

# Multidisciplinarni pristup istraživanju rezistentnosti kod kukaca

---

**Kadoić Balaško, Martina; Lemić, Darija; Mikac, Katarina Maryann; Bažok, Renata**

Source / Izvornik: **GLASILO FUTURE, 2021, 4, 22 - 36**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

<https://doi.org/10.32779/gf.4.4.2>

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:359567>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Nekomercijalno-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



ISSN 2623-6575

UDK 63

# GLASILO FUTURE

PUBLIKACIJA FUTURE - STRUČNO-ZNANSTVENA UDRUGA ZA PROMICANJE ODRŽIVOG RAZVOJA, KULTURE I MEĐUNARODNE SURADNJE, ŠIBENIK

VOLUMEN 4 BROJ 4

LISTOPAD 2021.

## Glasiilo Future

### Stručno-znanstveni časopis

**Nakladnik:**

FUTURA



Sjedište udruge: Šibenik

**Adresa uredništva:**

Bana Josipa Jelačića 13 a, 22000 Šibenik, Hrvatska / Croatia

☎ / 📠: +385 (0) 022 218 133

✉: urednistvo@gazette-future.eu / editors@gazette-future.eu

🌐: www.gazette-future.eu

**Uređivački odbor / Editorial Board:**
Doc. dr. sc. Boris Dorbić, v. pred. – glavni i odgovorni urednik / *Editor-in-Chief*Emilija Friganović, dipl. ing. preh. teh., v. pred. – zamjenica g. i o. urednika / *Deputy Editor-in-Chief*Ančica Sečan, mag. act. soc. – tehnička urednica / *Technical Editor*Antonia Dorbić, mag. art. – zamjenica tehničke urednice / *Deputy Technical Editor*

Prof. dr. sc. Željko Španjol

Mr. sc. Milivoj Blažević

Vesna Štibrić, dipl. ing. preh. teh.

Gostujuća urednica / *Guest editor* / (2021) 4(4) – doc. dr. sc. Maja Čačija
**Međunarodno uredništvo / International Editorial Board:**

Prof. dr. sc. Kiril Bahcevdandiev – Portugalska Republika (Instituto Politécnico de Coimbra)

Prof. dr. sc. Martin Bobinac – Republika Srbija (Šumarski fakultet Beograd)

Prof. dr. sc. Zvezda Bogevska – Republika Sjeverna Makedonija (Fakultet za zemjodjelski nauki i hrana Skopje)

Dario Bognolo, mag. ing. – Republika Hrvatska (Veleučilište u Rijeci)

Prof. dr. sc. Agata Cieszewska – Republika Poljska (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie)

Dr. sc. Bogdan Cvjetković, prof. emeritus – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Duška Čurić – Republika Hrvatska (Prehrambeno-biotehnoški fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Margarita Davitkovska – Republika Sjeverna Makedonija (Fakultet za zemjodjelski nauki i hrana Skopje)

Prof. dr. sc. Dubravka Dujmović Purgar – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Josipa Giljanović – Republika Hrvatska (Kemijsko-tehnoški fakultet u Splitu)

Prof. dr. sc. Semina Hadžiabulić – Bosna i Hercegovina (Agromediterranski fakultet Mostar)

Prof. dr. sc. Péter Honfi – Mađarska (Faculty of Horticultural Science Budapest)

Prof. dr. sc. Mladen Ivić – Bosna i Hercegovina (Univerzitet PIM)

Doc. dr. sc. Anna Jakubczak – Republika Poljska (Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy)

Doc. dr. sc. Orhan Jašić – Bosna i Hercegovina (Filozofski fakultet Tuzla)

Prof. dr. sc. Tajana Krička – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Doc. dr. sc. Dejan Kojić – Bosna i Hercegovina (Univerzitet PIM)

Slobodan Kulić, mag. iur. – Republika Srbija (Srpska ornitološka federacija i Confederation ornitologique mondiale)

Prof. dr. sc. Biljana Lazović – Crna Gora (Biotehnički fakultet Podgorica)

Prof. dr. sc. Branka Ljevnaić-Mašić – Republika Srbija (Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Novom Sadu)

Doc. dr. sc. Zvonimir Marijanović – Republika Hrvatska (Kemijsko-tehnoški fakultet u Splitu)

Doc. dr. sc. Ana Matin – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Bosiljka Mustać – Republika Hrvatska (Sveučilište u Zadru)

Prof. dr. sc. Ayşe Nilgün Atay – Republika Turska (Mehmet Akif Ersoy University – Burdur, Food Agriculture and Livestock School)

Prof. dr. sc. Tatjana Prebeg – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Prof. dr. sc. Bojan Simovski – Republika Sjeverna Makedonija (Fakultet za šumarski nauki, pejzažna arhitektura i ekoingženering "Hans Em" Skopje)

Prof. dr. sc. Davor Skejić – Republika Hrvatska (Građevinski fakultet Zagreb)

Akademik prof. dr. sc. Mirko Smoljić, prof. v. š. – Republika Hrvatska (Sveučilište Sjever, Varaždin/Koprivnica, Odjel ekonomije)

Prof. dr. sc. Nina Šajna – Republika Slovenija (Fakulteta za naravoslovje in matematiko)

Akademik prof. dr. sc. Refik Šećibović – Bosna i Hercegovina (Visoka škola za turizam i menadžment Konjic)

Prof. dr. sc. Andrej Šušek – Republika Slovenija (Fakulteta za kmetijstvo in biosistemske vede Maribor)

Prof. dr. sc. Elma Temim – Bosna i Hercegovina (Agromediterranski fakultet Mostar)

Mr. sc. Merima Toromanović – Bosna i Hercegovina (Biotehnički fakultet Univerziteta u Bihaću)

Prof. dr. sc. Marko Turk – Ruska Federacija (University of Tyumen)

Doc. dr. sc. Ivana Vitasović Kosić – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Doc. dr. sc. Ana Vujošević – Republika Srbija (Poljoprivredni fakultet Beograd)

Sandra Vuković, mag. ing. – Republika Srbija (Poljoprivredni fakultet Beograd)

Prof. dr. sc. Vesna Židovec – Republika Hrvatska (Agronomski fakultet Zagreb)

Grafika priprema: Ančica Sečan, mag. act. soc.

Objavljeno: 20. listopada 2021. godine.

Časopis izlazi u elektroničkom izdanju dva puta godišnje, krajem lipnja i prosinca, a predviđena su i dva specijalna izdanja tijekom godine iz biotehničkog područja.

Časopis je besplatan. Rukopisi i recenzije se ne vraćaju i ne honoriraju.

Autori/ce su u potpunosti odgovorni/e za sadržaj, kontakt podatke i točnost engleskog jezika.

