

UNIVERZITET U BEOGRADU

BIOLOŠKI FAKULTET

mr Alkasm Hesén Shukshuk

**Morfološka i genetička karakterizacija  
*Aphidius colemani* kompleksa vrsta  
(Hymenoptera, Braconidae)**

doktorska disertacija

Beograd, 2012

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF BIOLOGY

M.sci. Alkasm Hesén Shukshuk

**Morphological and genetic  
characterization of *Aphidius colemani*  
species complex (Hymenoptera,  
Braconidae)**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2012

**Mentori:**

**dr Željko Tomanović**, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu  
Biološki fakultet

**dr Anđeljko Petrović**, docent  
Univerzitet u Beogradu  
Biološki fakultet

**Članovi komisije:**

**dr Vladimir Žikić**, docent  
Univerzitet u Nišu  
PMF Niš, Odsek za biologiju i ekologiju

**Datum odbrane:**

# Morfološka i genetička karakterizacija *Aphidius colemani* kompleksa vrsta (Hymenoptera, Braconidae)

## Rezime

*Aphidius colemani* kompleks vrsta je definisan kao grupa vrsta sa pantropsko-suptropskim rasprostranjenjem koja se odlikuje malim brojem brazdi, karakterističnog položaja, na anterolateralnom regionu petiolusa. Predstavlja jednu od 10 grupa vrsta (kompleksa) sa nerešenim taksonomskim statusom u okviru roda *Aphidius*. Morfološka i genetička karakterizacija *Aphidius colemani* kompleksa izvršena je primenom morfometrije i analize sekvenci barkoding regiona gena za subjedinicu jedan citohrom oksidaze (COI). Morfometrijskim analizama obuhvaćeno je 250 jedinki *A. colemani* kompleksa sa prostora 23 države sa četiri kontinenta. Analizom varijabilnosti morfoloških karaktera pokazano je postojanje značajnih razlika u pogledu njihove informativnosti u pogledu razdvajanja različitih grupa ovog kompleksa. Utvrđeno je koji su morfološki karakteri dovoljno informativni za razlikovanje taksona unutar ovog kompleksa parazitskih osa. Molekularne analize su obuhvatile 54 jedinke iz 8 država. Analizom sekvenci COI gena i rekonstrukcijom filogenetskih odnosa utvrđeno je postojanje skrivenog taksona unutar *A. colemani* kompleksa. Kombinacijom morfometrijskih i molekularnih metoda utvrđeno je da u okviru *Aphidius colemani* kompleksa vrsta postoje najmanje tri taksona: *Aphidius colemani*, *Aphidius transcaspicus* i *Aphidius cf. colemani* 1 (novi takson). Utvrđeno je da novotkirvena vrsta naseljava Aziju (Iran) i Južnu Ameriku (Čile). Pokazano je da ne postoji jasna veza između genetičke diferencijacije parazitoida ovog kompleksa i njihovih afidnih domaćina, kao ni između genetičke diferencijacije i geografskog porekla.

**Ključne reči:** *Aphidius colemani*, *Aphidius transcaspicus*, morfometrija, citohrom oksidaza subjedinica 1, parazitoidi

**Naučna oblast:** Biologija

**Uža naučna oblast:** Morfologija, sistematika i filogenija životinja

**UDK broj:** 595.79:[591.557.1:595.7

# Morphological and genetic characterization of *Aphidius colemani* species complex (Hymenoptera, Braconidae)

## Summary

*Aphidius colemani* species complex has been defined as a group of species with pantropical – subtropical distribution which is characterized by low number of grooves (costulae) with specific position on the anterolateral region of the petiole. This group is one of the 10 groups of species (complexes) with unsolved taxonomical status among the genus *Aphidius*. Morphological and genetic characterization of the *Aphidius colemani* complex was done by using morphometrics and DNA sequence analysis of the barcoding gene for Cytochrome oxidase I (COI). In total 250 specimens of *A. colemani* complex from 23 different countries on four continents were encompassed with morphometric analysis. By analyzing variability of morphological characters, statistically significant differences were noted in the sense of their informativity in separation of different groups of the complex. Molecular analysis was performed on 54 specimens from eight different countries. By analyzing sequences of COI gene and the reconstruction of phylogenetic relations, one hidden taxon was detected among the *A. colemani* complex. Combination morphometric and molecular methods has shown the existence of at least three distinct taxa: *Aphidius colemani*, *Aphidius transcaspicus* and *Aphidius cf. colemani* 1 (new taxon). This new species can be found in Asia (Iran) and South America (Chile). It has been shown that there are no clear connections between genetic differentiation of the parasitoids from this complex and their aphid hosts, as well as between genetic differentiation and geographic distribution.

**Key words:** *Aphidius colemani*, *Aphidius transcaspicus*, morphometry, COI mtDNA

**Scientific field:** Biology

**Specific scientific field:** Morphology, systematics and phylogeny of animals

**UDK number:** 595.79:[591.557.1:595.7

1. UVOD.....	1
Morfologija i anatomija potfamilije Aphidiinae.....	1
Životni ciklus.....	4
Specifičnost prema domaćinima.....	8
Ekonomski značaj potfamilije Aphidiinae .....	9
<i>Aphidius colemani</i> kompleks vrsta.....	10
<i>Aphidius colemani</i> Viereck, 1912.....	11
<i>Aphidius transcaspicus</i> Telenga, 1958 .....	14
Odnos vrsta <i>Aphidius colemani</i> i <i>Aphidius transcaspicus</i> .....	17
Filogenija potfamilije Aphidiinae.....	19
2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....	23
3. MATERIJAL I METODE .....	24
3.1. Morfometrijske analize.....	24
3.2. Molekularne analize .....	29
3.2.1. Ekstrakcija DNK .....	31
3.2.2. Umnožavanje (amplifikacija), prečišćavanje i sekvenciranje DNK.....	32
4. REZULTATI .....	34
4.1. Varijabilnost morfoloških karaktera.....	34
4.2. Diskriminantna kanonijska analiza.....	43
4.3. Molekularne analize <i>Aphidius colemani</i> kompleksa .....	50
Ekstrakcija, amplifikacija i sekvenciranje .....	50
Analiza sekvenci i filogenetska rekonstrukcija .....	51
5. DISKUSIJA .....	58
6. ZAKLJUČCI .....	62
7. LITERATURA .....	64
8. PRILOG.....	77

## 1. UVOD

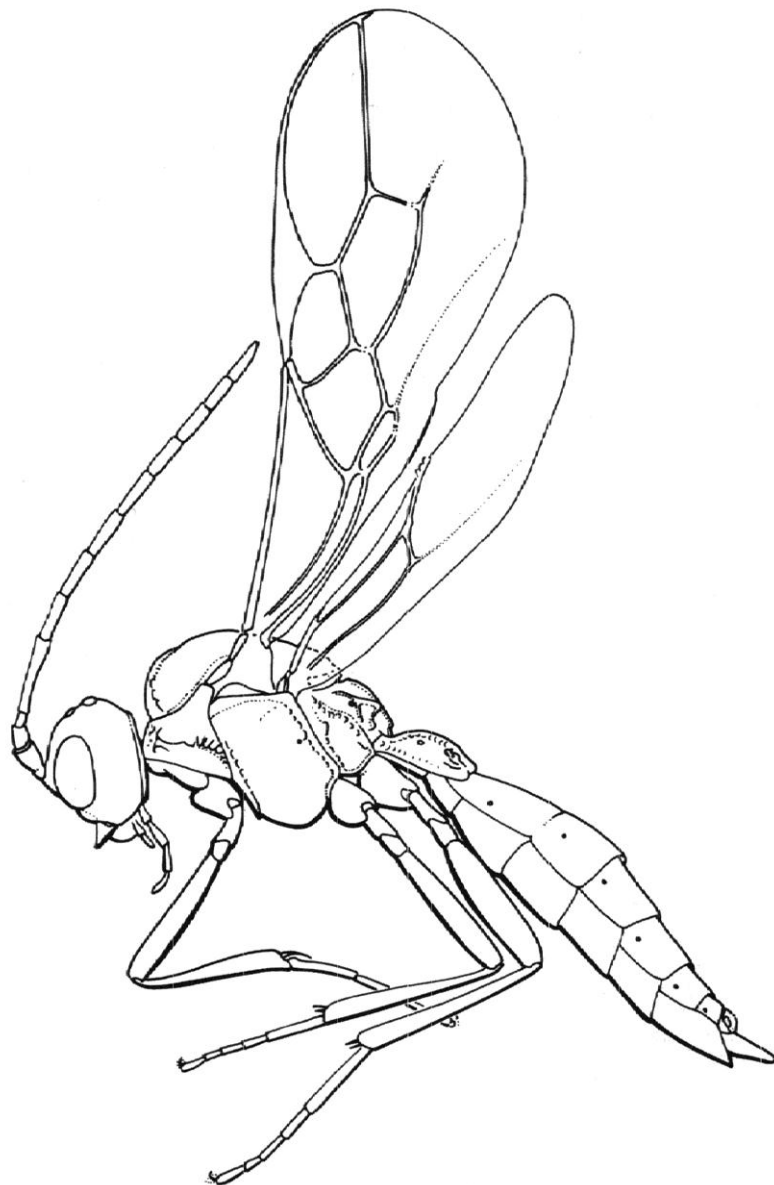
Potfamilija Aphidiinae obuhvata solitarne parazitske ose, koje pripadaju familiji Braconidae, redu Hymenoptera. Sve vrste ove potfamilije su visoko specijalizovani endoparazitoidi biljnih vaši. Pripadaju grupi koinobionata, što znači da njihov parazitirani domaćin, biljna vaš nakon parazitiranja nastavlja svoj životni ciklus dok se u njoj razvija larva parazitoida, sve dok parazitoidna larva ne završi svoj ciklus razvika. Krajnji rezultat ove interakcije je smrt biljne vaši i eklozija imaga parazitoida.

Aphidiinae su sitni insekti čija se dužina tela kreće od jedan do nekoliko milimetara. Do sada je opisano oko 400 vrsta ove potfamilije. Većina vrsta naseljava Holarktički region (Starý, 1988b). U Evropi je poznato oko 200 vrsta klasifikovanih u oko 40 rodova (van Achterberg, 2004).

### Morfologija i anatomija potfamilije Aphidiinae

Morfološka i anatomska građa je tipično brakonidna (Shaw & Huddleston, 1991). Opšti plan građe je prikazan na Slici 1. Glava je poprečnog do subkvadratnog oblika, a po položaju je ortognatna (Slika 2a). Poseduju dva krupna složena oka i tri ocele (Slika 2b i 2c). Na glavi se nalazi i par končastih antena koje se sastoje se od skapusa (*scapus*), pedicela (*pedicel*) (Slika 2d) i višečlanog biča (*flagellum*). Bič može imati od osam (ženke vrste *Lysiphlebus balcanicus* Starý), do preko 30 članaka kod nekih vrsta roda *Pauesia*. Kod većine vrsta mužjaci imaju veći broj flagelarnih segmenata. Jedini izuzetak su vrste roda *Ephedrus* gde mužjaci i ženke imaju po devet (Gardenfors, 1986). Gornja usna (*clypeus*) je ispupčen i prekriven dlačicama kojih može biti od svega par pa do preko 20. Broj i položaj dlačica na klipeusu kod nekih rodova predstavljaju značajan taksonomski karakter. Lateralno, sa obe strane klipeusa nalaze se tentorijalne jame. Odnos rastojanja između tentorijalnih jama i odnos rastojanja između tentorijalne jame i ivice oka i daje vrednost tzv. *tentorijalnog indeksa* koji se takođe koristi za identifikaciju nekih vrsta (Starý 1973, 1981). Usni aparat je prilagođen za srkanje sa dvozubim mandibulama i varijabilnim brojem segmenata u labijalnim i maksilarnim palpusima. Toraks je vrlo kompaktan i sastoji se iz prozome, mezozome i metazome. Pronotum je obično gladak ili sa finom skulptuiranošću. Mezonotum je

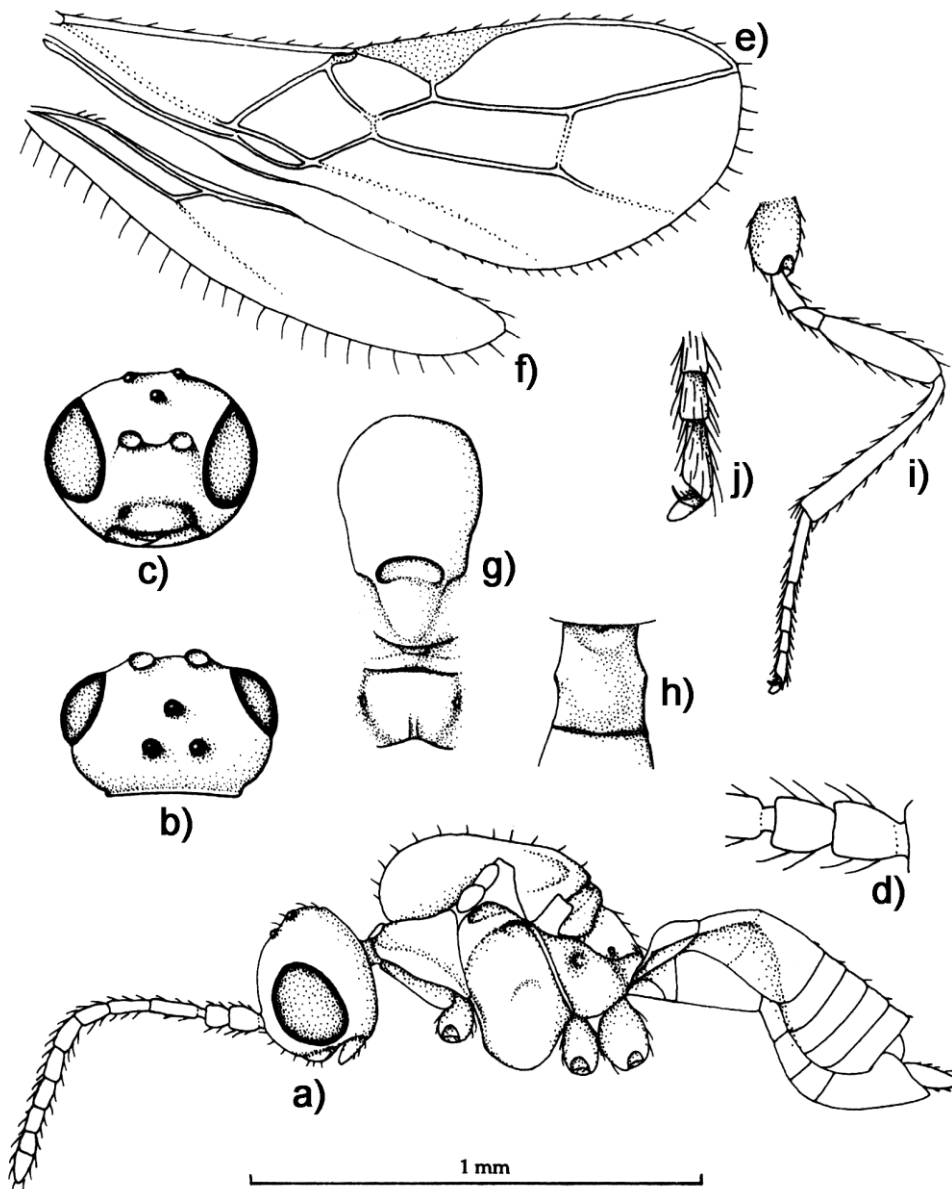
najčešće gladak mada može biti i fino granulisan, obrastao je dlakama. Mezoskutum može je ili gladak ili ima brazde i/ili jamicu (*fovea*) (Slika 2g). Propodeum je jedan od najznačajnijih taksonomskih karaktera (Starý, 1973). Može biti različite skulptuiranosti i dlakavosti. Suture ga obično dele na površine različite veličine i oblika.



Slika 1. Opšti plan građe Aphidiinae (po van Achterberg 1997).



Većina vrsta ove potfamilije ima dva para krila (Slika 2e i 2f). Vrlo retko se javljaju brahipternost i beskrilnost (apternost). Brahipternost ili mikropternost se javlja kod vrste *Diaeretellus svalbardicum* i kod ženki *Autriquella aptera* (Starý) i *Trioxyis apterus*, dok se beskrilnost javlja samo kod ženki vrste *Diaeretellus ephippium*.



Slika 2. Opšti plan građe tela Aphidiinae - Ephedrini, *Parephedrus relictus* Starý & Carver ♀ (van Achtenberg 1993): a) telo, bočni izgled; b) glava, dorzalni izgled; c) glava, čeonni prikaz; d) antena (skapus, pedicel i deo prvog flagelnog članka); e) prednje krilo; f) zadnje krilo; g) toraks, dorzalni izgled; h) petiolus, i) noga; j) stopalo.

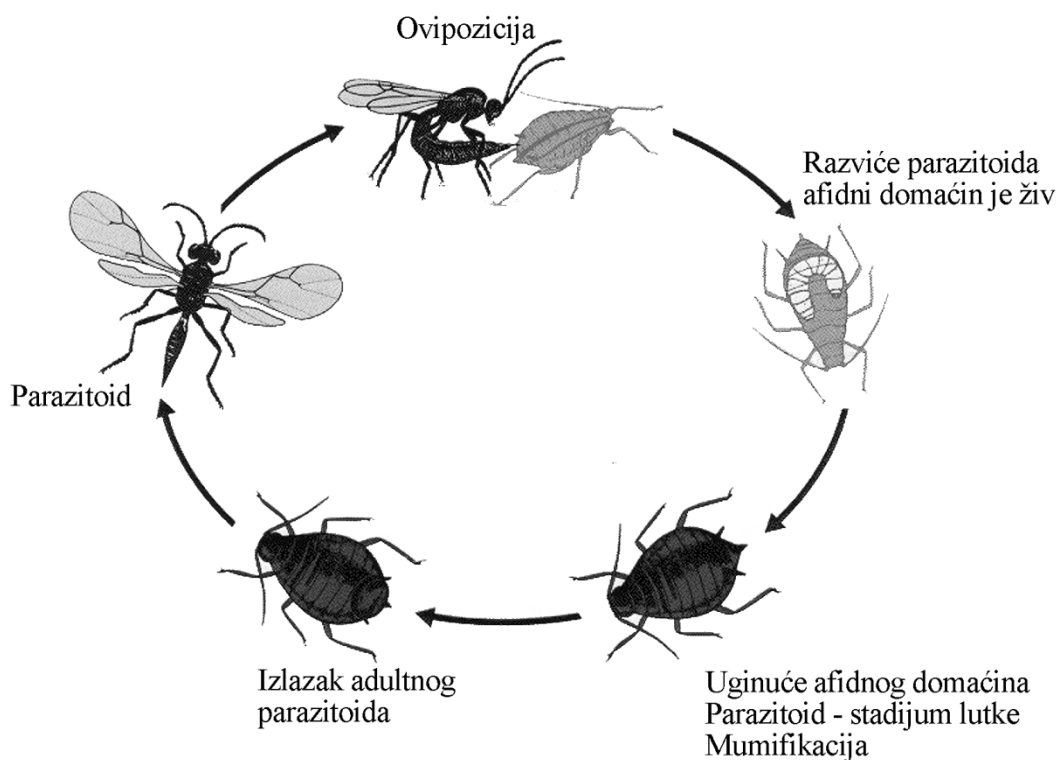
U okviru potfamilije postoji izražena tendencija redukcije krilne nervature. Tako npr. vrste roda *Ephedrus* imaju tipičnu brakonodinu nervaturu koja je veoma slična nervaturi vrsta potfamilije Euphorinae dok vrste roda *Trioxyys* imaju skoro potpuno redukovanu nervaturu. Noge su dobro razvijene, dugačke i tanke. Abdomen je kod ženki lancetast, a kod mužjaka valjkast. Drugi i treći abdominalni segment su srasli, ali za razliku od drugih brakonida između njih postoji fleksibilna sutura (Starý 1970; Sharkey 1993). Iako su drugi i treći segment svojim tergitema srasli, svi ostali metazomalni segmenti su povezani membranama.

Na kraju abdomena se nalaze i genitalije. Ženske genitalije, legalica (*ovipositor*) je građena od delova osmog i devetog abdominalnog segmenta, a čine ih kvadratne ploče, valifera I i II, prvih, drugih i trećih valvi. Svi delovi osim trećeg para valvi su uniformne građe kod svih rodova. Treće valve mogu zavisno od roda biti široke a kratke ili pak uže a dugačke (Starý, 1976). Muške genitalne strukture su građene od nastavaka 9 abdominalnog segmenta i *aedeagus*-a.

### **Životni ciklus**

Sve vrste afidiina su solitarni koinobiontski parazitoidi biljnih vaši iz familija Aphididae, Callaphidae, Chaitophoridae, Lachnidae i nešto ređe vaši iz familija Hormaphididae, Pemphigidae, Telaxidae, Mindaridae i Anoecidae. Aphidiinae parazitiraju sve stadijume biljnih vaši osim jajeta, mada je ovipozicija najčešća na II ili II larvenom stupnju vaši (Shaw & Huddleston, 1991). Pri ovipoziciji, ženka savija svoj trbuh ispod grudi i promalja njegov vrh između prednjih nogu, ispod glave (Slika 3). Ženka skoro po pravilu polaže jedno jaje u domaćina, mada se retko, slučajno može desiti da polože dva ili više jaja. U ovakvim slučajevima (koji se nazivaju super- i multiparazitizam) dolazi do kompeticije između larvi i na kraju se uvek razvije samo jedan adult. Ovipozicija traje različito kod različitih vrsta i vreme ovipozicije se kreće od jedne sekunde kod nekih vrsta roda *Aphidius* pa do skoro 10s kod vrste *Ephedrus cerasicola* Starý (Hofsvang & Hågvar, 1986). Polaganje jaja se uglavnom odvija brzo bez specifičnog mesta na telu domaćina, sa izuzetkom vrsta roda *Monoctonus* koje polažu jaja u masu ganglija u torakalno - abdominalnom delu uvlačeći legalicu u ventralnu suturu toraksa (Griffiths, 1960, 1961).

Po polaganju, jaje bubri i uvećava se i do 100 puta. Oko kaudalnog dela larve u jajetu stvara se specifično tkivo – trofamnion. Nakon izleganja, trofamnion disocira na slobodne teratocite u hemolimfi domaćina. Teratocite veoma brzo upijaju hranljive materije i značajno povećavaju svoju veličinu. One predstavljaju gotovo jedinu hranu parazitoidne larve unutar tela biljne vaši sve do poslednjeg larvenog stupnja. (Hinton, 1954). Osim teratocitama larva parazitoida se hrani i embrionima biljne vaši i mobilnim ćelijskim materijalom ali se ne hrani tkivima i vitalnim organima domaćina sve do ulutkavanja (Schlinger & Hall, 1960). Larva I stupnja poseduje mandibule tako da se parazitoid u prvo vreme hrani slobodnim teratocitama. Drugi stupanj ne poseduje mandibule tako da larva usisava teratocite svojim ezofagusom (Schlinger & Hall, 1960).



Slika 3. Životni ciklus parazitskih osa iz potfamilije Aphidiinae (modifikovano po Hågvar & Hofsvang, 1991).

Poslednji larveni stupanj ponovo dobija mandibule i počinje da se hrani tkivima i organima domaćina počevši od reproduktivnih organa, tako da domaćin živi skoro do

ulutkavanja parazitoida. Larve afidiina prilepljuju hitinsku košuljicu domaćina za biljku i zatim ispredaju kokon unutar (većina vrsta) ili ispod košuljice (neke vrste tribusa Praini). U ovom stadijumu hitinska košuljica biljne vaši se naziva „mumija“ (Slika 4). Boja i oblik mumije su važni pri determinaciji aphidiina na nivou rodova (Kavallieratos *et al.* 2004; Hoy & Singh 2007). Nakon metamorfoze formirani adult mandibulama proseca kružni izletni otvor na zadnjem kraju mumije.



