



Powiązania między owadami i roślinami – badania nad mechanizmami odporności roślin na żerowanie mszyc

Beata Gabryś

Katedra Entomologii Rolniczej
Akademia Rolnicza, Wrocław

Insect-plant relationships: studies on plant resistance mechanisms against aphid feeding

S u m m a r y

New methods of insect pest management include the application and development of the existing natural resistance mechanisms, which protect plants against insect feeding. Aphids (Homoptera) have the exceptionally modified mouthparts, the piercing-sucking type, which enable feeding on plant sap directly from the sieve elements of the phloem tissue. Most aphid species are oligophagous; i. e. their host plant range is restricted to selected related plant species. The crucial step in host-plant recognition by these insects is the gustatory examination of the plant sap. Aphids do not possess external contact chemoreceptors, so this step requires stylet penetration of the plant and the subsequent sap sampling. The effect of chemical properties of a plant, and in fact the acceptability of a plant to an aphid, can be investigated directly by using the electronic monitoring of stylet penetration (EPG = Electrical Penetration Graph) technique. In this system the aphid and the plant are made parts of an electric circuit and any changes in electric characteristic of the circuit express aphid activities, such as: stylet penetration of peripheral plant tissues, feeding on phloem sap, salivation into phloem elements, e.t.c. The duration and frequency of these activities can be used as indicators of plant suitability. The existence and tissular localisation of factors determining the level of plant resistance against aphid can also be derived from these data.

Adres do korespondencji

Beata Gabryś,
Katedra Entomologii
Rolniczej,
Akademia Rolnicza,
ul. Cybulskiego 32,
50-205 Wrocław;
e-mail:
begab@ozi.ar.wroc.pl

biotechnologia

3 (50) 69–80 2000

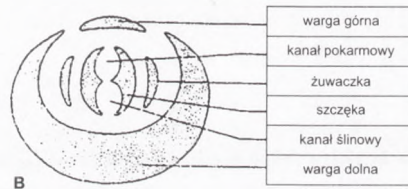
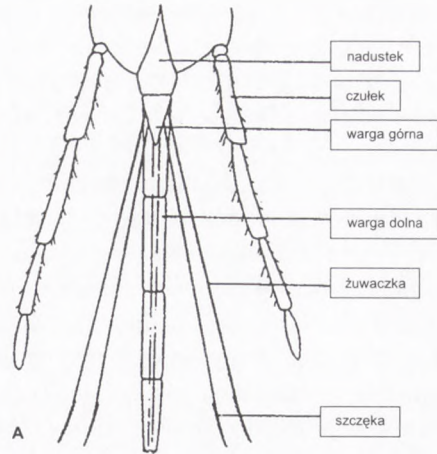
Key words:

plant resistance, insect-plant relationships.

1. Specyfika żerowania mszyc

Poszukiwanie nowych sposobów zwalczania szkodliwych gatunków owadów prowadzi m.in. do prób wykorzystania mechanizmów naturalnej odporności roślin chroniących je przed żerowaniem fitofagów. Uprawa odmian odpornych może być doskonałym uzupełnieniem innych sposobów zwalczania szkodników, a nawet stanowić główną metodę ochrony danej rośliny. Obecnie hodowla i wprowadzanie odpornych odmian roślin jest jednym z ważnych ogniw integrowanego zwalczania szkodników roślin uprawnych (1). Odporność roślin na szkodniki jest wynikiem wzajemnego oddziaływania na siebie rośliny i szkodnika. Postęp badań nad hodowlą odmian odpornych zależy od stopnia poznania czynników warunkujących wybór danej rośliny żywicielskiej, jej akceptację przez szkodnika, jak i zrozumienia wpływu związków chemicznych występujących w roślinie na zachowanie się i rozwój owada.