Umnožavanje (reproduciranje), stavljanje u promet (distribuiranje), priopćavanje javnosti, stavljanje na raspolaganje javnosti odnosno prerada u bilo kojem obliku nije dopuštena bez pismenog dopuštenja Nakladnika.

Sadržaj objavljen u Glasilu Future može se slobodno koristiti u osobne i obrazovne svrhe uz obvezno navođenje izvora.

## ***Glasilo Future***

### **Stručno-znanstveni časopis**

FUTURA – stručno-znanstvena udruga za promicanje održivog razvoja, kulture i međunarodne suradnje, Bana Josipa Jelačića 13 a, 22000 Šibenik, Hrvatska

(2021) 4 (4) 01–80

#### **SADRŽAJ:**

	Str.
<b><i>Pregledni rad (scientific review)</i></b>	
<i>I. Juran, Kristina Šumić, Maja Čačija</i>	
Mogućnosti suzbijanja cvjetnog štitašnog moljca prirodnim neprijateljima i botaničkim insekticidima Possibilities of controlling the greenhouse whitefly by natural enemies and botanical insecticides .....	01–21
<i>Martina Kadoić Balaško, Darija Lemić, Katarina Maryann Mikac, Renata Bažok</i>	
Multidisciplinarni pristup istraživanju rezistentnosti kod kukaca A multidisciplinary approach to insect resistance research .....	22–36
<b><i>Stručni rad (professional paper)</i></b>	
<i>Maja Čačija, Petra Runjak, I. Juran</i>	
Entomofauna lucerne na pokušalištu Šašinovec Entomofauna of alfalfa at the Šašinovec experimental station .....	37–55
<i>Klara Barić, Z. Ostojić, Ana Pintar</i>	
Europski mračnjak ( <i>Abutilon theophrasti</i> Medik.) – biologija, ekologija, morfologija i suzbijanje Velvetleaf ( <i>Abutilon theophrasti</i> Medik.) – biology, ecology, morphology and control .....	56–64
<i>Valentina Šoštarčić, D. Višić, Maja Šćepanović</i>	
Inter-populacijska varijabilnost sjemena ambrozije – mehanizam uspješne prilagodbe na različite okolišne uvjete Inter-population variability of common ragweed seeds – a mechanism of successful adaptation to different environmental conditions .....	65–78
<b><i>Upute autorima (instructions to authors)</i></b> .....	79–80

## Multidisciplinarni pristup istraživanju rezistentnosti kod kukaca

### A multidisciplinary approach to insect resistance research

Martina Kadoić Balaško<sup>1\*</sup>, Darija Lemić<sup>1</sup>, Katarina Maryann Mikac<sup>2</sup>, Renata Bažok<sup>1</sup>

*pregledni rad (scientific review)*

doi: 10.32779/gf.4.4.2

*Citiranje/Citation*<sup>3</sup>

#### Sažetak

Pojava rezistentnosti na insekticide kod kukaca ozbiljan je i rastući problem u poljoprivrednoj proizvodnji. Razvijanjem učinkovitih programa praćenja rezistentnosti omogućava se rano otkrivanje rezistentnosti te razvoj i pravovremena implementacija antirezistentnih strategija. Polimorfizam pojedinačnog nukleotida, engl. Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), novija je metoda analize cijelog genoma utvrđivanjem polimorfizma pojedinih nukleotida. Primjena SNPs-a na nemodelnim organizmima postala je pristupačno i lako dostupno sredstvo za generiranje važnih podataka o brojnim vrstama što bi inače bilo nemoguće zbog visokih troškova i često nedostatka stručnosti laboratorijskog osoblja. Obzirom na ogroman mogući broj pojedinačnih nukleotidnih polimorfizama koji se javljaju kod kukaca (od tisuće do milijuna), a koji se lako generiraju u jednom slijedu, pri izboru alata za utvrđivanje populacijske genetike neke vrste, SNPs tehnika je po svojim performansama daleko nadmašila primjenu mikrosatelita. S obzirom na velik broj SNPs-a (od tisuće do milijuna) koji se lako generiraju u jednom slijedu, nadmašili su mikrosatelite u izboru istraživačkog alata kada je u pitanju utvrđivanje. Kukuruzna zlatica (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte), krumpirova zlatica (*Leptinotarsa decemlineata* Say) i jabukin savijač (*Cydia pomonella* L.) najvažniji su štetnici koji ugrožavaju proizvodnju važnih ratarskih i voćarskih kultura u svijetu, ali i u Hrvatskoj. Sve navedene vrste razvile su rezistentnost na insekticide ili na strategije suzbijanja. U radu je prikazan pregled problema rezistentnosti kod navedenih štetnika, pregled genetskih istraživanja te način i mogućnost korištenja SNPs-ova za istraživanje rezistentnosti.

**Ključne riječi:** antirezistentne strategije, rezistentnost, krumpirova zlatica, kukuruzna zlatica, jabukin savijač.

<sup>1</sup> Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju, Svetošimunska cesta 25, 10000 Zagreb, Republika Hrvatska.

\* E-mail: mbalasko@agr.hr.

<sup>2</sup> Centre for Sustainable Ecosystem Solutions, School of Biology, Faculty of Science, Medicine and Health, University of Wollongong, Wollongong 2522, Australia.

<sup>3</sup> Kadoić Balaško, M., Lemić, D., Mikac, K. M., Bažok, R. (2021). Multidisciplinarni pristup istraživanju rezistentnosti kod kukaca. *Glasilo Future*, 4(4), 22–36. / Kadoić Balaško, M., Lemić, D., Mikac, K. M., Bažok, R. (2021). A multidisciplinary approach to insect resistance research. *Glasilo Future*, 4(4), 22–36.

## Abstract

Insect resistance to pesticides is a serious and growing problem in agricultural production systems. Regular monitoring for insecticide resistance is essential in order to react proactively to prevent its occurrence compromising effective pest control. Effective resistance monitoring programs capable for early detection of insecticide resistance in pest populations are needed in order to allow the implementation of insect resistance management (IRM) strategies in a timely manner. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) are single base substitutions found at a single genomic locus. The use of SNPs in non-model organisms represents an affordable and readily accessible tool for generating important genetic data on species of interest, that otherwise would be disabled due to expensive costs and lack of available expertise personnel. Given the vast number of SNPs (thousands to millions) that are easily and affordably generated in a single sequencing run, in understanding of population genetics of a species SNPs represents an advanced technique over the use of microsatellites. Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte), Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) and codling moth (*Cydia pomonella* L.) are the most important pests in Croatian agriculture. These insect species have developed resistance to many insecticides commonly used in pest management strategies. This paper provides an overview of the insecticide resistance problem in these three important pest species, genetic research and the possibility of using SNPs for resistance research.