Slika 4. *Macrosiphum rosae*: živa vaš (levo) i mumije *Aphidius rosae* (desno) (Foto: A. Petrović)

Većina vrsta afidiina je polno zrela odmah nakon izleganja, a neke vrste sazrevaju nekoliko sati nakon izleganja. Mužjaci obično sazrevaju nešto ranije od ženki. Ženke se pare samo jednom i spermu čuvaju u spermatekama, dok se mužjaci mogu pariti više puta (Hågvar & Hofsvang, 1991). Iz neoplođenih, haploidnih jaja se razvijaju mužjaci, a iz oplodjenih, ženke. Razviće u velikoj meri zavisi od temperature, ali u optimalnim uslovima kod većine vrste od ovipozicije do izleganja adulta prođe 10-17 dana (Hågvar & Hofsvang, 1991). Životni vek afidiina je od nekoliko nedelja do nekoliko meseci i zavisi od uslova životne sredine. Adulti žive od nekoliko nedelja do nekoliko meseci i hrane se nektarom, polenom i mednom rosom. Mnoge vrste potfamilije Aphidiinae su sposobne da u toku jedne sezone produkuju više generacija sa životnim ciklusom od 2-3

nedelje, kada su uslovi optimalni. Takođe, i pojavljivanje u toku sezone zavisi od biologije parazitoida, same biologije domaćina kao i od spoljašnjih uslova.

Nakon parenja ženka pronalazi potencijalnog domaćina uglavnom pomoću mirisnih organa na antenama (rinarije). Sam proces pronajazjenja domaćina i parazitiranja je podeljen u pet faza (Hågvar & Hofsvang, 1991):

1. **Pronalaženje staništa domaćina** – Početna faza koja je podeljena na dve potfaze: pronalaženje makrostaništa (šuma, livada, obala reke...) i pronalaženje mikrostaništa (biljka). Mehanizmi pronalaženja makrostaništa su veoma slabo poznati, ali se zna da su vremenske prilike (temperatura, vlažnost, vetar, intenzitet svetlosti...) veoma važne. Sa druge strane na uspešnost lociranja mikrostaništa veliki uticaj imaju elektromagnetni talasi (boja pre svega), zvuci i mirisi sa potencijalne biljke hraniteljke domaćina (Hågvar & Hofsvang, 1991). Smatra se da su najznačajniji mirisi, a oni mogu biti isparenja biljaka, mirisi domaćina (feromoni, ekskretorni produkti...), mirisi drugih organizama asociranih sa domaćinom ili različite kombinacije ovih mirisa.
2. **Pronalaženje potencijalnog domaćina** – Kada se nađe na odgovarajućem mikrostaništu ženka reaguje na karakteristične fizičke (vibracije prilikom kretanja domaćina, zvučni i vizuelni stimulusi, infracrveno zračenje i sl.) i hemijske stimuluse domaćina (isparljivi i kontaktni kairomoni domaćina, mirisi biljke hraniteljke izmenjeni pod uticajem afidnog domaćina...). Kada se nađe pod dejstvom nekog od ovih stimulusa ženka naglo smanjuje kretanje i zaustavlja se.
3. **Prihvatanje domaćina** – Nakon naglog zaustavljanja iz prethodne faze ženka počinje da ispituje okolinu antenama i tako dolazi u kontakt sa potencijalnim domaćinom (Hågvar & Hofsvang, 1991). Prilikom ovog kontakta antenama, i kasnije ovipozitorom, ženka afidiina donosi odluku o prihvatanju ili odbacivanju domaćina. Prihvatanje ili odbacivanje neke vaši kao domaćina zavisi od niza faktora: vrsta domaćina, veličina i starost domaćina, odbrambeni mehanizmi domaćina (pokreti i ponašanje), sastav hemolimfe, gljivične infekcije, parazitiranost domaćina, obojene forme domaćina...

4. **Podesnost domaćina** – Nakon što ženka položi jaje u domaćina, dalji razvoj parazitoida zavisi od podesnosti domaćina. Različite vrste domaćina ili različite jedinke unutar iste vrste mogu biti različito podesne za razvoj parazitoida. Ove razlike mogu da potiču od više faktora: hranljiva podesnost, super- ili multiparazitizam, imuni odgovor domaćina, endokrini status domaćina i sl.
5. **Regulacija domaćina** – Završna faza koja predstavlja mogućnost parazitoida da preživi unutar domaćina, regulišući osnovne životne funkcije domaćina kao što su: stopa rasta, ishrana, razviće, reprodukcija ponašanje, biohemijske i fiziološke aktivnosti i sl.

### **Specifičnost prema domaćinima**

Po pitanju specifičnosti prema afidnim domaćinima kod afidiina je uočljiv izraziti evolucionni trend od polifagije ka oligofagiji (parazitiranje vrsta u okviru jednog roda) (Starý, 1981; Starý, 1988a). Tako na primer vrsta *E. persicae* parazitira preko 100 vrsta afidnih domaćina u Palearktiku (Gärdenfors, 1986) dok vrsta *Pseudopraon mindariphagum* parazitiira isključivo kolonije *Mindarus abietinus* Koch. na četinarima (Starý, 1988b). Starý (1988a) definiše 5 tipova specifičnosti parazitoida prema afidnim domaćinima:

- ograničenost na jednu vrstu domaćina
- ograničenost na dve ili više vrsta domaćina u okviru istog roda domaćina
- ograničenost na dva ili više rodova iste potfamilije
- ograničenost na dva ili više rodova iz dve ili više potfamilija iste familije
- ograničenost na nekoliko rodova iz dve ili više familija

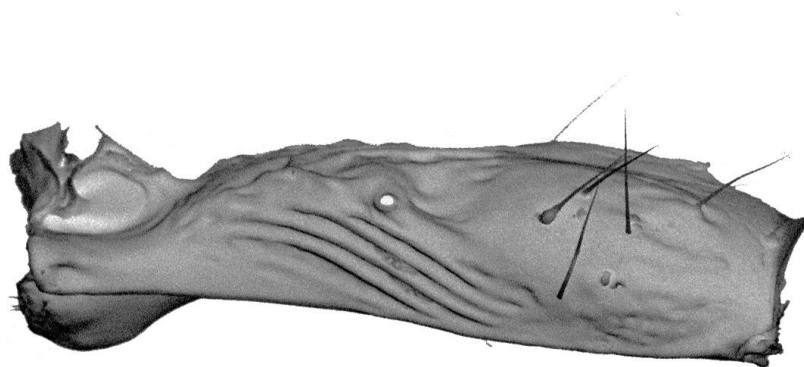
## Ekonomski značaj potfamilije Aphidiinae

Ekonomski značaj vrsta ove potfamilije se ogleda u tome što regulišu brojnost biljnih vaši. Biljne vaši su jedna od ekonomski najznačajnijih grupa insekata. Među njima se nalaze brojne štetočine kako zeljastih tako i drvenastih biljaka. Šteta koju izazivaju može biti direktna ili indirektna (Petrović-Obradović, 2003). Direktnu štetu nanose ishranom (isisavanje sokova) zbog čega dolazi do kovrdžanja listova, hloroze i drugih deformacija biljke. Indirektna šteta je posledica sposobnosti vaši da prenose viruse i gljive "čađavice". U prirodnim ekosistemima brojnost biljnih vaši je kontrolisana afidofagnim insektima (parazitoidi i predatori), a manjim delom i od strane patogena. Do 80-ih godina prošlog veka biljne vaši su agroekosistemima gotovo isključivo kontrolisane pesticidima, kako na otvorenim površinama tako i u staklenicima. Pojava rezistentnosti vaši na pesticide i sve veći razvoj ekološke svesti u zapadnom društvu doveli su do većeg istraživanja agenata biološke kontrole. Kao najbolji agensi pokazali su se parazitoidi. Na uspešnost suzbijanja biljnih vaši parazitoidima utiče njihova brojnost, tj. gustina populacije domaćina u kulturi, odnos stepena parazitiranosti i stepena hiperparazitiranosti. Veoma važan faktor je i parazitiranje domaćina u njegovom najranijem razvojnom stupnju, tako da se parazitoid razvije pre nego što domaćin dostigne polnu zrelost i počne da se razmnožava. Postoje brojni primeri uspešnog suzbijanja biljnih vašiju parazitoidima u otvorenim poljima, a Hågvar & Hofsvang (1991) navode najuspešnije kao što su: kontrola *Acyrtosiphon pisum* pomoću *Aphidius eadyi* na Novom Zelandu; *Acyrtosiphon kondoi* pomoću *Aphidius ervi* u Australiji i suzbijanje nekoliko vaši na lucerki i drvenastim biljkama u SAD pomoću vrsta roda *Trioxyis*. Kao veoma uspešan projekat biološke kontrole vaši treba navesti i suzbijanje vrste *Aphis gossypii* u poljima pamuka vrstom *Aphidius matricariae* (Hågvar & Hofsvang, 1991). Kao prirodni neprijatelji u staklenim baštama Evrope i Severne Amerike mnoge vrste afidnih parazitoida upotrebljene su u programima biološke kontrole. Ose koje se najviše koriste su: *Aphidius matricariae* i *A. colemani* (Hågvar & Hofsvang, 1991) za suzbijanje sledećih vrsta vaši: *Myzus persicae* Sulz, na krastavcu u Holandiji, na slatkom biberu u Velikoj Britaniji i Rusiji, različitom povrću u Nemačkoj, paradajzu u Kanadi i *Aphis gossypii* Glover na pamuku.

### ***Aphidius colemani* kompleks vrsta**

Rod *Aphidius* Nees je sa preko 100 opisanih vrsta je najveći u okviru potfamilije Aphidiinae (Tomanović *et al.* 2007). U Evropi je do sada opisano oko 38 vrsta. Mnogi autori su se bavili problemima taksonomije i sistematike ovog roda (Eady 1969; Starý 1973; Punglerl 1983, 1984, 1986; Unruh *et al.* 1989; Kambhampati & Mackauer 1988; Pennacchio 1989; Mescheloff & Rosen 1990; Höller 1991; Atanassova *et al.* 1998, Tomanović *et al.* 1999; Tomanović & Starý 2001; Kavallieratos *et al.* 2001; Tomanović & Kavallieratos 2002; Tomanović *et al.* 2004; Kavallieratos *et al.* 2004; Kavallieratos *et al.* 2006; Tomanović *et al.* 2007), jer mu pripadaju neke od ekonomski najznačajnijih vrsta (Mescheloff & Rosen 1990). Pa je stoga korektna identifikacija vrsta od fundamentalnog značaja. I pored veoma brojnih i opsežnih istraživanja, rod *Aphidius* predstavlja taksonomski najproblematičniju grupu i unutar njega postoji najmanje 10 grupa vrsta (kompleksa) sa nerešenim taksonomskim statusom (Eady 1969, Punglerl 1986, Tomanović *et al.* 2003, 2007, Petrović 2011, Petrović *et al.* 2011).

*Aphidius colemani* kompleks se može definisati kao grupa vrsta sa pantropsko-suptropskim rasprostranjenjem koja se odlikuje malim brojem brazdi, karakterističnog položaja, na anterolateralnom regionu petiolusa (Slika 5).



Slika 5. *Aphidius colemani* petiolus, bočni izgled.



Po podacima kojima danas raspolažemo u *A. colemani* kompleksu postoje dve vrste sa brojnim preklapajućim taksonomskim karakteristikama: *Aphidius colemani* Viereck, 1912 i *Aphidius transcaspicus* Telenga 1958.

### ***Aphidius colemani* Viereck, 1912**

*Aphidius colemani* Viereck, 1912, Proc. U.S. Nat. Mus., 42:141

*Aphidius platensis* Brèthes, 1913, Ann. Mus. Nac. Hist. Nat. B. Aires, 24:41

*Aphidius hübrichi* Brèthes, 1913, Ann. Mus. Nac. Hist. Nat. B. Aires, 24:41-42

*Aphidius porteri* Brèthes, 1915, Ann. Zool. Apl. 2:13

*Aphidius aphidiphilus* Benoit, 1955, Ann. Mus. Congo Tervuren Ser. 8, Zool., 36:349

*Aphidius leroyi* Benoit, 1955, Ann. Mus. Congo Tervuren Ser. 8, Zool., 36:350

*Aphidius transcaspicus* Telenga, 1958, Uzbek. Biol. Žurn., 2:55-56

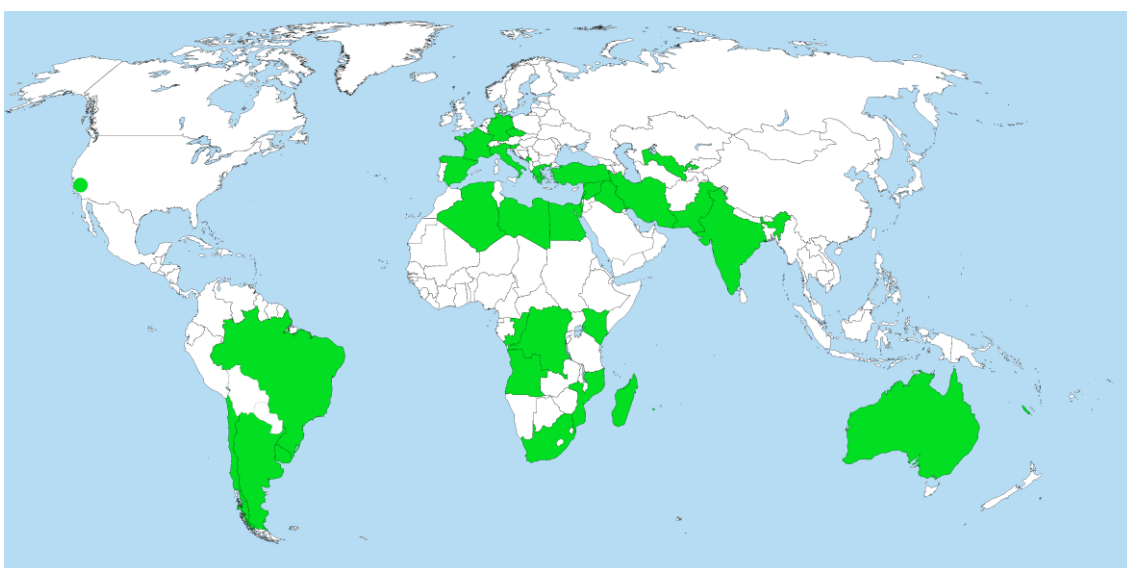
Vrsta *Aphidius colemani* (Slika 6) je opisana 1912. godine kao parazitoid vaši iz roda *Aphis* sa prostora Indije (Viereck, 1912). Narednih pola veka ostaje skoro zaboravljena i pominje se samo u nekolicini istraživanja. Autori je uglavnom navode kao sinonim za *Aphidius platensis* ali bez zvanične sinonimizacije. Ramakrishna Ayyar (1927) pominje *A. colemani* kao jednu od ekonomski veoma značajnih vrsta u južnoj Indiji, dok Sharma & Subba Rao (1964) navode da primerci tipske serije poseduju tipične karakteristike roda *Aphidius*.



Slika 6. *Aphidius colemani*, ženka (levo) i mumija (desno) (foto: E. Rakhshani)

Sa druge strane, u tom periodu mlađi sinonim *Aphidius platensis* (koji je opisan 1913. godine iz Argentine) postao je poznat kao pantropska vrsta i veoma dobar agens biološke borbe. *Aphidius platensis* je introdukovan u Kaliforniju i Veliku Britaniju, kako u staklenike tako i na otvorena polja. Takođe, *A. platensis* je korišćen i kao model organizam u istraživanjima uticaja parazitoida na razvoj i fiziologiju biljnih vaši (Johnson, 1959, 1965). Starý (1972) u istraživanju o rasprostranjenju i afidnim domaćinima navodi da *A. platensis* parazitira veliki broj vaši iz familije Aphididae i da je rasprostranjen u Australiji, Južnoj i Severnoj (Kalifornija) Americi, Africi i Aziji i zaključuje kako je poreklo ove vrste iz Indije a ne iz Južne Amerike kako se ranije mislilo. Dve godine kasnije Starý (1975), nakon opsežne taksonomske studije, sinonimizira *A. platensis* sa *Aphidius colemani*.

Danas *Aphidius colemani* predstavlja jednu od najšire rasprostranjenih vrsta potfamilije Aphidiinae (Starý 1975; Takada 1998; Adisu *et al.* 2002; Starý 2002) (Slika 7.).



Slika 7. Rasprostranjenje vrste *Aphidius colemani*. Zelenom bojom su obeležene države u kojima je vrsta prisutna (po Starý 1975, 2002; Adisu *et al.* 2002)

Osim država u kojima je ova vrsta sa sigurnošću pronađena (Slika 7.) pretpostavlja se da naseljava i neke druge predele. Tako npr. Starý (1975) navodi da verovatno naseljava veći deo Afrike. Takođe, sa relativno velikom sigurnošću se može reći da naseljava i veći deo Južne i Srednje Amerike kao i sve mediteranske zemlje.

Kao što je ranije napomenuto *Aphidius colemani* je jedna od vrsta koje se najčešće koriste u biološkoj borbi protiv biljnih vaši. Skoro sve velike kompanije koje proizvode parazitoide kao agense biološke borbe u svojoj ponudi imaju vrste *A. colemani* i *A. matricariae*. Usled međusobne sličnosti većina proizvođača nije u stanju da ih razlikuje, pa po podacima Fenandez & Nentwig (1997) većina ovih kompanija prodaje *A. colemani* umesto *A. matricariae*. Vrsta *A. colemani* se pokazala kao vrlo dobar agens, pre svega u biološkoj borbi protiv vaši u staklenicima i plastenicima. U prvom redu za suzbijanje vrsta *Myzus persicae* i *Aphis gossypii* koje su ujedno i najveće štetočine u zatvorenim prostorima. Osim u staklenicima *A. colemani* se koristi za suzbijanje raznih vrsta vaši i na otvorenim površinama na svim kontinentima. Tako je u Evropu introdukovana populacija *A. colemani* iz Čilea za kontrolu vaši *Aphis spiraephaga* i *Diuraphis noxia* (Starý 2002). Nakon inicijalne introdukcije vrsta je uspostavila stabilne populacije i danas parazitira više vrsta iz rodova *Aphis*, *Brachycaudus*, *Diuraphis*, *Myzus*... Pored Češke *A. colemani* je registrovan i na otvorenim staništima u Nemačkoj (Adisu *et al.* 2004), pa se može pretpostaviti da je rasprostranjen u većini zemalja u kojima je korišćen kao agens biološke kontrole kako na otvorenim staništima tako i u staklenicima.

### ***Aphidius transcaspicus* Telenga, 1958**

*Aphidius magdae* Mescheloff et Rosen, 1990. Israel J. Entomol. 24: 51-91

*Aphidius transcaspicus* (Slika 8) je opisao Telenga (1958) i to kao parazitoida vaši *Hyalopterus pruni* (Geoffroy) sa prostora današnjeg Uzbekistana. Od tada je zabeleženo da parazitira brojne vrste rodova *Aphis*, *Brachycaudus*, *Hyalopterus*, *Longiunguis*, *Melanaphis*, *Pterochlorides*, *Rhopalosiphum* (Kavallieratos & Lykouressis 1999).



Slika 8. *Aphidius transcaspicus*, ženka (foto: E. Rakhshani).

Starý (1965, 1973) je dao ponovni, dopunjeni opis vrste da bi je kasnije sinonimizirao sa *A. colemani* (Starý 1975). Rabasse *et al.* (1985) su izvršili poređenje populacija vrste *A. colemani*. Poredili su populaciju iz južne Francuske dobijenu gajenjem *Melanaphis donacis* Passerini sa populacijom iz Brazila dobijenu gajenjem *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe i pokazali da se razlikuju u nizu morfoloških karaktera. Ti karakteri su: broj antenalnih segmenata, odnos dužina stigme i metakarpusa, dlakavosti i elektroforetskim paternima proteina esteraza.

Kavallieratos & Lykouressis (1999) su poredeći populacije *A. colemani* kompleksa sa različitim domaćina utvrdili veoma značajne morfološke razlike između populacija koje parazitiraju *Hyalopterus pruni* i *H. donacis* i svih ostalih. Tom prilikom su utvrdili da je *A. transcaspicus* dobra vrsta i dali njen ponovni opis. U dijagnozi vrste dali su i karaktere za razlikovanje vrsta *A. transcaspicus* i *A. colemani* (Tabela 1).

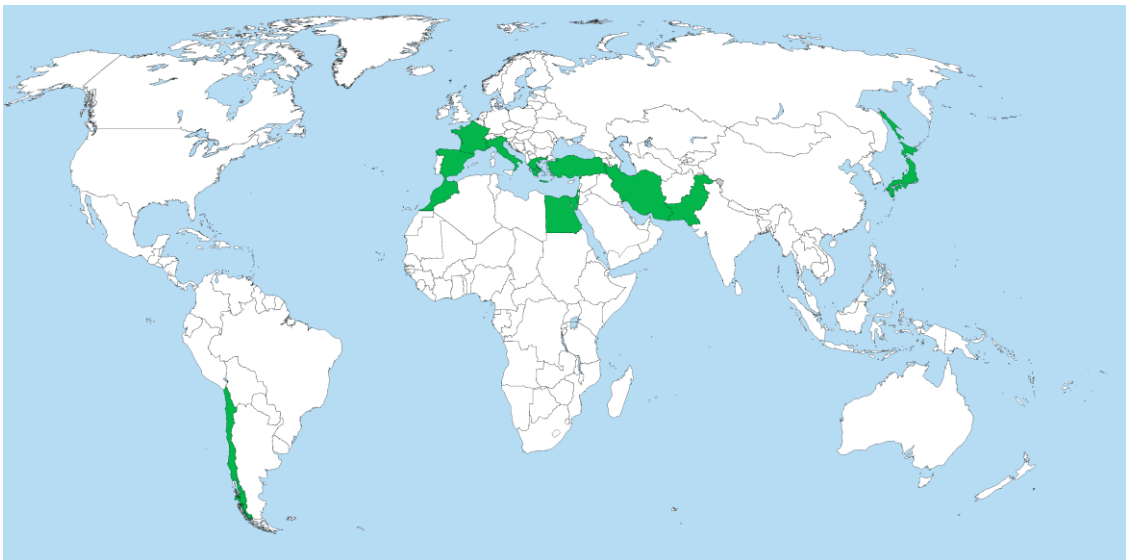
Tabela 1. Karakteri za razlikovanje vrsta *A. transcaspicus* i *A. colemani* po Kavallieratos & Lykouressis (1999).

Karakter	<i>A. transcaspicus</i>	<i>A. colemani</i>
Broj antenalnih segmenata	> 15	15
Broj segmenata labijalnih palpusa	3	2
Pterostigma	izdužena	trouglasta
Metakarpus	kraći	duži

U istom radu autori su ispitali i paratipove vrste *Aphidius magdae* Mescheloff & Rosen i utvrdili da su vrste *A. magdae* i *A. transcaspicus* morfološki identične i da su dobijene sa istih domaćina (*H. pruni*). Usled toga *A. magdae* su okarakterisali kao mlađi sinonim za *A. transcaspicus* (Kavallieratos & Lykouressis 1999). Nakon ove potvrde statusa vrste brojni autori je registruju kao parazitoida vaši iz roda *Hyalopterus* (Olmes & Ulusoy 2003, Kavallieratos *et al.* 2004, Aslan *et al.* 2004, Ahmadabadi & Awal 2012) ili *A. gossypii* (Takada 2002, Cecilio *et al.* 2008). *Aphidius transcaspicus* je testiran i kao agens biološke kontrole na Havajima (Wang & Messing 2006) gde se pokazao kao potencijalno dobar agens za suzbijanje vaši *Pentalonia nigronervosa* (Coquerel) i *Myzus persicae* (Sulzer). Osim na Havajima vrsta je razmatrana i kao agens biološke kontrole protiv *Hyalopterus pruni* u Kaliforniji, što je rezultovalo detaljnim istraživanjem genetičke struktuiranosti populacija (Lozier *et al.* 2006, Lozier *et al.* 2008a, 2008b, Lozier & Mills 2009) i karakteristika životnog ciklusa (Latham & Mills 2010, 2012). Koristeći mikrosatelitske markere i delimičnu sekvencu gena za citohrom oksidazu I, Lozier *et al.* (2008a) su utvrdili da postoji relativno velika diferencijacija populacija *A. transcaspicus* po geografskoj udaljenosti, ali da ne postoji diferencijacija u odnosu na domaćina (različite vrste roda *Hyalopterus*). Takođe je utvrđeno da veći uticaj na izolaciju različitih populacija imaju berijere nego sama udaljenost (Lozier *et al.* 2008b). Utvrdili su postojanje značajnih razlika između populacija iz Španije i Grčke (Lozier *et al.* 2008a), kao i nekih populacija iz severne Afrike (Lozier *et al.* 2008b) ali su te razlike

u okviru intraspecijske varijabilnosti (Lozier *et al.* 2008b). Među ovim populacijama još uvek postoji protok gena i za njih se sa velikom sigurnošću može reći da se nalaze na početku kriptičke specijacije (Lozier & Mills 2009).