Mszycy (*Homoptera: Aphidodea*) są owadami o wyjątkowo swoistym sposobie żerowania. Posiadają wysoko wyspecjalizowany klująco-ssący aparat gębowy, który umożliwia im pobieranie pokarmu – soku roślinnego – bezpośrednio z rurek sitowych wchodzących w skład tkanki przewodzącej roślin. Mimo że odżywiają się wyłącznie sokiem floemowym większość gatunków mszyc wykazuje dużą specjalizację pokarmową. Zasadnicze znaczenie dla procesu selekcji roślin żywicielskich przez te owady ma smakowa ocena pokarmu. Klująco-ssący aparat gębowy mszyc (rys. 1) składa się z czterech delikatnych sztylecików powstałych z przekształcenia żuwaczek i szczęk, oraz mięsistej wargi dolnej (2). W trakcie żerowania w sztyletach szczękowych tworzą się (z istniejących wyżłobień) dwa kanały, ślinowy, którym ślina spływa do rośliny i pokarmowy, którym pobierany jest pokarm (3). W ścianie nadgębia kanału pokarmowego zlokalizowany jest narząd smaku (4). Narządy gębowe mszyc są pozbawione zewnętrznych chemoreceptorów kontaktowych, zatem rozpoznanie rośliny, jak również dotarcie do źródła pokarmu możliwe jest dopiero podczas penetracji sztyletów aparatu gębowego w tkankach roślinnych. Specyficzne cechy (np. struktura, skład chemiczny) tkanek epidermy, miękiszku i łyka uważane są za główne wskaźniki wykorzystywane przez mszyce przy decyzji o akceptacji lub odrzuceniu rośliny (5,6).



Rys. 1. Schemat budowy kłująco-ssącego aparatu gębowego mszyc. A. Widok „z góry”. B. Przekrój poprzeczny (wg Moraczewskiego i in. (36)).

2. Metody badań nad mechanizmami odporności roślin na żerowanie mszyc

2.1. Wprowadzenie

Wpływ jakości pokarmu na rozwój i zachowanie się mszyc oceniany jest za pomocą szeregu parametrów uzyskanych w trakcie hodowli poszczególnych osobników na określonych roślinach lub sztucznych pożywkach (czas rozwoju larwalnego, długość życia, płodność, przyrost masy ciała, śmiertelność). Dokładniejszych informacji dostarcza analiza chemiczna materiału roślinnego oraz bezpośrednie elektroniczne monitorowanie zachowania się mszyc w trakcie próbnego i właściwego (tj. ciągłego, permanentnego) żerowania na roślinach. Metody te pozwalają nie tylko na stwierdzenie istnienia czynników stymulujących lub deterentnych w danej roślinie (gatunku, odmianie), ale umożliwiają również ich tkankową lokalizację.

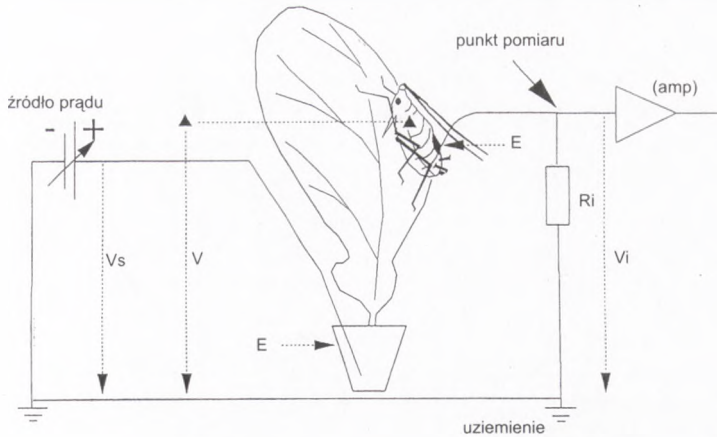
Wizualna obserwacja penetracji kłujki w tkankach roślinnych jest niemożliwa ponieważ droga sztyletów nie może być śledzona za pomocą dostępnych technik mikroskopowych. Obraz penetracji może być uzyskany dopiero po utrwaleniu i sporządzeniu preparatu z pozostałości otoczki (pochwy) ślinowej tworzonej wokół

sztyletów podczas przechodzenia przez tkanki, ale ekstrapolacja wyników takich badań może prowadzić do mylnych wniosków (7). Technika elektronicznej rejestracji żerowania (*Electrical Penetration Graph* – EPG) została wprowadzona przez McLeana i Kinseya (8) jako tzw. system „AC” oparty na źródle prądu zmiennego. Umożliwiło to rejestrację zachowania się owada przed i podczas penetracji tkanek roślinnych, a zwłaszcza mechanicznych ruchów sztyletów, wydzielania śliny oraz pobierania płynów z elementów floemu i ksylemu. System McLeana i Kinseya został udoskonalony przez Tjallingiego (9) zastosowaniem źródła prądu stałego („DC”) o niskim napięciu (ok. 9V) i stanowi obecnie doskonale narzędzie do badań nad powiązaniem między mszycami i roślinami, zwłaszcza w połączeniu z innymi technikami. Używa się tej metody do wykrywania naturalnej odporności w dzikich i użytkowych gatunkach i odmianach roślin (10-13). Elektroniczna rejestracja żerowania jest również stosowana do badania wpływu związków chemicznych o charakterze deterrentów lub antyfidantów na zachowanie się owadów przed i w trakcie penetracji tkanek (14,15), oraz w badaniach mechanizmów przenoszenia wirusów przez mszyce (16,17).