**Key words:** antiresistance strategies, resistance, Colorado potato beetle, western corn rootworm, codling moth.

## Uvod

Rezistentnost štetnika poznata je od vremena od kada ljudi koriste kemijske metode zaštite bilja. Prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO, 2012.) rezistentnost štetnika je sposobnost kukca da se odupre učinku insekticida, odnosno kukac postaje otporan na toksične učinke putem prirodne selekcije i mutacije. Pojava rezistentnosti može ugroziti učinkovito suzbijanje štetnika što se može spriječiti pro-aktivnim djelovanjem koje podrazumijeva monitoring odnosno praćenje pojave rezistentnosti štetnika. Brojni autori navode kako je praćenjem, karakterizacijom i predviđanjem pojave i širenja rezistentnosti moguće duže koristiti postojeća sredstva za zaštitu bilja (Foster, 2006; Liu, 2012). Otkrivanje i monitoring rezistentnih populacija prvi je korak prema implementaciji antirezistentnih strategija i održivoj uporabi pesticida. Antirezistentne strategije imaju za cilj suzbiti rezistentne populacije kukaca te spriječiti ili što više odgoditi pojavu rezistentnosti (Bažok i Lemić, 2017).

Kukuruzna zlatica (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1858), krumpirova zlatica (*Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824) i jabukin savijač (*Cydia pomonella* L., 1758) najvažniji su štetnici koji

ugrožavaju proizvodnju važnih ratarskih i voćarskih kultura u svijetu, ali i u Hrvatskoj. Navedeni štetnici razvili su rezistentnost na insekticide (krumpirova zlatica i jabukin savijač), ali i na strategije suzbijanja (kukuruzna zlatica). Iz tog razloga nužno je razviti učinkovite programe praćenja rezistentnosti, koji omogućuju rano otkrivanje rezistentnosti te razvoj i pravovremenu implementaciju antirezistentnih strategija. Antirezistentne strategije mogu osigurati dugoročnu učinkovitost suzbijanja štetnika. Polimorfizam pojedinačnog nukleotida (engl. Single Nucleotide Polymorphism (SNP)) novija je metoda analize cijelog genoma. Primjena SNP-a u nemodelnim organizmima postala je pristupačno i lako dostupno sredstvo za generiranje važnih podataka o brojnim vrstama što bi inače bilo nemoguće zbog visokih troškova i često nedostatka stručnosti laboratorijskog osoblja (Xing et al., 2005). Upotreba SNPs-a mogla bi pomoći u boljem razumijevanju populacijske genetike kukuruzne i krumpirove zlatice te jabukinog savijača. Takvi podaci, koji podrazumijevaju utvrđivanje promjene genoma povezane s razvojem rezistentnosti, ključni su za provedbu antirezistentnih programa kao sastavnog dijela integrirane zaštite bilja od štetnika. U ovom preglednom radu opisan je problem rezistentnosti kod navedenih važnih štetnika te je napravljen pregled istraživanja vezan za genetska istraživanja te mogućnost korištenja SNP-ova za detekciju rezistentnosti.

### **Problem rezistentnosti**

Kukuruzna zlatica (*D. virgifera virgifera* LeConte), veoma je važan štetnik kukuruza na području SAD-a, ali i Europe. Prvi slučaj rezistentnosti ovog štetnika zabilježen je na insekticide iz skupine kloriranih ugljikovodika (OC insekticidi) aldrin i heptaklor 1959. godine u Nebraski (Ball i Weekman, 1962; 1963). Do danas, rezistentnost kukuruzne zlatice je zabilježena i na pojedine organofosforne insekticide (OP insekticidi) (metil paration), karbamate (karbaril) (Mainke et al., 1998; Wright et al., 2000) i piretroide (P) (bifentrin i teflutrin) (Pereira et al., 2015, 2017). Europske populacije kukuruzne zlatice pokazale su rezistentnost na aldrin (Ciosi et al., 2009). Rezistentnosti na *Bacillus thuringiensis* (Bt) toksin Cry3Bb1 prvi puta je zabilježena kod populacija zlatice iz Iowe (Gassmann et al., 2011), a s vremenom se proširila i u ostale države SAD-a (Gassmann, 2012; Wangila et al., 2015). Pojava unakrsne rezistentnosti između toksina Cry3Bb1 i mCry3A stvorila je dodatne probleme u suzbijanju kukuruzne zlatice (Gassmann et al., 2014; Wangila et al., 2015). Plodoredom gdje se najčešće izmjenjuju kukuruz i soja moguće je prekinuti životni ciklus štetnika jer jaja koja su odložena na staro polje kukuruza zasijati će se drugim usjevom (obično soja) gdje ličinke nisu u stanju preživjeti (Kiss et al., 2005). Upravo zato, plodored se koristio kao jedna od mjera za smanjivanje šteta u pojedinim područjima SAD i to vrlo uspješno, međutim početkom 90-tih godina uočeno je da je dio zlatice promijenio svoje navike i počeo odlagati jaja na polja sa sojom odnosno u usjev bez domaćina (Levine i Oloumi-Sadeghi, 1996; Sammons et al., 1997; Levine et al., 2002).

Jabukin savijač (*Cydia pomonella* L.), najznačajniji je štetnik jabuke u Hrvatskoj i u svijetu. Razvio je rezistentnost na različite grupe sintetskih insekticida u SAD-u i Europi zbog intenzivne primjene

insekticida (Franck et al., 2007). Prvi slučaj rezistentnosti savijača zabilježen je 1928. godine na arsenate u SAD-u (Reyes, 2007). Od tada se u gotovo svim glavnim regijama uzgoja jabuke prijavljuju novi slučajevi rezistentnosti. Prva pojava rezistentnosti jabukina savijača u Europi zabilježena je u Italiji i jugoistočnoj Francuskoj tijekom devedesetih godina prošlog stoljeća na diflubenzuron (Ioriatti et al., 2000; Sauphanor et al., 2000). Od tada se spektar rezistentnosti dramatično povećao te obuhvaća karbamate, regulatore rasta i razvoja, benzoiluree, neonikotinoide, organofosforne i piretroide (Tablica 1.). (Reyes et al., 2009; APRD, 2020a).

**Tablica 1.** Pregled djelatnih tvari na koje je jabukin savijač razvio rezistentnosti prema Arthropod Pesticide Resistance Database. APRD, 2020a.

