



Sveučilište u Zagrebu

AGRONOMSKI FAKULTET

Ivana Paladin Soče

**Životni ciklus i molekularna karakterizacija
novog karantenskog štetnika agruma
trnovitog štitastog moljca *Aleurocanthus
spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera:
Aleyrodidae) u Republici Hrvatskoj**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023.



University of Zagreb
FACULTY OF AGRICULTURE

Ivana Paladin Soče

**Life cycle and molecular characterization of
the orange spiny whitefly *Aleurocanthus
spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera:
Aleyrodidae) as a new quarantine pest of
citrus fruits in The Republic of Croatia**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2023.



Sveučilište u Zagrebu
AGRONOMSKI FAKULTET

IVANA PALADIN SOČE

**Životni ciklus i molekularna karakterizacija
novog karantenskog štetnika agruma
trnovitog štitastog moljca *Aleurocanthus
spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera:
Aleyrodidae) u Republici Hrvatskoj**

DOKTORSKI RAD

Mentori: prof. dr. sc. Tanja Gotlin Čuljak
dr. sc. Mladen Šimala

Zagreb, 2023.



University of Zagreb
FACULTY OF AGRICULTURE

Ivana Paladin Soče

**Life cycle and molecular characterization of
the orange spiny whitefly *Aleurocanthus
spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera:
Aleyrodidae) as a new quarantine pest of
citrus fruits in The Republic of Croatia**

DOCTORAL THESIS

Supervisors: Tanja Gotlin Čuljak, Ph.D., Professor
Mladen Šimala, Ph.D

Zagreb, 2023.

Bibliografski podaci:

- Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
- Znanstveno polje: Poljoprivreda
- Znanstvena grana: Fitomedicina
- Institucija: Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju
- Voditelj doktorskog rada: prof. dr. sc. Tanja Gotlin Čuljak, dr. sc. Mladen Šimala
- Broj stranica:
- Broj slika:
- Broj tablica:
- Broj priloga:
- Broj literaturnih referenci:
- Datum obrane doktorskog rada:
- Sastav povjerenstva za obranu doktorskog rada:

Rad je pohranjen u:

Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, Ulica Hrvatske bratske zajednice 4 p. p. 550, 10 000 Zagreb, Knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Agronomskog Fakulteta, Svetošimunska cesta 25, 10 000 Zagreb.

Tema rada prihvaćena je na sjednici Fakultetskog vijeća Agronomskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 6. 10. 2020. te odobrena na sjednici Senata Sveučilišta u Zagrebu, održanoj dana 26. 1. 2021.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA O IZVORNOSTI

Ja, **Ivana Paladin Soče**, izjavljujem da sam samostalno izradila doktorski rad pod naslovom:

„Životni ciklus i molekularna karakterizacija novog karantenskog štetnika agruma trnovitog štitastog moljca *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae) u Republici Hrvatskoj“

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovog dokorskog rada
- da je doktorski rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u izradi istoga nisam koristila drugim izvorima osim onih koji su u njemu navedeni
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (čl.19).

Zagreb, _____2024. godine.

potpis doktorandice

Ocjena doktorskog rada

Datum obrane doktorskog rada: _____202_.

Povjerenstvo za obranu doktorskog rada:

1. _____

2. _____

3. _____

Informacije o mentorima:

Prof. dr. sc. **Tanja Gotlin Čuljak** rođena je 1973. godine u Krapini. Diplomirala je 1995., magistrirala 2001., a doktorirala je 2006. godine. U status redovite profesorice u trajnom zvanju Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu izabrana je 2016. godine. U sklopu preddiplomskog studija nositeljica je modula *Opća entomologija, Poljoprivredna entomologija*, dok je nositeljica modula *Biljna karantena, Ekologija štetnika i načela prognoze* na diplomskom studiju. U sklopu poslijediplomskog studija Poljoprivredne znanosti nositeljica je modula *Metode istraživanja u poljoprivrednoj entomologiji, Dijagnostika štetnih organizama, Zooekologija i sistematika i Ekološka zaštita od štetnika* te suradnica na tri modula. U svom znanstveno-istraživačkom radu pretežno se bavi rezistentnošću štetnika na insekticide, integriranom zaštitom uljane repice od štetnika, faunom, dinamikom i identifikacijom lisnih uši, funkcionalnom bioraznolikošću agroekosustava te štetnicima povrća i ukrasnog bilja i urbanim biovrtlarstvom. Tijekom 2002. godine usavršavala se na University of Surrey Roehampton u Londonu. Od 2002. do 2008. obavljala je dužnost tehničke urednice znanstvenog časopisa *Entomologia croatica*. Kao autor ili ko-autor objavila je 253 znanstvena i stručna rada i sudjelovala na više od 64 znanstvena i stručna projekata. Članica je Hrvatskog entomološkog društva, Hrvatskog društva biljne zaštite (HDBZ) i IOBC/WPRS-a za integriranu zaštitu strnih žita.

Dr. sc. **Mladen Šimala** rođen je u Zagrebu 1963. godine, gdje je i magistrirao 1994. na Agronomskom fakultetu u Zagrebu, a doktorirao je 2008. na Poljoprivrednom fakultetu u Osijeku. 2009. godine izabran je u znanstveno zvanje znanstveni suradnik. Tijekom 1989. zapošljava se u Institutu za zaštitu bilja na Fakultetu poljoprivrednih znanosti u Zagrebu, a kasnije u Hrvatskom centru za poljoprivredu, hranu i selo (HCPHS). Danas je HCPHS preimenovan u HAPIH (Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu), gdje je i dalje zaposlen u Odjelu za dijagnostiku Centra za zaštitu bilja. Područje njegova znanstvenog rada je provođenje posebnog nadzora štetnih organizama i ocjenjivanje dokumentacije učinkovitosti u postupku registracije sredstava za zaštitu bilja. Usavršavanje u postupku ocjene dokumentacije sredstava za zaštitu bilja obavio je tijekom 2005. i 2006. u instituciji PSD u Yorku u Velikoj Britaniji, te u u Nizozemskoj u području dijagnostike štitaštih moljaca (*Aleyrodidae*), tripsa (*Thysanoptera*) i lisnih buha (*Psyllidae*), i u području biološke zaštite kultura u zaštićenom prostoru. Kao autor i ko-autor objavio je oko 100 znanstvenih i stručnih radova. Član je Hrvatskoga entomološkog društva i Hrvatskog društva biljne zaštite.

ZAHVALA

SAŽETAK

Narančin trnoviti štitasti moljac *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae: Aleyrodinae) nova je entomološka vrsta u Republici Hrvatskoj i trenutačno ima status karantenskog štetnika Unije, Prilog II, Dio B, i predstavlja ozbiljan fitosanitarni rizik u proizvodnji agruma. Vrsta *A. spiniferus* u Europi je prvi put otkrivena 2008. godine na području južne Italije. Na prostoru Republike Hrvatske prvi put je nađena i eradicirana 2012. godine. U ostalim mediteranskim područjima, poput Crne Gore, Italije i Grčke, vrsta *A. spiniferus* aklimatizirala se i pričinja značajne štete, posebice u nasadima agruma. U 2018. godini *A. spiniferus* identificiran je u proizvodnom nasadu mandarine na krajnjem jugu Republike Hrvatske, a u 2019. godini zabilježeno je njegovo širenje prema sjeverozapadu zemlje, čemu su pogodovali polifagnost štetnika i klimatski uvjeti. Štete pričinja sisanjem biljnih sokova na naličju listova te izlučivanjem obilne medne rose, na kojoj se sekundarno razvijaju gljivice čađavice, što uzrokuje smanjenje procesa fotosinteze i evapotranspiracije biljke. Budući da se radi o novootkrivenom karantenskom štetniku, istraživanja ove vrste nisu provedena na području Republike Hrvatske.