2.2. Charakterystyka układu rejestrującego żerowanie owadów

System DC EPG (= system elektronicznej rejestracji żerowania w oparciu na źródle prądu stałego) składa się z obwodu elektrycznego, którego częściami są owad i jego roślina żywicielska (lub sztuczna pożywka) (rys. 2). Owad połączony jest z obwodem przez złotą elektrodę (drucik o średnicy 10-20 μm) przyczepioną do strony grzbietowej za pomocą srebrnej farby. Roślina podłączona jest do drugiej elektrody, umieszczonej na przykład w glebie i w momencie nakłucia rośliny przez mszycę obwód zostaje zamknięty. Dwa kanały – ślinowy i pokarmowy – są jedyne „przewodami” łączącymi mszycę z rośliną, stąd wszelkie zmiany we właściwościach elektrycznych tego układu wywołują zmiany napięcia w punkcie pomiaru. Elektroniczna rejestracja zachowania się mszyc (=EPG) stanowi zatem zapis zmian napięcia w określonym czasie, które są wynikiem aktywności mszyc podczas penetracji kłujki. Inne aktywności, czy zjawiska w sąsiedztwie obwodu nie są rejestrowane (np. kontakty odnoży z powierzchnią rośliny), gdyż opór elektryczny w tych przypadkach ma zbyt wysoką wartość (18).

Zmiany napięcia w obwodzie elektrycznym mają dwa źródła: 1) siłę elektromotoryczną czyli „składnik emf” (napięcia powstałe w wyniku oddziaływań owad-roślina); 2) zmiany przewodności lub oporności elektrycznej, tzw. „składnik R”. Składnik emf sygnału ma naturę biopotencjałów, na przykład potencjałów błon komórek roślinnych nakłuwanych przez sztylety owadów oraz strumieniowych potencjałów powstających w sztyletach, w wyniku przepływu płynów w kapilarnych kanałach. Składnik R odpowiada zmianom powstającym w trakcie nakłuć, m.in. podczas otwierania i zamykania zastawek w jamie gębowej owada oraz zmianom w stężeniu elektroli-



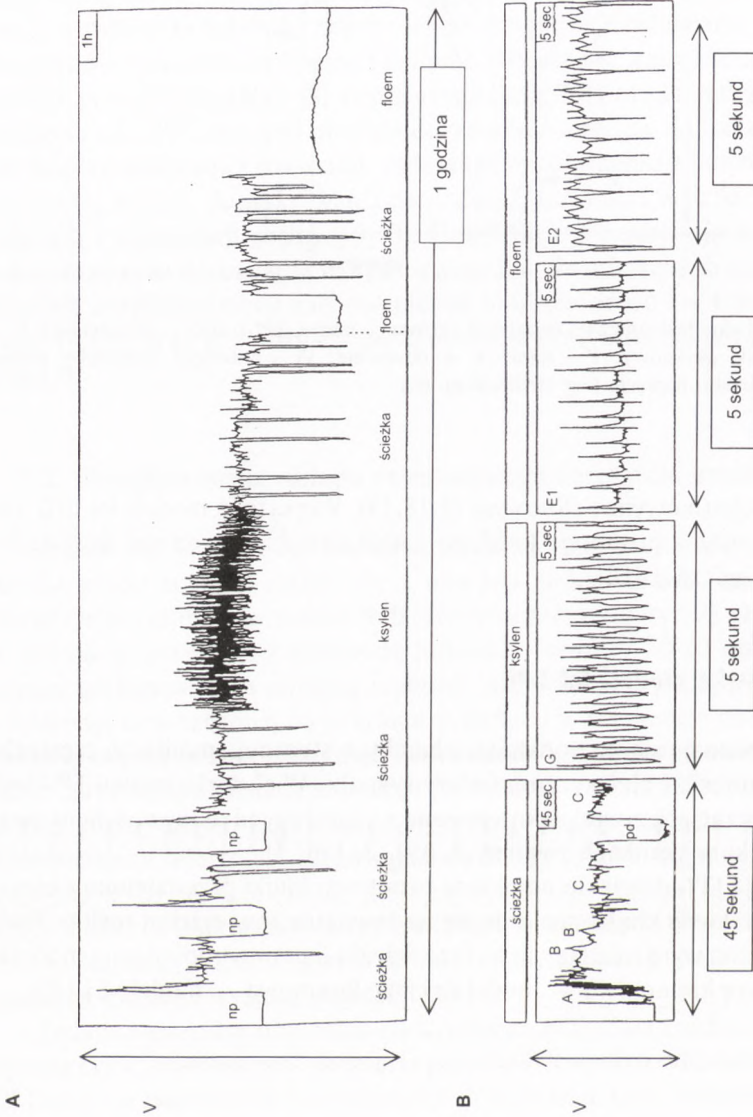
Rys. 2. Schemat układu elektronicznej rejestracji żerowania mszyc (EPG). amp – wzmacniacz, E – elektrody, R_i – opornik wejściowy, V – napięcie w obwodzie, V_i – potencjał sygnałowy przed wzmacnieniem, V_s – źródło napięcia (wg Tjallingiego (9)).