*Table 1. Review of active ingredients and resistance development in Codling moth according to the Arthropod Pesticide Resistance Database. APRD, 2020a.*

Grupa insekticida	Insekticid/Djelatna tvar	Rezistentnost (godina prve pojave)
Ostali	olovni arsenat	1928
Klorirani ugljikovodici	DDT	1955
	TDE	1965
	metoksiklor	1965
Organofosforne	azinfos-metil	1991
	klorpirifos	2011
	paration	1965
	paration-metil	2011
	fosmet	1999
Karbamati	karbaril	2012
Piretroidi	deltametrin	2001
	lambda-cihalotrin	2008
Mikrobiološki insekticidi	Codling moth granulovirus (CpGV)	2007
Regulatori rasta i razvoja	diflubenzuron	1988
	triflumuron	1995
	teflubenzuron	1995
	flufenoksuron	2011
	fenoksikarb	2007
	tebufenozid	1995
	methoksifenozid	2008
Neonikotinoidi	acetamiprid	2010
	tiaklopid	2011



Dodatni problem pojavio se razvojem unakrsne rezistentnosti zbog koje je štetnik istovremeno stekao rezistentnost na nekoliko kemijskih podskupina insekticida (Sauphanor et al., 1998; Dunley i Welter, 2000).

Prema Arthropod Pesticide Resistance Database (APRD, 2020a), jabukin savijač razvio je rezistentnost na 22 različite aktivne tvari te je zabilježeno 193 slučaja rezistentnosti. U svijetu je trenutačno poznato pet mehanizama rezistentnosti savijača.

Rezistentnost je povezana sa sustavima za detoksikaciju mješovitih funkcionalnih oksidaza (MFO), glutation-S-transferaza (GST), esteraza (EST), kdr mutacija koja odgovara zamjeni L1014F u naponu ovisnom o proteinu natrijevih kanala i acetilkolinesteraza (AChE) koji se primjenom različitih enzimatskih i molekularnih metoda istražuju u pojedinim populacijama štetnika (Reyes et al., 2009).

Krumpirova zlatica jedan je od ekonomski najvažnijih štetnika krumpira u Hrvatskoj i svijetu (Hare, 1990). U proteklih šezdeset godina, krumpirova zlatica razvila je rezistentnost na 56 različitih aktivnih tvari diljem uzgojnih područja krumpira u svijetu (Slika 1.).

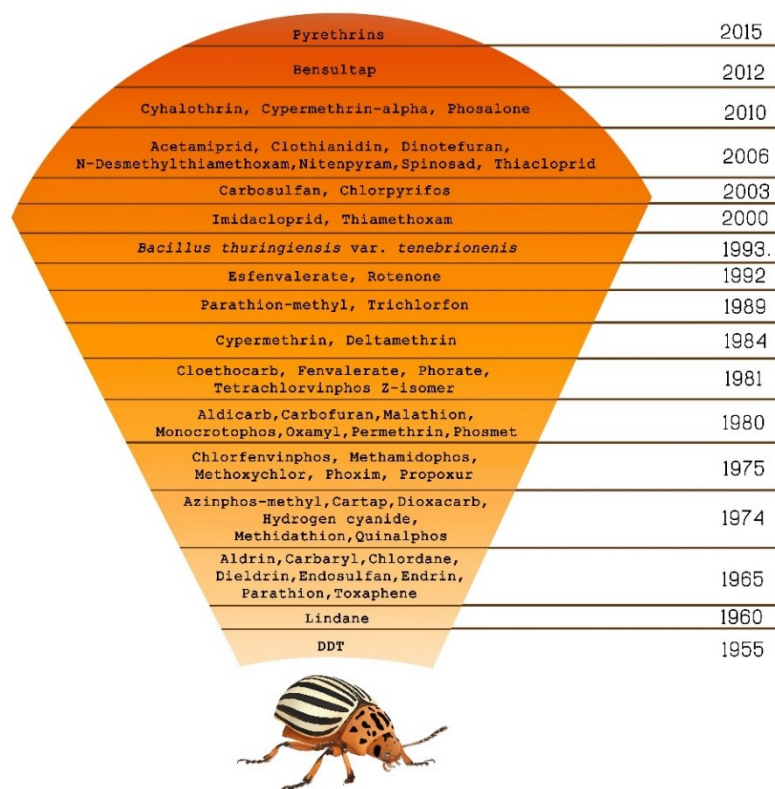
Prvi slučaj rezistentnosti zabilježen je 1955. na tada često korišteni DDT (Alyokhin, 2008). Rezistentnost na dieldrin zabilježena je 1958., a zatim i na druge insekticide iz skupine OC insekticida (Alyokhin, 2008).

Vrlo brzo zabilježena je rezistentnost i na karbamate (APRD, 2020b).

Rezistentnost na azinfosmetil iz skupine OP insekticida prvi puta je zabilježena 1974. godine, a zatim je rezistentnost zabilježena i na druge aktivne tvari iz ove skupine insekticida (APRD, 2020b).

Rezistentnost na piretroide prvi je puta zabilježena na aktivnu tvar permetrin 1980. godine (APRD, 2020b). Početkom 90-tih godina prošlog stoljeća proizvođači krumpira u SAD-u gotovo da nisu imali nikakva kemijska rješenja za suzbijanje krumpirove zlatice. Novi insekticidi iz skupine neonikotinoida koji su na tržište došli 1995. godine proizvođačima su donijeli olakšanje. Međutim, vrlo brzo prijavljeni su prvi slučajevi rezistentnosti na insekticide iz ove skupine (Zhao et al., 2000; Olson et al., 2000; Mota-Sanchez et al., 2006; Alyokhin et al., 2007).

Prva pojava rezistentnosti na OP insekticide i karbamate u Hrvatskoj je dokazana 1986. nakon 16 odnosno 18 godina uporabe, a rezistentnost na piretroide dokazana je 1987. nakon samo sedam godina njihove primjene (Maceljki i Igrc, 1992; Maceljki, 1995; Igrc Barčić et al., 1999). U kasnim 1990-tim, na području Hrvatske, za suzbijanje krumpirove zlatice rabili su se insekticidi iz grupe neonikotinoida i drugi insekticidi za koje rezistentnost u Hrvatskoj nije utvrđena (Igrc Barčić et al., 1999).



**Slika 1.** Vremenska crta razvoja rezistentnosti kod krumpirove zlatice (Izvor: Kadoić Balaško et al., 2020).

**Figure 1.** Timeline of resistance development in Colorado potato beetle (Source: Kadoić Balaško et al., 2020).

## Dosadašnja genetska istraživanja

### Genetska istraživanja kukuruzne zlatice

Lemić et al. (2013) prvi su istraživali vremensku i prostornu promjenu genetske strukture kukuruzne zlatice s ciljem procjene genetske varijabilnosti, protoka gena u populacijama i dinamike invazije ovog štetnika u Hrvatskoj te utjecaj mjera suzbijanja na parametre populacijske genetike. Istražujući populacije kukuruzne zlatice diljem Hrvatske tijekom 13-godišnjeg razdoblja, bilo je moguće utvrditi da se zbog nedostatka kontrole odnosno suzbijanja (tijekom 1996.-2009.) povećala genetska raznolikost populacija, a minimalna genetska struktura ostala je sve do danas očuvana. Mikrosatelitski markeri korišteni su za ispitivanje genetske varijabilnosti i strukture populacija kukuruzne zlatice prikupljenih tijekom 1996., 2009. i 2011. s brojnih lokacija diljem Hrvatske, Srbije i SAD-a. Rezultati dobiveni ovim istraživanjima ključni su za daljnje razumijevanje dinamike populacije kukuruzne zlatice tijekom glavnih faza europske invazije (Lemić et al., 2014). Već više od desetljeća populacijski genetski monitoring se koristi za informiranje o učinkovitim mjerama kontrole i zaštite protiv ovog važnog štetnika u Hrvatskoj (Lemić et al., 2017), a pokazao se korisnim i u razumijevanju invazije kukuruzne zlatice u Hrvatskoj i drugim zemljama.