Po literaturnim podacima vrsta *Aphidius transcaspicus* ima mediteransko rasprostranjenje (Kavallieratos & Lykouressis 1999, Lozier *et al.* 2008b), mada je rasprostranjena i u Japanu (Takada 2002) i Čileu (Starý, usmeno saopštenje) (Slika 9).



Slika 9. Rasprostranjenje vrste *Aphidius transcaspicus*. Zelenom bojom su obeležene države u kojima je vrsta prisutna.

## Odnos vrsta *Aphidius colemani* i *Aphidius transcaspicus*

I pored brojnih navedenih istraživanja vrste *Aphidius colemani* i *A. transcaspicus* predstavljaju problematičnu grupu kada se radi o njihovoj identifikaciji. Kavallieratos & Lykouressis (1999) su naveli karaktere za njihovo razlikovanje (Tabela 1) ali u praksi situacija je komplikovanija, jer postoje preklapanja navedenih karaktera (Garantonakis *et al.* 2009). Kao još jedan od načina za razlikovanje navodi se i afidni domaćin tj. navedeno je da je *A. transcaspicus* parazitoid vaši roda *Hyalopterus*, a *A. colemani* je generalista sa velikim brojem domaćina (Kavallieratos & Lykouressis 1999, Starý 2006). Međutim poslednjih godina je utvrđeno da *A. transcaspicus* može da ima i znatno širi krug domaćina. Registrovan je kao deo parazitskog spektra *A. gossypii* (Takada 2002, Cecílio *et al.* 2008) u prirodnim staništima, a u laboratoriji je pokazano da uspešno može da parazitira i vaši *Aphis craccivora* (Koch), *A. fabae* (Scopoli), *A. gossypii*, i *M. persicae* (Mackauer & Starý 1967; Starý 1970; Takada 2002; Starý 2006; Wang & Messing 2006).

Usled ovakve situacije sa morfološkim karakterima usledila su istraživanja koja su koristila molekularne markere za rasvetljavanje odnosa ovih vrsta (Garantonakis *et al.* 2009). Kao molekularni marker u ovoj studiji korišćen je ITS2 rDNK region. Međutim, pokazano je samo da se na osnovu dužine ovog regiona (broj baznih parova) i genetičkoj distanci ove dve vrste razlikuju ali nikakav zaključak nije izveden tako da celu studiju treba uzeti sa rezervom. Osim toga u istoj studiji je vršeno i unakrsno ukrštanje između ove dve vrste i pokazano da proizvode vijabilno i fertilno potomstvo u F1 generaciji. Ali i na ovaj deo studije se mogu izneti ozbiljne zamerke. Kao prvi diskutabilni deo ove studije je sama identifikacija vrsta, jer autori navode neobične vrednosti za karaktere koje su koristili. Ukoliko identifikacija nije bila ispravna na šta se može posumnjati iz činjenica navedenih u studiji onda svi ostali eksperimenti mogu biti dovedeni u pitanje. Dalje i sami autori navode propuste u smislu da je bilo neophodno dalje testirati ukrštanje i u F2 generaciji, jer F1 mužjaci nisu hibridi usled haplodiploidnog sistema razmnožavanja kod ovih parazitskih osa. Isti molekularni marker (ITS2 rDNK) su koristili i Ahmadabadi *et al.* (2011) kako bi pokazali molekularni metod za identifikaciju vrste *A. transcaspicus*, ali kao glavni rezultat

studije navedeno je da jedna jedinka *A. transcaspicus* iz Irana ima veoma sličnu sekvencu onima iz banke gena. Celu ovu studiju treba uzeti sa velikom rezervom.

Osim nerazjašnjenog odnosa vrsta *A. colemani* i *A. transcaspicus* postoje i nedoumice o broju taksona unutar samih vrsta. Lumbierres *et al.* (2011) navode *Aphidius* sp. near *transcaspicus* kao parazitoida vaši *Rhopalosiphum padi*. Iznose pretpostavku da bi to mogla biti nova vrsta koja je morfološki veoma slična vrsti *A. transcaspicus* a parazitira vaši iz rodova *Rhopalosiphum* i *Aphis* (Starý, usmeno saopštenje). Takođe, postoje i mišljenja da neke populacije vrste *A. colemani* iz Severne Afrike (Etiopija) predstavljaju zasebnu vrstu (Starý, usmeno saopštenje). Nerazjašnjen odnos između *A. colemani* i *A. transcaspicus* kao i potencijalni skriveni taksoni uočavaju se i u istraživanjima molekularnih markera pogodnih za barkoding potfamilije Aphidiinae (Delocres *et al.* 2012). Sa filogenetskog stabla se uočava da su neke jedinke *A. colemani* udaljenije jedne od druge nego od jedinki *A. transcaspicus*. Takođe, autori navode veoma veliku intraspecijsku varijabilnost vrste *A. colemani* koja čak i prevazilazi najmanju interspecijsku varijabilnost unutar potfamilije Aphidiinae (Delocres *et al.* 2012).



## Filogenija potfamilije Aphidiinae

Mada se u novijoj literaturi Aphidiinae najčešće tretiraju kao potfamilija u okviru brakonida, ipak postoje neslaganja oko taksonomskog statusa ove grupe. Starý (1966a) izdvaja ovu grupu u zasebnu familiju u okviru superfamilije Ichneumonoidea zbog specifičnosti parazitizma; Aphidiinae su specijalizovani parazitoidi lisnih vašiju Aphidoidea. Međutim, većina brakonologa tretira ovu grupu kao potfamiliju u okviru familije Braconidae (van Achterberg, 1990; Shaw & Huddleston, 1991 i dr.). Na to ukazuju i najnovija istraživanja strukturnih razlika organskih molekula (Shi *et al.*, 2005). Takođe, Edson i Vinson (1979) posmatraju afidiinae kao potporodicu familije Braconidae smatrajući da su tokom evolucije mogle nastati iz dve nezavisne linije, ističući čak njihovo polifiletsko poreklo. Simpleziomorfne osobine se svode na zajedničke karakteristike sa ostalim brakonidama nasleđene od zajedničkih predaka, iako se jasna sinapomorfija može konstatovati na osnovu nervature prednjih i zadnjih krila i građe nepokretno sraslih drugog i trećeg abdominalnog tergita. Morfološki ne postoje bitne razlike između imaga aphidiina i ostalih članova familije Braconidae, ali kod prvog larvenog stupnja postoji značajna razlika u strukturi respiratornih otvora (Short, 1952). U prilog separacionističkih teorija ide i činjenica da su Aphidiinae ekološki jasno definisana grupa brakonidnih parazitoida isključivo biljnih vašiju, (Tobias, 1967, Starý, 1988b, O'Donnell, 1989).

Kao što je već rečeno, u okviru familije Braconidae zabeleženo je da jedino Euphorinae (*Dinocampus coccinellae*) parazitiraju imago stadijum svojih domaćina što ih po mnogima stavlja na sam vrh filogenetskog stabla brakonida. Ako uzmemo u obzir da imaginalni parazitizam odlikuje i Aphidiinae, može se izvesti zaključak da Aphidiinae predstavljaju najprogressivniju granu kompleksa Euphorinae.

Sa čisto taksonomskog gledišta, Mackauer (1961) familiju Aphidiidae deli na 4 potfamilije:

**Ephedrinae:**

rodovi: *Ephedrus* Haliday, *Toxares* Haliday

**Praina:**

rodovi: *Praon* Haliday, *Dyscritulus* Hincks, *Areopraon* Mackauer

**Aclitinae:**

rod: *Aclitus* Förster

**Aphidiinae:**

tribus: Aphidiini:

rodovi: *Aphidius* Nees, *Lysiphlebus* Förster, *Platycyphus* Mackauer, *Paralipsis* (Nees), *Euaphidius* Mackauer, *Diaeretiela* Starý, *Diaeretellus* Starý, *Lysaphidus* Smith

tribus: Trioxini:

rodovi: *Lipolexis* Förster, *Tryoxis* Haliday, *Binodoxys* Mackauer, *Acanthocaudus* Smith

Glavne razlike između ovih rodova ogledaju se u nervaturi prednjih krila. Ephedrini i Praini imaju brahijalnu ćeliju a tribusi Aclitini i Aphidiini je nemaju. Pored toga Aclitini i Aphidiini imaju jasno diferenciranu diskokubitalnu ćeliju što je sinapomorfna karakteristika koja ukazuje na zajedničko poreklo ova dva tribusa (Mackauer 1961). Tribus Ephedrini je zbog potpuno zatvorene radijalne ćelije najbliži brakonidnim precima Aphidiinae.

Dosadašnja molekularna istraživanja afidiina su relativno malobrojna. Jedno od prvih genetičkih istraživanja koje je za objekat imalo afidiine uradila je Pungertl (1986) ispitujući odnose vrsta unutar roda *Aphidius* na osnovu 14 enzima od čega su se samo esteraza i malat dehidrogenaza pokazali kao dovoljno dobri za odvajanje vrsta. Kasnije je usledilo još par istraživanja na enzimima (Unruh *et al.* 1989; Höller 1991; Atanassova *et al.* 1998) i znatno brojnija istraživanja njihove filogenije zasnovane na DNK.

Afidiine su korišćene u studijama koje pokušavaju da rasvetle filogenetske veze potfamilija unutar familije Braconidae (Dowton *et al.* 1998; Dowton 1999; Shi *et al.*

2005) kao i u filogenetskim rekonstrukcijama superfamilije Ichneumonoidea (Belshaw *et al.* 1998; Quicke *et al.* 1999) i u svim studijama je ukazano na monofiletsko poreklo potfamilije.

Prva istraživanja molekularne filogenije afidiina vrsili su Belshaw & Quicke (1997) analizirajući sekvence tri gena (elongacioni faktor-1 $\alpha$  rDNK, citohrom-b mtDNK i 28S rDNK). Analizom kombinovanih podataka za sva tri gena došli su do zaključka da su odnosi tribusa unutar potfamilije sledeći: (Ephedrini+(Praini+(Aphidiini+Trioxini))). Takođe su analizirali i odnose potfamilije Aphidiinae sa ostalim brakonidnim potfamilijama i došli do rezultata koji ukazuju da su afidiine jasno razdvojene od ciklostomnih potfamilija dok njihove odnose sa neciklostomnim brakonidama nisu uspeali da razjasne, mada je kasnije ipak pokazano da su afidine unutar neciklostomnih brakonida (Shi *et al.* 2005).

Godinu dana kasnije Smith *et al.* (1999) su uradili studiju molekularne filogenije afidiina koristeći gen za mitohondrijalnu NADH1 dehidrogenazu pri čemu su analizirali mnogo veći broj vrsta. Analizirajući ovaj gen oni prepoznaju tri odvojena tribusa (Praini, Ephedrini i Aphidiini) pri čemu je tribus Praini bazalni. Tri tribusa takođe prepoznaju i Sanchis *et al.* (2000) analizirajući filogeniju na osnovu gena za 18S rRNK. Međutim, u njihovoj studiji se tribus Ephedrini izdvaja kao bazalna grana, a odnosi u tribusu Aphidiini ostaju po malo nerazjašnjeni, te predlažu i novu filogeniju sa pet tribusa (Ephedrini, Praini, Monoctonini, Trioxini i Aphidiini).

Najobuhvatniju studiju filogenije ove potfamilije uradili su Kambhampati *et al.* (2000) koristeći gen za 16S rRNK. U svoju studiju uključili su 49 taksona iz 24 roda. Rezultati ove studije kao i filogenije dobijene kombinovanom analizom gena za 16S rRNK, NADH1 dehidrogenazu i 28S rRNK ukazuju na mogućnost da je rod *Aclitus* bazalna grana afidiina, ali pošto ta grana nema veliku kvantitativnu podršku autori kao bazalnu kladu navode i tribus Praini. Ovom studijom dokazano je i monofiletsko poreklo svih analiziranih rodova izuzev *Aphidius* i *Pauesia*, a i status roda *Lysaphidius* se dovodi u pitanje jer se isti grupiše unutar roda *Aphidius*. Gen za 16S rRNK u kombinaciji sa D2 regionom 28S rDNK korišćen je i u studiji porekla afidiina (Belshaw *et al.* 2000) pri čemu su za filogeniju dobijeni slični rezultati kao kod Kambhampati *et al.* (2000), i delimično potvrđeno poreklo afidiina sa južne hemisfere.

Poslednji pokušaj rasvetljavanja filogenije ove grupe izveli su Shi & Chen (2005) koji su analizirali sekvence tri gena (16S rRNK, 18S rRNK i ATPase 6). Njihovi rezultati se umnogome podudaraju sa rezultatima Sanchis *et al.* (2000).

Molekularne analize nižih taksonomskih kategorija u okviru potfamilije Aphidiinae su još ređe. Izuzimajući studiju o vrstama roda *Pauesia* (Sanchis *et al.* 2001) svi ostali se bave populacionom genetikom pojedinih ekonomski značajnih vrsta npr. *Aphidius ervi* (Hufbauer *et al.* 2001; 2004; Daza-Bustamante *et al.* 2002), i *Diaeretiella rapae* (Vaughn & Antolin 1998; Baker *et al.* 2003; Baer *et al.* 2004).

Rasvetljavanje odnosa bliski srodnih vrsta roda *Aphidius* radio je Petrović (2011) prilikom rasvetljavanja statusa članova *Aphidius urticae* kompleksa upotrebom gena za 16S rRNK i ITS2 spejsera.

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Predmet ove doktorske disertacije je morfološka i genetička karakterizacija *Aphidius colemani* kompleksa vrsta.

Naučni ciljevi istraživanja su:

- Utvrđivanje broja taksona koji čine *Aphidius colemani* kompleks.
- Utvrđivanje seta morfoloških karaktera koji su karakteristični za vrstu *Aphidius colemani*.
- Utvrđivanje genetičke varijabilnosti vrsta *Aphidius colemani* kompleksa bazirane na sekvenci barkoding regiona gena za citohrom oksidazu 1 (COI).

### 3. MATERIJAL I METODE

Istraživanjima su analizirane jedinke kompleksa vrsta *Aphidius colemani* sakupljene sa prostora 23 države sa četiri kontinenta (Evropa, Azija, Afrika i Južna Amerika). Parazitoidi su sakupljeni gajenjem 25 vrsta biljnih vaši do izleganja parazitoida.

#### 3.1. Morfometrijske analize

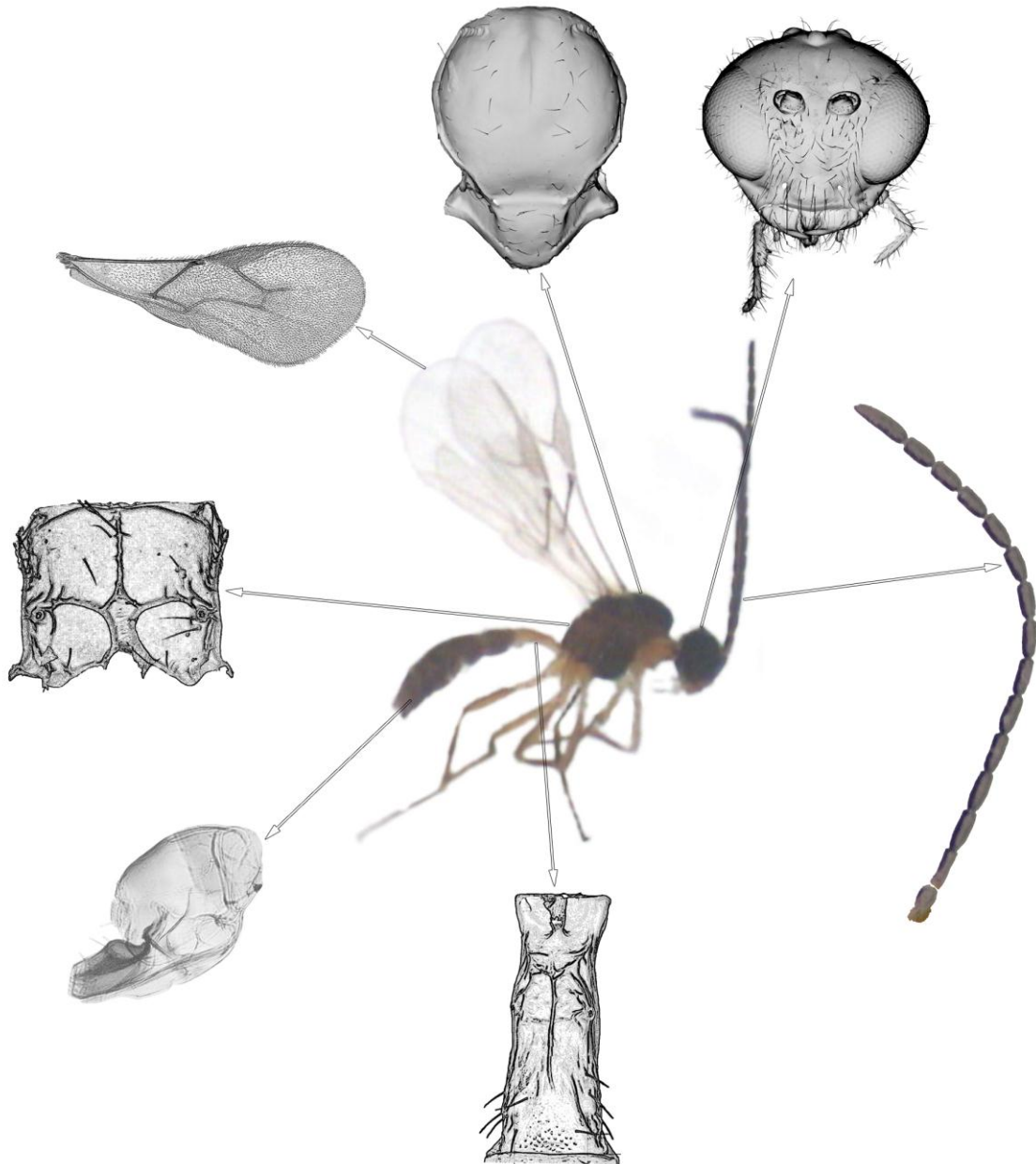
Ukupno je pregledano 400 ženki *Aphidius colemani* kompleksa dok je morfometrijskim analizama obuhvaćeno 250 ženki. Materijal je sakupljan u periodu 1970-2012. godina sa celokupnog areala vrsta ovog kompleksa. Jedinke parazitoida su dobijene gajenjem koje pripadaju vašima iz rodova: *Aphis*, *Brachycaudus*, *Diuraphis*, *Hyalopterus*, *Myzus*, *Rhopalosiphum*. Jedinke su čuvane kao suvo preparovan materijal ili u 70-96% alkoholu.

Kako bi uopšte bilo moguće izmeriti i prebrojati karaktere napravljeni su trajni mikroskopski preparati u Kanada balzamu i privremeni u Švanovom rastvoru. Bez obzira na korišćeni medijum procedura je bila slična:

- jedinkama su pincetom i čiodom odstranjena krila koja su potpopljena u 70% etil-alkohol
- ostatak tela je potopljen u 10% KOH na 30 minuta, nakon čega je kujan u 10% KOH 6 minuta na temperaturi od 90-100°C
- pod binokularnom lupom je izvršena mikrodisekcija tako što su odvojeni sledeći delovi tela: antene, glava sa prvim parom nogu, mezoskutum, propodeum, petiolus i genitalije (Slika 10)
- delovi tela su zatim sprovedeni kroz seriju razblaženja etil-alkohola rastuće koncentracije počevši sa 3 minuta u 70% etil-alkoholu
- 10 minuta u 80% etil-alkoholu
- 10 minuta u 96% etil-alkoholu
- 10 minuta u 99% etil-alkoholu
- dehidrirani delovi tela su montirani na predmetna stakla u kapi medijuma (Kanada balzam ili Švanov rastvor)

-nakon 24-48h (2h u slučaju Švanovog rastvora) dodavano je još medijuma i pokrovno staklo

-tako pripremljeni preparati su sušeni 30 dana na temperaturi od 36°C.



Slika 10. Shematski prikaz delova tela koji se odvajaju prilikom disekcije

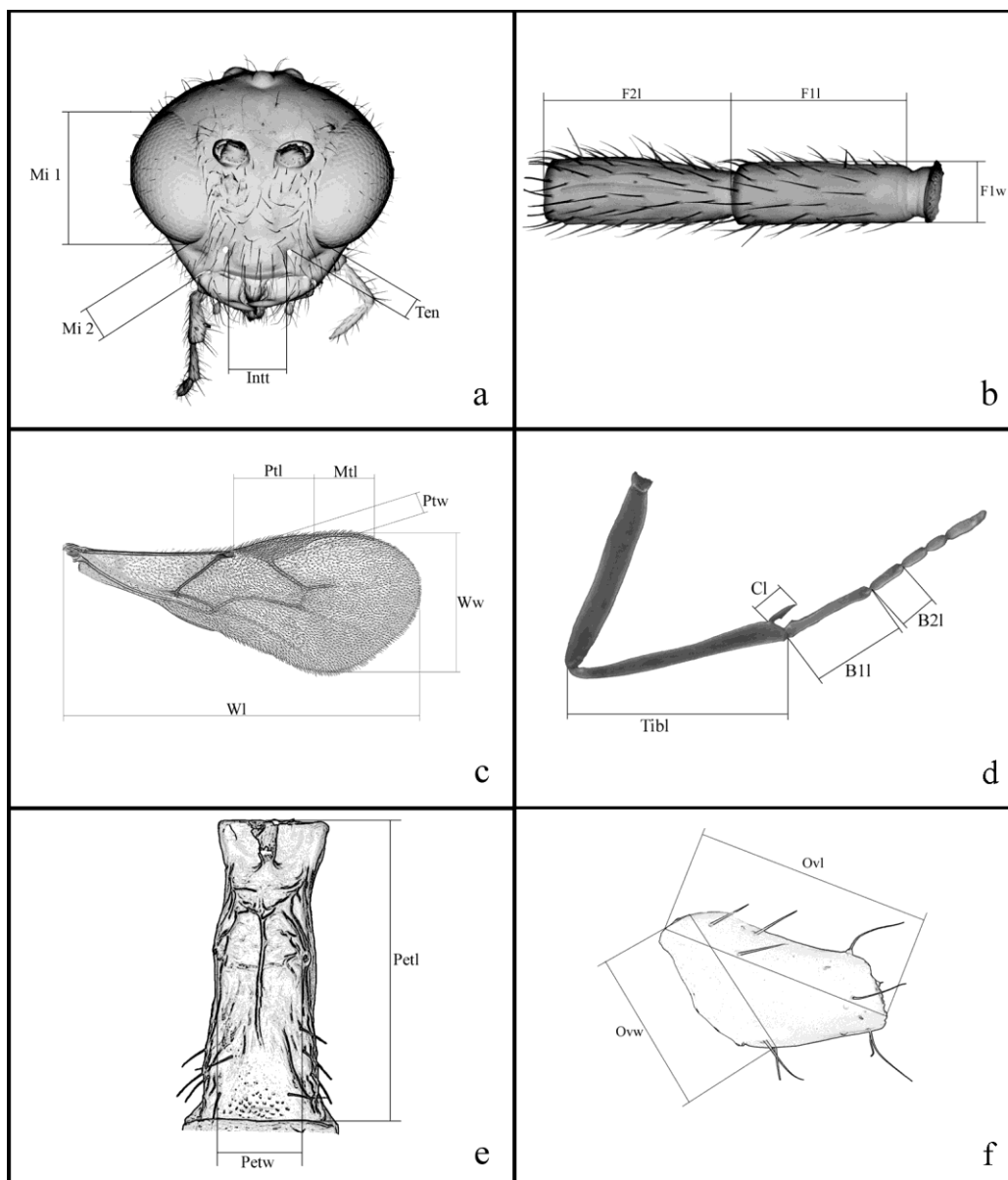
U svim analizama je korišćeno 26 karaktera od kojih su 5 meristički, a 21 kontinuiran (Slika 11). Većina karaktera je do sada korišćena u ključevima za

identifikaciju ili u morfometrijskim analizama (Pungerl 1986; Kambhampati & Mackauer 1988; Tomanović *et al.* 2003; Žikić *et al.* 2009, Petrović *et al.* 2011). Spisak karaktera sa oznakama dat je u Tabeli 2.

Tabela 2. Spisak karaktera koji su analizirani „tradicionalnom” morfometrijom; ženke.