Ciljevi ovog rada bili su istražiti životni ciklus vrste u prirodnim i u kontroliranim uvjetima, izraditi fenogram razvoja vrste, istražiti potencijalne biljke domaćine i filogenetskim analizama odrediti haplotipove na temelju sekvenci citokrom c oksidaze podjedinice I (COI) mitohondrijalne DNA (mtDNA). Istraživanje životnog ciklusa *A. spiniferus* provodilo se od siječnja 2020. do siječnja 2022. u prirodnim uvjetima u Vitaljini, a uključivalo je prikupljanje, praćenje brojnosti i laboratorijske analize svih pojedinih razvojnih stadija. Istraživanje životnog ciklusa u kontroliranim uvjetima provodilo se u *walk-in* komorama na četiri različite temperature s istim postotkom relativne vlažnosti zraka u Centru za zaštitu bilja Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH). Tijekom istraživanja štetnika u prirodnim uvjetima utvrđeno je da štetnik razvija tri generacije godišnje, a za razvoj jedne generacije potrebno je od 41 do 105 dana što ovisi o okolišnim čimbenicima. Generacije se međusobno preklapaju, a na agrumima su istovremeno prisutni svi stadiji. U kontroliranim uvjetima najduži razvoj zabilježen je pri temperaturi od 20 °C i trajao je 79 dana. Najkraći razvoj zabilježen je pri temperaturi od 30 °C te je potpuni razvoj završen nakon 42 dana. Testirane biljke (*Acca sellowiana* Berg. (Myrataceae), *Sorbus domestica* L. (Rosaceae), *Arbutus unedo* L. (Ericaceae), *Actinidia deliciosa* (A.Chev.) 'Hayward' (Actinidiaceae), *Aspidistra elatior* Blume (Asparagaceae), *Pittospora tobira* (Thunb.) 'nanum' (Pittosporaceae)) nisu određene kao potencijalne biljke domaćini jer na njima nije ostvaren embrionalni i postembrionalni razvoj. Filogenetskom je analizom utvrđena prisutnost dva haplotipa, H1 i H2, u populaciji narančina štitastog moljca *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj. Dva haplotipa pripadaju dvjema različitim haplogrupama. Haplotip H1 vjerojatno je podrijetlom iz Italije, dok se haplotip H2 može povezati s unosom iz Crne Gore. Razvidno je da *A. spiniferus* zbog svojih bioloških značajki opravdano zaslužuje karantenski status i predstavlja značajan fitosanitarni rizik i ozbiljnu prijetnju u uzgoju agruma što ga čini posebice zanimljivim i istraživanja vrijednim štetnim organizmom. Sustavnim istraživanjem biljaka domaćina, praćenjem populacije štetnika, istraživanjem učinkovitosti prirodnih neprijatelja mogu se razviti učinkoviti programi za suzbijanje ovog štetnika u poljoprivrednoj proizvodnji. Važno je educirati javnost i sve sudionike poljoprivredne proizvodnje o sprječavanju širenja tog karantenskog štetnika jer je edukacija najvažniji resurs uspjeha i učinkovitog suzbijanja.

Ključne riječi: karantenski štetnik, *Aleurocanthus spiniferus*, Hrvatska, prvi nalaz, životni ciklus, molekularna indentifikacija.

EXTENDED SUMMARY

Life cycle and molecular characterization of the orange spiny whitefly *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae) as a new quarantine pest of citrus fruits in The Republic of Croatia

The orange spiny whitefly *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae: Aleyrodinae) is a new entomological species in Croatia and currently has the status of a quarantine pest on the Union list, Part II, Annex B. *A. spiniferus* originates from Southeast Asia and belongs to the genus *Aleurocanthus* Quaintance & Baker, 1914, which includes about 90 species worldwide. Along with the species *Aleurocanthus woglumi* Ashby, 1915, it is one of the economically important pests. It was first detected in Europe in 2008 in southern Italy, and in subsequent years, it has spread to other Mediterranean countries. The adult stage of *A. spiniferus* is a small insect, measuring only 1.30-1.70 mm, characterized by dark-colored wings. The puparium of *A. spiniferus* is black and features white marginal wax filaments. It is a polyphagous pest, proven to attack more than 90 plant species from 38 plant families, with species from the genus *Citrus* spp., *Pyrus* spp., and *Vitis* spp., the main economically important host plants. It causes damage by feeding on plant sap on the undersides of leaves and by excreting abundant honeydew on which sooty mold fungi colonize, leading to reduced photosynthesis and evapotranspiration, defoliation, and stunted plant growth. In 2018, the first positive finding in a natural environment was confirmed in Vitaljina, southern Croatia. Along with the four whitefly species recorded on citrus in Croatia so far, *Dialeurodes citri* Ashmead, 1885, *Parabemisia myricae* Kuwana, 1927, *Aleurothrixus floccosus* Maskell, 1914 and *Aleuroclava aucubae* Kuwana, 1911, it is among the economically important citrus pests. Controlling *A. spiniferus* is challenging due to its polyphagy, high reproductive potential, overlapping generations, and all developmental stages in the orchard. As it is a newly introduced species, this quarantine pest's biological and ecological characteristics are insufficiently studied. In 2019, its spread towards northwest Croatia was recorded, posing a high phytosanitary risk, especially for the Neretva river valley area, the main citrus-growing region in Croatia. However, due to the limited presence of natural enemies in this area, there is a risk of establishing infestations on new crops and new plantations such as grapevines, pears, apples, etc. The aim of this study was to determine the life cycle of the pest under outdoor and controlled conditions in walk-in chambers at four different temperatures with the same relative humidity, to create a phenogram of the species' development, to determine potential host plants, and to perform phylogenetic analyses based on cytochrome c oxidase subunit I (COI) mitochondrial DNA (mtDNA) sequences to reconstruct possible invasion routes of *A. spiniferus* in Croatia.

Field research on the life cycle of the pest *A. spiniferus* in natural conditions was conducted from January 1, 2020 to January 1, 2022, in the locality of Vitaljina, in a private mandarin orchard. The life cycle of *A. spiniferus* was determined based on monitoring and recording data on the occurrence of all developmental stages of the pest. Yellow sticky traps were used to signal the beginning of the flight of the adult stage, and every 7-10 days during the vegetation period, all present developmental stages were recorded on the underside of the leaves using a 60x hand magnifier. Subsequently, the time frames for the duration of each individual life stage were calculated. In addition to the life cycle, the population dynamics were determined by counting eggs, larvae, puparium and adults on the leaves. Mandarin leaves were also inspected throughout the year, every 7-10 days during the vegetation period and once a month during the dormant period. In 2020, 1620 leaves were analysed, and in 2021, 1512 leaves were from 18 trees. The sampled material was stored in plastic PVC bags and transported to the Institute for Mediterranean Cultures laboratory at the University of Dubrovnik. In the laboratory, the presence of each developmental stage, from eggs to puparia, was determined and recorded on the underside of the leaves using an Olympus SZ40 stereomicroscope. In contrast, the number of adult stages was determined by counting individuals on the underside of the leaves in the orchard. Each pre-imaginal stage of the pest was expressed as the number of eggs, larvae L1, L2-L3, and L4, as well

as adults per 100 cm² of leaf surface. Climate data from the nearest meteorological station (Dubrovnik airport) were recorded during the research to facilitate the determination of the occurrence of specific developmental stages of the pest in the study of its biology in the southern region of Croatia. Identification of other beneficial entomofauna on the collected leaves was carried out to determine the potential presence of natural enemies of *A. spiniferus*. Determination of entomofauna was conducted at the Plant Protection Center, CAAF, based on morphological characteristics using relevant keys available in the literature, using an Olympus BX51 binocular light microscope equipped with an Olympus DP25 digital microscopic camera and *analySIS doc* morphometry software.