Ivkosic et al., 2014 u svom istraživanju pokazali su da je sedam američkih populacija kukuruzne zlatice pokazalo najveću različitost alela u usporedbi s hrvatskim i srpskim populacijama. Pronađena je minimalna vremenska genetska varijabilnost među populacijama u Europi i Sjedinjenim Državama; rezultat koji je prethodno pokazan samo za vrste u SAD-u (Kim i Sappington, 2005). Bayesiev algoritam klasteriranja pokazao je dva genetska klastera i tako spojio populacije kukuruzne zlatice iz Hrvatske i Srbije te ih odvojio od američkih populacija. Klasteri su pokazali da su američke jedinke imale i europsko i američko porijeklo, što upućuje na postojanje dvosmjernog protoka gena (Lemic et al., 2015). Uska grla detektirana su u svim hrvatskim populacijama iz 1996. i 2011. te kod samo dvije populacije u 2009. godini. Kod populacija iz Srbije od 1996. do 2011. godine, kao i u populacijama iz SAD-a u 2011. godini uska grla nisu uopće detektirana. Kao što se i pretpostavljalo, Srbija je otkrivena kao geografski izvor kukuruzne zlatice u Hrvatskoj. Vremenski genetski nadzor proveden od 1996. do 2011. omogućio je dublje razumijevanje genetike kukuruzne zlatice u Hrvatskoj, Srbiji i izvornoj geografskoj regiji SAD-u.

### **Genetska istraživanja jabukinog savijača**

Unatoč ekonomskoj važnosti, malo se zna o genetskoj diferencijaciji i protoku gena jabukina savijača (Franck et al., 2007). Genetska istraživanja populacija jabukinog savijača s pomoću mikrosatelita na uzorcima iz različitih zemalja pokazala su da su populacije jabukinog savijača strukturirane prema geografskoj udaljenosti na nadnacionalnoj razini (Franck et al., 2007). Analize tretiranih i netretiranih populacija u Europi i Južnoj Americi (Francuska i Čile) nisu potvrdile značajnu genetsku diferencijaciju proučavanih populacija na nacionalnoj razini, ali ipak je primijećen marginalni utjecaj insekticidnih tretmana na bogatstvo alela štetnika (Franck et al., 2007; Fuentes-Contreras et al., 2008). Analiza genetske strukture populacija jabukina savijača provedena je i u Hrvatskoj primjenom mikrosatelitnih markera na populacijama koje su tretirane insekticidima i na netretiranim populacijama (Pajač et al., 2011). Iako su hrvatski znanstvenici u istraživanjima utvrdili nisku genetsku varijabilnost unutar proučavanih populacija, utvrđena je statistički značajna genetska varijacija između tretiranih i netretiranih populacija štetnika (70 % do 96 %). Ovo istraživanje temeljna je baza genetske varijabilnosti i alela koja će se koristiti u daljnjim istraživanjima. Rezultati genetskih istraživanja populacija savijača u Hrvatskoj upućuju na određene promjene u genetskoj strukturi tretiranih populacija koje su mogle utjecati na povećanje reproduktivne sposobnosti štetnika, a samim time i na promjene u biologiji štetnika (Pajač et al., 2011). Netretirane populacije imale su kasniju pojavu odraslih oblika u proljeće, kasnije odlaganje jaja te kasniju pojavu gusjenica u usporedbi s tretiranim populacijama. U netretirane populacije utvrđene su dvije generacije štetnika tijekom vegetacijske sezone, a u tretiranih populacija utvrđena je i treća generacija štetnika. Rezultati istraživanja biologije, ekologije i genetike savijača u Hrvatskoj pokazali su da je u našoj zemlji moguć razvoj i treće generacije štetnika u godinama u kojima je suma efektivnih temperatura zbog klimatskih promjena veća od prosjeka, te u voćnjacima u kojima se provode intenzivne mjere suzbijanja štetnika primjenom insekticidnih tretmana (Pajač et al., 2012).

## **Genetska istraživanja krumpirove zlatice**

Genetska istraživanja ovog štetnika započinju radom Grapputo et al. (2005) koji su istraživali populacijsku strukturu i genetsku varijabilnost sjevernoameričkih i europskih populacija krumpirove zlatice analizom mitohondrijske DNK i uporabom polimorfizma dužine amplificiranih fragmenata (AFLP). U navedenom istraživanju autori su dobili 297 fragmenata mDNK dužine od 50 do 220 baznih parova (bp), od čega je 99 % bilo polimorfno. Analiza klastera na temelju genetske udaljenosti *D* (Nei, 1972) pokazale su znatnu udaljenost između europskih i američka populacija krumpirove zlatice. Također dokazano je da postoje dvije različite grupe među europskim uzorcima (zapadna iz Španjolske, Francuske i Italije i istočna iz Poljske, Estonije, Finske i Rusije). Europske populacije pokazale su nešto niži polimorfizam (48 % naspram 67 % polimorfnih lokusa u Sjeverno Američkim populacijama ) i nižu očekivanu heterozigotnost. Razumijevanje genetske varijabilnosti posebno je važno kod ove vrste štetnika s obzirom da je rezistentnost široko rasprostranjena. Istraživanje Grapputo (2006) jedino je u kojem su korišteni mikrosateliti kod krumpirove zlatice. Autor je identificirao 11 ponavljajućih polimorfni mikrosatelita u genomu populacija krumpirove zlatice iz Estonije, Rusije i Sjedinjenih Država. Rezultati ovog istraživanja omogućili su korištenje tih 11 ponavljajućih mikrosatelita kao markera genetskih procesa kod krumpirove zlatice, te za procjenu puta širenja i kolonizacije ovog važnog štetnika (Grapputo, 2006).