<b>oznaka karaktera</b>	<b>opis karaktera</b>	<b>tip karaktera</b>
<b>NoA</b>	broj antenalnih segmenata	Meristički
<b>F1l</b>	dužina prvog flagelarnog segmenta	Kontinuirani
<b>F1w</b>	širina prvog flagelarnog segmenta	Kontinuirani
<b>F2l</b>	dužina drugog flagelarnog segmenta	Kontinuirani
<b>F2w</b>	širina drugog flagelarnog segmenta	Kontinuirani
<b>F1MPS</b>	broj mirisnih brazdi na 1. flagelarnom segmentu	Meristički
<b>F2MPS</b>	broj mirisnih brazdi na 2. flagelarnom segmentu	Meristički
<b>NoMx</b>	broj segmenata maksilarnih palpusa	Meristički
<b>NoLp</b>	broj segmenata labijalnih palpusa	Meristički
<b>Intt</b>	intertentorijalno rastojanje	Kontinuirani
<b>Ten</b>	tentoriokularno rastojanje	Kontinuirani
<b>Mi1</b>	uzdužni dijametar oka	Kontinuirani
<b>Mi2</b>	malarni prostor	Kontinuirani
<b>Ptl</b>	dužina pterostigme	Kontinuirani
<b>Ptw</b>	širina pterostigme	Kontinuirani
<b>Mtl</b>	dužina metakarpusa	Kontinuirani
<b>Wl</b>	dužina krila	Kontinuirani
<b>Ww</b>	maksimalna širina krila	Kontinuirani
<b>Petl</b>	dužina petiolusa	Kontinuirani
<b>Petw</b>	širina petiolusa	Kontinuirani
<b>Tibl</b>	dužina tibije	Kontinuirani
<b>Ovl</b>	dužina treće valuvule ovoja legalice	Kontinuirani
<b>Ovw</b>	širina treće valuvule ovoja legalice	Kontinuirani
<b>B1l</b>	dužina prvog članka tarzusa	Kontinuirani
<b>B2l</b>	dužina drugog članka tarzusa	Kontinuirani
<b>Cl</b>	dužina tibijalnog trna	Kontinuirani





Slika 11. *Aphidius* – kontinuirani morfološki karakteri za morfometrijske analize. a) glava (Mi1 – uzdužni dijametar oka, Mi2 – malarno rastojanje, Int – intertentorijalno rastojanje, Ten – tentoriokularni rastojanje); b) 1. i 2. flagelarni segmenti (F1l – dužina 1. flagelarnog segmenta, F1w – širina 1. flagelarnog segmenta, F2l – dužina 2. flagelarnog segmenta ); c) prednje krilo (Wl – dužina krila, Ww – širina krila, Ptl – dužina pterostigme, Ptw – širina pterostigme, Mtl – dužina metakarpusa); d) prednja noga (Tibl – dužina tibije, B1l – dužina prvog članka tarzusa, B2l – dužina dugog članka tarzusa, Cl – dužina tibijalnog trna) e) petiolus, dorzalni aspekt (Petl – dužina petiolusa, Petw – širina petiolusa); f) ovoj legalice (Ovl – dužina treće valvule ovoja legalice, Ovw – širina treće valvule ovoja legalice) (modifikovano po Petrović 2011).

Pošto veličina tela parazitoida u najvećoj meri zavisi od veličine tela afidnog domaćina (Cohen *et al.* 2005), u analizama su radi eliminisanja efekta veličine, korišćene relativne

dužine tj. odnosi dužina karaktera: F1l/F1w, F1l/F2l, F2l/F2w, Intt/Ten, Mi1/Mi2, Ptl/Ptw, Ptl/Mtl, Wl/Ww, Petl/Petw, Ovl/Ovw, Tibl/B1l, Tibl/B2l, B1l/B2l, Cl/B1l.

Jedinke su *a priori* grupisane u četiri grupe prema njihovoj morfologiji. Grupe su:

- *Aphidius colemani*
- *Aphidius cf. colemani* 1
- *Aphidius cf. colemani* 2
- *Aphidius transcaspicus*

Jedinke koje pripadaju *Aphidius colemani* grupi u potpunosti odgovaraju opisu ove vrste (Viereck 1913, Mescheloff & Rosen 1990). Takođe jedinke grupisane u *Aphidius transcaspicus* grupu u potpunosti odgovaraju opisu vrste (Telenga 1958, Kavallieratos & Lykouressis 1999). Jedinke koje se svrstane u grupe *Aphidius cf. colemani* 1 i *Aphidius cf. colemani* 2, nije bilo moguće identifikovati sa sigurnošću ni kao *A. colemani* ni kao *A. transcaspicus* jer se u nekim karakteristikama razlikuju od navedenih vrsta kao i među sobom. Tako je *Aphidius cf. colemani* 1 po broju labijalnih palpusa isti kao *A. colemani* dok je po obliku pterostigme i dužini metakarpusa veoma sličan *A. transcaspicus*. U slučaju *Aphidius cf. colemani* 2 situacija je obrnuta, i dodatno su to jedinke koje žive isključivo u Etiopiji.

Statističke analize obuhvatale su deskriptivnu statistiku kao i analizu varijabilnosti karaktera pomoću više bivarijantnih i multivarijantnih metoda. Analize su izvršene pomoću programskog paketa STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc. 2001).

### 3.2. Molekularne analize

Analiza varijabilnosti *Aphidius colemani* grupe na molekularnom nivou izvršena je analizom sekvenci barkoding regiona gena za citohrom oksidazu I (COI). Ovim analizama obuhvaćene su 54 jedinke iz 8 država sa četiri kontinenta. Analizirane jedinke su dobijene gajenjem 11 vrsta biljnih vaši iz rodova *Aphis*, *Brachycaudus*, *Capitophorus*, *Hyalopterus*, *Melanaphis*, *Myzus* i *Rhopalosiphum* (Tabela 3).

Tabela 3. Pregled jedinki *Aphidius colemani* grupe korišćenih u molekularnim analizama.

ID	area	plant	aphid	parasitoid
Acol1	Chile	lab culture	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol2	Chile	lab culture	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol3	Chile	lab culture	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol4	Chile	lab culture	<i>Rhopalosiphum padii</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol5	Chile	lab culture	<i>Rhopalosiphum padii</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol6	Chile	lab culture	<i>Rhopalosiphum padii</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol7	Turkey	<i>Vitis vinifera</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol9	Turkey	<i>Vitis vinifera</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol10	Turkey	<i>Vitis vinifera</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol15	Algeria	<i>Myoporum laetum</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol16	Algeria	<i>Myoporum laetum</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol17	Algeria	<i>Myoporum laetum</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol22	Iran		<i>Capitophorus elegans</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol23	Iran		<i>Capitophorus elegans</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol24	Iran	<i>Altaae</i> sp.	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol25	Iran	<i>Altaae</i> sp.	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol26	Iran	<i>Malva neglecta</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol29	Iran	<i>Calendula</i> sp.	<i>Brachycaudus helichrysi</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol30	Iran	<i>Tragopogon</i> sp.		<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol31	Iran	<i>Tragopogon</i> sp.		<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol33	Iran	<i>Chaenopodium album</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol34	Iran	<i>Triticum aestivum</i>	<i>Rhopalosiphum padii</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol35	Iran	<i>Triticum aestivum</i>	<i>Rhopalosiphum padii</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol36	Iran	<i>Nerium oleander</i>	<i>Aphis nerii</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol37	Iran	<i>Nerium oleander</i>	<i>Aphis nerii</i>	<i>Aphidius</i> cf. <i>colemani</i> 1
Acol38	Iran	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol39	Iran	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol40	Iran	<i>Brassicca rapae</i>	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol41	Iran	<i>Brassicca rapae</i>	<i>Myzus persicae</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol48	France	org 98/55	<i>Hyalopterus prunii</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol49	France	org 98/55	<i>Hyalopterus prunii</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol50	Greece	<i>Arundo donax</i>	<i>Melanaphis</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol51	Greece	<i>Arundo donax</i>	<i>Melanaphis</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>

Tabela 3. Pregled jedinki *Aphidius colemani* grupe korišćenih u molekularnim analizama, nastavak.

ID	area	plant	aphid	parasitoid
Acol52	Greece	<i>Prunus persica</i>	<i>Hyalopterus</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol53	Greece	<i>Prunus persica</i>	<i>Hyalopterus</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol54	Greece	<i>Prunus divaricata</i>	<i>Hyalopterus</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol56	Greece	<i>Prunus divaricata</i>	<i>Hyalopterus</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol57	Greece	<i>Prunus persica</i>	<i>Hyalopterus</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol58	Greece	<i>Prunus persica</i>	<i>Hyalopterus</i> sp.	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol59	Greece	<i>Galium aparinae</i>	<i>Aphis fabae</i> sp.	<i>Aphidius colemani</i>
Acol61	Greece	<i>Nerium oleander</i>	<i>Aphis nerii</i> sp.	<i>Aphidius colemani</i>
Acol62	Greece	<i>Nerium oleander</i>	<i>Aphis nerii</i> sp.	<i>Aphidius colemani</i>
Acol63	Greece	<i>Citrus deliciosa</i>		<i>Aphidius colemani</i>
Acol64	Greece	<i>Citrus deliciosa</i>		<i>Aphidius colemani</i>
Acol65	Greece	<i>Nerium oleander</i>	<i>Aphis nerii</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol66	Greece	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>A. craccivora</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol67	Greece	<i>Robinia pseudoacacia</i>	<i>A. craccivora</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol68	Greece	<i>Phragmites australis</i>	<i>Hyalopterus pruni</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol69	Greece	<i>Phragmites australis</i>	<i>Hyalopterus pruni</i>	<i>Aphidius transcaspicus</i>
Acol70	Montenegro	<i>Punica granatum</i>	<i>Aphis punicae</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol71	Montenegro	<i>Punica granatum</i>	<i>Aphis punicae</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol72	Montenegro	<i>Hibiscus syriacus</i>	<i>Myzus persicae</i> + <i>Aphis fabae</i>	<i>Aphidius colemani</i>
Acol74	Lybia	<i>Citrus lemon</i>		<i>Aphidius colemani</i>
Acol75	Lybia	<i>Citrus lemon</i>		<i>Aphidius colemani</i>
Acol27	Iran	<i>Malva neglecta</i>	<i>Aphis gossypii</i>	<i>Lysiphlebus fabarum</i>
Acol45	Chile			<i>Aphidius eadyi</i>
Acol73	Montenegro	<i>Hibiscus syriacus</i>	<i>Myzus persicae</i> + <i>Aphis fabae</i>	<i>Aphidius rhoplaosiphi</i>

### 3.2.1. Ekstrakcija DNK

Ekstrakcija ukupne DNK svakog individualnog insekta izvršena je pomoću KAPA Express Extract Kit-a po sledećem neinvazivnom protokolu:

- U tubici od 0,2 ml je pomešano 2 µl KAPA Express Extract enzima, 10 µl 10x KAPA Express Extract pufera, i 38 µl H<sub>2</sub>O (molecular biology grade) i izvorteksovano.
- Vrhom entomološke čiode (koja je prethodno sterilisana) je napravljeno napraviti nekoliko perforacija na toraksu i abdomenu. Ovaj korak je vršen na predmetnom staklu pod binokularnom lupom.
- Tako pripremljena osa je ubačena u tubicu sa miksom za ekstrakciju i sve je izmešano na vorteksu.
- Tubice su stavljene u Termocycler (Eppendorf Mastercycler<sup>®</sup>) i uključen je sledeći protokol:
  - 75°C → 10 min
  - 95°C → 5 min
- Kada je protokol ekstrakcije završen tubice su dobro izvorteksovane i iscentrifugirane 1 min na maksimalnom broju obrtaja.
- Pomoću filter-tipsa supernatant (u kome je rastvorena DNK) je prebačen u tubice od 1,5 ml i takva DNK je ili direktno korišćena u PCR reakcijama ili čuvana u zamrzivaču na -20°C.

Da bi se eliminisala mogućnost kontaminacije, prilikom svake ekstrakcije na svakih 10 uzoraka korišćena je negativna kontrola. Negativnu kontrolu je predstavljala dodatna tubica sa svim reagensima potrebnim za ekstrakciju u koju je umesto uzorka uronjena igla za maceraciju jedinki prethodno sterilisana po proceduri primenjenoj za standardnu sterilizaciju između uzoraka. Uspešnosti ekstrakcije DNK kod uzoraka, kao i odsustvo kontaminacije u negativnim kontrolama proveravano je pomoću horizontalne elektroforeze. Količina od 5 µl svakog uzorka je puštena kroz 1% agarozni gel obojen etidijum-bromidom, a zatim vizualizirana pod UV transiluminatorom. Nadalje sa negativnim kontrolama je postupano isto kao i sa uzorcima, da bi se eliminisala eventualna nova kontaminacija.

### 3.2.2. Umnožavanje (amplifikacija), prečišćavanje i sekvenciranje DNK

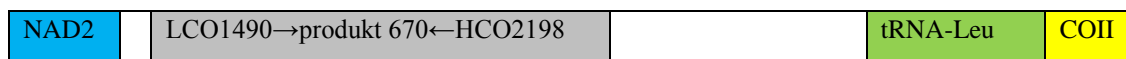
Deo gena za subjedinicu I citohrom oksidaze je izabran kao ciljni region za analizu varijabilnosti i filogenetskih odnosa *Aphidius colemani* grupe. Taj region je umnožen pomoću prajmera:

LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3')

HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGCTGACCAAAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994).

Kod vrsta potfamilije Aphidiinae ovim prajmerima se umnožava produkt veličine oko 670bp (Slika 12).

#### COI mtDNK



Slika 12. Deo gena za COI koji se umnožava pomoću prajmera LCO1490 i HCO2198.

PCR amplifikacija DNK je urađena u zapremini od 25 µl, koja sadrži 1 µl ekstrahovane DNK, 12,5 µl 1 × KAPA2G Robust HotStart ReadyMix (sadrži 2 mM MgCl<sub>2</sub> u koncentraciji 1X) 1,25 µl (0,5 µM) svakog prajmera i 9 µl vode.

Amplifikacija je vršena u Eppendorf Mastercycler<sup>®</sup>-u po sledećem protokolu:

- I 5' 95°C – inicijalna denaturacija
  - II 1. 1' 94°C
  - 2. 1' 54°C
  - 3. 1'30" 72°C
- } 35 ciklusa
- III 7' 72°C – finalna ekstenzija

Da bi se proverila uspešnost amplifikacije, kao i da li je došlo do kontaminacije, 5 $\mu$ l PCR produkta svakog uzorka je pušteno na 1% agaroznom gelu obojenim Midori-greenom (Nippon Genetics) i vizualiziranim pod UV transiluminatorom.

Prečišćavanje amplifikovanih uzoraka izvršeno je pomoću QIAGEN QIAquick<sup>®</sup> PCR Purification Kit-a prateći upustvo proizvođača. Provera čistoće prečišćenih uzoraka takođe je izvršena pomoću horizontalne elektroforeze ( na 1% agaroznom gelu). Njihova molekularna težina i količina DNK, određena je vizuelnim poređenjem sa markerom SERVA DNA 100 Bp DNA Ladder. Reakcije sekvenciranja su urađene u Macrogen Inc. (Seoul, Korea). Amplifikovani barkoding region COI gena svakog uzorka je sekvenciran upotrebom LCO1490 *forward* prajmera.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Varijabilnost morfoloških karaktera

Deskriptivnom statistikom obuhvaćena je 250 ženka *Aphidius colemani* kompleksa. Jedinke su grupisane prema morfologiji i svrstane u četiri grupe:

- *Aphidius colemani*
- *Aphidius cf. colemani* 1
- *Aphidius cf. colemani* 2
- *Aphidius transcaspicus*

Izračunate su srednja vrednost, standardna devijacija, varijansa, standardna greška, minimum i maksimum za ceo uzorak i za svaku grupu ponaosob. Meristički karakteri su analizirani kao celi brojevi (tj. izbrojane vrednosti) dok su kontinuirani karakteri analizirani kao odnosi vrednosti dva karaktera. U Tabeli 4. prikazane su vrednosti za ceo uzorak.

Tabela 4. Deskriptivna statistika za 19 analiziranih odnosa karaktera (skraćenice videti u Tabeli 2).

	Broj jedinki	Srednja vrednost	Minimum	Maksimum	Varijansa	St.dev.	St. greška
<b>NoA</b>	250	15,072	14,000	18,000	0,494	0,494	0,031
<b>F1l/w</b>	250	3,193	2,000	4,333	0,353	0,353	0,022
<b>F2l/w</b>	250	2,758	2,000	3,667	0,377	0,377	0,024
<b>F1l/F2l</b>	250	1,048	0,818	1,429	0,080	0,080	0,005
<b>F1MPS</b>	249	0,281	0,000	2,000	0,540	0,540	0,034
<b>F2MPS</b>	248	1,766	0,000	4,000	0,650	0,650	0,041
<b>NoMx</b>	250	3,996	3,000	4,000	0,063	0,063	0,004
<b>NoLp</b>	249	2,133	2,000	3,000	0,340	0,340	0,022
<b>ten/int</b>	250	0,623	0,300	1,200	0,158	0,158	0,010
<b>Mi1/Mi2</b>	250	0,775	0,190	4,200	0,653	0,653	0,041
<b>Ptl/w</b>	250	4,166	2,556	5,875	0,555	0,555	0,035
<b>Ptl/Mtl</b>	250	1,794	1,061	3,077	0,327	0,327	0,021
<b>Wl/w</b>	250	1,910	1,350	2,600	0,138	0,138	0,009
<b>Petl/w</b>	250	2,804	1,529	5,500	0,458	0,458	0,029
<b>Tibl/B1l</b>	250	3,256	1,933	5,000	0,620	0,620	0,039
<b>Tibl/B2l</b>	250	6,098	4,375	8,600	0,770	0,770	0,049
<b>Ovl/w</b>	248	2,416	1,571	3,750	0,426	0,426	0,027
<b>B1l/B2l</b>	250	1,917	1,250	2,800	0,262	0,262	0,017
<b>Cl/B1l</b>	250	0,411	0,158	0,800	0,079	0,079	0,005



Deskriptivna statistika je urađena za sve grupe odvojeno, kako bi se utvrdila unutargrupna varijabilnost analiziranih karaktera, kao i da bi se testiralo da li variranje pojedinih karaktera zavisi od morfološke grupe u kojoj se nalazi (Tabela 5-23).

Tabela 5. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter NoA.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	14,819	14,000	15,000	0,150	0,387	0,042
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	15,086	15,000	16,000	0,079	0,282	0,027
<i>A cf. colemani 2</i>	31	15,096	14,000	17,000	0,356	0,597	0,107
<i>A. transcaspicus</i>	32	15,656	15,000	18,000	0,426	0,653	0,115
Sve grupe	251	15,071	14,000	18,000	0,243	0,492	0,031

Broj antenalnih segmenata (NoA) pokazuje različitu varijabilnost u zavisnosti od grupe, mada su srednje vrednosti u svim grupama relativno slične (oko 15). Najveću varijabilnost u broju antenalnih segmenata pokazuju jedinke *A. transcaspicus* grupe među kojima postoje jedinke koje imaju 15 članaka kao i jedinke koje imaju čak 18 članaka u antenama. Najmanja varijabilnost po ovom karakteru je utvrđena kod *A. colemani* grupe što se vidi i iz vrednosti za varijansu (Tabela 5.)

Tabela 6. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter F11/w

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	3,018	2,000	3,667	0,127	0,356	0,039
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	3,301	2,250	4,000	0,105	0,323	0,031
<i>A cf. colemani 2</i>	31	3,185	2,500	3,667	0,106	0,325	0,058
<i>A. transcaspicus</i>	32	3,301	2,857	4,333	0,078	0,280	0,049
Sve grupe	251	3,185	1,363	4,333	0,137	0,370	0,023

Naredni karakter koji je analiziran je odnos dužine i širine prvog flagelarnog segmenta. Sve grupe imaju veoma varijabilnost u pogledu variranja ovog karaktera (vrednosti varijanse oko 0.1). Najduži prvi flagelarni segment imaju jedinke grupa *A. cf. colemani 1* i *A. transcaspicus*, dok najkraći (srednja vrednost 3,018) imaju jedinke *A. colemani* grupe (Tabela 6.).

Tabela 7. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter F2l/w

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	2,561	2,000	3,667	0,118	0,343	0,038
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	2,859	2,000	3,667	0,130	0,361	0,035
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	2,748	2,000	3,333	0,106	0,325	0,058
<i>A. transcaspicus</i>	32	2,951	2,200	3,667	0,118	0,344	0,061
Sve grupe	251	2,748	0,300	3,666	0,166	0,407	0,026

Odnos dužine i širine drugog flagelarnog segmenta (F2l/w) takođe malo varira u okviru grupa (Tabela 7), a razlike u srednjim vrednostima između različitih grupa je takođe veoma mala (od 2.561 kod *A. colemani* do 2.951 kod *A. transcaspicus*).

Tabela 8. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter F1l/F2l

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	1,091	0,889	1,429	0,008	0,087	0,010
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	1,024	0,889	1,250	0,003	0,058	0,006
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	1,048	0,909	1,333	0,009	0,094	0,017
<i>A. transcaspicus</i>	32	1,014	0,818	1,111	0,003	0,058	0,010
Sve grupe	251	1,063	0,818	5,000	0,069	0,261	0,017

Sve jedinke svih grupa imaju prvi i drugi flagelarni članak skoro iste dužine (Tabela 8). U okviru svih grupa kao i u okviru celog uzorka varijabilnost ovog karaktera je minimalna (manja nego kod bilo kog drugog karaktera).

Tabela 9. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter F1MPS.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	0,578	0,000	2,000	0,393	0,627	0,069
<i>A. cf. colemani 1</i>	103	0,165	0,000	2,000	0,198	0,445	0,044
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	0,097	0,000	2,000	0,157	0,396	0,071
<i>A. transcaspicus</i>	32	0,063	0,000	2,000	0,125	0,354	0,063
Sve grupe	249	0,281	0,000	2,000	0,540	249	0,281

Broj mirisnih brazdi (rinarija) na prvom flagelarnom segmentu (F1MPS) se kod svih grupa kretao u rasponu od 0 do 2. Najveću srednju vrednost za ovaj karakter ima grupa *A. colemani*, što znači da je u okviru ove grupe najveći broj jedinki koje imaju po 1 ili 2 mirisne brazde (Tabela 9).

Tabela 10. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter F2MPS.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	1,964	0,000	3,000	0,328	0,573	0,063
<i>A. cf. colemani 1</i>	102	1,725	0,000	3,000	0,379	0,616	0,061
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	1,323	0,000	2,000	0,559	0,748	0,134
<i>A. transcaspicus</i>	32	1,812	0,000	4,000	0,415	0,644	0,114
Sve grupe	248	1,766	0,000	4,000	0,650	0,650	0,041

Na drugom flagelarnom segmentu broj rinarija (F2MPS) je u proseku veći nego na prvom (Tabela 10). Najčešće stanje ovog karaktera u svim grupama je 1 ili 2. Najmanju srednju vrednost za ovaj karakter ima grupa *A. cf. colemani 2* (1.323). U okviru ove grupe ni jedna jedinka nema više od dve rinarije. Najveću srednju vrednost ima grupa *A. colemani* (1,964).

Tabela 11. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter NoMx.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	4,000	4,000	4,000	0,000	0,000	0,000
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	3,990	3,000	4,000	0,010	0,098	0,010
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	4,000	4,000	4,000	0,000	0,000	0,000
<i>A. transcaspicus</i>	32	4,000	4,000	4,000	0,000	0,000	0,000
Sve grupe	250	3,996	3,000	4,000	0,063	0,063	0,004

Meristički karakter, broj članaka maksilarnih palpusa (NoMx) skoro da ne pokazuje nikakvu varijabilnost. U okviru celog uzorka registrovana je samo jedna jedinka koja ima tri članka u maksilarnim palpusima, dok sve ostale imaju četiri (Tabela 11).

Tabela 12. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter NoLp.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	82	2,000	2,000	2,000	0,000	0,000	0,000
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	2,019	2,000	3,000	0,019	0,138	0,014
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	2,516	2,000	3,000	0,258	0,508	0,091
<i>A. transcaspicus</i>	32	2,469	2,000	3,000	0,257	0,507	0,090
Sve grupe	249	2,133	2,000	3,000	0,340	0,340	0,022

Sa druge strane broj članaka labijalnih palpusa (NoLp) varira između dva i tri u okviru uzorka. Jedino u okviru grupe *Aphidius colemani* sve jedinice imaju dva članka (Tabela 12).