tów w kanałach: pokarmowym i ślinowym (7,18,19). Większość modeli fal EPG zawiera oba komponenty, a proporcje każdego z nich decydują o rodzaju dostarczonej informacji biologicznej (18).

2.3. Charakterystyka modeli fal EPG

Modele fal rozpoznaje się na podstawie charakterystycznej amplitudy, częstotliwości, poziomu napięcia i elektrycznej natury sygnału. Większość modeli EPG występujących w rejestracjach została skorelowana z określonymi aktywnościami owadów i pozycją kłujki w tkankach roślinnych (rys. 3, tab. 1).

Każda rejestracja EPG dzieli się na okresy penetracji kłujki przedzielone okresami braku penetracji, kiedy kłujka znajduje się na zewnątrz powierzchni rośliny. Podczas penetracji można wyróżnić trzy fazy: fazę ścieżki (*pathway*) opisywaną modelami A, B, C oraz F; fazę ksylemową – model G; i fazę floemową – modele E1 i E2.



Rys. 3. Graficzny obraz modeli EPG (wg Tjallingiego (35)). A. Przykładowy zapis EPG. B. Modele fal EPG obrazujące aktywność mszyc: faza „ścieżki” (modele „A, B, C”), faza pobierania wody w ksylemie („G”), faza zerowania w floemie („E1” – wydzielenie śliny, „E1” – pobieranie soku floemowego).

Tabela 1

Korelacje modeli fal EPG i aktywności sztyletów mszyc w tkankach roślinnych (wg Tjallingiiego (7), zmienione)

Model EPG	Charakterystyka model				Korelacje	
	amplituda względna	częstotliwość Hz	potencjał komórkowy	pochozenie sygnału	tkanka roślinna	aktywność mszyc
A	100	5-10	e	R	epiderma	kontakt z rośliną
B	75	0,2-0,3	e	R	epiderma / mezofil	tworzenie pochwy ślinowej
C	30	mieszana	e	R	wszystkie tkanki	aktywności ścieżki
pd		0,02	i	emf	każda żywa komórka	nakłucie komórki
E1		2-4	i	emf	komórki łyka	wydzielanie śliny
E2 p	5	0,5-4	i	R	komórki łyka	wydzielanie śliny
E2 w		4-7	i	emf	komórki łyka	pasywne pobieranie soku
F	5	11-18	e	R/emf	wszystkie tkanki	ruchy kłujki
G	0-60	4-6	e	R/emf	ksylem	aktywne pobieranie wody

p – wierzchołek fali, w – dolina fali, e – potencjał zewnątrzkomórkowy, i – potencjał wewnątrzkomórkowy, emf – siła elektromotoryczna, R – opór elektryczny