The pest's life cycle was investigated in controlled conditions according to the method of Argov *et al.* (1999) in walk-in climate chambers. Four mandarin seedlings were placed in each individual entomological cage in the climate chambers with fluorescent light, set to a photoperiod of L16:D8, and a relative humidity of 80 ± 10%, while the temperature varied in four treatments: 20 °C, 25 °C, 30 °C, and 35 °C. Subsequently, an artificial infestation with 300 individuals of adult developmental stages of the pest was conducted for 24 hours. The leaf examination was carried out using a hand magnifier with 60x magnification, and the biological development of the species in climate chambers was conducted every three days. All leaves on which pre-imaginal stages were present were marked. Average values of the development length for each developmental stage at different temperatures and under natural conditions. Sexual index determination and oviposition of *A. spiniferus* were conducted in walk-in chambers. Molecular analysis of *A. spiniferus* was performed using the PCR method on ten samples. DNA isolation was carried out using the Dneasy Blood & Tissue isolation kit (Qiagen® GmbH, Hilden, Germany), and the isolated DNA was stored at -20°C. The mitochondrial DNA (mtDNA) cytochrome c oxidase subunit I (COI) region was amplified using polymerase chain reaction (PCR) according to the method of Uesugi *et al.* (2016). Visualization of PCR products was performed by agarose gel electrophoresis. A 200 bp DNA ladder containing 13 fragments of known lengths was used as a molecular weight standard for DNA determination. After electrophoresis, the gel was examined and photographed using the UVIdoc HD2 system. The amplified mtCOI fragments of 670 bp were purified using the GenElute® PCR Clean-up Kit and sent to MacroGen Europe® service for sequencing. The obtained sequences were compared with sequences from the GenBank database using the BLAST program. Phylogenetic reconstruction of the obtained and reference sequences was performed using the MEGA7.0 software, employing the Neighbor-Joining method.

In both years of the study, in natural conditions, adult developmental stages were recorded in April. In the climate conditions of southern coastal Croatia, *A. spiniferus* has three generations per year and overwinters in the fourth larval stage. The total development of *A. Spiniferus* from egg to adult, in the first year of the study, lasted from 41-105 days, while in the second year it lasted from 49-93 days. Overlapping generations were recorded. In monitoring the population dynamics, maximums of individual developmental stages were recorded in both years of the study. In contrast, for the larvae of the fourth developmental stage, it was not possible due to overlapping generations, and some larvae remained on the leaves and overwintered in that stage. In determining other entomofauna to find natural enemies of *A. spiniferus*, the Coccinellidae species *Clitostethus arcuatus* (Rossi, 1974) was confirmed. The determination of the sexual index at different temperatures revealed that females predominated in the overall population (0.7-0.8), while the highest number of deposited eggs was observed at 25 °C (506 eggs/24 h). None of the six tested host plants were found to be suitable hosts.

This scientific paper represents a significant contribution to entomological science as it provides a deeper understanding of the biological development of the quarantine pest *A. spiniferus*. The research was conducted under natural conditions, which allowed for the establishment of a scientific basis for the control and prevention of the spread of this pest, particularly in the area of intensive citrus production in the Neretva Valley, which is at high

risk of infestation by this pest. Furthermore, this study presents the ideal conditions that favour the development of this pest, which can serve as a basis for future research on this species.

Moreover, this paper also contributes to the genetic identification of the species, which is essential in the context of controlling the introduction of plant material from other countries to prevent the possibility of spreading this pest to new areas and host plants. These findings are crucial for preserving citrus orchard productivity in the Neretva Valley and the other regions at risk of infestation by this pest.

Keywords: Quarantine pest, *Aleurocanthus spiniferus*, Croatia, first finding, life cycle, molecular identification.

SADRŽAJ

1	UVOD	<u>11</u>
1.1	Hipoteze i ciljevi istraživanja	<u>44</u>
2	PREGLED RELEVANTNE LITERATURE.....	<u>55</u>
2.1	Agrumi	<u>55</u>
2.2	Štetna entomofauna agruma	<u>99</u>
2.2.1	Meditranska voćna muha (<i>Ceratitls capitata</i> Wiedemann, 1824).....	<u>99</u>
2.2.2	Lisne uši (Aphidoidea).....	<u>1010</u>
2.2.3	Štitaste uši (Coccoidea).....	<u>1111</u>
2.2.4	Štitasti moljci (Aleyrodoidea)	<u>1212</u>
2.2.4.1	Štitasti moljac agruma <i>Dialeurodes citri</i> (Ashmead, 1885).....	<u>2323</u>
2.2.4.2	Narančin trnoviti štitasti moljac agruma <i>Aleurocanthus spiniferus</i> (Quaintance, 1903)	<u>2424</u>
3	MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA	<u>5050</u>
3.1	Morfološka dijagnostika vrste <i>A. spiniferus</i>	<u>5050</u>
3.2	Opis lokacije istraživanja i klimatski čimbenici.....	<u>5454</u>
3.3	Istraživanja bioloških obilježja <i>A. spiniferus</i> u prirodnim uvjetima.....	<u>6060</u>
3.3.1	Istraživanja životnog ciklusa vrste <i>A. spiniferus</i> u prirodnim uvjetima.....	<u>6060</u>
3.3.2	Istraživanje prirodnih neprijatelja.....	<u>6767</u>
3.3.3	Istraživanje novih potencijalnih biljaka domaćina	<u>6868</u>
3.4	Istraživanja bioloških obilježja vrste <i>A. spiniferus</i> u kontroliranim uvjetima	<u>7272</u>
3.4.1	Istraživanja životnog ciklusa vrste <i>A. spiniferus</i> u kontroliranim uvjetima.....	<u>7272</u>
3.4.2	Određivanje indeksa ovipozicije	<u>7777</u>
3.4.3	Određivanje seksualnog indeksa	<u>7878</u>
3.5	Identifikacija vrste <i>A. spiniferus</i> PCR metodom i određivanje haplotipova	<u>8080</u>
3.5.1	Lančana reakcija polimerazom (PCR)	<u>8282</u>
3.5.2	Elektroforeza	<u>8383</u>
3.5.3	Sekvenciranje i analiza sekvenci.....	<u>8484</u>
3.5.4	Određivanje haplotipova <i>A. spiniferus</i> u Republici Hrvatskoj.....	<u>8484</u>
4	REZULTATI ISTRAŽIVANJA.....	<u>8585</u>
4.1	Rezultati istraživanja bioloških obilježja vrste <i>A. spiniferus</i> u prirodnim uvjetima.....	<u>8585</u>

4.1.1	Rezultati istraživanja životnog ciklusa <i>A. spiniferus</i> u prirodnim uvjetima	8585
4.1.2	Istraživanje prirodnih neprijatelja	9696
4.1.3	Istraživanje novih potencijalnih biljaka domaćina	9898
4.2	Rezultati istraživanja bioloških obilježja vrste <i>A. spiniferus</i> u kontroliranim uvjetima.....	101101
4.2.1	Istraživanja životnog ciklusa	101101
4.2.2	Određivanje indeksa ovipozicije	107107
4.2.3	Određivanje seksualnog indeksa	108108
4.3	Identifikacija <i>Aleurocanthus spiniferus</i> PCR metodom i određivanje haplotipova	109109
5	RASPRAVA.....	113113
5.1	Rasprava o biološkim obilježjima <i>A. spiniferus</i> u prirodnim uvjetima ...	113113
5.1.1	Životni ciklus vrste <i>A. spiniferus</i> u prirodnim uvjetima	113113
5.1.2	Prirodni neprijatelji	119119
5.1.3	Biljke domaćini	121121
5.2	Rasprava o biološkim obilježjima <i>A. spiniferus</i> u kontroliranim uvjetima	124124
5.2.1	Životni ciklus u kontroliranim uvjetima	124124
5.2.2	Indeks ovipozicije	127127
5.2.3	Seksualni indeks	128128
5.3	Identifikacija <i>Aleurocanthus spiniferus</i> PCR metodom i određivanje haplotipova	129129
6	ZAKLJUČCI.....	131131
7	LITERATURA.....	133133
8	ŽIVOTOPIS.....	157157

Popis kratica

EPPO - Europska i mediteranska organizacija za zaštitu bilja (eng. European and Mediterranean Plant Protection Organization)

EU - Europska Unija

FIS - Fitosanitarni informacijski sustav

SIT tehnika - sterile insect technique

HAPIH - Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu

CZB - Centar za zaštitu bilja

CAAF - Croatian Agency for Agriculture and Food

PPN - Program posebnog nazora

Popis tablica

Tablica 2.1.1. Oznake, opis i vremensko razdoblje pojave razvojnih stadija agruma na jugu Hrvatske (izvor: Paladin Soče, 2023)

Tablica 2.2.4.1. Sistematika štitastih moljaca (Aleyrodidae) (izvor: Gullan, 1999)

Tablica 2.2.4.2.1. Popis katastarskih općina koje čine zaraženo i sigurnosno područje u demarkiranim područjima vrste *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj do početka 2020. godine (izvor: NN 36/2023)

Tablica 2.2.4.2.2. Sinonimi vrste *A. spiniferus* (izvor: Oувard i Martin, 2021)

Tablica 2.2.4.2.3. Rasprostranjenost vrste *A. spiniferus* u svijetu (EPPO, 2022a)

Tablica 2.2.4.2.4. Pozitivni nalazi vrste *A. spiniferus* i biljke domaćini tijekom provođenja Programa posebnog nadzora u Republici Hrvatskoj u razdoblju 2018. – 2019. (izvor: Šimala i sur., 2019a).