Tabela 13. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter ten/int.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	0,775	0,500	1,200	0,014	0,117	0,013
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	0,555	0,300	1,000	0,016	0,125	0,012
<i>A cf. colemani 2</i>	31	0,564	0,400	0,857	0,011	0,104	0,019
<i>A. transcaspicus</i>	32	0,508	0,333	0,750	0,008	0,089	0,016
Sve grupe	250	0,623	0,300	1,200	0,158	0,158	0,010

Tentorijalni indeks (ten/int) je jedan od karaktera koji imaju najmanju varijansu u okviru svih grupa (Tabela 13). Najveću srednju vrednost ima grupa *A. colemani* (0,775), dok ostale grupe imaju značajno manje vrednosti (za sve tri grupe oko 0,5).

Tabela 14. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Mi1/Mi2.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	0,931	0,313	2,571	0,280	0,529	0,058
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	0,717	0,222	4,200	0,442	0,665	0,065
<i>A cf. colemani 2</i>	31	0,453	0,190	0,611	0,007	0,084	0,015
<i>A. transcaspicus</i>	32	0,872	0,208	3,800	1,012	1,006	0,178
Sve grupe	250	0,775	0,190	4,200	0,653	0,653	0,041

Vrednosti varijanse i standardne devijacije izdvajaju malarni indeks (Mi1/Mi2) kao najvarijabilni analizirani karakter (Tabela 14). Posmatrajući srednje vrednosti najveću vrednost malarnog indeksa imaju jedinke *A. colemani* grupe a najmanje *A. cf. colemani 2* grupe, međutim najveća varijabilnost je registrovana u okviru grupe *A. transcaspicus*, a najmanja u okviru *A. cf. colemani 2* grupe.

Tabela 15. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Ptl/w.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	3,845	2,556	5,333	0,218	0,467	0,051
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	4,258	3,231	5,875	0,225	0,475	0,047
<i>A cf. colemani 2</i>	31	4,721	3,636	5,875	0,315	0,561	0,101
<i>A. transcaspicus</i>	32	4,159	3,182	5,000	0,228	0,478	0,084
Sve grupe	250	4,166	2,556	5,875	0,555	0,555	0,035

Oblik pterostigme se najjednostavnije može definisati kao odnos njene dužine i širine (Ptl/Ptw). Pored veoma ujednačenih varijansi postoje relativno velike razlike među

grupama u pogledu srednjih vrednosti (Tabela 15). Najkraću i najširu pterostigmu imaju jedinke *A. colemani* grupe, dok najizduženiju pterostigmu imaju jedinke *A. cf. colemani* 2.

Tabela 16. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Ptl/Mtl.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	1,562	1,105	2,100	0,033	0,183	0,020
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	1,878	1,061	3,077	0,102	0,320	0,031
<i>A cf. colemani 2</i>	31	2,071	1,500	2,647	0,081	0,285	0,051
<i>A. transcaspicus</i>	32	1,857	1,333	2,684	0,104	0,322	0,057
Sve grupe	250	1,794	1,061	3,077	0,327	0,327	0,021

Odnos dužina pterostigme i metakarpusa je po srednjim vrednostima veoma sličan prethodnom analiziranom karakteru. Najmanje vrednosti za *A. colemani* a najveću za *A. cf. colemani* 2. Ove dve grupe ujedno imaju i najmanju vrednost varijanse (Tabela 16).

Tabela 17. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Wl/w.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	1,898	1,350	2,600	0,039	0,199	0,022
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	1,916	1,739	2,474	0,008	0,087	0,009
<i>A cf. colemani 2</i>	31	1,929	1,762	2,313	0,013	0,112	0,020
<i>A. transcaspicus</i>	32	1,907	1,750	2,235	0,010	0,099	0,017
Sve grupe	250	1,910	1,350	2,600	0,138	0,138	0,009

Relativni oblik krila (odnos njihove dužine i širine – Wl/w) se odlikuje malom varijabilnošću u okviru svih grupa (Tabela 17). Najmanju srednju vrednost ima grupa *A. colemani* a najveću *A. cf. colemani* 2.

Tabela 18. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Petl/w.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	2,741	1,529	4,400	0,192	0,439	0,048
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	2,828	1,636	4,143	0,146	0,382	0,037
<i>A cf. colemani 2</i>	31	3,059	2,214	5,500	0,405	0,636	0,114
<i>A. transcaspicus</i>	32	2,641	1,538	3,500	0,199	0,446	0,079
Sve grupe	250	2,804	1,529	5,500	0,458	0,458	0,029

Karakter odnos dužine i širine petiolusa (Petl/w) se odlikuje različitom varijabilnošću u različitim grupama. Relativno mala varijabilnost je zabeležena kod svih grupa osim kod *A. cf. colemani 2*. Grupa *A. cf. colemani 2* ima skoro 3 puta veću vrednost varijanse u odnosu na ostale grupe. Posmatranjem srednje vrednosti takođe se ističe *A. cf. colemani 2* dok ostale tri grupe imaju približne srednje vrednosti (Tabela 18).

Tabela 19. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Tibl/B11.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	3,054	1,933	4,800	0,378	0,615	0,068
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	3,431	2,000	5,000	0,360	0,600	0,059
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	2,953	2,200	4,200	0,292	0,540	0,097
<i>A. transcaspicus</i>	32	3,505	2,368	4,444	0,235	0,485	0,086
Sve grupe	250	3,256	1,933	5,000	0,620	0,620	0,039

Po srednjim vrednostima odnosa dužina tibije i prvog segmenta tarzusa (Tibl/B11) možemo razlikovati dve grupe. Prvu čine *A. colemani* i *A. cf. colemani 2* koje imaju kraće tibije, a drugu *A. cf. colemani 1* i *A. transcaspicus* sa dužim tibijama. Za razliku od srednjih vrednosti, varijanse i standardne devijacije su relativno ujednačene u svim grupama (Tabela 19).

Tabela 20. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Tibl/B21.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	5,779	4,375	8,600	0,666	0,816	0,090
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	6,305	4,429	8,333	0,464	0,681	0,067
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	5,796	4,667	7,000	0,360	0,600	0,108
<i>A. transcaspicus</i>	32	6,548	5,429	8,000	0,398	0,631	0,112
Sve grupe	250	6,098	4,375	8,600	0,770	0,770	0,049

Na osnovu odnosa dužina tibije i drugog segmenta tarzusa (Tibl/B21) takođe se mogu uočiti sličnosti između srednjih vrednosti za grupe *A. colemani* i *A. cf. colemani 2* sa jedne strane i *A. cf. colemani 1* i *A. transcaspicus* sa druge strane (Tabela 20).

Tabela 21. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter Ovl/w.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	2,562	1,714	3,750	0,175	0,419	0,046
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	2,410	1,667	3,500	0,133	0,365	0,036
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	2,195	1,571	3,000	0,152	0,390	0,070
<i>A. transcaspicus</i>	30	2,263	1,625	3,750	0,281	0,530	0,097
Sve grupe	248	2,416	1,571	3,750	0,426	0,426	0,027

Oblik legalice, tj. odnos njene dužine i širine (Ovl/w) je relativno uniforman kroz sve grupe. Najveću srednju vrednost ima *A. colemani*, a najmanju *A. cf. colemani 2*. Varijansa je takođe relativno ujednačena ali je najveća unutar *A. transcaspicus* grupe, a najmanja unutar *A. cf. colemani 1* (Tabela 21).

Tabela 22. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter B11/B21.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	1,937	1,250	2,714	0,067	0,259	0,028
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	1,878	1,429	2,800	0,072	0,269	0,026
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	1,998	1,500	2,500	0,064	0,253	0,045
<i>A. transcaspicus</i>	32	1,910	1,375	2,500	0,059	0,244	0,043
Sve grupe	250	1,917	1,250	2,800	0,262	0,262	0,017

Odnos dužina prvog i drugog članka tarzusa (B11/B21) je još jedan od karaktera koj i je veoma uniforman kroz sve grupe i sa veoma malom varijabilnošću (Tabela 22).

Tabela 23. Deskriptivna statistika svih grupa za karakter CI/B11.

grupa	Broj jedinki	Sr. vrednost	Min.	Maks.	Varijansa	St.dev	St. greška
<i>A. colemani</i>	83	0,428	0,158	0,800	0,011	0,105	0,012
<i>A. cf. colemani 1</i>	104	0,402	0,200	0,556	0,003	0,059	0,006
<i>A. cf. colemani 2</i>	31	0,417	0,294	0,538	0,004	0,065	0,012
<i>A. transcaspicus</i>	32	0,391	0,227	0,545	0,004	0,062	0,011
Sve grupe	250	0,411	0,158	0,800	0,079	0,079	0,005

Odnos dužina tibijalnog trna i prvog članka tarzusa (CI/B11), takođe ima veoma malu varijabilnost kako unutar svih grupa, tako i u okviru celog uzorka. Srednje vrednosti za sve grupe su relativno ujednačene sa tim što je najniža vrednost kod *A. transcaspicus* a najviša kod *A. colemani* (Tabela 23).

Da bi se utvrdilo da li postoje statistički značajne razlike za karaktere između različitih grupa izvršena je analiza varijanse (ANOVA).

Tabela 24. Analiza varijanse morfoloških karaktera svih grupa *Aphidius colemani* kompleksa. SS-suma kvadrata distanci, MS- suma srednjih vrednosti, obeleženi efekti su statistički značajni za  $p < 0,05$ .

<b>karakter</b>	<b>SS model</b>	<b>MS model</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
<b>NoA</b>	16,70	5,57	31,3	<b>0,00</b>
<b>F1l/w</b>	3,994	1,331	12,17	<b>0,000000</b>
<b>F2l/w</b>	5,072	1,691	13,86	<b>0,000000</b>
<b>F1l/F2l</b>	0,2500	0,0833	15,23	<b>0,000000</b>
<b>F1MPS</b>	10,18840	3,396133	13,88690	<b>0,000000</b>
<b>F2MPS</b>	9,3793	3,1264	8,158	<b>0,000034</b>
<b>NoMx</b>	0,006	0,002	0,5	0,707507
<b>NoLp</b>	10,6510	3,5503	49,83	<b>0,00</b>
<b>ten/int</b>	2,81506	0,93835	69,169	<b>0,00</b>
<b>Mi1/Mi2</b>	5,9185	1,9728	4,7669	<b>0,003015</b>
<b>Ptl/w</b>	19,287	6,429	27,24	<b>0,000000</b>
<b>Ptl/Mtl</b>	7,6277	2,5426	33,879	<b>0,00</b>
<b>Wl/w</b>	0,0323	0,0108	0,56	0,642810
<b>Petl/w</b>	3,014	1,005	4,969	<b>0,002303</b>
<b>Tibl/B1l</b>	12,175	4,058	11,860	<b>0,000000</b>
<b>Tibl/B2l</b>	23,764	7,921	15,74	<b>0,000000</b>
<b>Ovl/w</b>	4,062	1,354	8,065	<b>0,000038</b>
<b>B1l/B2l</b>	0,4144	0,1381	2,012	0,112924
<b>Cl/B1l</b>	0,05510	0,01837	2,973	<b>0,032423</b>

Analiza varijanse je pokazala izuzetno veliku statističku značajnost za skoro sve analizirane karaktere. Odsustvo statističke značajnosti utvrđeno je samo za broj članaka maksilarnih palpusa (NoMx), oblik krila (Wl/w) i odnos dužina prvog i drugog članka tarzusa (B1l/B2l).



Multivarijantna analiza varijanse (MANOVA) je takođe pokazala statistički značajne razlike među grupama (Tabela 25).

Tabela 25. Multivarijantna analiza varijanse morfoloških karaktera svih grupa.

Izvor varijabilnosti	Wilks' $\Lambda$	F	Effect df	Error df	P
Biotip	0,131996	11,35	57	665,7404	0,00

#### 4.2. Diskriminantna kanonijska analiza

Da bi se utvrdilo koji karakteri najviše utiču na diskriminaciju unapred formiranih grupa korišćena je diskriminantna kanonijska analiza. Ona je bazirana na utvrđivanju osa po kojima se grupe najviše razdvajaju tj. maksimalizuje se međugrupno u odnosu na unutargrupno variranje karaktera. Ovom analizom obuhvaćene iste grupe jedinki formirane i korišćene za deskriptivnu statistiku.

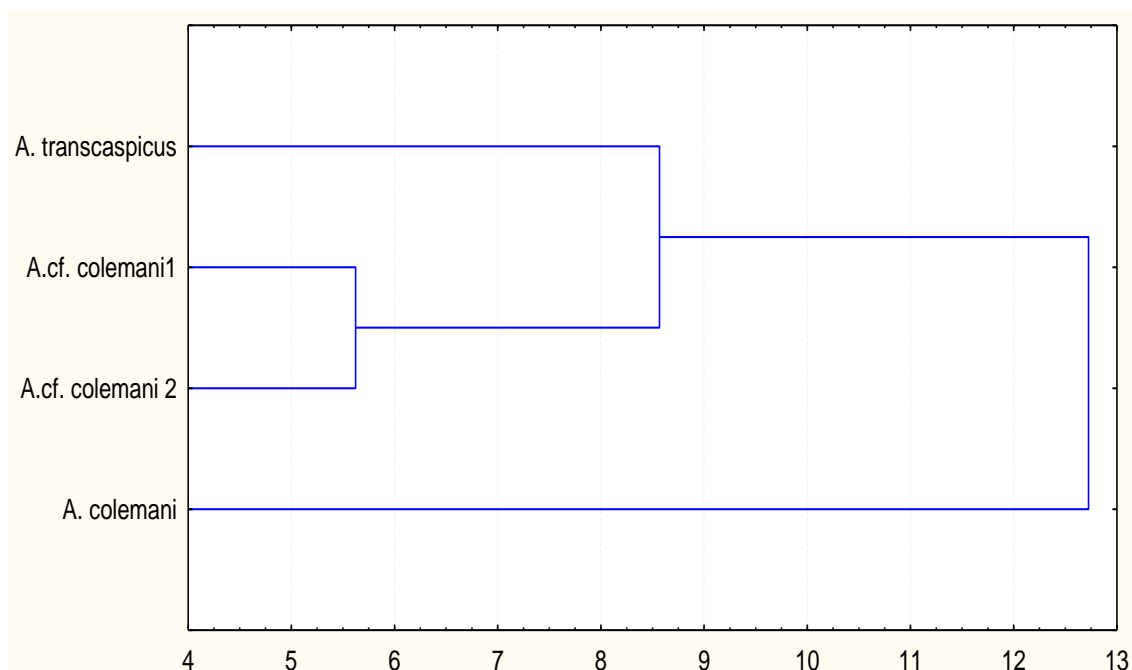
Diskriminantnom analizom bilo je obuhvaćeno svih 19 karaktera. Kao faktor grupisanja određena je pripadnost grupi.

Diskriminantnom analizom utvrđene su distance između grupa (koje su predstavljene kvadratnim Mahalanobis-ovim distancama) (Tabela 26) i procenat ispravnosti grupisanja jedinki u biotipove (Tabela 27). Izdvojene su 3 kanonijske ose, izračunate sopstvene (Eigen) vrednosti i procenat ukupne varijanse.

Primenom UPGMA metoda na dobijene Mahalanobis-ove distance konstruisan je dendrogram (Slika 13).

Tabela 26. Diskriminantna kanonijska analiza jedinki *Aphidius colemani* kompleksa.

grupa	<i>A. colemani</i>	<i>A. cf. colemani 1</i>	<i>A. cf. colemani 2</i>	<i>A.transcaspicus</i>
<b>Kvadratne Mahalanobis-ove distance</b>				
<i>A. colemani</i>	0			
<i>A. cf. colemani 1</i>	8,0590	0		
<i>A. cf. colemani 2</i>	11,7971	5,6234	0	
<i>A. transcaspicus</i>	18,31814	7,30583	9,82935	0
<b>F-vrednosti; df = 19,223</b>				
<i>A. colemani</i>	0			
<i>A. cf. colemani 1</i>	17,84079	0		
<i>A. cf. colemani 2</i>	12,92429	6,51093	0	
<i>A. transcaspicus</i>	19,59443	8,24805	7,29814	0
<b>p</b>				
<i>A. colemani</i>	0,000000			
<i>A. cf. colemani 1</i>	0,000000	0,000000		
<i>A. cf. colemani 2</i>	0,000000	0,000000	0,000000	
<i>A. transcaspicus</i>	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000



Slika 13. UPGMA dendrogram konstruisan iz matrice razlika Mahalanobis-ovih distanci

Sa dendrograma se uočava jasno odvajanje dve klade. Jednu kladu čini vrsta *Aphidius colemani*, a drugu grupe *A. cf. colemani 1*, *A. cf. colemani 2* i *A. transcaspicus*. Takođe se uočava i da su grupe *A. cf. colemani 1* i *A. cf. colemani 2* najbližije.

Procenat pravilnog grupisanja jedinki dat je u Tabeli 25. Zavisno od grupe procenat tačnog grupisanja jedinki se kreće od nešto malo više od pola (*A. cf. colemani 2*) pa do preko 90% (*A. cf. colemani 1*). Skoro 42% jedinki grupe *A. cf. colemani 2* se grupiše u *A. cf. colemani 1*. Što se oslikava i u prethodnom dendrogramu (Slika 12).

Tabela 27. Matrica korektne klasifikacije u unapred definisane grupe gde redovi predstavljaju uočenu pripadnost, a kolone unapred predviđenu pripadnost. „Total“ predstavlja ukupan procenat korektne klasifikacije.

<b>grupa</b>	<b>%tačnog grupisaja</b>	<i>A. colemani</i>	<i>A. cf. colemani 1</i>	<i>A. cf. colemani 2</i>	<i>A.transcaspicus</i>
<i>A. colemani</i>	87,81	72	10	0	0
<i>A. cf. colemani 1</i>	91,18	7	93	1	1
<i>A. cf. colemani 2</i>	54,84	0	13	17	1
<i>A. transcaspicus</i>	63,33	1	9	1	19
<b>Total</b>	82,04	80	125	19	21

Sa tri kanonijske ose (sa velikom statističkom značajnošću  $p=0,0000$ ) je objašnjena ukupna varijabilnost grupa po svim karakteristikama. Dalje  $\chi^2$  testom utvrđeno je da prva kanonijska osa (CV 1) nosi najviše razlika između grupa, 65,94 %. Druga kanonijska osa (CV 2) nosi 17,16%; a treća (CV 3) 16,9% (Tabela 28).

Tabela 28. CVA analiza – standardizovani koeficijenti kanonijskih varijabli.

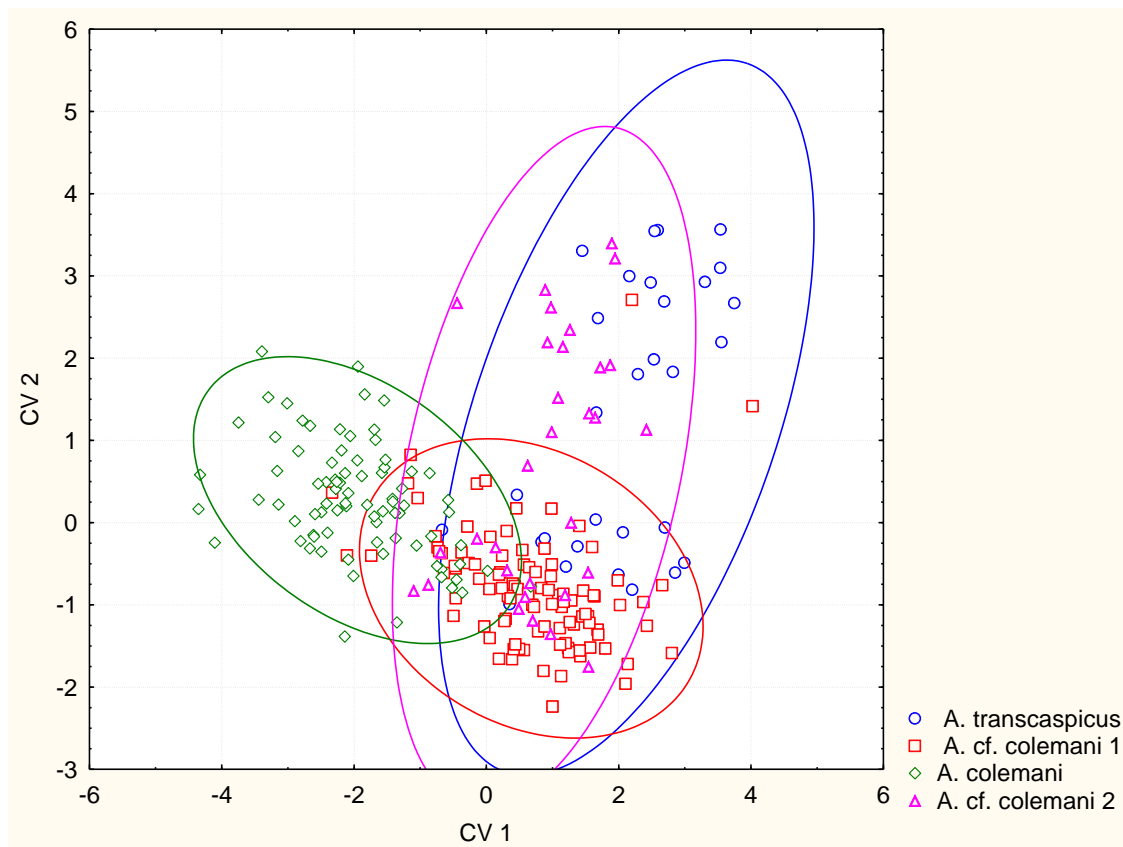
Karakter	CV 1	CV 2	CV 3
NoA	0,285218	<b>0,313592</b>	<b>-0,46325</b>
F1l/w	0,218750	-0,284815	0,03007
F2l/w	0,161995	0,095381	-0,25832
F1l/F2l	-0,229835	<b>0,363253</b>	-0,22948
F1MPS	-0,188302	-0,055864	0,10600
F2MPS	-0,043878	0,158673	<b>-0,37134</b>
NoMx	-0,107790	0,081001	0,05638
NoLp	0,290686	<b>0,850294</b>	0,18311
ten/int	<b>-0,617333</b>	0,217268	0,11431
Mi1/Mi2	0,105690	0,084537	-0,07938
Ptl/w	0,018395	-0,183758	<b>0,43492</b>
Ptl/Mtl	0,223955	-0,182709	<b>0,34975</b>
Wl/w	0,016392	-0,024966	0,06825
Petl/w	-0,163706	-0,167395	<b>0,32289</b>
Tibl/B1l	<b>0,555938</b>	-0,275261	<b>-1,42903</b>
Tibl/B2l	-0,147121	0,220921	<b>0,59325</b>
Ovl/w	-0,177062	-0,223701	0,03432
B1l/B2l	0,224667	-0,043457	<b>-0,75002</b>
Cl/B1l	-0,204585	0,138296	0,12977
Eigenval	2,141306	0,557236	0,54873
Cum.Prop	0,659417	0,831019	1,00000

Rezultati CVA analize prikazani u Tabeli 28. ukazuju na postojanje razdvajanja između unapred definisanih grupa. Iz tabele je moguće utvrditi i koji karakteri najviše doprinose tom razdvajanju. Značajnost pojedinačnih karaktera ograničena je minimumom 0,3.