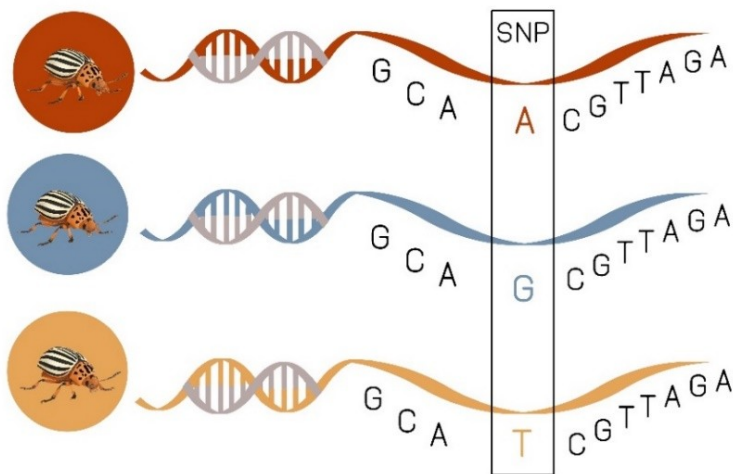
Kumar et al., (2014) analizirali su europske populacije krumpirove zlatice (odrasle i ličinke) da bi paralelnim sekvenciranjem DNK, istražili osnovni skup gena ove vrste. Njihovi rezultati nude nove spoznaje o genima povezanim s insekticidima kod ove vrste i pružaju temelj za komparativna istraživanja s drugim vrstama kukaca.

## **Polimorfizam pojedinačnog nukleotida**

Istraživanja o genetskoj strukturi populacija kukuruzne i krumpirove zlatice te jabukina savijača, protoku gena i širenju doprinijela su razumijevanju utjecaja ovih važnih štetnika na globalnu poljoprivrednu proizvodnju i prehrambene resurse. Zbog velike važnosti ovih štetnika nužno je razviti učinkovite programe praćenja rezistentnosti, koji omogućuju rano otkrivanje rezistentnosti te razvoj i pravovremenu implementaciju strategija upravljanja rezistentnošću. Polimorfizam pojedinačnog nukleotida novija je metoda analize cijelog genoma utvrđivanjem polimorfizma pojedinih nukleotida (slika 2). Kroz genotipizaciju pomoću SNP metode moguće je analizirati genetsku strukturu, diferencijaciju, protok gena, rasprostranjenost i sposobnost prilagodbe štetnika (Brumfield et al., 2003).

Poznavanje evolucijskih promjena i ukupne promjene genetske varijabilnosti populacije nekog štetnika može pružiti korisne informacije za razumijevanje genetskih promjena povezanih sa stupnjem razvoja rezistentnosti štetnika, pa se tako praćenje i suzbijanje mogu prilagoditi pojedinoj vrsti štetnika

(Sakai et al., 2001). Diversity Array Technology (DArT) metoda je za analizu DNK polimorfizma. Predstavlja jeftin i postojan sustav s minimalnom potrebnom količinom DNK koji omogućuje sveobuhvatnu pokrivenost genoma (Jaccoud et al., 2001). DArTseq tehnologija ujedini je postupak utvrđivanja i genotipizacije SNP-a u jednom koraku; omogućuje analizu SNP-a u širokom rasponu nemodelnih organizama i utvrđuje genetsku varijabilnost unutar glavnih genetskih skupina (Nantoume et al., 2013). Primjena SNP-a u nemodelnim organizmima postala je pristupačno i lako dostupno sredstvo za generiranje važnih podataka o brojnim vrstama što bi inače bilo nemoguće zbog visokih troškova i često nedostatka stručnosti laboratorijskog osoblja. S obzirom na ogroman broj SNP-a (od tisuće do milijuna) koji se lako generiraju u jednom slijedu, nadmašili su mikrosatelite u izboru istraživačkog alata kada je u pitanju utvrđivanje populacijske genetike neke vrste (Morin et al., 2004).



**Slika 2.** Primjer polimorfizma pojedinačnog nukleotida (Izvor: Kadoić Balaško et al., 2020).

**Figure 2.** Example for single nucleotide polymorphism (Source: Kadoić Balaško et al., 2020).

## Zaključak

Prema podacima FAO STAT-a za 2019. godinu, površine pod kukuruzom zauzimale su približno 197,2 miliona ha, površine pod krumpirom oko 17,3 miliona ha, a voćnjaci jabuke 4,7 miliona ha. Stoga možemo reći da sve tri kulture imaju veoma veliku važnost u svjetskoj poljoprivrednoj proizvodnji. Prema podacima Državnog zavoda za statistiku (2019). u Hrvatskoj je od 815.000 ha oranica i vrtova, oko 250.000 ha zasijano kukuruzom, oko 10 000 ha je pod krumpirom, a 5 000 ha zauzimaju voćnjaci jabuka, te također možemo zaključiti da su to važne kulture i u Hrvatskoj. Upravo zbog velikog udela i značaja ovih kultura u svjetskoj poljoprivredi proizlazi da se štetnost kukuruzne i krumpirove zlatice te jabukinog savijača ne smiju zanemariti. Suzbijanje štetnih kukaca poput navedenih često je otežano zbog nedostatka razumijevanja njihove biologije i ekologije, uključujući populacijsku genetiku (genetsku strukturu), genetsku diferencijaciju i protok gena. Poznavanje

evolucijskih promjena i ukupne genetske raznolikosti populacije nekog štetnika može pružiti korisne informacije za razumijevanje genetskih uzoraka povezanih sa svakim stupnjem razvoja otpornosti štetnika, tako da se praćenje i suzbijanje mogu prilagoditi rezistentnosti pojedinačne vrste štetnika. Populacije krumpirove zlatice i jabukinog savijača razvile su rezistentnost na brojne insekticide, a populacije kukuruzne zlatice i na primjenjivane strategije suzbijanja, te je važno buduća istraživanja usmjeriti na razvijanje učinkovitih programa praćenja rezistentnosti koji omogućuju rano otkrivanje novih mehanizama rezistentnosti te razvoj i pravovremenu implementaciju antirezistentnih strategija ili strategija upravljanja rezistentnošću.

S obzirom da poznavanje evolucijskih promjena i ukupne promjene genetske varijabilnosti populacije nekog štetnika može pružiti korisne informacije za razumijevanje genetskih promjena povezanih sa stupnjem razvoja rezistentnosti štetnika, SNP se ističe kao vrlo pristupačna i dostupna metoda za generiranje važnih podataka o brojnim vrstama jer se analizira cijeli genom. Upotreba SNP-a nužna je za bolje razumijevanje populacijske genetike kukuruzne i krumpirove zlatice te jabukinog savijača. Takvi podaci, koji podrazumijevaju utvrđivanje promjene genoma povezane s razvojem rezistentnosti ključni su za provedbu antirezistentnih programa kao sastavnog dijela integrirane zaštite bilja od štetnika.