Tablica 2.2.4.2.5. Sistematika štitastog moljca *A. spiniferus* (izvor: EPPO, 2022a)

Tablica 2.2.4.2.6. Prikaz porodica i biljnih vrsta kao biljka domaćina vrste *A. spiniferus*

Tablica 3.3.1.1. Datumi uzimanja uzoraka listova mandarine u nasadu Vitaljina tijekom 2020. i 2021. godine radi utvrđivanja prisutnosti svih stadija, duljine trajanja stadija i gustoće populacije vrste *A. spiniferus*

Tablica 3.3.2.1. Datumi uzimanja uzoraka listova mandarine u nasadu Vitaljina tijekom 2020. i 2021. godine s ciljem utvrđivanja moguće prisutnosti prirodnih neprijatelja *A. spiniferus*

Tablica 3.3.3.1. Datumi postavljanja potencijalnih biljaka domaćina i praćenja razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u entomološkom kavezu u nasadu u 2020. godini

Tablica 3.3.3.2. Datumi postavljanja potencijalnih biljaka domaćina i praćenja razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u entomološkom kavezu u nasadu u 2021. godini

Tablica 3.3.3.3. Datumi obilaska i mjesto provođenja uzorkovanja već poznatih biljnih vrsta u sklopu PPN-a na samom jugu Dubrovačko-neretvanske županije u vremenu 2018. – 2022.

Tablica 3.4.1.1. Datumi očitavanja i praćenja razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus* na četiri temperaturna pokusa u *walk-in* komorama u Centru za zaštitu bilja (HAPIH)

Tablica 3.5.1. Uzorci razvojnih stadija *Aleurocanthus spiniferus* skupljeni na različitim biljnim vrstama na području Dubrovačko-neretvanske i Splitsko-dalmatinske županije tijekom 2019. i 2020. godine za provedbu molekularne analize

Tablica 3.5.1.1. PCR reakcijska smjesa po jednom izolatu

Tablica 3.5.1.2. Temperaturni ciklusi za PCR reakciju

Tablica 3.5.4.1. Referentne sekvence iz banke gena korištene za filogenetske analize

Tablica 4.1.2.1. Prikaz vrsta i redova prisutne entomofaune tijekom 2020. i 2021. godine u nasadu mandarina (Vitaljina)

Tablica 4.1.3.1. Porodice i biljke domaćini zabilježeni obilaskom terena od 2018. do 2022. godine na krajnjem jugu Dubrovačko-neretvanske županije u sklopu PPN-a i u suradnji s Centrom za zaštitu bilja (HAPIH)

Tablica 4.2.2.1. Seksualni indeks odraslih stadija vrste *A. spiniferus* na temperaturi od 25 °C i vlagi 80 % u *walk-in* komori

Tablica 4.2.3.1. Indeks ovipozicije na četiri različite temperature

Tablica 4.3.1. Haplotipovi vrste *Aleurocanthus spiniferus* potvrđeni u Republici Hrvatskoj

Popis grafikona

Grafikon 3.2.1. Klimadijagram s minimalnim i maksimalnim dnevnim temperaturama i relativnom vlažnošću zraka u 2020. godini za meteorološku postaju Čilipi (Izvor: DHMZ)

Grafikon 3.2.2. Klimadijagram sa srednjim mjesečnim temperaturama i padalinama za 2020. godinu za meteorološku postaju Čilipi (Izvor: DHMZ)

Grafikon 3.2.3. Klimadijagram s minimalnim i maksimalnim dnevnim temperaturama i relativnom vlažnošću zraka u 2021. godini za meteorološku postaju Čilipi (Izvor: DHMZ)

Grafikon 3.2.4. Klimadijagram sa srednjim mjesečnim temperaturama i padalinama za 2021. godinu za meteorološku postaju Čilipi (Izvor: DHMZ)

Grafikon 3.2.5. Kretanje mjesečne apsolutne maksimalne i apsolutne minimalne temperature zraka tijekom rasta mladica i razvoja *A. spiniferus* u 2020. i 2021. godini za meteorološku postaju Čilipi

Grafikon 4.1.1.1. Životni ciklus vrste *A. spiniferus* (gustoća populacije svih razvojnih stadija, broj generacija i vrijeme pojave) u 2020. godini u prirodnim uvjetima

Grafikon 4.1.1.2. Životni ciklus vrste *A. spiniferus* (gustoća populacije svih razvojnih stadija, broj generacija i vrijeme pojave) u 2021. godini u prirodnim uvjetima

Grafikon 4.1.1.3. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* dobiven praćenjem pojave i razvoja pojedinih razvojnih stadija u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina u 2020. godini

Grafikon 4.1.1.4. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* dobiven praćenjem pojave i razvoja pojedinih razvojnih stadija u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina u 2021. godini

Grafikon 4.1.1.5. Dinamika populacije svih razvojnih stadija i vrijeme pojave u 2020. godini u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina

Grafikon 4.1.1.6. Dinamika populacije svih razvojnih stadija i vrijeme pojave u 2021. godini u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina

Grafikon 4.1.1.7. Životni ciklus prve (proljetne) generacije *A. spiniferus* (2020. – 2021., Vitaljina)

Grafikon 4.1.1.8. Životni ciklus druge (ljetne) generacije *A. spiniferus* (2020. – 2021., Vitaljina)

Grafikon 4.1.1.9. Životni ciklus treće (jesenske) generacije *A. spiniferus* (2020. – 2021., Vitaljina)

Grafikon 4.2.1.1. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u *walk-in* komorama na temperaturi od 20 °C i 80 % rH

Grafikon 4.2.1.2. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u *walk-in* komorama na temperaturi od 25 °C i 80 % rH

Grafikon 4.2.1.3. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u *walk-in* komorama na temperaturi od 30 °C i 80 % rH

Grafikon 4.2.1.4. Razdoblje razvoja svih stadija *A. spiniferus* na četiri različite konstantne temperature i na 80 % rH

Grafikon 4.2.1.5. Ukupni razvoj vrste *A. spiniferus* na četiri različite konstantne temperature i na 80 % rH

Popis slika

Slika 2.2.4.1. Glavna morfološka obilježja „kukuljice“ štitastih moljaca prema Martinu i sur. (2000)

Slika 2.2.4.2.1. Rasprostranjenost vrste *A. spiniferus* u razdoblju 2018-2019. godine (izvor: <https://earth.google.com/web/search/> pristupljeno 4.4.2020)

Slika 2.2.4.2.2. Kolonije ličinki vrste *A. spiniferus* na naličju lista mandarine

Slika 2.2.4.2.3. Filogenetski odnosi Aleyrodidae na temelju 13 proteinskih gena (izvor: Zhi-Teng, 2016)

Slika 2.2.4.2.4. *A. spiniferus* - rasprostranjenost, haplotipovi i biljke domaćini u EPPO zoni (izvor: Nugnes i sur., 2020)

Slika 2.2.4.2.5. Razvoj gljivice čađavice na plodu mandarine

Slika 2.2.4.2.6. Žuta ljepljiva ploča u nasadu mandarine Unshiu u mjestu Vitaljina

Slika 2.2.4.2.7. Odrasli razvojni stadij *A. spiniferus* na listu mandarine Unshiu

Slika 3.1.1. Mikroskopska slika prepariranog egzuvija (Izvor: Šimala, M.)