Najveći procenat razlika među grupama nosi prva kanonijska osa, a karakter koji tome najviše doprinosi je tentorijalni indeks (ten/int). Veliki doprinos razlikama među grupama po prvoj kanonijskoj osi daje i odnos dužina tibije i prvog članka tarzusa (Tibl/B1l). Po drugoj kanonijskoj osi jedan karakter veoma značajno doprinosi razlikama među grupama i to je broj labijalnih palpusa (NoLp). Nešto manji doprinos imaju broj antenalnih članaka (NoA) i odnos dužina prvog i drugog flagelarnog segmenta (F1l/F2l). Diskriminaciji grupa po trećoj kanonijskoj osi doprinosi čak 8 analiziranih karaktera i to sledećim redom: odnos dužina tibije i prvog članka tarzusa (Tibl/B1l), odnos dužina prvog i drugog članka tarzusa (B1l/B2l), odnos dužina tibije i drugog članka tarzusa (Tibl/B2l), broj antenalnih članaka (NoA), odnos dužine i širine pterostigme (Ptl/w), broj rinarija (mirisnih brazdi) na drugom antenalnom segmentu

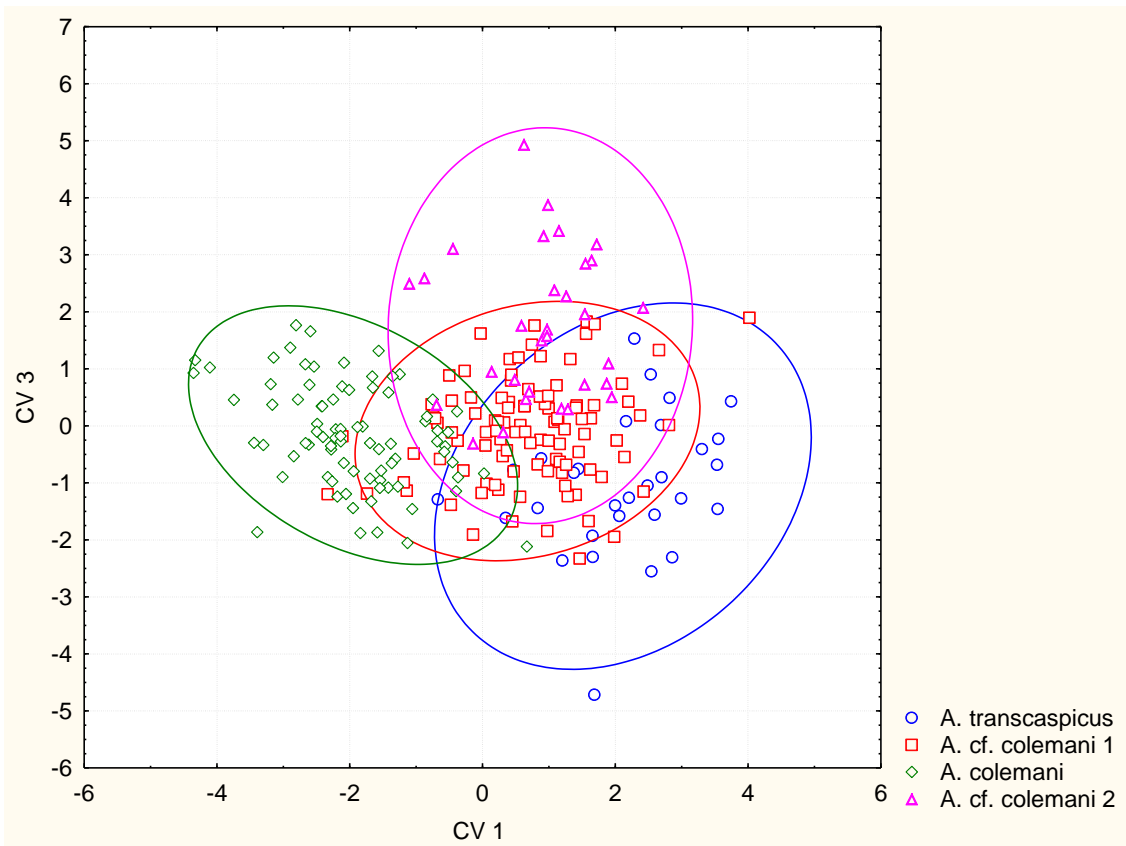
(F2MPS), odnos dužina pterostigme i metakarpusa (Ptl/Mtl) i odnos dužine i širine petiolusa.

Razdvajanje biotipova po kanonijskim osama je prikazano na slika 14, 15 i 16.



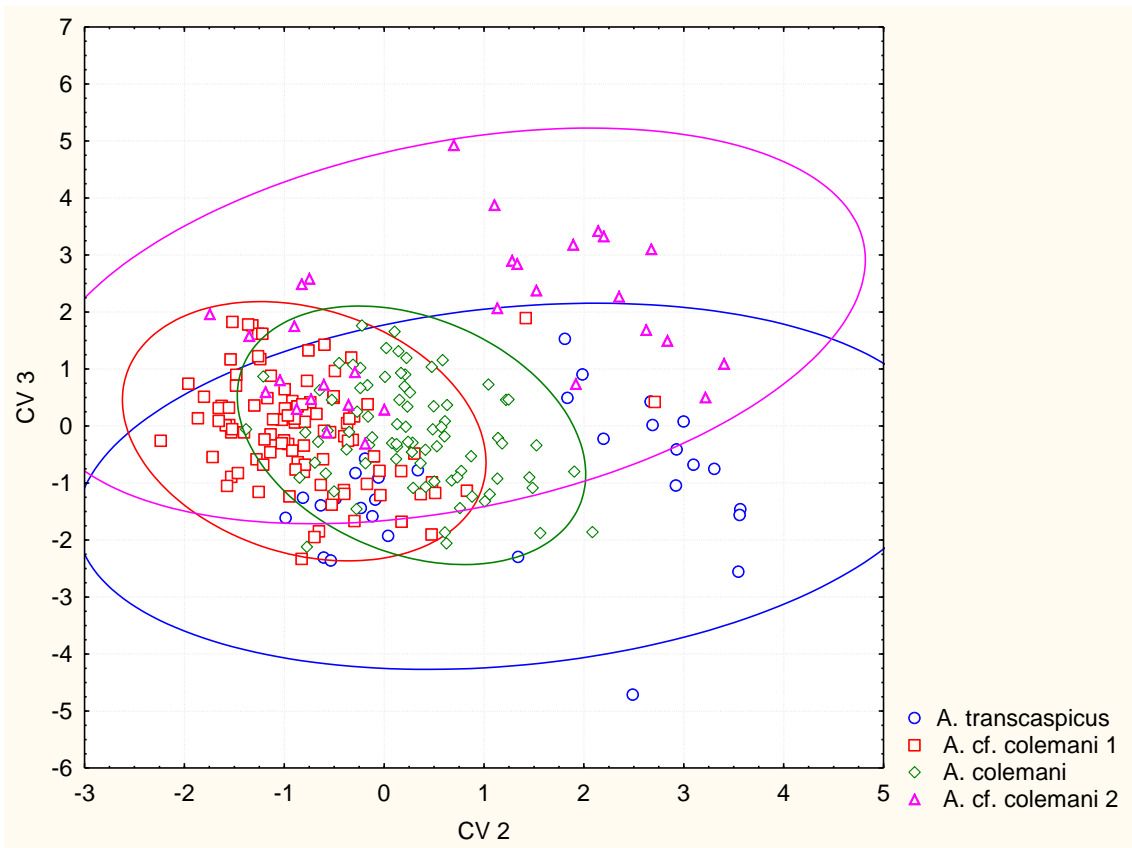
Slika 14. Distribucija jedinki *Aphidius colemani* kompleksa duž prve (CV1) i druge (CV2) kanonijske ose. Elipse obuhvataju interval od 0,95.

Na grafikonu distribucije jedinki duž prve dve kanonijske ose (Slika 14) uočljivo je blago razdvajanje vrste *A. colemani* duž prve ose. Većina jedinki ove grupe nalazi se u negativnom delu CV 1 ose dok su jedinke ostale tri grupe raspoređene uglavnom u pozitivnom delu ose. Takođe je uočljiva i bimodalna raspodela jedinki koje pripadaju grupama *A. cf. colemani 2* i *A. transcaspicus*. Uočava se da je deo jedinki ove dve grupe jasno odvojen od skoro svih ostalih jedinki u pozitivnom delu CV 2 ose.



Slika 15. Distribucija jedinki *Aphidius colemani* kompleksa duž prve (CV1) i treće (CV3) kanonijske ose. Elipse obuhvataju interval od 0,95.

Na grafiku distribucije jedinki duž CV 1 i CV 3 (Slika 15) takođe se uočava veoma blago odvajanje vrste *A. colemani*, dok se na grafiku distribucije jedinki duž CV 2 i CV 3 (Slika 16) ponovo uočava bimodalna raspodela jedinki koje pripadaju grupama *A. cf. colemani 2* i *A. transcaspicus*.

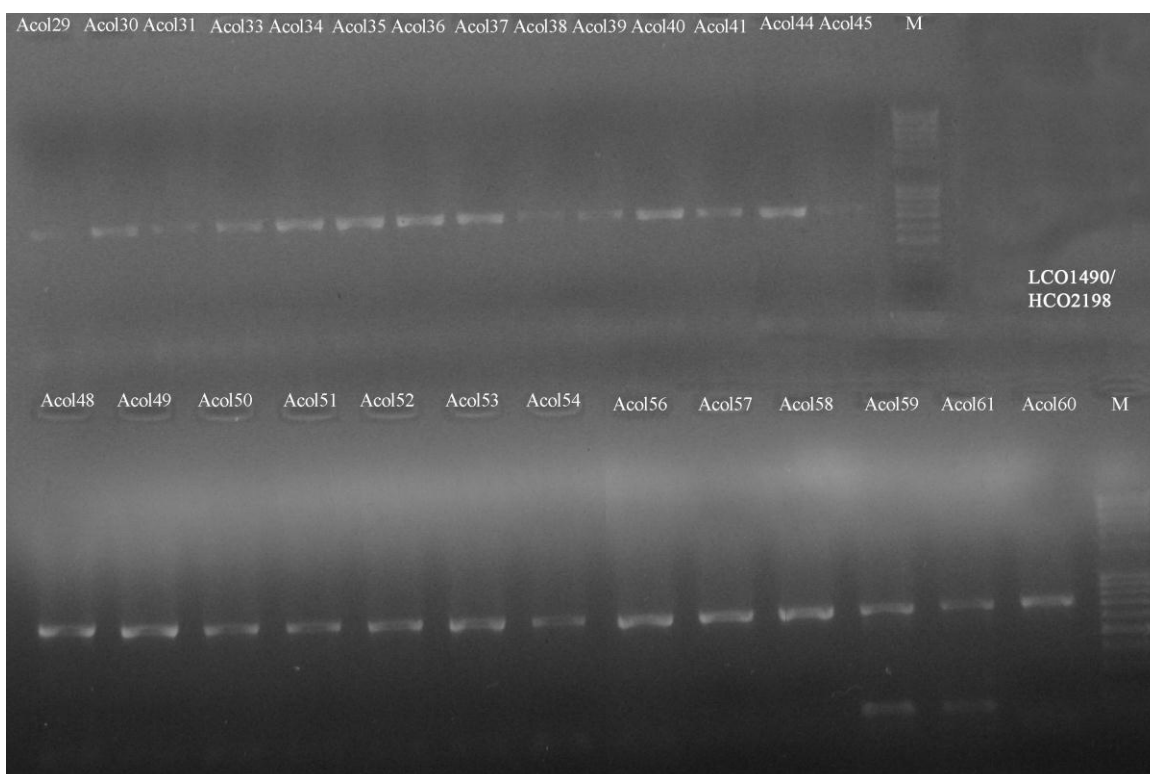


Slika 16. Distribucija jedinki *Aphidius colemani* kompleksa duž druge (CV2) i treće (CV3) kanonijske ose. Elipse obuhvataju interval od 0,95.

### 4.3. Molekularne analize *Aphidius colemani* kompleksa

#### Ekstrakcija, amplifikacija i sekvenciranje

Analizom varijabilnosti *Aphidius colemani* grupe na molekularnom nivou obuhvaćene su 54 jedinke iz 8 država sa četiri kontinenta. Analizirane jedinke su dobijene gajenjem 11 vrsta biljnih vaši (Tabela 3). Iz svih jedinki uspešno je ekstrahovana ukupna DNK. Takođe je kod svih jedinki uspešno amplifikovan barkoding region citohrom oksidaze I (Slika 17).



Slika 17. PCR produkt COI gena dužine oko 700 bp. M - marker (ostale oznake u Tabeli 3).

Sekvencirani produkt je bio dužine oko 700 baznih parova (bp). Sekvencirano je po 16 jedinki koje morfološki pripadaju grupama *Aphidius colemani* i *Aphidius cf. colemani* 1 i 22 jedinke koje morfološki pripadaju grupi *Aphidius transcaspicus*. Molekularnim analizama nisu obuhvaćene jedinke koje pripadaju grupi *Aphidius cf. colemani* 2, usled nedostatka jedinki (sve jedinke su bile dostupne samo kao mikroskopski slajdovi).



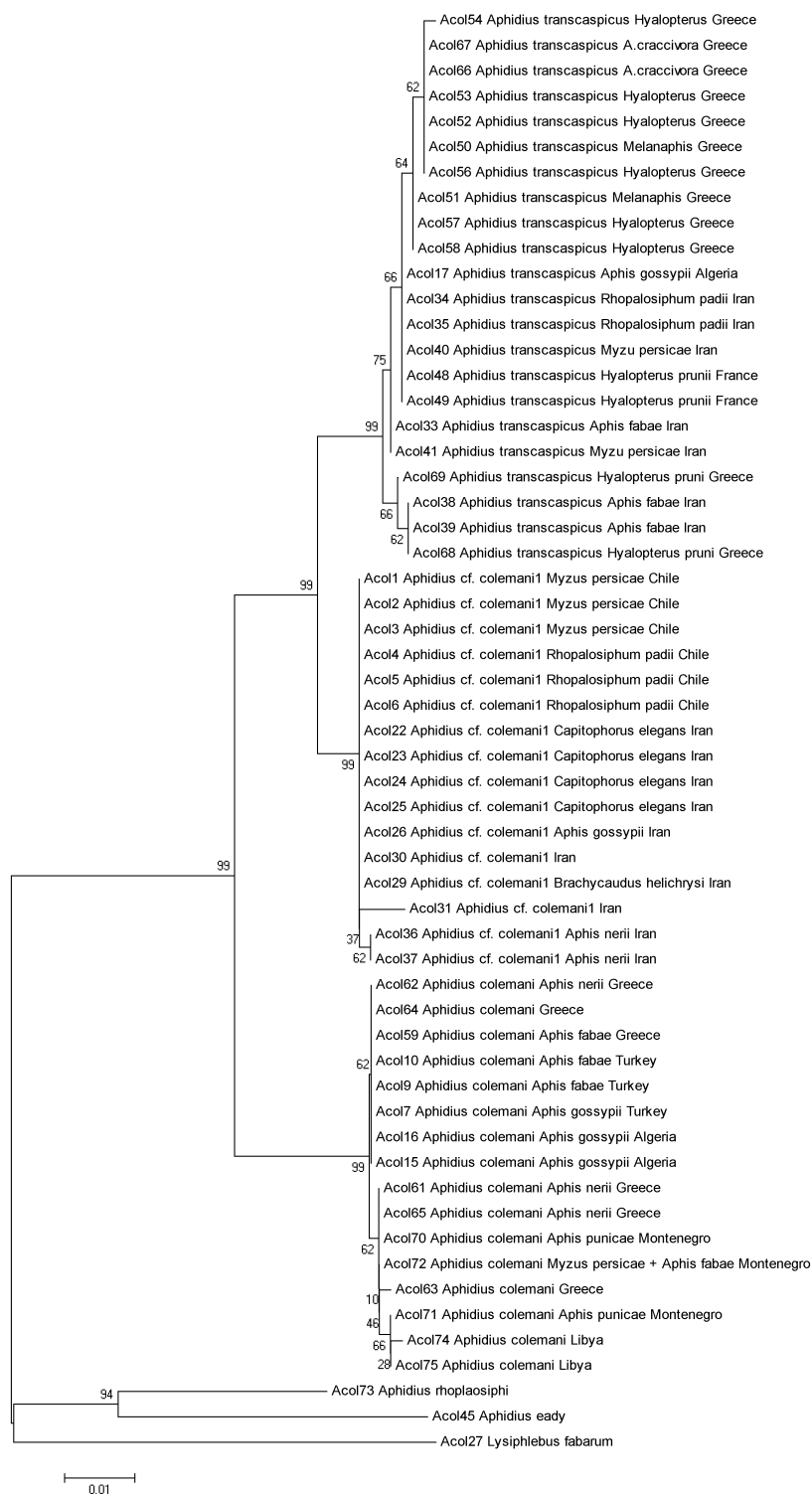
Pored jedinki koje pripadaju *Aphidius colemani* kompleksa sekvencirana je i po jedna jedinka vrsta *Aphidius rhoplaosiphi*, *A. eadyi* i *Lysiphlebus fabarum* kao autgrupe.

### **Analiza sekvenci i filogenetska rekonstrukcija**

Sravnjavanje sekvenci je izvršeno u ClustalW programu integrisanom u MEGA 5 programski paket. Nakon sravnjavanja ukupna dužina poravnanja iznosila je 628 bp. Osnovnom analizom nukleotidskih mesta utvrđeno je da postoje 42 varijabilna mesta od čega je 35 informativno za parsimoniju, dok su preostalih sedam tzv. singleton mutacije.

Rekonstrukcija filogenetskih odnosa između jedinki *Aphidius colemani* grupe je izvedena primenom Neighbor-Joining metoda, u modelu *p*-distance (NJ) i metoda Maksimalne parsimonije (MP). Kao autgrupe koršćene su vrste *A. rhoplaosiphi*, *A. eadyi* i *L. fabarum*.

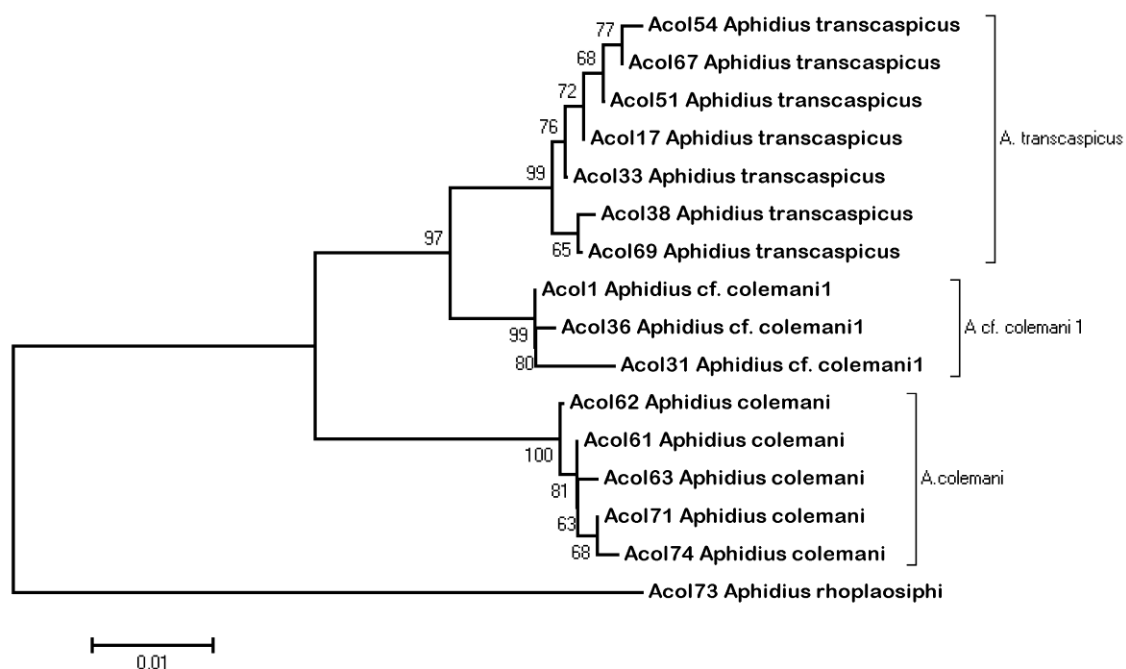
Filogenetsko stablo dobijeno NJ metodom ima sumu dužine grana 0,2529 (Slika 18.)



Slika 18. Rekonstrukcija filogenetskog stabla *Aphidius colemani* grupe NY metodom. U nivou grananja prikazana je „bootstrap“ podrška.

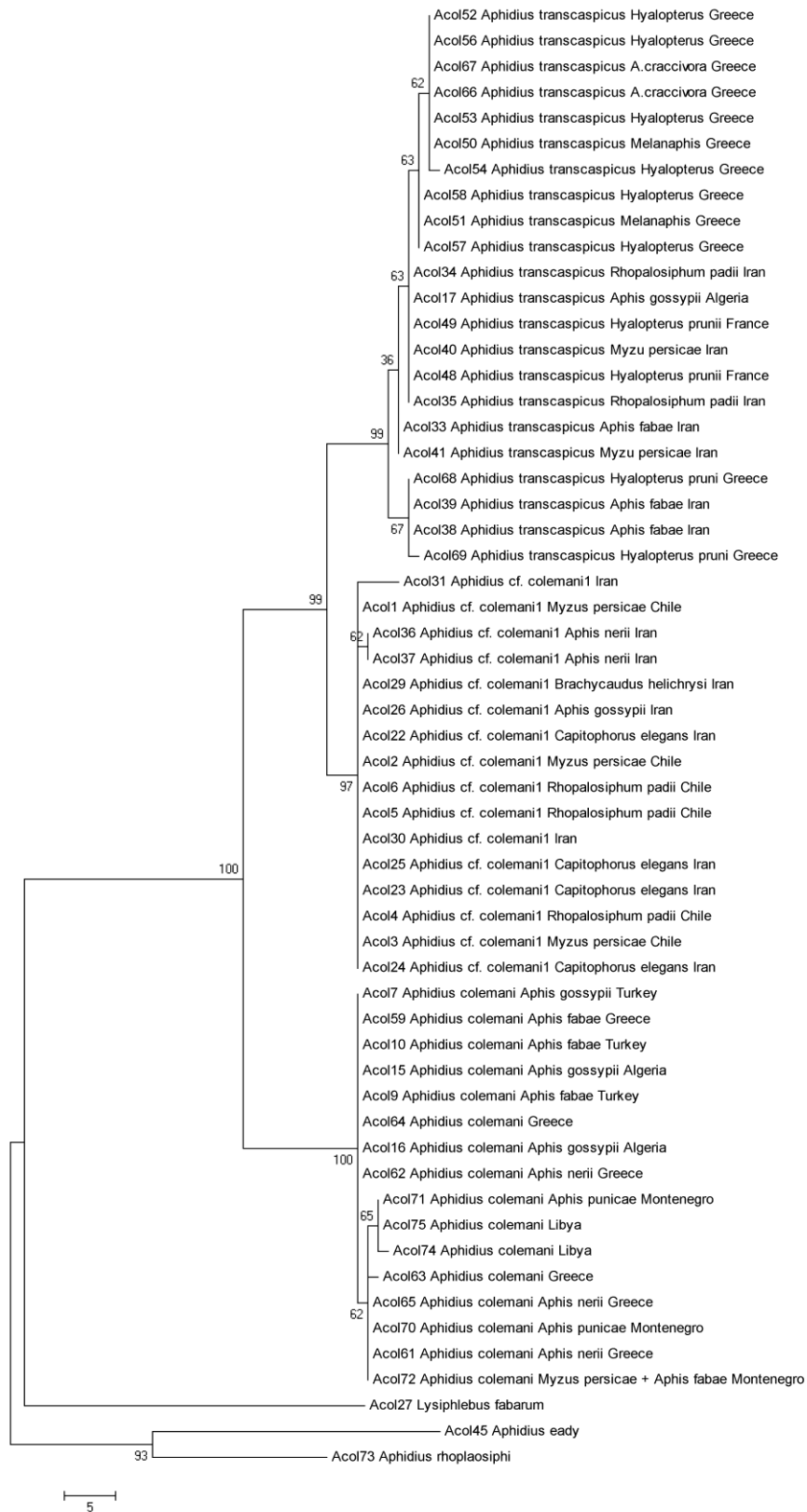
Konačni set podataka za NY analizu predstavljen je sa ukupno 626 bp. Procenat zajedničkog grupisanja sekvenci testiran je „bootstrap“ testom u 500 replikacija.

Na filogenetskom stablu se jasno vidi odvajanje 3 klade. Svaku kladu čine jedinke koje pripadaju jednoj grupi (*Aphidius colemani*, *Aphidius cf. colemani* 1 ili *Aphidius transcaspicus*). U okviru *A. transcaspicus* klade utvrđeno je postojanje 7 različitih haplotipova. *A. cf. colemani* 1 kladu čine samo tri haplotipa, dok *A. colemani* kladu čini pet haplotipova. Na Slici 19. prikazano je filogenetsko stablo dobijeno NY metodom za čiju rekonstrukciju je korišćena po jedna jedinka svakog haplotipa. Kao autgrupa korišćena je vrsta *Aphidius rhopalosiphi*.



Slika 19. Rekonstrukcija filogenetskog stabla haplotipova *Aphidius colemani* grupe NY metodom. U nivou grananja prikazana je „bootstrap“ podrška.