2.3.1. Faza ścieżki

Faza ścieżki zawsze rozpoczyna się modelem A o bardzo dużej względnej amplitudzie i obrazuje moment wkluwania się sztyletów, czyli pierwszy kontakt elektryczny owada z rośliną, inaczej – moment zamykania obwodu elektrycznego. Następnie pojawia się model B, powolnych fal powtarzających się co około 5s, o stosunkowo dużej amplitudzie. Podczas obserwacji penetracji kłujki w sztucznej pożywce stwierdzono, że model ten zbiega się z wydzielaniem śliny żelującej i tworzeniem pochwy ślinowej. Mniejsze fale o wyższej częstotliwości pojawiające się między szczytami fal B reprezentowały mechaniczne ruchy sztyletów. Model B obrazuje zatem mniej lub bardziej cykliczny proces wydzielania i penetracji. Amplitudy tych fal stopniowo maleją, ale 5-sekundowa okresowość tego cyklicznego procesu obserwowana jest w czasie całej fazy ścieżki i kolejnego modelu C. Model C nie jest dokładnie zdefiniowany. Specyficzną cechą aktywności ścieżki podczas penetracji kłujki są nagłe spadki potencjału w obrazie rejestracji EPG („pd” – *potential drop*), co związane jest z chwilową depolaryzacją błony komórkowej. Spadki takie utrzymują się zwykle około 5-10 sekund, występują w nieregularnych odstępach czasowych i równie gwałtownie powracają do poprzedniego poziomu. Te spadki potencjału skorelowano z krótkimi nakłuciami komórek wzdłuż szlaku sztyletów (7). W ba-

daniach z wykorzystaniem techniki mikroskopii elektronowej stwierdzono również, że sztylety nakłuwają prawie wszystkie komórki na swojej drodze (20), ale uszkodzenie błony komórkowej jest tylko lokalne i ogranicza się do pozostałego po nakłuciu śladu pochwy ślinowej. Mimo tych nakłuć komórki pozostają nieuszkodzone, a droga penetracji sztyletów jest całkowicie pozakomórkowa i przebiega wewnątrz wtórnej ściany komórkowej. Oprócz tych „zwykłych” spadków potencjału, w czasie aktywności ścieżki u kilku gatunków mszyc zaobserwowano również tzw. „seryjne” spadki potencjału („rpd” – *repetitive potential drop*), występujące regularnie w krótkich odstępach czasowych (co kilkanaście sekund) i trwające około dwa razy dłużej niż zwykłe „pd”. Znaczenie tego zjawiska nie jest jednak wyjaśnione (21).

W fazie ścieżki pojawia się czasem model F fal o dużej częstotliwości. Dotyczy on mechanicznego ruchu sztyletów i prawdopodobnie reprezentuje trudności w penetracji.

2.3.2. Faza floemowa

Faza floemowa rozpoczyna się spadkiem potencjału do poziomu napięcia wewnątrzkomórkowego, który utrzymuje się podczas całego czasu trwania tej fazy. Występują tu dwa modele: E1 i E2. Faza floemowa zawsze rozpoczyna się modelem E1, który stopniowo przechodzi w model E2 po około jednej minucie. Model E1 odpowiada wydzielaniu śliny do komórek sitowych i jego występowanie wiąże się bezpośrednio z wprowadzaniem przez klujkę mszyc wirusów trwałych do rośliny (22). Model E2 może trwać wiele godzin i dni bez przerwy i reprezentuje pasywne pobieranie soku floemowego: podczas modelu E2 końce sztyletów znajdują się wewnątrz komórek sitowych, a ich amputacja powoduje swobodny wyciek soku (23). Występowanie modelu E2 skorelowane jest ściśle z wydalaniem spadzi; spadź nie jest produkowana podczas trwania jakichkolwiek innych modeli. Świadczy to o tym, że mszyce odżywiają się wyłącznie sokiem floemowym (17).

2.3.3. Faza ksylemowa

Pobieranie płynów z ksylemu skorelowane jest z występowaniem modelu G (24,25). W przeciwieństwie do pobierania soku floemowego – czynności przeważnie pasywnej – zasysanie płynu z naczyń jest czynnością aktywną, z wykorzystaniem pompy gardzielowej (ciśnienie płynów w ksylemie jest zwykle ujemne). Pobieranie soku ksylemowego występuje rzadko i jest wynikiem stresu wodnego. Cały pobrany płyn jest prawdopodobnie absorbowany, gdyż nie obserwuje się wydzielenia spadzi podczas modelu G (18).

2.4. Analiza rejestracji EPG

Zapis EPG stanowi źródło informacji o wzajemnych oddziaływaniach owadów i roślin. Interpretacja danych EPG poprzedzona jest analizą szeregu parametrów obrazujących sekwencję i częstość zdarzeń (tab. 2). Wyróżnia się tzw. parametry porządkowe (*sequential parameters*), opisujące kolejność zdarzeń podczas penetracji kłujki, oraz parametry zbiorcze (*non-sequential parameters*), przedstawiające częstość zdarzeń i sumaryczny lub przeciętny czas trwania poszczególnych modeli (26).