Slika 3.1.2. Vrsta *Saissetia oleae* Olivier, 1791 (Izvor: Masten Milek, T.)

Slika 3.1.3. Vrsta *Parlatoria ziziphi* Lucas, 1853 (Izvor: Masten Milek, T.)

Slika 3.2.1. Privatni nasad mandarina u Vitaljini u kojem se provodilo istraživanje

Slika 3.2.2. Zračna udaljenost između lokacije Čilipi na kojoj se nalazi meteorološka postaja i mjesta provođenja istraživanja Vitaljina

(izvor:<https://earth.google.com/web/@42.52458747,18.4434581,983.19820144a,50177.43628456d,35y,0h,0t,0r>, pristupljeno: 3.6.2023)

Slika 3.3.1.1. Stereoskop Nikon SMZ745T

Slika 3.3.1.2. Odrasli stadiji na mladom proljetnom porastu u 2020. godini (lijevo) i odrasli stadiji na jesenskom porastu u 2021. godini (desno)

Slika 3.3.1.3. Uzorkovani listovi skenirani pomoću skenera EPSON kako bi se utvrdila površina lista pomoću računalnog sustava WinFOLIA

Slika 3.3.1.4. Jaja *A. spiniferus* na listu mandarine

Slika 3.3.1.5. Ličinka prvog razvojnog stadija *A. spiniferus*

Slika 3.3.1.6. Prijelaz ličinke 3. razvojnog stadija u 4. razvojni stadij ličinke “kukuljica”

Slika 3.3.1.7. Egzuviji prethodnih razvojnih stadija ličinke *A. spiniferus* nalijepljeni na kapljice voska

Slika 3.3.1.8. Odrasli stadij *A. spiniferus*

Slika 3.3.3.1. Sadnica maginje *A. unedo* unutar entomološkog kaveza u nasadu u Vitaljini

Slika 3.4.1.1. Zadani parametri klima komore u Centru za zaštitu bilja (HAPIH)

Slika 3.4.1.2. Sadnica mandarine u kavezu (lijevo) i označeni listovi na kojima su uočena jaja štetnika (desno)

Slika 3.4.1.3. Izlazak i pojava odraslih stadija iz „kukuljice“ u walk-in komorama na temperaturi 20 °C i vlagi 80 % (lijevo) i izlazak i pojava odraslih stadija iz „kukuljice“ u walk-in komorama na temperaturi 30°C i vlagi 80 % (desno)

Slika 3.4.1.4. Zabilježen izlazak odraslog stadija iz „kukuljice“ u walk-in komorama na temperaturi 25 °C i vlagi 80 %

Slika 3.4.2.1. Binokular Olympus SZX7 pomoću kojeg je obavljan pregled listova i vršni djelovi mladice sorte 'Owari' Citrus Unshiu na temperaturi 25 °C

Slika 3.4.3.1. Posuda s 97 %-tnim etanolom i odvojenim ženjkama

Slika 3.5.1.1. Thermal cycler 2720 ABI - proces umnažanja PCR-om

Slika 4.1.2.1. Odrasli stadij *C. arcuatus* (lijevo) i odrasli stadij *C. renipustulatus* (desno) (izvor: Šimala, M.)

Slika 4.1.2.2. Ličinka *C. arcuatus* (lijevo) i ličinka *C. carnea* (desno) (izvor: Šimala, M.)

Slika 4.1.2.3. Jedinka stjenice iz reda Heteroptera (izvor: Šimala, M.)

Slika 4.1.3.1. Stadij „kukuljice“ vrste *A. spiniferus* na biljci *Laurus nobilis*

Slika 4.3.1. PCR produkti za gen za COI veličine otprilike 670 pb nakon elektroforeze (izvor: Novak, A.)

Slika 4.3.2. PCR produkti za gen za COI veličine otprilike 670 pb nakon elektroforeze (izvor: Novak, A.)

Slika 4.3.3. Prikaz višestrukog poravnanja uzoraka *Aleurocanthus spiniferus* (jedan, šest, četiri, deset, tri, pet, dva, osam i sedam), i referentnih sekvenci za haplotip 2 (MN662911, MN662906) i haplotip 1 (MN662913, MN662916) u programu BioEdit. Referentna sekvenca vrste *Bemisia tabaci* (ON955791) korištena je kao vanjska grupa. Crveno su označene razlike u sekvencama između haplotipa 1 i 2. Slika 4.3.2. PCR produkti za gen za COI veličine otprilike 670 pb nakon elektroforeze (izvor: Novak, A.)

Slika 4.3.4. Filogenetsko stablo dobiveno s prikazom haplotipova *A. spiniferus* potvrđenih u Republici Hrvatskoj (izvor: Novak, A.)

1 UVOD

Štitasti moljci (Hemiptera: Aleyrodidae) značajni su štetnici poljoprivrednih usjeva. Zbog širokog spektra biljaka domaćina predstavljaju važnu skupinu štetnika agruma, povrća i cvijeća u zaštićenim prostorima. Od ukupno 1556 opisanih vrsta štitastih moljaca diljem svijeta svrstanih u 161 rod (Martin i Mound, 2007) samo devet vrsta značajni su štetnici agruma u mediteranskim zemljama, od kojih su šest gospodarski važni štetnici agruma. Te vrste su: *Dialeurodes citri* (Ashmead, 1885), *Aleurothrixus floccosus* (Maskell, 1896), *Parabemisia myricae* (Kuwana, 1927), *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903), sve iz potporodice Aleyrodinae, te vrste *Aleurodicus dispersus* Russell, 1965 i *Paraleyrodos minei* Iaccarino, 1990, iz potporodice Aleurodicinae. Prema navodima iz literature vrste iz posljednje navedene potporodice dosad nisu pronađene u Republici Hrvatskoj (Šimala i sur., 2021). Vrste koje se povremeno hrane na agrumima imaju status sekundarnih štetnika: *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856), *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) i *Bemisia afer* (Priesner & Hosny, 1934), sve iz potporodice Aleyrodinae (Vacante, 2012).

Prvi nalaz karantenskog štetnika *A. spiniferus* (narančin trnoviti štitasti moljac agruma) zabilježen je na području EU u Italiji (provincija Lecce) 2008. na agrumima u vanjskoj proizvodnji, dok je njegova prisutnost u Republici Hrvatskoj (Vrtni centar Split) zabilježena 2012. godine (Šimala i sur., 2013.). Prema Uredbi Europske unije 2016/2031 i pripadajućoj Provedbenoj Uredbi Komisije Europske unije 2019/2072, vrsta *A. spiniferus* dio je Priloga II, Dijela B i A2 EPPO liste. Vrsta *A. spiniferus* izraziti je polifag, štete čini na biljkama iz više od 38 biljnih porodica, a najznačajnije štete se očituju na vrstama iz roda *Citrus* L. (Cioffi i sur., 2013). U nova područja Europe unesen je međunarodnom trgovinom poljoprivrednih proizvoda, a širenje ovog štetnika u novim područjima prvenstveno ovisi o dostupnosti hrane, klimatskim uvjetima i drugim vanjskim čimbenicima (Reuther i sur., 1989). Nakon prvog pozitivnog nalaza u komercijanom nasadu agruma u Vitaljini 2018. (Šimala i sur., 2019a) populacija vrste *A. spiniferus* nađena je i na divljoj flori i u drugim nasadima agruma u Dubrovačko-neretvanskoj županiji. Zbog polifagnosti štetnika dolazi do širenja štetnika na nova područja te se procjenjuje kako je zaraza toliko raširena da više nije moguća eradikacija (iskorjenjivanje) kao preporučena mjera suzbijanja tog karantenskog štetnika.