Na filogenetskom stablu haplotipova uočljivo je da sve grane stabla imaju veoma veliku „bootstrap“ podršku (> 60%). Posmatajući oba stabla (Slike 18. i 19.) primetno je veće odvajanje klade *A. colemani* dok su klade *A. transcaspicus* i *A. cf. colemani* 1 srodnije i čine monofiletsku liniju. Međutim i između ove dve klade (*A. transcaspicus* i *A. cf. colemani* 1) postoji veoma jasno razdvajanje. Filogenetski odnosi su rekonstruisani i metodom Maksimalne parsimonije (MP) (Slika 20).



Slika 20. Prvo od 810 mogućih filogenetskih stabala *Aphidius colemani* grupe rekonstruisanih MP metodom. „Bootstrap“ podrška je prikazana u nivou grananja.

Filogenetsko stablo je dobijeno upotrebom „Close-Neighbor-Interchange“ algoritma. Za mesta informativna za parsimoniju indeks konzistencije je 0.793814, indeks retencije 0.966667, a kompozitni indeks je 0.767354.

Stablo rekonstruisano MP metodom ima skoro identičnu topologiju kao i stablo rekonstruisano NY metodom. I na ovom stablu se izdvajaju tri klade (*Aphidius colemani*, *Aphidius* cf. *colemani* 1 ili *Aphidius transcaspicus*) i to sa „bootstrap“ podrškom većom od 97%. Jedina razlika u topologiji između MP i NY stabala je u rasporedu autgrupa. Vrsta *Lysiphlebus fabarum* se po MP stablu grupiše između različitih vrsta roda *Aphidius*.

Razlika između haplotipova analiziranih jedinki je kvantifikovana je Kimurinim dvoparametarskim (K2P) distancama. Dobijene distance su predstavljene u Tabeli 29. Distance takođe ukazuju na to da su jedinke koje pripadaju grupi *A. transcaspicus* filogenetski bliže jedinkama koje pripadaju *A. cf. colemani* 1 nego jedinkama koje pripadaju grupi *A. colemani*. Međugrupne i unutargrupne distance prikazane su u Tabeli 30.

Tabela 29. Matrica K2P distanci nakon „pairwise“ poređenja sekvenci COI gena *Aphidius colemani* kompleksa, jedinka Acol73 *Aphidius rhoplaosiphi* je autgrup.

	Acol1	Acol36	Acol31	Acol33	Acol17	Acol38	Acol51	Acol54	Acol69	Acol67	Acol62	Acol61	Acol63	Acol71	Acol74	Acol73
<b>Acol1</b> <b>Aphidius cf. colemani1</b>																
<b>Acol36</b> <b>Aphidius cf. colemani1</b>	0,002															
<b>Acol31</b> <b>Aphidius cf. colemani1</b>	0,006	0,008														
<b>Acol33</b> <b>Aphidius transcaspicus</b>	0,016	0,018	0,023													
<b>Acol17</b> <b>Aphidius transcaspicus</b>	0,018	0,019	0,024	0,002												
<b>Acol38</b> <b>Aphidius transcaspicus</b>	0,018	0,019	0,024	0,005	0,006											
<b>Acol51</b> <b>Aphidius transcaspicus</b>	0,019	0,021	0,026	0,003	0,002	0,008										
<b>Acol54</b> <b>Aphidius transcaspicus</b>	0,023	0,024	0,029	0,006	0,005	0,011	0,003									
<b>Acol69</b> <b>Aphidius transcaspicus</b>	0,019	0,021	0,026	0,003	0,005	0,002	0,006	0,010								
<b>Acol67</b> <b>Aphidius transcaspicus</b>	0,021	0,023	0,028	0,005	0,003	0,010	0,002	0,002	0,008							
<b>Acol62</b> <b>Aphidius colemani</b>	0,036	0,038	0,043	0,043	0,045	0,041	0,046	0,050	0,043	0,048						
<b>Acol61</b> <b>Aphidius colemani</b>	0,038	0,039	0,044	0,045	0,046	0,043	0,048	0,048	0,045	0,046	0,002					
<b>Acol63</b> <b>Aphidius colemani</b>	0,039	0,041	0,046	0,046	0,048	0,045	0,050	0,050	0,046	0,048	0,003	0,002				
<b>Acol71</b> <b>Aphidius colemani</b>	0,039	0,041	0,046	0,046	0,048	0,045	0,050	0,050	0,046	0,048	0,003	0,002	0,003			
<b>Acol74</b> <b>Aphidius colemani</b>	0,041	0,043	0,048	0,048	0,050	0,046	0,051	0,051	0,048	0,050	0,005	0,003	0,005	0,002		
<b>Acol73</b> <b>Aphidius rhoplaosiphi</b>	0,097	0,099	0,104	0,097	0,097	0,099	0,099	0,103	0,101	0,101	0,097	0,099	0,101	0,101	0,103	

Tabela 30. Matrica K2P distanci unutar (zatamljeno) i između grupa *Aphidius colemani* kompleksa

	<b>A.colemani</b>	<b>A. cf. colemani 1</b>	<b>A. transcaspicus</b>
<b>A.colemani</b>	<b>0,0018</b>		
<b>A cf. colemani 1</b>	0,0381	<b>0,0012</b>	
<b>A. transcaspicus</b>	0,0461	0,0197	<b>0,0038</b>

Unutar grupne distance su veoma male i za sve grupe su manje od 0,5%, dok se međugrupne distance kreću od 2% između *A. cf. colemani* 1 i *A. transcaspicus* pa do 4,6% između *A. transcaspicus* i *A. colemani*.

## 5. DISKUSIJA

Različiti taksoni parazita i parazitoida veoma često uključuju komplekse vrsta, sestrinske vrste, rase i biotipove (Unruh *et al.* 1989). Rod *Aphidius* kao najveći u okviru potfamilije Aphidiinae predstavlja i najveći izazov sa gledišta taksonomije i sistematike (Petrović 2011). Danas se smatra da samo u okviru ovog roda postoji najmanje 10 grupa vrsta (kompleksa) sa nerešenim taksonomskim statusom (Eady 1969, Pungertl 1986, Tomanović *et al.* 2003, 2007, Rakhshani *et al.* 2008, Petrović 2011, Petrović *et al.* 2011).

Osnovni zadatak ove studije je bila morfološka i genetička karakterizacija *Aphidius colemani* kompleksa vrsta.

Kao glavni ciljevi istraživanja postavljani su:

- Utvrđivanje broja taksona koji čine *Aphidius colemani* kompleks.
- Utvrđivanje seta morfoloških karaktera koji su karakteristični za vrstu *Aphidius colemani*
- Utvrđivanje genetičke varijabilnosti vrsta *Aphidius colemani* kompleksa bazirane na sekvenci barkoding regiona gena za citohrom oksidazu 1 (COI).

Da bismo uspešno odgovorili na postavljene zadatke i ciljeve primenjene su dve nezavisne metode: morfometrija i analiza DNK sekvenci barkoding regiona gena za citohrom oksidazu 1. Jedinke su pre analiza na osnovu morfologije grupisane u 4 grupe: *Aphidius colemani*, *Aphidius cf. colemani* 1, *Aphidius cf. colemani* 2 i *Aphidius transcaspicus*.

Rezultati morfometrijskih analiza ukazuju na postojanje malih razlika među analiziranim grupama *Aphidius colemani* kompleksa. Pokazano je da različiti morfološki karakteri različito doprinose razlikama među grupama. Najstabilniji morfološki karakteri su jedan meristički (broj članaka maksilarnih palpusa) i dva kontinuirana (odnos dužina prvog i drugog antenalnog segmenta i odnos dužina tibijalnog trna i prvog članka tarzusa). Ukoliko uporedimo ove rezultate sa sličnom



studijom koja je rađena za *Aphidius urticae* kompleks (Petrović 2011) uočava se da je broj članaka maksilarnih palpusa veoma stabilan karakter u celom rodu, na šta ukazuju i Tomanović *et al.* (2003). Sa druge strane ovako velika stabilnost kontinuiranih karaktera (F11/F21 i C1/B11) nije do sada zabeležena u okviru roda (Pungler 1986, Petrović 2011). Kao najvarijabilniji karakter izdvojen je malarni indeks (Mi1/Mi2). Ovaj karakter je toliko varijabilan da se praktično ne može ni koristiti u morfometrijskim analizama ovog kompleksa. Razlozi za ovako veliku varijabilnost su verovatno tehničke, a ne biološke prirode. Naime da bi se izmerio malarni indeks potrebno je da glava insekta bude skoro savršeno pozicionirana na mikroskopskom slajdu, što u većini slučajeva jednostavno nije moguće. Sa druge strane analizom *Aphidius urticae* kompleksa (Petrović 2011) je pokazano da malarni indeks skoro da nema varijabilnost.

Analizom varijanse je pokazano da svi analizirani karakteri imaju veliku statističku značajnost osim za: broj članaka maksilarnih palpusa (NoMx), oblik krila (W1/w) i odnos dužina prvog i drugog članka tarzusa (B11/B21). Broj članaka maksilarnih palpusa (NoMx) je do sada retko korišćen karakter (Petrović 2011) ali se pokazao kao vrlo konzervativan, kod svih analiziranih vrsta, dok je odnos dužine i širine krila obično varijabilan karakter i razlikuje se kod različitih grupa (Petrović 2011) što je u suprotnosti sa našim rezultatima.

Kanonijskom diskriminantnom analizom izdvojeni su karakteri koji najviše doprinose razlikovanju analiziranih grupa. Po prvoj kanonijskoj osi blago se izdvaja grupa *Aphidius colemani* sa jedne strane i sve ostale grupe sa druge strane. Tome najviše doprinose karakteri tentorijalni indeks (ten/int) i odnos dužina tibije i prvog članka tarzusa (Tib1/B11). Radovi o upotrebljivosti pojedinih karaktera u okviru roda *Aphidius* su retki i u njima je pokazano da tentorijalni indeks nije dobar usled velike varijabilnosti u okviru vrste (Pungler 1986). Međutim, u ovoj studiji je pokazano da u slučaju *Aphidius colemani* kompleksa tentorijalni indeks predstavlja veoma značajan karakter za razdvajanje blisko srodnih vrsta. Odnos dužina tibije i prvog članka tarzusa (Tib1/B11) je do sada samo jednom korišćen u morfometrijskim analizama vrsta roda *Aphidius* i tada nije utvrđena značajnost ovog karaktera (Petrović 2011). U okviru *Aphidius colemani* kompleksa uz pomoć ovog karaktera je moguće razlikovati dve grupe *A. colemani* i *A. cf. colemani* 2 koje imaju kraće tibije i *A. cf. colemani* 1 i *A.*

*transcaspicus* sa dužim tibijama. U svetlu ovih rezultata u budućim istraživanja neophodno je posvetiti više pažnje ovom karakteru. Na osnovu svega prethodno iznetog i na osnovu UPGMA dendrograma (Slika 13) uočava se relativno jasno izdvajanje grupe *Aphidius colemani* dok su razlike među preostalim grupama male. Jedinke *A. colemani* grupe moguće je razlikovati od jedinki ostalih grupa po tome što imaju dva članka u labijalnim palpusima, nasuprot dvo ili tročlankoviti labijalnim palpusima jedinki ostalih grupa. Takođe *A. colemani* imaju veću vrednost tentorijalnog indeksa (0,775 nasuprot 0,5 kod ostalih grupa).

Genetička (molekularna) karakterizacija *Aphidius colemani* kompleksa izvršena je analizom barkoding regiona gena za citohrom oksidazu subjedinica I (COI). Upotreba standardizovanog DNK regiona za identifikaciju vrsta pokazala se kao vrlo efikasna naročito za taksone sa velikim brojem vrsta u kojima je morfološka identifikacija komplikovana i teška (Hebert & Gregory 2005). Analizirajući 50 vrsta potfamilije Aphidiinae, Derocles *et al.* (2011) su pokazali da se, uz neka ograničenja, barkoding region COI gena može koristiti za identifikaciju vrsta ove potfamilije.

Molekularnim analizama obuhvaćene su jedinke 3 grupe: *Aphidius colemani*, *Aphidius transcaspicus* i *Aphidius cf. colemani* 1. Usled nedostatka svežih jedinki (sve jedinke su bile dostupne samo kao mikroskopski slajdovi) molekularnim analizama nisu obuhvaćene jedinke grupe *Aphidius cf. colemani* 2. Kao autgrupe su korišćene jedinke vrsta *Aphidius rhoplaosiphi*, *Aphidius eadyi* i *Lysiphlebus fabarum*. Rekonstrukcija filogenetskih odnosa rezultovala je stablima iste topologije bez obzira na primenjeni metod. Jedinke su se grupisale u tri potpuno odvojene klade. Prvu kladu čine jedinke *Aphidius colemani* grupe koje potiču iz Mediteranskih zemalja Evrope i Afrike. Drugu kladu čini *Aphidius transcaspicus* grupa. Analizirane jedinke u okviru ove klade su sakupljene sa prostora Alžira, Francuske, Irana i Grčke. Jedinke grupe *Aphidius cf. colemani* 1 čine treću kladu. U okviru ove klade nalaze se jedinke iz Azije (Iran) i Južne Amerike (Čile). Genetiške distance (K2P) između grupa su na nivou distanci između vrsta po Delocres *et al.* (2011). Sekvence *Aphidius transcaspicus* i *Aphidius colemani* se u proseku razlikuju za 4,6%, *Aphidius colemani* i *Aphidius cf. colemani* 1 za 3,8%, dok se *Aphidius transcaspicus* i *Aphidius cf. colemani* 1 razlikuju za 2%. Najveća genetička varijabilnost zabeležena je unutar *A. transcaspicus* grupe u okviru koje je registrovano 7

haplotipova, zatim unutar *A. colemani* grupe, 5 haplotipova, a najmanja varijabilnost je zabeležena unutar *A. cf. colemani* grupe, samo tri haplotipa. Postojanje haplotipova u svim grupama se ne može dovesti u vezu sa afidnim domaćinom niti sa geografskim poreklom. Lozier *et al.* (2008a) su takođe utvrdili da u okviru *A. transcaspicus* vrste ne postoji diferencijacija u odnosu na domaćina, tako da sada sa velikom sigurnošću možemo reći da u okviru *Aphidius colemani* kompleksa ne postoji genetička diferencijacija u odnosu na afidnog domaćina. U istom istraživanju je pokazano da postoji relativno velika diferencijacija populacija *A. transcaspicus* po geografskoj udaljenosti (Lozier *et al.* 2008a), što u ovoj studiji nije pokazano ni za jednu grupu. Posmatrajući morfološke i molekularne podatke zajedno evidentno je postojanje najmanje tri odvojena taksona: *Aphidius colemani*, *A. transcaspicus* i *A. cf. colemani* 1. Od ova tri taksona jedino je *A. colemani* relativno jasno morfološki definisan. Ostala dva taksona se po morfološkim karakteristikama koji su analizirani ne mogu razlikovati sa sigurnošću. U budućim istraživanjima je neophodno posvetiti više pažnje novim morfološkim karakteristikama kako bi bila olakšana identifikacija taksona. Grupa *Aphidius cf. colemani* 2 se takođe morfološki ne može razlikovati od grupa *A. transcaspicus* i *A. cf. colemani* 1. Sa obzirom da jedinke ove grupe nisu analizirane na molekularnom nivou, a imajući u vidu prethodnu iznetu, pitanje statusa ove grupe (iz Etiopije) ostaje otvoreno.

## 6. ZAKLJUČCI

1. Morfometrijskom analizom varijabilnosti utvrđeno je da su karakteri koji nose najveći procenat razlika između grupa tentorijalni indeks (ten/int) i odnos dužina tibije i prvog članka tarzusa (Tibl/B11). Ovim karakteristikama treba posvetiti posebnu pažnju u budućim istraživanjima.

2. Najkonzervativniji morfološki karakter *Aphidius colemani* grupe je broj članaka maksilarnih palpusa. Njihov broj je konstantan u okviru ove grupe i iznosi 4 (kod svih analiziranih jedinki, osim kod jedne kod koje verovatno nije došlo do podele poslednjeg članka).

3. CVA analizom i konstrukcijom dendrograma UPGMA metodom na osnovu Mahalanobis-ovih distanci utvrđeno je da se *Aphidius colemani* izdvaja kao zaseban takson.

4. Analizom barkoding regiona COI gena utvrđeno je postojanje tri nezavisna taksona unutar *Aphidius colemani* kompleksa. Potvrđen je status vrsta *Aphidius colemani* i *Aphidius transcaspicus*.

5. Otkrivena je jedna nova vrsta za nauku koja je označena kao *Aphidius cf. colemani* 1.

6. Analizom genetičke varijabilnosti COI gena utvrđeno je da je najvarijabilniji analizirani takson *Aphidius transcaspicus* sa detektovanih 7 haplotipova.

7. Nije utvrđena veza između genetičke diferencijacije i afidnih domaćina, kao ni između genetičke diferencijacije i geografskog porekla.

8. Pitanje taksonomskog statusa populacija iz Etiopije (*Aphidius cf. colemani* 2) je ostalo otvoreno usled nedostatka jedinki za molekularne analize.

9. Potvrđeno je da je za kvalitetnu taksonomsku studiju neophodan integrativni pristup koji podrazumeva upotrebu nekoliko različitih metoda pri rešavanju nekog problema.

## 7. LITERATURA

ADISU B., STARÝ P., FREIER B., BÜTTNER C. (2002) *Aphidius colemani* Vier. (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) detected in cereal fields in Germany. *Anzeiger für Schädlingskunde* 75: 89-94

AHMADABADI N. J., KARIMI, J. MODARRES A. M., RAKHSHANI E. (2011) Morphological and Molecular Methods in Identification of *Aphidius transcaspicus* Telenga (Hym: Braconidae: Aphidiinae) Parasitoid of *Hyalopterus* spp. (Hom: Aphididae) with Additional Data on Aphidiinae Phylogeny. *Journal of the Entomological Research Society* 13: 91-103.

AHMADABADI N. J. and AWAL M. M. (2012) Aphid parasitoids associations on stone fruit trees in Khorasan Razavi province (Iran) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Mun. Ent. Zool.* 7 (1) 418-423.

ASLAN M. M., UYGUN N., STARÝ P. (2004) A Survey of Aphid Parasitoids in Kahramanmaras, Turkey (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; and Hymenoptera: Aphelinidae) *Phytoparasitica* 32: 255-263

ATANASSOVA, P., BROOKES, C.P., LOXDALE, H.D., POWELL, W., (1998) Electrophoretic study of five aphid parasitoid species of the genus *Aphidius* (Hymenoptera, Braconidae), including evidence for reproductively isolated sympatric populations and a cryptic species. *Bulletin of Entomological Research* 88: 3-13.

BAER, C. F., TRIPP, D. W., BJORKSTEN, T. A., ANTOLIN M. F. (2004) Phylogeography of a parasitoid wasp (*Diaeretiella rapae*): no evidence of host-associated lineages. *Molecular Ecology* 13: 1859–1869.

BAKER, D. A., LOXDALE, H. D., EDWARDS, O. R. (2003) Genetic variation and founder effects in the parasitoid wasp, *Diaeretiella rapae* (M'intosh) (Hymenoptera:

Braconidae: Aphidiidae), affecting its potential as a biological control agent. *Molecular Ecology* 12: 3303–3311

BELSHAW, R. & QUICKE, D. L. J. (1997) A molecular phylogeny of the Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 7: 1-20.

BELSHAW, R., FITTON, M., HERNIOU, E., GIMENO, C., QUICKE, D. L. J. (1998) A phylogenetic reconstruction of the Ichneumonoidea (Hymenoptera) based on the D2 variable region of 28S ribosomal RNA. *Systemic Entomology* 23: 109-123.

BELSHAW, R., DOWTON, M., QUICKE, D.L.J., AUSTIN A.D. (2000) Estimating ancestral geographical distributions: a Gondwanan origin for aphid parasitoids? *Proceedings of the Royal Society London (B)* 267: 491-496

CECÍLIO A., PITA M. T., ILHARCO F. A. (2008) List of aphidiines (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) of Madeira archipelago. *Rev. Acad. Canar. Cienc.*, 20 (4): 61-68

COHEN, J. E., JONSSON, T., MÜLLER, C. B., GODFRAY, H. C. J., SAVAGE VAN M. (2005) Body sizes of hosts and parasitoids in individual feeding relationships. *PNAS* 102: 684-689.

DAZA-BUSTAMANTE, P., E. FUENTES-CONTRERAS, L. C. RODRÍGUEZ, C. C. FIGUEROA, NEIMEYER. H. M. (2002) Behavioural differences between *Aphidius ervi* populations from two tritrophic systems are due to phenotypic plasticity. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 104: 321-328.

DEROCLES, S. A., LE RALEC, A., PLANTEGENEST, M., CHAUBET, B., CRUAUD, C., CRUAUD, A., RASPLUS, J. Y. (2011) Identification of molecular markers for DNA barcoding in the Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Molecular Ecology Resources* 12: 197-208.

DEROCLES, S. A., PLANTEGENEST, M., SIMON, J.C., TABERLET, P., LE RALEC, A., (2012) A universal method for the detection and identification of Aphidiinae parasitoids within their aphid hosts. *Molecular Ecology Resources* 12: 634-645.

DOWTON, M. (1999) Relationships among the Cyclostome Braconid (Hymenoptera: Braconidae) subfamilies inferred from a mitochondrial tRNA gene rearrangement. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 11: 283-287.

DOWTON, M., AUSTIN, A. D., ANTOLIN, M.F. (1998) Evolutionary relationships among the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) inferred from partial 16S rDNA gene sequences. *Insect Molecular Biology* 7: 129-150.

EADY, R. D., (1969) A new diagnostic character in *Aphidius* (Hymenoptera: Braconidae) of special significance in species on pea aphid. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London*, B, 38: 165-173.

FERNÁNDEZ, C. and NENTWIG, W. (1997) Quality control of the parasitoid *Aphidius colemani* (Hym., Aphidiidae) used for biological control in greenhouses. *Journal of Applied Entomology* 121: 447-456

FOLMER, O., BLACK, M., HOEH, W., LUTZ, R., VRIJENHOEK, R., (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3, 294-299.

GARANTONAKIS, N., PERDIKIS, D., LYKOURESSIS, D., KOURTI, A., GKOUVITSAS, T. (2009) Studies on the identity of the parasitoids *Aphidius colemani* and *Aphidius transcaspicus* (Hymenoptera: Braconidae). *European Journal of Entomology* 106: 491-498-



GÄRDENFORS, U. 1986. Taxonomic and biological revision of Palaearctic *Ephedrus* Haliday (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae) *Entomologica Scandinavica Supplementum* 27: 1-95.

GOH, H. G., KIM J. H., HAN M. W. (2001) Application of *Aphidius colemani* Viereck for Control of the Aphid in Greenhouse. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 4: 171-174.

GRIFFITHS, D. C. (1960) The behaviour and specificity of *Monoctonus paludum* Marshall (Hymenoptera: Braconidae), a parasite of *Nasonovia ribis-nigeri* (Mosley) on lettuce. *Bulletin of Entomological Research* 51: 303-319.

GRIFFITHS, D. C. (1961) The development of *Monoctonus paludum* Marshall (Hymenoptera: Braconidae), in *Nasonovia ribis-nigeri* on lettuce, and immunity reactions in other lettuce aphids. *Bulletin of Entomological Research* 52: 147-163.

HÅGVAR, E. B. HOFVANG, T. (1991) Aphid parasitoids (Hymenoptera, Aphidiidae): biology, host selection and use in biological control. *Biocontrol News and Information* 12: 13-42.

HEBERT, P.D.N., GREGORY, T.R. (2005) The promise of DNA barcoding for taxonomy. *Syst. Biol.* 54: 852-859.

HINTON, H. E. (1954) Insect blood. *Science Progress* 168: 684-696.

HÖLLER, C. (1991) Evidence for the existence of a species closely related to the cereal aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* DeStefani-Perez based on host ranges, morphological characters, isoelectric focusing banding patterns, cross-breeding experiments, and sex pheromone specificities (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae). *Systematic Entomology* 16: 15-28.

HOY, M. A. & SINGH, R. (2007) Tools for evaluating *Lipolexis oregmae* (Hymenoptera : Aphidiidae) in the field: Effects of host aphid and host plant on mummy location and color plus improved methods for obtaining adults. *Florida Entomologist* 90 (1): 214-222.

HUFBAUER RA, BOGDANOWICZ SM, PERES L, HARRISON RG (2001) Isolation and characterization of microsatellites in *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) and their applicability to related species. *Molecular Ecology Notes* 1: 197–199.