## **Napomena**

Rad je izrađen u okviru projekta Hrvatske zaklade za znanost (IP-2016-06-7458): "Monitoring rezistentnosti štetnika: nove metode detekcije i učinkovite strategije upravljanja rezistentnošću (MONPERES)".

## **Literatura**

Alyokhin, A., Baker, M., Mota-Sanchez, D., Dively, G., Grafius, E. (2008). Colorado potato beetle resistance to insecticides. *American Journal of Potato Research*, 85, 395-413.

Alyokhin, A., Dively, G., Patterson, M., Castaldo, C., Rogers, D., Mahoney, M., Wollam, J. (2007). Resistance and cross- resistance to imidacloprid and thiamethoxam in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Management Science*, 63, 32-41.

APRD. Arthropod Pesticide Resistance Database (2020b). *Leptinotarsa decemlineata* - Shown Resistance to Active Ingredient(s). (Dostupno na: <https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=141>, posjećeno: 26. 03. 2021.)

APRD. Arthropod Pesticide Resistance Database. (2020a). *Cydia pomonella* - Shown Resistance to Active Ingredient(s). (Dostupno na: <https://www.pesticideresistance.org/display.php?page=species&arId=407>, posjećeno: 26. 03. 2021.)

- Ball, H.J., Weekman, G.T. (1962). Insecticide resistance in the adult western corn rootworm in Nebraska. *Journal of Economic Entomology*, 55, 439-441.
- Ball, H.J., Weekman, G.T. (1963). Differential resistance of corn rootworms to insecticides in Nebraska and adjoining states. *Journal of Economic Entomology*, 56, 553-555.
- Bažok, R., Lemić, D. (2017). Rezistentnost štetnika na insekticide. *Glasilo biljne zaštite*, 17(5), 429-438.
- Brumfield, R.T., Beerli, P., Nickerson, D.A., Edwards, S.V. (2003). The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 249-256.
- Ciosi, M., Toepfer, S., Li, H., Haye, T., Kuhlmann, U., Wang, H., Siegfried, B., Guillemaud, T. (2009). European populations of *Diabrotica virgifera virgifera* are resistant to aldrin, but not to methyl-parathion. *Journal of Applied Entomology*, 133(4), 307-314.
- Dunley, J.E., Welter, S.C. (2000). Correlated insecticide cross-resistance in azinphosmethyl resistant codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of economic entomology*, 93(3), 955-9-962.
- DZS. Državni zavod za statistiku. Statistički ljetopis Republike Hrvatske. (2019). (Dostupno na: [https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/ljetopis/2019/sljh2019.pdf](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/ljetopis/2019/sljh2019.pdf), posjećeno: 11. 04. 2021.)
- FAO STAT (2019). Food and Agriculture Organization of the United Nations. (Dostupno na: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>, posjećeno: 11. 04. 2021.)
- Foster, S. (2006). Insecticide resistance and its implications for potato production in the UK. British Potato Council. (Dostupno na: <http://www.potato.org.uk>, posjećeno 23. 04. 2021).
- Franck, P., Reyes, M., Olivares, J., Sauphanor, B. (2007). Genetic differentiation in the codling moth: comparison between microsatellite and insecticide resistant markers. *Molecular Ecology*, 16, 3554-3564.
- Fuentes- Contreras, E., Espinoza, J.L., Lavandero, B., Ramírez, C.C. (2008). Population genetic structure of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) from apple orchards in central Chile. *Journal of Economic Entomology*, 101(1), 190-8.
- Gassmann, A.J. (2012). Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm: predictions from the laboratory and effects in the field. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110, 287-293.
- Gassmann, A.J., Petzold-Maxwell, J.L., Clifton, E.H., Dunbar, M.W., Hoffmann, A.M., Ingber, D.A., Keweshan, R.S. (2014). Field-evolved resistance by western corn rootworm to multiple *Bacillus thuringiensis* toxins in transgenic maize. *PNAS*, 111, 5141-5146.

Gassmann, A.J., Petzold-Maxwell, J.L., Keweshan, R.S., Dunbar, M.W. (2011). Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm. *PLoS ONE*, 6(7), e22629.

Grapputo, A. (2006). Development and Characterization of Microsatellite Markers in the Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, *Molecular Ecology Notes*, 6, 1177-1179.

Grapputo, A., Boman, S., Lindstroem, L., Lyytinen, A., Mappes, J. (2005). The voyage of an invasive species across continents: genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. *Molecular Ecology*, 14, 4207-4219.

Hare, J.D. (1990). Ecology and management of the Colorado potato beetle. *Annual Review of Entomology*, 35, 81-100.

Igrc Barčić, J., Barčić, J., Dobrinčić, R., Maceljiski, M. (1999). Effect of insecticides on the Colorado Potato Beetles resistant to OP, OC and P insecticides. *Journal of Pest Science*, 72(3), 76-80.

Ioriatti, C., Saphanor, B., Cainelli, R., Rizzi, C., Tasin, M. (2000). *Cydia pomonella* L.: Primo caso di resistenza a diflubenzuron in Trentino. *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1, 319-325.

Ivkosic S.A., Gorman, J., Lemic, D., Mikac, K.M. (2014). Genetic Monitoring of Western Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) Populations on a Microgeographic Scale. *Environmental Entomology*, 43(3), 804-818.

Jaccoud, D., Peng, K., Feinstein, D., Kilian, A. (2001). Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acids Research*, 29(4), e25-e25.

Kadoić Balaško, M., Mikac, K. M., Bažok, R., Lemic, D. (2020). Modern techniques in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) control and resistance management: history review and future perspectives. *Insects*, 11(9), 581.

Kim, K. S., Sappington, T. W. (2005). Genetic structuring of western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) populations in the U.S. based on microsatellite loci analysis. *Environmental Entomology*, 34, 494-503.

Kiss, J., Komaromi, J., Bayar, K., Edwards, C. R., Hatala-Zseller, I. (2005). *Western corn rootworm (Diabrotica virgifera virgifera LeConte) and the crop rotation systems in Europe*. U: Western corn rootworm: ecology and management. (Ur. Vidal S., Kuhlman U., Edwards C.R.). Wallingford, UK. 189-220.

Kumar, A., Congiu, L., Lindström, L., Piironen, S., Vidotto, M. Grapputo, A. (2014). Sequencing, de novo assembly and annotation of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, transcriptome. *PLoS ONE*, 9(1).