Kako bi se osigurala zaštita biljaka i poljoprivrednih kultura od štetnih organizama poput vrste *A. spiniferus*, regulativne fitosanitarne mjere Europske unije ograničavaju kretanje zaraženog biljnog materijala i unošenje štetnika iz drugih područja. Ove mjere imaju ključnu ulogu u očuvanju zdravlja biljaka i suzbijanju štetnih organizama, kako na lokalnoj razini tako i na razini Europske unije. Iako se uvoz agruma kontrolira, zbog izražene polifagnosti postoji rizik da se ovaj štetnik prenese na ukrasnim biljkama koje se uvoze iz

trećih zemalja, što može dovesti do širenja štetnika na nova područja i stvaranja dodatnih izvora zaraze. Vrsta *A. spiniferus* prepoznata je kao potencijalno opasna vrsta za poljoprivredne kulture i prirodne ekosustave s mogućnošću širenja na nova područja. Prema Mifsud i sur. (2010.), navedena je vrsta zbog svoje polifagnosti prepoznata kao vrlo opasan štetnik te EU zahtijeva i poduzima stroge mjere za sprječavanje daljnjeg unosa i širenja štetnika unutar cijelog područja EU.

Prema Odluci o određivanju demarkiranih područja u kojima se provode mjere za obuzdavanje širenja narančina trnovitoga štitastog moljca – *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (NN 36/2023), koju je donijela Provedbena komisija 2022/1927, na području Republike Hrvatske nalaže se uspostavljanje demarkiranih područja. Nadalje, Uredbom Europske unije 2016/2031 (čl. 22. i 24.) državama članicama propisano je provođenje nadzora radi provjere prisutnosti karantenskih štetnih organizama Unije, štetnih organizama koji privremeno ispunjavaju uvjete za uvrštavanje u karantenske štetne organizme, kao i nadzori prioriternih štetnih organizama. Člankom 23. Uredbe Europske unije 2016/2031 propisana je provedba višegodišnjih programa nadzora (Zakon o biljnom zdravlju NN 127/19, 83/22). Ovaj program jedan je od temelja biljne karantene u sprječavanju širenja ovog invazivnog štetnika koji ima karantenski status u Europskoj uniji, pa tako i u Republici Hrvatskoj.

Za praćenje i rekonstrukciju introdukcije stranih ili karantenskih vrsta štetnika na nova područja koriste se analize konzervirane regije mitohondrijske DNA koju kodira enzim citokrom C oksidaza, prema Boykin i De Barro (2014). Takve analize sve se češće koriste u filogenetskim analizama kukaca u posljednjem desetljeću (Hebert i sur., 2003a, 2003b). Primjerice, Kapantaidaki i sur. (2019) proveli su genetsku analizu populacije *A. spiniferus* na temelju sekvenci fragmenta COI. U njihovoj studiji identificirana su četiri različita haplotipa u populaciji *A. spiniferus*, što upućuje na nekoliko neovisnih introdukcija iz različitih regija. Slična istraživanja proveli su i Nugnes i sur. (2020) na talijanskim i albanskim populacijama ovog štetnika.

Suzbijanje *A. spiniferus* na Mediteranu otežano je zbog njegove polifagnosti, visokog reprodukcijuskog potencijala, ali i zbog preklapanja generacija, tj. istovremene prisutnosti svih razvojnih stadija štetnika u nasadu. Budući da se radi o novom karantenskom štetniku u Republici Hrvatskoj, izazovno je provoditi uspješno biološko suzbijanje putem autohtonih prirodnih neprijatelja zbog nedostatka specijaliziranih i učinkovitih vrsta prirodnih neprijatelja u novim staništima u kojima je štetnik uveden. Nedostatak istraženosti podataka o biološkim obilježjima karantenske vrste *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj bila je motivacija za odabir ove teme i izradu doktorske disertacije.

Nedovoljna istraženost narančina trnovitog štitastog moljca *A. spiniferus* i njegov utjecaj na proizvodnju agruma u Republici Hrvatskoj predstavlja značajan izazov, osobito u kontekstu modernizacije hrvatskog agrumarstva i uspostave matičnih nasada visoke kategorije agruma u Dubrovačko-neretvanskoj županiji. Osim navedenog, nedostatak podataka o *A. spiniferus* otežava i daljni razvoj učinkovitih strategija za kontrolu i suzbijanje štetnika ne samo na području Republike Hrvatske, nego i na području cijele Europske unije.

Od ključne je važnosti provesti temeljita istraživanja o vrsti *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj kako bi se dobile vrijedne informacije o nekim njezinim biološkim obilježjima i utjecaju na proizvodnju agruma. Takva istraživanja omogućit će dobivanje cjelovite slike razvojnog ciklusa ove vrste i mogućnost preveniranja daljnjeg širenja ovog karantenskog štetnika.

1.1 Hipoteze i ciljevi istraživanja

Hipoteze su:

1. Razvoj vrste *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima duži je te razlikuje se u odnosu na razvoj vrste *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima.
2. Na istraživanim biljkama domaćinima doći će do cjelokupnog embrionalnog i postembrionalnog razvoja vrste *A. spiniferus*.
3. Populacija *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj pripada samo jednoj haplogrupi i jednom haplotipu.

Postavljeni ciljevi istraživanja su:

1. Istražiti životni ciklus i izraditi fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u prirodnim i kontroliranim uvjetima.
2. utvrditi biljke domaćine vrste *A. spiniferus*.
3. utvrditi haplotipove *A. spiniferus* na temelju analize mitohondrijske DNA citokrom C oksidaze podjedinice I.

2 PREGLED RELEVANTNE LITERATURE

U pregledu literature prikazat će se dosadašnje spoznaje o rasprostranjenosti agruma i važnosti njihove proizvodnje te agroekološki uvjeti njihova uzgoja kao i štetna fauna agruma s naglaskom na vrstu *A. spiniferus*.

2.1 Agrumi

Agrumi se u svijetu uzgajaju u tropskim i suptropskim područjima između 20 °C i 40 °C sjeverne i južne zemljopisne širine (Ismail i Zhang, 2004). Agrumi pripadaju porodici *Rutaceae* koja obuhvaća 154 roda i 2100 vrsta (Appelhans i sur., 2021). Jednoj od potporodica *Rutaceae*, *Aurantioideae*, pripada podskupina *Citrinae* s najvažnijim rodом *Citrus.*, kojem pripada veliki broj kultiviranih voćnih vrsta (Ortiz, 2007). Osim roda *Citrus* ovoj podskupini pripadaju rodovi *Poncirus raf.*, s jednom vrstom, trolisnom narančom *Poncirus trifoliata* (L.) *raf.* otpornom na hladnoću, često korištenom kao podloga agrumima (Ortiz, 2007; Kaleb, 2014), te *Eremocitrus* Swingle, *Fortunella* Swingle, *Microcitrus* Swingle, *Clymenia* Swingle, koje nemaju veće gospodarsko značenje (Kaleb, 2014).

Rod *Citrus* poznat je po vegetacijskom rastu do tri puta tijekom toplog godišnjeg razdoblja (Hodgson i Frost, 1968). Biljne vrste roda *Citrus* su zimzelena stabla s gustim zelenim listovima. Cvjetovi su hermafroditni, bijele boje, s 4 do 5 latica (Bakarić, 1983). Plod je bobica, ovalnog ili eliptičnog oblika, glatke i sjajne površine, često zvan i hesperidium kojeg karakterizira epikarp (kora), endokarp i mezokarp. Kora ploda obično čini 20 – 30 % mase ploda i sastoji se od dva dijela, flavedo i albedo (Bakarić, 1983; Ortiz, 2007). Flavedo je vanjski dio kore unutar kojeg se nalaze uljne žlijezde s esencijalnim uljima. Albedo je unutrašnji dio kore, takozvani mezokarp ploda. Albedo je bijele boje i spužvaste strukture (Bakarić, 1983; Ortiz, 2007). Unutarnji dio ploda (endokarp) je jestivi dio i sastoji se 8 – 10 kriški koje su ispunjene sokom (Bakarić, 1983; Skendrović – Babojelić i Fruk, 2016). Boja plodova najčešće je žute ili narančaste boje (Webber i Batchelor, 1948). S agronomskog stajališta rod *Citrus* dijeli se u grupe slatka naranča, mandarina, limun, grejpfrut, limeta, četrun i ljuta naranča (Ortiz, 2007).

Naziv agrum, koji se koristi u našem jeziku, potječe od latinske riječi *acrum*, što znači ljuto, oštro i kiselo (Marić i Paladin, 2017). Različite vrste roda *Citrus* porijeklom su s Dalekog istoka i proširile su se u ostale dijelove svijeta (Webber i Batchelor, 1948).