Tabela 2

Interpretacja parametrów zbiorczych i porządkowych w analizie rejestracji żerowania mszyc EPG (wg Mayoral i wsp. (34), zmienione)

Parametry	Wartość	Wskaźniki właściwości rośliny
zbiorcze		
sumaryczny czas penetracji	wysoka	pozytywne czynniki pozafloemowe
sumaryczny czas ścieżki	wysoka	brak czynników deterrentnych w tkankach pozafloemowych
sumaryczny czas żerowania	wysoka	pozytywne właściwości soku floemowego
średni czas żerowania	wysoka	pozytywne właściwości soku floemowego
sumaryczny czas wydzielania śliny	wysoka	negatywne czynniki floemowe
całkowita liczba penetracji	niska	roślina jest akceptowana przez mszycę
porządkowe		
czas przed pierwszą penetracją	wysoka	negatywne czynniki powierzchniowe (rzadko stosowany – wartość uzależniona od stresu doświadczenia)
liczba penetracji < 2 min przed pierwszą fazą floemową	wysoka	negatywne czynniki epidermalne
liczba penetracji 2-10 min przed pierwszą fazą floemową	wysoka	negatywne czynniki tkanek pozafloemowych
czas do pierwszej fazy floemowej w obrębie penetracji	?	czynniki tkanek pozafloemowych
czas do pierwszego okresu żerowania ciągłego	?	czynniki tkanek pozafloemowych
czas między pierwszą fazą floemową a pierwszym okresem żerowania ciągłego	wysoka	negatywne czynniki floemowe (?)

Parametry porządkowe to, np. czas od początku doświadczenia ('1') lub od początku pierwszej penetracji do pierwszej fazy floemowej ('2'), czas (jw.) do rozpoczęcia pierwszego okresu właściwego żerowania ('3'). Parametry '1' i '2' wskazują, jak długo trwa odszukanie elementów łyka i jak szybko mszyca przystępuje do żerowania na danej roślinie, a parametr '3' może bardziej dokładnie precyzować rolę poszczególnych tkanek. Zdarzenia podczas penetracji kłujki mają określoną sekwencję i stanowią ważne punkty odniesienia przy analizie parametrów porządkowych (tab. 2). Po rozpoczęciu rejestracji EPG („początek doświadczenia”) pojawia się model braku penetracji i czas wpływający do rozpoczęcia pierwszej penetracji może określać

wpływ czynników powierzchniowych (zapachów, substancji powierzchniowych, wosków). Jednakże czas ten nie jest zbyt użytecznym wskaźnikiem, gdyż odzwierciedla również reakcję stresową mszyc spowodowaną przygotowaniem do doświadczenia (27). W okresie poprzedzającym pierwszą fazę floemową ma znaczenie liczba krótkich nakłuć trwających mniej niż 2-3 minuty. Duża liczba takich nakłuć i długie okresy braku penetracji, które je oddzielają, mogą wskazywać na negatywne oddziaływanie czynników epidermalnych i mięksiszu liściowego na mszycę. Z kolei penetracje o przedłużonym czasie trwania fazy ścieżki poprzedzającej pierwszą fazę floemową mogą sugerować działanie negatywnych czynników zlokalizowanych w głębszych warstwach mięksiszu lub w wiązce przewodzącej (28). Przedłużony czas wydzielania śliny (model E1) może wskazywać na działanie negatywnych czynników w samym floemie (29). Natomiast skrócenie czasu żerowania (modelu E2) jest prawdopodobnie reakcją mszyc na złą jakość soku floemowego (7).