- Lemic, D., Benitez, H. A., Bazok, R. (2014). Intercontinental effect on sexual shape dimorphism and allometric relationships in the beetle pest *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae). *Zoologischer Anzeiger*, 253, 203-206.
- Lemic, D., Mikac, K., Benitez, H., Bažok, R. (2017). Innovative and modern monitoring techniques—essential tool for effective pest control management. 8th CASEE Conference, Warsaw University of Life Sciences—SGGW 14.-16. 05. 2017. Varšava, Poljska.
- Lemic, D., Mikac, K. M., Bažok, R. (2013). Historical and contemporary population genetics of the invasive western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) in Croatia. *Environmental Entomology*, 42, 811-819.
- Lemic, D., Mikac, K. M., Ivkovic, S.A., Bažok, R. (2015). The Temporal and Spatial Invasion Genetics of the Western Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) in Southern Europe. *PLoS ONE*, 10(9), e0138796.
- Levine, E., Oloumi-Sadeghi, H. (1996). Western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larval injury to corn grown for seed production following soybeans grown for seed production. *Journal of Economic Entomology*, 89, 1010-1016.
- Levine, E., Spencer, J. L., Isard, S. A., Onstad, D. W., Gray, M. E. (2002). Adaptation of the western corn rootworm to crop rotation: evolution of a new strain in response to a management practice. *American Entomologist*, 48, 94-107.
- Liu, N. (2012). *Pyrethroid Resistance in Insects: Genes, Mechanisms, and Regulation*. U: Insecticides - Advances in Integrated Pest Management (Ur. Perveen, F.). Shanghai. Kina, 457-468. (Dostupno na: <http://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/pyrethroid-resistance-in-insects-genes-mechanisms-and-regulation>, posjećeno: 20. 04. 2021.)
- Maceljski, M. (1995). Resistance of the Colorado potato beetle in Croatia. Proc. 2. Slovenian Conf. on Plant Prot. Radenci, 21.-22. 02. 1995., 47-60.
- Maceljski, M., Igrc, J. (1992). Studies on the efficacy of some insecticides against the Colorado Potato Beetle in the years 1986-1990. *Ziemniak*, 1, 33-51.
- Mainke, L. J., Siegfried, B. D., Wright, R. J., Chandler, L. D. (1998). Adult susceptibility of Nebraska western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) populations to selected insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 91, 594-600.
- Morin, P. A., Luikart, G., Wayne, R. K. (2004). SNPs in ecology, evolution and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 208-216.

- Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R. M., Grafius, E. J., Moyer, D. D. (2006). Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Management Science*, 62(1), 30-37.
- Nantoume, A. D., Andersen, S. B., Jensen, B. D. (2013). Genetic differentiation of watermelon landrace types in Mali revealed by microsatellite (SSR) markers. *Genetic resources and crop evolution*, 60(7), 2129-2141.
- Nei, M. (1972). Genetic Distance between Populations. *American Naturalist*, 106(949), 283-292.
- Olson, E. R., Dively, G. P., Nelson, J. O. (2000). Baseline susceptibility to imidacloprid and cross resistance patterns in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) populations. *Journal of Economic Entomology*, 93(2), 447-458.
- Pajač, I., Barić, B., Mikac, M. K., Pejić, I. (2012). New insights into the biology and ecology of *Cydia pomonella* from apple orchards in Croatia. *Bulletin of Insectology*, 65(2), 185-1-193.
- Pajač, I., Barić, B., Šimon, S., Mikac, M. K., Pejić, I. (2011). An initial examination of the population genetic structure of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) in Croatian apple orchards. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9(3-4), 459-464.
- Pereira, A. E., Souza, D., Zukoff, S. N., Meinke, L. J., Siegfried, B. D. (2017). Cross-resistance and synergism bioassays suggest multiple mechanisms of pyrethroid resistance in western corn rootworm populations. *PLoS ONE*, 12(6), e0179311.
- Pereira, A. E., Wang, H., Zukoff, S. N., Meinke, L. J., French, B. W., Siegfried, B. D. (2015). Evidence of field-evolved resistance to bifenthrin in western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) populations in Western Nebraska and Kansas. *PLoS ONE*, 10(11), e0142299.
- Reyes, M., Franck, P., Charmillot, P. J., Ioriatti, C., Olivares, J., Pasqualini, E., Sauphanor, B. (2007). Diversity of insecticide resistance mechanisms and spectrum in European populations of the Codling moth, *Cydia pomonella*. *Pest Management Science*, 63, 890-902.
- Reyes, M., Franck, P., Olivares, J., Margaritopoulos, J., Knight, A., Sauphanor, B. (2009). Worldwide variability of insecticide resistance mechanisms in the codling moth, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Bulletin of Entomological Research*, 99, 359-369.
- Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., Baughman, S., Cabin, R. J., Cohen, J. E., Ellstrand, N. C., Mccauley, D. E., O'Neil, P., Parker, I. M., Thompson, J. N., Weller, S. G. (2001). The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 305-332.

Sammons, A. E., Edwards, C. R., Bledsoe, L. W., Boeve, P. J., Stuart, J. J. (1997). Behavioral and feeding assays reveal a western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) variant that is attracted to soybean. *Environmental Entomology*, 26, 1336-1342.

Sauphanor, B., Brosse, V., Bouvier, J. C., Speich, P., Micoud, A., Martinet, C. (2000). Monitoring resistance to diflubenzuron and deltamethrin in French codling moth populations (*Cydia pomonella*). *Pest Management Science*, 56, 74-82.

Sauphanor, B., Brosse, V., Monier, C., Bouvier, J. C. (1998). Differential ovicidal and larvicidal resistance to benzoylureas in the codling moth, *Cydia pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 88, 247-253.

Wangila, D. S, Gassmann, A. J., Petzold-Maxwell, J. L., French, B. W., Meinke, L. J. (2015). Susceptibility of Nebraska western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) populations to Bt corn events. *Journal of Economic Entomology*, 108, 742-751.

WHO (2012). World Health Organization Global Plan for Insecticide Resistance Management in Malaria Vectors (GPIRM), (Dostupno na: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241564472\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241564472_eng.pdf), posjećeno: 20. 04. 2021.)

Wright, R. J., Scharf, M. E., Meinke, L. J., Zhou, X., Siegfried, B. D., Chandler, L. D. (2000). Larval susceptibility of an insecticide-resistant western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) population to soil insecticides: laboratory bioassays, assays of detoxification enzymes, and field performance. *Journal of Economic Entomology*, 93, 7-13.

Xing, C., Schumacher, F. R., Xing, G., Lu, Q., Wang, T., Elston, R. C. (2005). Comparison of microsatellites, single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and composite markers derived from SNPs in linkage analysis. *BMC Genetics*, 6, S29.

Zhao, J. Z., Bishop, B. A., Grafius, E. J. (2000). Inheritance and synergism of resistance to imidacloprid in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of economic entomology*, 93(5), 1508-1514.

**Primljeno:** 05. srpnja 2021. godine

**Received:** July 05, 2021

**Prihvaćeno:** 19. listopada 2021. godine

**Accepted:** October 19, 2021