Hranidbena i medicinska vrijednost agruma poznata je još iz antičkih vremena (Nicolosi, 2007). Agrumi su bogati fenolima, dijetetskim vlaknima, askorbinskom kiselinom i drugim hranjivim tvarima (Marlett i Vollendorf, 1994). Prema FAOSTAT-u iz 2020. godine

proizvodnja agruma u svijetu iznosi 157.979,260 tona, dok je u Europi ta brojka 10.586,899 tona. Najveći svjetski proizvođači agruma su Meksiko, Brazil, Kina i SAD, dok se glavnina europske proizvodnje koncentrira unutar mediteranskog bazena. Španjolska i Italija vodeći su europski proizvođači agruma.

Uzgoj agruma u Republici Hrvatskoj je među najsjevernijim u svijetu i odvija se između 42° i 44° sjeverne geografske širine, a za 0,5° sjevernije nalaze se još samo pojedina uzgojna područja u Sočiju, Rusija (Volk i sur., 2017). U Republici Hrvatskoj uzgoj agruma proteže se duž cijele jadranske obale, ali gospodarski najvažnije agrumsko područje je dolina Neretve, gdje površine pod agrumima zauzimaju oko 2.044 ha (DZS, 2021). Tijekom 2021. godine proizvodnja je iznosila 41.215 tona, pri čemu je glavninu činila mandarina s 40.468 tona. Ostale vrste agruma poput limuna i naranče proizvedene su u količini od 747 tone. Gotovo cijela domaća proizvodnja agruma (98,79 %) odvija se u Dubrovačko-neretvanskoj županiji, gdje je registrirano 1.907.708 od ukupno 1.936.791 stabala (DSZ, 2020).

U Tablici 2.1.1. prikazane su fenološke faze agruma na jugu Republike Hrvatske prema BBCH skali.

Tablica 2.1.1. Oznake, opis i vremensko razdoblje pojave razvojnih stadija agruma na jugu Hrvatske (Izvor: Meier, 2001)

BBCH	Opis	Vremensko razdoblje
00	spavajući pup	X.- III.
01	bubrenje pupova	III.
10	pojavljuju se prvi zeleni listovi	III. - IV.
31	rast izboja	III. - IV.
55	cvjetovi vidljivi, još uvijek zatvoreni (zeleni pupoljci)	IV.
56	cvjetne laticice produžene (bijeli pup)	IV.
59.	pupanje	IV.
61	početak cvatnje	IV.
67	opadanje latica	V.
69	kraj cvatnje	V.
72	zametanje plodova	V- VI.
89	plodovi spremni za konzumiranje	X. - I.

Agroekološki uvjeti

Uspješan uzgoj agruma uvelike je povezan s povoljnim klimatskim i edafskim čimbenicima, a klima, tlo i voda smatraju se glavnim čimbenicima koji određuju količinu prinosa i kvalitetu plodova agruma. Međutim, i drugi čimbenici, poput pravilnog izbora sorte, podloge i upotrebe odgovarajućih gnojiva igraju važnu ulogu u postizanju uspješnijeg uzgoja agruma.

Za uspješan urod plodova agruma, glavni ograničavajući faktor je **temperatura**. Agrumi u sjevernom pojasu agruma vrlo su osjetljivi na hladnoću. Bakarić (1983) i Krpina i sur. (2004) navode da mandarine mogu podnijeti temperature do - 8 °C, dok temperature ispod - 10 °C mogu uzrokovati ozbiljnu štetu stablu, pri čemu je važno uzeti u obzir mjesec, trajanje i učestalost niskih temperatura. Rani jesenski mrazovi u studenom mogu uništiti lišće, izboje i plodove, dok kasni proljetni mrazovi u travnju mogu izmrznuti mlade izboje.

Visoke temperature nisu ograničavajući čimbenik za uzgoj agruma, ali često dovode do niske relativne vlažnosti zraka i suhih vjetrova koji negativno utječu na kvalitetu ploda, fotosintezu i druge životne funkcije (Bakarić, 1983; Krpina i sur., 2004). Agrumi preferiraju toplinu, poput mandarina kojima je potrebno oko 4.200 °C aktivnih temperatura tijekom vegetacijskog razdoblja (Krpina i sur., 2004). U Republici Hrvatskoj mandarine postižu najbolju kvalitetu plodova pri hladnijim temperaturama tijekom jeseni i zime (5 - 10 °C) (Tabain, 1975; Sauls, 1998).

Agrumi zahtijevaju visoku razinu **vlažnosti u tlu**. Vrste poput mandarina, koje su uzgojene na podlozi *P. trifoliata*, zahtijevaju posebno visoku razinu vlažnosti u tlu u usporedbi s drugim vrstama agruma, što ih čini tipičnim za uzgoj u vlažnim suptropskim područjima (Bakarić, 1983). Tijekom vegetacijskog razdoblja od svibnja do listopada agrumi su izuzetno osjetljivi na nedostatak vode u tlu (Bakarić, 1983). Zbog toga, od svibnja do listopada nedostatak vode u tlu ima značajniji utjecaj na prinos agruma nego temperaturni ili drugi čimbenici.

Karakteristike tla koje su važne za uzgoj agruma mogu se brzo odrediti laboratorijskom analizom. Prema Rebouru (1971), optimalna tla za uzgoj agruma sadrže 5 – 20 % gline, 50 % krupnog pijeska i 10 – 40 % vapna. Agrumi uspijevaju u različitim tipovima tla, osim u glinastim i glinasto-ilovastim tlima. Tla s udjelom gline većim od 20 % imaju slabu propusnost za zrak i vodu, što ograničava uzgoj (Krpina i sur., 2004). Najpogodnija su srednje propusna tla s adekvatnom količinom organske tvari ili humusa i dobrom vodnom sposobnošću za razvoj korijenovog sustava i zadržavanje vode. U dolini Neretve, gdje prevladava uzgoj mandarina na podlozi *P. trifoliata*, optimalni pH tla je između 6 i 6,5 (Bakarić, 1983). Agrumi ne uspijevaju na tlima s visokom razinom podzemne vode i mjestima gdje se zadržava voda jer to može dovesti do asfiksije i truljenja korijena i nisu

prikladni za vapnenasta tla s udjelom aktivnog vapna većim od 35 % jer se otežava apsorpcija mineralnih elemenata (Colombo, 2015).

Prilikom podizanja nasada agruma preporučuje se obaviti meliorativnu **gnojdbu** tla fosfornim i kalijevim gnojivima u količinama koje su potrebne prema kemijskoj analizi tla (Krpina i sur., 2004). Preporučena količina hraniva je 300 g dušika (N), 140 g fosfora (P_2O_5) i 200 g kalija (K_2O) (Krpina i sur., 2004). Dodavanje organskih gnojiva, posebice stajskog gnoja, povoljno utječe na uzgoj agruma. Stajski gnoj obično se dodaje krajem veljače i početkom ožujka. Tijekom vegetacije često se javlja nedostatak željeza (Fe) koji se može nadoknaditi zalijevanjem ili primjenom folijarnog gnojiva (Krpina i sur., 2004).

Prije podizanja nasada važno je odabrati **sorte** koje će se uzgajati. Izbor sorti ovisi o vrsti agruma, vremenu dozrijevanja, klimatskim i edafskim uvjetima i produktivnosti stabla (Bakarić, 1983). Prema dostupnim podacima Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu (HAPIH, 2021) u Dubrovačko-neretvanskoj županiji do 2020. godine izražena je potreba rasadničara za pupovima ranijih sorti mandarine (*Citrus Unshiu* 'Zorica rana', 'Chahara', 'Ichumaru'), dok je od 2021. iskazana veća potreba za pupovima limuna (*Citrus limon* (L.) Burm. F., sorta Mayer). Odabir odgovarajuće podloge za sadnice agruma ima velik utjecaj na vegetaciju, rodnost, kvalitetu plodova i otpornost na bolesti. U našim uzgojnim područjima, posebno u Republici Hrvatskoj, podloga zahvaljujući kojoj agrumi imaju najveću otpornost prema hladnoći je *P. trifoliata*. Ova podloga najčešće je korištena i najvažnija podloga za uzgoj mandarina (Krpina i sur., 2004). Osim *P. trifoliata*, u okolici Dubrovnika, u malim količinama zastupljene su i podloge poput *Citrus x aurantium* i *Citrumello Swingle* (*Poncirus trifoliata* x *Citrus paradisi*) (Bakarić, 1983; Černi i sur., 2009).

