highly sensitive serological methods for detecting tomato yellow leaf curl virus in tomato plants and whiteflies. *Virol J.*, 10:142.
- Zerbini, F.M., Briddon, R.W., Idris, A., Martin, D.P., Moriones, E., Navas-Castillo, J., Rivera-Bustamante, R., Roumagnac, P., Varsani, A., 2017. Ictv Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae. *J Gen Virol.* 2017 Feb;98(2):131-133. doi: 10.1099/jgv.0.000738. Epub 2017
- Zhang, W., Olson, N.H., Baker, T. S., Faulkner, L., Agbandje-McKenna, M., Boulton, M.I., Davies, J.W. και McKenna, R., 2001. Structure of the *Maize streak virus* geminate particle. *Virol.*, 279:471-477.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Παπαγιάννης, Χρ., 2011. Η ασθένεια του κίτρινου καρουλιάσματος των φύλλων της τομάτας και ο αλευρώδης (*Bemisia tabaci*) φορέας της. Ενημερωτικό δελτίο 11. Ινστιτούτο Γεωργικών ερευνών. Υπουργείο Γεωργίας Φυσικών πόρων και Περιβάλλοντος, Κύπρος.

Τζανακάκης, Μ.Ε. και Κατσόγιαννος, Β.Ι., 2003. Έντομα καρποφόρων δένδρων και αμπέλου. Εκδόσεις Αγρότυπος, σελ 185. ISBN 960-7667-07-7