3. Przykłady zastosowania techniki EPG

Zastosowanie techniki elektronicznej rejestracji żerowania można przedstawić na przykładzie powiązań mszycy kapuścianej *Brevicoryne brassicae* z roślinami o różnym stopniu podatności na żerowanie tego gatunku. Mszycy kapuściana jest oligofagiem żyjącym wyłącznie na roślinach krzyżowych. Na roślinach nieżywielskich (bób *Vicia faba*) mszycy nie wykazują żadnych aktywności związanych z pobieraniem soku floemowego, co wskazuje na brak stymulatorów żerowania w tych roślinach i prawdopodobnie obecność deterrentów pokarmowych. Na przypadkowych roślinach (miesięcznica roczna *Lunaria annua*, pszonak drobnokwiatowy *Erysimum cheiranthoides*) penetracja roślin i pobieranie soku floemowego są wyraźnie skrócone do 5-6% wszystkich aktywności mszyc, co świadczy o deterrentnych właściwościach zarówno tkanek pozafloemowych jak i pokarmu. Natomiast na tobołkach polnych *Thlaspi arvense* i taszniku pospolitym *Capsella bursa-pastoris* (również rośliny przypadkowe) ograniczenie aktywności mszyc dotyczy tylko penetracji tkanek pozafloemowych (możliwa obecność deterrentów w mięksiszu liściowym i komórkach epidermy). Na optymalnych roślinach żywicielskich (gorczyca biała *Sinapis alba*) mszycy rzadko przerywają penetrację i pobierają sok floemowy przez kilka godzin bez przerwy (30).

Można również przedstawić przykłady zastosowania techniki EPG w badaniach nad wykrywaniem odporności gatunkowej roślin w obrębie jednego rodzaju, lub odmianowej w obrębie jednego gatunku. Rejestracja zachowania się mszyc podczas żerowania na odpornych i podatnych gatunkach roślin z rodzaju *Brassica* wykazała następujące różnice: na roślinach odpornych czas penetracji tkanek pozafloemowych był znacznie dłuższy, a średni czas żerowania znacznie krótszy niż na roślinach podatnych. Ponadto, na roślinach odpornych penetracja roślin przez klujkę mszyc była często przerywana dłuższymi okresami braku penetracji. Opisane różni-

ce świadczą o istnieniu mechanizmów odpornościowych przede wszystkim w elementach przewodzących roślin, czyli w rurkach sitowych, skąd mszyce czerpią pokarm. Dalsze badania dotyczyć będą identyfikacji tych czynników (31).

Badania odmianowe prowadzili Leszczyński i in. (32), oraz Cichocka i in. (33). Pierwsze badania dotyczyły różnic w żerowaniu mszycy czeremchowo-zbożowej *Rhopalosiphum padi* na pszenzycie. Autorzy stwierdzili, że na odmianie podatnej Maja mszyce znacznie krócej nakłuwały tkanki peryferyjne, natomiast czas pobierania soku floemowego był znacznie wydłużony w porównaniu do odmiany odpornej Gabo. Drugie badania dotyczyły zachowania się mszycy porzeczkowo-sałatowej *Nasonovia ribis-nigri* na różnych odmianach sałaty. Czas, w którym narządy gębowe mszyc nie były wprowadzone do rośliny był ponad 4-krotnie dłuższy na odmianie odpornej, niż na wrażliwej. Ponadto, na odmianie odpornej sztylety mszyc rzadziej osiągały floem, a czas żerowania w nim był ponad 5-krotnie krótszy niż na sałacie wrażliwej.

Technika EPG jest również coraz szerzej wykorzystywana w badaniach nad aktywnością potencjalnych związków antyżywniowych (tzw. antyfidantów) dla mszyc. Przegląd badań z zastosowaniem techniki EPG przedstawili Leszczyński i Tjallingii (19).