HUFBAUER, R. A., BOGDANOWICZ, S. M., HARRISON, R. G. (2004) The population genetics of a biological control introduction: mitochondrial DNA and microsatellite variation in native and introduced populations of *Aphidius ervi*, a parasitoid wasp. *Molecular Ecology* 13: 337–348

JOHNSON B. (1959) Effect of parasitization by *Aphidius platensis* Brèthes on the developmental physiology of its host, *Aphis craccivora* Koch. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 2 (2):82-99

JOHNSON B. (1965) Premature Breakdown of the Prothoracic Glands in Parasitized Aphids. *Nature* 206: 958 – 959

KAMBHAMPATI, S. and MACKAUER, M. (1988) Intra- and interspecific morphological variation in some *Aphidius* species (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitic on the pea aphid in North America. *Annals of the Entomological Society of America* 81(6): 1010-1016.

KAMBHAMPATI, S., VÖLKL, W., MACKAUER, M. (2000) Phylogenetic relationship among genera of Aphidiinae (Hymenoptera : Braconidae) based on DNA sequence of the mitochondrial 16S rDNA gene. *Systematic Entomology* 25: 437-445.

KAVALLIERATOS, N.G. and LYKOURESSIS, D.P. (1999) Redescription of *Aphidius transcaspicus* Telenga (Hymenoptera: Braconidae) and its distinction from

*Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae). *Bol. del Lab. di Ent.Agr. Filippo Silvestri* 55: 105–112.

KAVALLIERATOS, N. G., LYKOURESSIS, D. P., SARLIS, G. P., STATHAS, G. J., SANCHIS SEGOVIA, A., ATHANASSIOU, C. G. (2001) The Aphidiinae (Hymenoptera: Ichneumonoidea: Braconidae) of Greece. *Phytoparasitica* 29: 306-340.

KAVALLIERATOS, N. G., TOMANOVIĆ, Ž., SARLIS G.P., FASSEAS, C., EMMANOUEL N.E. (2006) A review of the genus *Aphidius* Nees in Greece (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) with the description of a new species. *Journal of Natural History* 40: 1179-1197.

KAVALLIERATOS, N. G., TOMANOVIĆ, Ž., STARÝ, P., ATHANASSIOU, C. G., SARLIS, G. P., PETROVIĆ, O., NIKETIĆ, M., ANAGNOU-VERONIKI, M. (2004) A survey of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) of Southeastern Europe and their aphid - plant associations. *Applied Entomology and Zoology* 39: 527-563.

LATHAM R. D. and MILLS N. J. (2010) Life history characteristics of *Aphidius transcaspicus*, a parasitoid of mealy aphids (*Hyalopterus* species). *Biological control* 54: 147-152.

LATHAM R. D. and MILLS N. J. (2012) Host instar preference and functional response of *Aphidius transcaspicus*, a parasitoid of mealy aphids (*Hyalopterus* species). *BioControl* 57: 603-610.

LOZIER, J.D., MILLS, N.J., RODERICK G.K. (2006) Di- and trinucleotide repeat microsatellites for the parasitoid wasp, *Aphidius transcaspicus*. *Molecular Ecology Notes* 6: 27–29

LOZIER, J.D., RODERICK, G. K., MILLS, N. J. (2008a) Evolutionarily significant units in natural enemies: Identifying regional populations of *Aphidius transcaspicus*

(Hymenoptera: Braconidae) for use in biological control of mealy plum aphid. *Biological Control* 46: 532–541.

LOZIER, J.D., RODERICK, G. K., MILLS, N. J. (2008b) Molecular markers reveal strong geographic, but not host associated, genetic differentiation in *Aphidius transcaspicus*, a parasitoid of the aphid genus *Hyalopterus*. *Bulletin of Entomological Research* 99: 83-96.

LOZIER, J.D., MILLS, N.J, (2009) Ecological Niche Models and Coalescent Analysis of Gene Flow Support Recent Allopatric Isolation of Parasitoid Wasp Populations in the Mediterranean. *PLoS ONE* 4(6): e5901. doi:10.1371/journal.pone.0005901.

LUMBIERRES B., STARÝ P., PONS X . (2011) Effect of Bt maize on the plant-aphid–parasitoid tritrophic relationship. *BioControl* 56: 133–143.

MACKAUER, M. (1961) Die Gattung der familie aphidiidae und ihre verwandtschaftliche Zuordnung. *Beiträge zur Entomologie* 11 (7/8) 792-803

MACKAUER, M. and STARÝ, P. (1967) Hymenoptera: Ichneumonoidea, World Aphidiidae. In Delucchi, V. & G. Remaudière (eds.): *Index of entomophagous insects. Le Francois, Paris*, 1-167.

MESCHELOFF, E. and ROSEN, D. (1990) Biosystematic studies on the Aphidiidae of Israel (Hymenoptera: Ichneumonoidea) 4. The Genera *Pauesia*, *Dieretus*, *Aphidius*, and *Diaeretiella*. *Israel Journal of Entomology* 24: 51-91.

O'DONNELL, D. J. (1989) A morphological and taxonomic study of first instar larvae of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Systematic Entomology* 14: 197-219.

OLMEZ S. and M. R. ULUSOY (2003) A Survey of Aphid Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in Diyarbakır, Turkey. *Phytoparasitica* 31: 524-528.

PENNACCHIO, F. (1989) The Italian species of the genus *Aphidius* Nees (Hymenoptera : Braconidae :Aphidiinae). *Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri*, 46, 75-106.

PETROVIĆ – OBRADOVIĆ O. (2003) Biljne vaši (Homoptera: Aphididae) Srbije. *Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu*. 1–153.

PETROVIĆ, A. (2011) Genetička i morfološka varijabilnost parazitskih osa *Aphidius urticae* s. str. grupe (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd*.

PETROVIĆ, A., TOMANOVIĆ, Ž., KAVALLIERATOS, N.G., STARÝ, P., ŽIKIĆ, V. (2009) *Aphidius geranii* sp.n. (Hymenoptera: Braconidae) from Southeast Europe – a new member of the *Aphidius urticae* s.str. group. *Entomologica fennica* 20:233–238.

QUICKE, D. L. J., LOPEZ-VAAMONDE, C., BELSHAW, R. (1999) The basal Ichneumonidae (Insecta, Hymenoptera): 28S D2 rDNA considerations of the Brachycyrtinae, Labeninae, Paxylommatinae and Xoridae. *Zoologica Scripta* 28: 203–210.

RAMAKRISHNA AYYAR T. V. (1927) The Parasitic Hymenoptera of Economic Importance noted from South India. *Bulletin of Entomological Research* 18: 73-78.

SANCHIS, A., LATORRE, A., GONZALES-CANDELAS, F., MICHLINA J.M. (2000) An 18S rRNA-based molecular phylogeny of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). *Molecular phylogenetics and Evolution* 14: 180-194.

SANCHIS, A., MICHLINA J.M., LATORRE, A., QUICKE, D.L.J., GÄRDENFORS, U., BELSHAW, R. (2001) The phylogenetic analyses of variable-length sequence data: Elongation factor-1 $\alpha$  introns in European populations of the parasitoid wasp genus *Pauesia* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Molecular Biology and Evolution* 18: 1117-1131.

SCHLINGER, E. I. and HALL, J. C. (1960) The biology, behavior and morphology of *Praon palitans* Muesebeck, an internal parasite of the spotted alphas aphid, *Therioaphis maculate* (Buckton) (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). *Annals of the Entomological Society of America* 53: 144-160.

SHARKEY, M. J. (1993) Family Braconidae, pp. 362-394. In: Goulet, H. and J. Huber (eds.). Hymenoptera of the world, an identification guide to families. *Agriculture Canada Research Branch Monograph* 1894E: 668.

SHARMA, A. K. and SUBBA RAO, P.R. (1964) A further contribution to the knowledge of the taxonomy and biology of Aphidiidae (Ichneumonidea: Hymenoptera) with particular reference to Indian forms. *Indian Journal of Entomology* 26: 458-460.

SHAW, M. R. and HUDDLESTON, T. (1991) Classification and biology of braconid wasps (Hymenoptera: Braconidae). *Royal Entomological Society Of London* 7 (11): 1-126.

SHI, M. and CHEN, X.X. (2005) Molecular phylogeny of the Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) based on DNA sequences of 16S rRNA, 18S rDNA and ATPase 6 genes. *European Journal of Entomology* 102: 133-138.

SHI, M., CHEN, X.X., VAN ACHTERBERG C. (2005) Phylogenetic relationships among the Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea) inferred from partial 16S rDNA, 28S rDNA D2, 18S rDNA gene sequences and morphological characters. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 37: 104–116.

SHORT, J. R. T. 1952. The morphology of the head of larval Hymenoptera with special reference to the head of Ichneumonoidea, including a classification of the final instar larvae of the Braconidae. *Trans. Royal Entomological Society of London* 103: 27-84.

SMITH, P. T., KAMBHAMPATI, S., VÖLKL, W., MACKAUER, M. (1999) A phylogeny of aphid parasitoids (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) inferred from

mitochondrial NADH1 dehydrogenase gene sequence. *Molecular phylogenetics and Evolution* 11: 236-245.

STARÝ, P. (1965) Integrated control of the mealy plum aphid *Hyalopterus pruni* (Geoffr.) in Czechoslovakia (Homoptera: Aphididae). *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.)* 1: 177-180.

STARÝ, P. (1970) Biology of aphid parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control. Dr W. Junk, The Hague.

STARÝ, P. (1972) *Aphidius platensis* Brethes, its distribution and host range (Hymenoptera: Aphididae). *Oriental insects* 6: 359-370.

STARÝ, P. (1973) A review of the *Aphidius* species (Hymenoptera: Aphidiidae) of Europe. *Annotationes zoologicae et botanicae (Bratislava)* 84: 1-85.

STARÝ, P. (1975) *Aphidius colemani* Viereck: its taxonomy, distribution, and host range. *Acta Entomol. Bohemoslov.* 72: 156-163.

STARÝ, P. (1976) External female genitalia of the Aphidiidae (Hymenoptera). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 73: 102-112.

STARÝ, P. (1981) On the strategy, tactics and trends of the host specificity evolution in aphid parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 78: 56-75.

STARÝ, P. (1988a) The emergence hole of aphid parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) its significance in a natural system. *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 71: 209-216.

STARÝ, P. (1988b) Aphidiidae. In "Aphids, their biology, Natural enemies and Control" (A. K. Minks & P. Harrewijn, Eds). *Elsevier, Amsterdam*. 2B: 171-184.

STARÝ, P. (2002) Field establishment of *Aphidius colemani* Vier. (Hym., Braconidae, Aphidiinae) in the Czech Republic. *Journal of Applied Entomology* 126: 405-408.

StatSoft, Inc. (2001) STATISTICA (data analysis software system), version 6. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).

TAKADA H. (1998) A review of *Aphidius colemani* (Hymenoptera: Braconidae; Aphidiinae) and closely related species indigenous to Japan. *Applied Entomology and Zoology* 33: 59-66

TAKADA H. (2002) Parasitoids (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae; Aphelinidae) of four principal pest aphids (Homoptera: Aphididae) on greenhouse vegetable crops in Japan. *Applied Entomology and Zoology* 37 (2): 237-249

TAMURA, K., PETERSON, D., PETERSON, N., STECHER, G., NEI, M., KUMAR, S., (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28, 2731-2739.

TOBIAS, V. I. (1967) A review of the classification, phylogeny and evolution of the family Braconidae (Hymenoptera). *Entomologicheskoe Obzorenie* 46: 645-669. (Na Ruskom), Engleski prevod u *Entomological Review*, Washington 46: 387-399.

TOBIAS, V. I. 1967. A review of the classification, phylogeny and evolution of the family Braconidae (Hymenoptera). *Entomologicheskoe Obzorenie* 46: 645-669. (Na Ruskom), Engleski prevod u *Entomological Review*, Washington 46: 387-399.

TOMANOVIĆ, Ž. and KAVALLIERATOS, N. G., (2002) Two new aphidiine wasps (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) from southeastern Europe. *Reichenbachia* 34: 341-345.



TOMANOVIĆ, Ž. and STARÝ, P. (2001) *Aphidius linosiphonis* sp. nov. (Hymenoptera: Braconidae:Aphidiinae), a new member of the aphid parasitoid guild associated with *Galium*. *Zootaxa* 6:1-4.

TOMANOVIĆ, Ž., BRAJKOVIĆ, M., KRUNIĆ M. (1999) Numerical discrimination of some *Aphidius* species (Aphidiidae, Hymenoptera) from Yugoslavia. *Archives of Biological Sciences* 51: 209-218.

TOMANOVIĆ, Z., KAVALLIERATOS, N. G., STARÝ, P., ATHANASSIOU, C. G., ŽIKIĆ, V., PETROVIĆ-OBRAĐOVIĆ, O., SARLIS, G. P. (2003) *Aphidius* Nees aphid parasitoids (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) in Serbia and Montenegro: tritrophic associations and key. *Acta Entomologica Serbica* 8(1/2): 15-39.

TOMANOVIĆ, Ž., KAVALLIERATOS, N. G., ATHANASSIOU, C. G., PETROVIĆ, O. STANISAVLJEVIĆ, L. Ž. (2004) A new *Aphidius* species (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) from high-montane areas of southeastern Europe. *Phytoparasitica* 32: 221-225.

TOMANOVIĆ, Ž., RAKHSHANI, E., KAVALLIERATOS, N.G., STANISAVLJEVIĆ LJ., ŽIKIĆ, V., ATHANASSIOU, C.G. (2007) Phylogenetic relationships between the genera *Aphidius* and *Lysaphidius* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) with description of *Aphidius iranicus* sp.nov. *Canadian Entomologist* 139: 297-307.

TOMANOVIĆ, Ž., KAVALLIERATOS, N. G., STARÝ, P., ŽIKIĆ, V., TOMIĆ, V. T., LUČIĆ, L. R. (2007) Redescription of two species of Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae) from high mountain areas of south-eastern Europe, with biological and biogeographical notes on co-occurring guild members. *Entomologica fennica* 18: 36-45.

UNRUH, T. R., WHITE, W., GONZALEZ, D., WOOLEY, J. B. (1989) Genetic relationships among seventeen *Aphidius* (Hymenoptera: Aphidiidae) populations, including six species. *Annals of the Entomological Society of America* 82: 754-768.

WANG X, MESSING RH. 2006. Potential host range of the newly introduced aphid parasitoid *Aphidius transcaspicus* (Hymenoptera: Braconidae) in Hawaii. *Proc Hawaiian Entomol Soc* 38:81–86.

VAN ACHTERBERG, C. (1990) Illustrated key to the subfamilies of the Holarctic Braconidae (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Zoologische Mendelingen* 64: 1-20.

VAN ACHTERBERG, C. (1993) Illustrated key to the subfamilies (Hymenoptera: Ichneumonoidea). *Zoologische Verhandelingen* 283: 1-189.

VAN ACHTERBERG, C. (2012) Fauna Europaea: Braconidae. *In*: van Achterberg (ed.): Fauna Europaea: Hymenoptera: Symphyta + Ichneumonoidea. Fauna Europaea version 1.1, <http://www.faunaeur.org> (accessed 10 November 2012).

VAUGHN T. T. and ANTOLIN, M. F. (1998) Population genetics of an opportunistic parasitoid in an agricultural landscape. *Heredity* 80: 152–162.

VIERECK, H. L. (1912) Description of five new genera and twenty-six new species of ichneumon flies. *Proc. U. S. Nat. Mus.* 42: 39-153

ŽIKIĆ, V., TOMANOVIĆ, Ž., IVANOVIĆ, A., KAVALLIERTOS, N.G., STARÝ, P., STANISAVLJEVIĆ, LJ., RAKHSHANI, E. (2009) Morphological Characterization of *Ephedrus persicae* Biotypes (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) in the Palaeartic. *Annals of the Entomological Society of America* 102(1): 1-11

## 8. PRILOG

Tabela P1. Spisak jedinki korišćenih u morfometrijskim analizama

ID	Država	lokalitet	vaš	biljka	parazitoid
1	Iran	Kerman	Myzus persicae	Althea sp	A. transcaspicus
2	Iran	Kerman	Myzus persicae	Althea sp	A. transcaspicus
3	Iran	Kerman	Myzus persicae	Althea sp	A. transcaspicus
4	Iran	Kerman	Myzus persicae	Althea sp	A. transcaspicus
5	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
6	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
7	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
8	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
9	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
10	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
11	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
12	Iran	Kerman	Myzus persicae	Lycopersicum esculentum	A. transcaspicus
272	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Prunus persica	A. transcaspicus
273	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
274	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
275	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
276	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
277	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
278	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
279	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
280	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
281	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
282	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
283	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
284	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
285	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
286	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
287	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
288	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
289	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
290	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
291	France	Antibes	Hyalopterus pruni	Punus persica	A. transcaspicus
13	Iran	Kerman 323	Brachycaudus tragopogonis	Tragopogon sp.	A. cf. colemani 1
14	Iran	Kerman 323	Brachycaudus tragopogonis	Tragopogon sp.	A. cf. colemani 1
15	Iran	Kerman 323	Brachycaudus tragopogonis	Tragopogon sp.	A. cf. colemani 1
16	Iran	Kerman 323	Brachycaudus tragopogonis	Tragopogon sp.	A. cf. colemani 1
24	Iran	Kerman 278	Brachycaudus helichrysi	Calendula	A. cf. colemani 1
25	Iran	Kerman 278	Brachycaudus helichrysi	Calendula	A. cf. colemani 1
26	Iran	Kerman 278	Brachycaudus helichrysi	Calendula	A. cf. colemani 1
27	Iran	Kerman 278	Brachycaudus helichrysi	Calendula	A. cf. colemani 1
28	Iran	Zahedan	Aphis nerii	N . oleander	A. cf. colemani 1
29	Iran	Zahedan	Aphis nerii	N . oleander	A. cf. colemani 1
30	Iran	Zahedan	Aphis nerii	N . oleander	A. cf. colemani 1
31	Iran	Zahedan	Aphis nerii	N . oleander	A. cf. colemani 1
32	Iran	Zahedan	Aphis nerii	N . oleander	A. cf. colemani 1
33	Iran	Zahedan	Aphis nerii	N . oleander	A. cf. colemani 1
34	Iran	Zahedan	Aphis nerii	N . oleander	A. cf. colemani 1
122	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
123	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
124	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
125	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
126	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
127	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1



Tabela P1. Spisak jedinki korišćenih u morfometrijskim analizama, nastavak

ID	Država	lokalitet	vaš	biljka	parazitoid
307	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
308	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
309	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
310	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
311	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
312	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
313	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
314	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
315	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
316	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
317	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
318	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
319	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
320	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
321	Chile	lab transfers	Diuraphis noxia	lab transfers	A. cf. colemani 1
322	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
323	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
324	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
325	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
326	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
327	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
328	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
329	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
330	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
331	Chile	lab transfers	Rhopalosiphum padi	lab transfers	A. cf. colemani 1
35	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
36	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
37	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
38	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
39	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
40	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
41	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
42	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
43	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
44	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
45	Greece	Kifissia	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
46	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
47	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
48	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
49	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
50	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
51	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
52	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
53	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
54	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
55	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
56	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
57	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
59	Greece	Kyparissia	Aphis parietariae	Parietaria diffusa	A. colemani
60	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
61	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
62	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
63	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
64	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
65	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
66	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
67	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
68	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani

Tabela P1. Spisak jedinki korišćenih u morfometrijskim analizama, nastavak

ID	Država	lokalitet	vaš	biljka	parazitoid
69	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
70	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
71	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
73	Greece	Valam	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
74	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
76	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
77	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
78	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
79	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
80	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
81	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
82	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
83	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
84	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
85	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
86	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
87	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
88	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
89	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
90	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
91	Turkey	Ankara	Aphis fabae	Vitis vinifra	A. colemani
92	Greece	Kalamata	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
93	Greece	Kalamata	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
94	Greece	Kalamata	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
95	Greece	Kalamata	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
96	Greece	Kalamata	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
97	Greece	Kalamata	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
98	Montenegro	Tivat	Aphis granatum	Punica granatum	A. colemani
99	Montenegro	Tivat	Aphis granatum	Punica granatum	A. colemani
100	Montenegro	Tivat	Aphis granatum	Punica granatum	A. colemani
101	Montenegro	Tivat	Aphis granatum	Punica granatum	A. colemani
102	Montenegro	Tivat	Aphis granatum	Punica granatum	A. colemani
103	Montenegro	Tivat	Aphis granatum	Punica granatum	A. colemani
104	Montenegro	Tivat	Aphis granatum	Punica granatum	A. colemani
105	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
106	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
107	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
108	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
109	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
110	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
111	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
112	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
113	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
114	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
115	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
116	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
117	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
118	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
119	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
120	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
121	Libya	Zliten	Aphis nerii	N . oleander	A. colemani
171	Ethiopia		Ceareal aphis		A. cf. colemani 2
172	Ethiopia		Ceareal aphis		A. cf. colemani 2
173	Ethiopia		Ceareal aphis		A. cf. colemani 2
174	Ethiopia		Ceareal aphis		A. cf. colemani 2
175	Ethiopia		Ceareal aphis		A. cf. colemani 2
176	Ethiopia		Ceareal aphis		A. cf. colemani 2
177	Ethiopia		Ceareal aphis		A. cf. colemani 2

Tabela P1. Spisak jedinki korišćenih u morfometrijskim analizama, nastavak

ID	Država	lokalitet	vaš	biljka	parazitoid
178	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
179	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
180	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
181	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
183	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
184	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
185	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
186	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
187	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
188	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
189	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
190	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
191	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
192	Ethiopia		Diuraphis noxia		A. cf. colemani 2
193	Ethiopia		Diuraphis noxia		A. cf. colemani 2
194	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
199	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
200	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
201	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
202	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
203	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
204	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
205	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2
206	Ethiopia		Cereal aphid		A. cf. colemani 2

## BIOGRAFIJA AUTORA

Mr Alkasm Hesem Shukshuk je rođen 15.11.1972. godine u Zlitenu, Libija. Oženjen je i ima tri sina. Završio je Prirodno matematički fakultet Univerziteta 7. Oktobar u Misurati, Libija. Diplomirao je na Odseku za biologiju u maju 1995. godine. Na istom fakultetu je i magistrirao 25. novembra 2005. na temu: „Efekat nekih ekstrakata lijandera, *Nerium oleander* (Apocynaceae) on *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae).“

Od 1997. godine radi kao demonstrator na praktičnim vežbama zooloških kurseva na Odseku za biologiju, Fakulteta nauka i umetnosti, Univerziteta u Zlitenu, Libija. Nakon sticanja zvanja magistra nauka zapošljava se kao asistent na Odseku za biologiju, Fakulteta nauka i umetnosti, Univerziteta u Zlitenu, gde radi do 2008. godine.

Dobitnik je stipendije Libijske vlade za doktorsko usavršavanje u inostranstvu i od 2008. godine radi na izradi doktorske disertacije na Univerzitetu u Beogradu, Biološki fakultet.

Član je Entomološkog društva Srbije.

Služi se sledećim jezicima: arpski (maternji), engleski (tečno) i srpski (početni nivo).



Прилог 1.

## Изјава о ауторству

Потписани-а \_\_\_\_\_ Alkasm Hesen Shukshuk \_\_\_\_\_

број индекса \_\_\_\_\_

### Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

#### **Morfološka i genetička karakterizacija *Aphidius colemani* kompleksa vrsta (Hymenoptera, Braconidae)**

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис докторанта

У Београду, 17. 11.2012.



---

Прилог 2.

## Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора \_\_\_\_\_ Alkasm Hesen Shukshuk \_\_\_\_\_

Број индекса \_\_\_\_\_

Студијски програм \_\_\_\_\_ Морфологија, систематика и филогенија животиња \_\_\_\_\_

Наслов рада **Morfološka i genetička karakterizacija *Aphidius colemani*  
kompleksa vrsta (Hymenoptera, Braconidae)**

Ментор \_\_\_\_\_ др Жељко Томановић и др Анђељко Петровић \_\_\_\_\_

Потписани/а \_\_\_\_\_ Alkasm Hesen Shukshuk \_\_\_\_\_

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

**Потпис докторанда**

У Београду, \_\_\_\_\_ 17.11.2012 \_\_\_\_\_



Прилог 3.

## Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

**Morfološka i genetička karakterizacija *Aphidius colemani* kompleksa vrsta (Hymenoptera, Braconidae)**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис докторанда

У Београду, 17. 11.2012.



1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.