Literatura

1. Dąbrowski Z., (1988), *Podstawy odporności roślin na szkodniki*, PWRiL, Warszawa.
2. Myiazaki M., (1987), *Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control*, vol. A., Eds. A. K. Minks, P. Harrewijn, 1-50, Elsevier, Amsterdam.
3. Goszczyński W., Cichocka E., (1990), *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 392, 9-19.
4. Ponsen, M. B., (1987), *Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control*, vol. 2B, Eds. A. K. Minks, P. Harrewijn, 79-95, Elsevier Sc. Publ., Amsterdam.
5. Harrewijn P., (1990), *Aphid – Plant Genotype Interactions*, Eds. R. K. Campbell, R. D. Eikenbary, 117-130, Elsevier, Amsterdam.
6. Pickett J. A., Wadhams L. J., Woodcock C. M., Hardie J., (1992), *Annu. Rev. Entomol.*, 37, 67-90.
7. Tjallingii W. F., (1995), *Techniques in Plant-Insect Interactions and Biopesticides*, Ed. H. Niemeyer, Proc. of IFS Workshop in Chemical Ecology, Santiago, Chile, 49-58.
8. McLean D. L., Kinsey M. G., (1964), *Nature*, 202, 1358-1359.
9. Tjallingii W. F., (1988), *Aphids: Their Biology, Natural Enemies and Control*, vol. 2B, Eds. A. K. Minks, P. Harrewijn, 95-108, Elsevier, Amsterdam.
10. Montllor C. B., Tjallingii W. F., (1989), *Ent. Exp. Appl.*, 53, 103-111.
11. Helden M., van, Tjallingii W. F., (1990), *Proc. Symp. Aphid-Plant Interactions: Populations to Molecules*, Eds. D. C. Peters, J. A. Webster, C. S. Chlouber, 308, Stillwater, Oklahoma.
12. Givovich A., Niemeyer H., (1995), *Ent. Exp. Appl.*, 74, 115-119.
13. Gabrys, B., Harrewijn, P., (1992), *Proc. 8th Symp. Insect-Plant Relationships*, Eds. S. B. J. Menken, J. H. Visser, P. Harrewijn, 293-294, Kluwer Acad. Publ., Wageningen.
14. Nisbet A. J., Woodford J. A. T., Strang R. H. C., (1992), *Proc. 8th Symp. Insect-Plant Relationships*, Eds. S. B. J. Menken, J. H. Visser, P. Harrewijn, 179-180, Kluwer Acad. Publ., Wageningen.
15. Powell G., Hardie J., Pickett J. A., (1992), *Proc. 8th Symp. Insect-Plant Relationships*, Eds. S. B. J. Menken, J. H. Visser, P. Harrewijn, 181-182, Kluwer Acad. Publ., Wageningen.
16. Powell G., (1991), *Ann. Appl. Biol.*, 119, 313-321.

17. Prado E., (1997), *Aphid-plant Interactions at Phloem Level, a Behavioural Study*, PhD Thesis, Wageningen, 111.
18. Tjallingii W. F., (1995), *Regulatory Mechanisms in Insect Feeding*, Eds. R. F. Chapman, G. de Boer, 190-209, Chapman and Hall.
19. Leszczyński B., Tjallingii W. F., (1994), *Przewodnik do elektronicznej rejestracji żerowania owadów w tkankach roślin*, WSRP, Siedlce.
20. Tjallingii W. F., Hogen Esch Th., (1993), *Physiol. Entomol.*, 18, 317-328.
21. Tjallingii W. F., Gabryś B., (1999), *Ent. Exp. Appl.*, 91, 97-103.
22. Prado E., Tjallingii W. F., (1994), *Ent. Exp. Appl.*, 72, 157-165.
23. Kimmins F. M., Tjallingii W. F., (1985), *Ent. Exp. Appl.*, 39, 135-141.
24. Tjallingii W. F., (1990), *Aphid-Plant Genotype Interactions*, Eds. R. K. Campbell, R. D. Eikenbary, 88-89, Elsevier Science Publisher. B. V. Amsterdam.
25. Spiller N. J., Kimmins F. M., Llewellyn M. J., (1985), *Ent. Exp. Appl.*, 38, 293-295.
26. Helden M., van Tjallingii W. F., (1993), *Ent. Exp. Appl.*, 68, 269-278.
27. Tjallingii W. F., Mayoral A. M., (1992), *Proc. 8th Int. Symp. Insect-Plant Relationships*, Eds. S. B. J. Menken, J. H. Visser, P. Harrewijn, 281-282, Kluwer Acad. Publ. Dordrecht.
28. Gabryś B., Tjallingii W. F., van Beek T., (1997), *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1661-1673.
29. Caillaud C. M., Pierre J. S., Chaubet B., Di Pietro J. P., (1995), *Ent. Exp. Appl.*, 75, 9-18.
30. Gabryś B., Pawluk M., (1999), *Ent. Exp. Appl.*, 91, 105-109.
31. Cole R. A., (1994), *Entomol. Exp. Appl.*, 71, 23-31.
32. Leszczyński B., Szykarczyk S., Józwiak B., Laskowska I., (1998), *Aphids and Other Homopterous Insects*, 6, 47-54.
33. Cichocka E., Goszczyński W., Leszczyński B., (1998), *Progress in Plant Protection*, 38, 1, 165-171.
34. Mayoral A. M., Tjallingii W. F., Castanera P., (1996), *Entomol. Exp. Appl.*, 78, 341-348.
35. Tjallingii W. F., (1994), *Eur. J. Entomol.*, 91, 47-52.
36. Moraczewski J., Riedel W., Sołtyńska M., Umiński T., (1984), *Ćwiczenie z zoologii bezkręgowców*, 298, PWN, Warszawa.