2.2 Štetna entomofauna agruma

Na agrumima, kao i na ostalim biljnim vrstama, zabilježena je brojna entomofauna. Ebeling (1959) navodi približno 875 vrsta kukaca i grinja na agrumima, a samo njih 10 % ima gospodarsku važnost. Njihova učestalost pojave i visina štete ovise o klimatskim čimbenicima i njihovoj sposobnosti prilagodbe na nova staništa (Byrne i sur., 1990; Smith i Pena, 2002). Prema Byrne i sur. (1990) agrumi su osjetljivija skupina poljoprivrednih kultura zbog izravnih šteta mjerljivih smanjenim urodom.

Prema dostupnoj recentnoj literaturi (Liquidó i sur., 1998; Copeland i sur., 2002; Thomas i sur., 2001; Yokomi, 2009; Gotlin-Čuljak et al., 2012; Radonjić i Hrnčić, 2020. i dr.) u svijetu su najvažniji štetnici agruma mediteranska voćna muha (*Ceratitís capitata* Wiedemann, 1824), lisne uši (*Toxoptera citricidus* (Kirkaldy, 1907), *Aphis gossypii* Glover 1877, *Aphis spiraecola* Patch 1914 i *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscolombe, 1841), štitaste uši (*Coccus pseudomagnoliarum* (Kuwana, 1914), *Icerya purchasi* (Maskell, 1878), *Aonidiella aurantii* (Maskell, 1879) i štitasti moljci (*D. citri* i *A. spiniferus*).

2.2.1 Mediteranska voćna muha (*Ceratitís capitata* Wiedemann, 1824)

C. capitata je polifagni štetnik koji napada više od 360 biljnih vrsta iz 69 različitih botaničkih porodica, uzrokujući značajne gubitke u poljoprivrednoj proizvodnji (Liquidó i sur., 1998; Copeland i sur., 2002). Mediteranska voćna muha ima široku rasprostranjenost i prisutna je u mnogim dijelovima svijeta, posebno u mediteranskim područjima (Sciarretta i sur., 2018). Vrsta spada u red Diptera, porodicu Tephritidae, te u rod *Ceratitís* (Macleay, 1829) (Maceljski, 2002). Odrasle muhe su duljine oko 5 mm, žutosmeđe boje sa žutim poprečnim prugama na prozirnim krilima, dok su ličinke blijedožute boje (Maceljski, 2002). Prezimljuju u stadiju kukuljice, a prvi odrasli stadiji javljaju se tijekom svibnja. Odrasle jedinke odlažu jaja u zrelije plodove u skupinama po dvadesetak jaja, a tijekom života, ženka može odložiti i do 800 jaja (Bakarić, 1978). Nakon dva do tri dana pojavljuju se ličinke koje prolaze tri razvojna stadija (Bakarić, 1978). Za vrijeme toplog vremena, nakon 9 – 15 dana ličinke završavaju svoj razvoj i kukulje se u tlu. U Republici Hrvatskoj zabilježeno je 4 – 5 generacija, dok u toplijim uvjetima može biti i do 16 generacija (Maceljski, 2002). Mediteranska voćna muha preferira toplu i suhu klimu. Vrsta *C. capitata* zbog svoje sposobnosti prilagođavanja i visokom biološkom potencijalu može opstati i u područjima s hladnijom klimom (Thomas i sur., 2001). Optimalna temperatura za razvoj voćne muhe je oko 32 °C, dok je donja granica 9 °C, a gornja 38 °C (Maceljski, 2002). Oba spola *C. capitata* seksualno su aktivna tijekom cijelog dana. Kada se prosječna dnevna temperatura kreće između 24,4 i 25,6 °C, većina ženki je spremna za parenje od šest do osam dana nakon izlaska iz kukuljice. (Thomas i sur., 2001). Voćna muha napada zrele plodove voća,

uzrokujući truljenje te gubitak kvalitete i pad tržišne vrijednosti plodova, a zaraženi plodovi nisu upotrebljivi za tržište jer brzo počnu trunuti (Thomas i sur., 2001). Suzbijanje mediteranske voćne muhe obavlja se kombinacijom mjera poput održavanja higijene voćnjaka i okolnog područja, uklanjanjem i uništavanjem napadnutih ili trulih plodova i korištenjem lovnih posuda (Maceljski, 2002). Od bioloških mjera suzbijanja koriste se entomopatogene gljivice *Beauveria bassiana* Vuill, 1912, *Metarhizium anisopliae* Sorokin, 1883 i pripravci na osnovi bakterije *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 (Aboussaid i sur., 2010; Maria, 2010). Kod kemijskog suzbijanja vrste *C. capitata* dozvoljena su sredstva na osnovi djelatne tvari deltametrin, lambda-cihalotrin i azadiraktin (FIS, 2023). U posljednje vrijeme zastupljeno je ciljano kemijsko suzbijanje tako da se štetnici privlače kombinacijom različitih vrsta proteinskih mamaca, a zatim se ciljano suzbijaju dozvoljenim insekticidnim pripravcima (Siciliano i sur., 2014). U dolini Neretve od 2010. godine prevladava ekološki prihvatljiva metoda u suzbijanju vrste *C. capitata* ispuštanjem sterilnih mužjaka tzv. SIT tehnika (*sterile insect technique*) (Vargas i sur., 2001; Thomas i sur., 2001; Copeland i sur., 2002; Bjeliš, 2006).

2.2.2 Lisne uši (Aphidoidea)

Lisne uši, *Toxoptera citricidus*, *Toxoptera aurantii*, *Aphis gossypii* i *Aphis spiraecola*, spadaju u važne štetnike agruma. Navedene vrste prenose najštetniji virus, *Citrus tristeza virus* (CTV), koji je jedna od najopasnijih virusnih bolesti agruma u svijetu (Rocha-Pena i sur., 1995; Paladin Soče i sur., 2020a). Lisne uši semiperzistentni su vektori CTV-a. Prenose virus u roku od najmanje 24 sata nakon akvizicije (Bar-Joseph i sur., 1989; Moreno i sur., 2008). Navedene lisne uši prisutne su u nasadima agruma u tropskim, suptropskim i mediteranskim područjima (Yokomi, 2009; Gotlin Čuljak et al., 2012; Radonjić i Hrnčić, 2020). U Republici Hrvatskoj vrsta *T. citricidus* nije pronađena, ali je prisutna u nekim drugim zemljama Europske unije te je navedena u Prilogu II., Dijelu B Uredbe 2019/2072 i na A2 EPPO listi. Prema provedbenoj Uredbi Komisije (EU) 2019/2072 i Uredbi 2016/2031 vrsta *T. citricidus* u sklopu je Programa posebnog nadzora na agrumima u Republici Hrvatskoj s obzirom na visoki fitosanitarni rizik. Vrste *T. citricidus*, *T. aurantii*, *A. gossypii* i *A. spiraecola* su mali kukci, veličine 1,5 do 3,5 mm, s krilima koja su u letu pričvršćena jedna za drugo (Gotllin Čuljak i Juran, 2016). Identifikacija vrste provodi se na temelju morfoloških karakteristika odraslih jedinki, kao što su građa ticala, rila i zatka (Blackman i Eastop, 2000). Navedene vrste imaju nepotpuni razvojni ciklus (anholociklički), pri čemu izostaje gametogeneza i oviparitet, a prezimljuje odrasla ženka. Tijekom godine prisutna je partenogeneza i viviparitet (Maceljski, 2002; Gotllin Čuljak i Juran, 2016). Lisne uši godišnje mogu imati više od 25 generacija (Maceljski, 2002). Štete koje uzrokuju na agrumima podijeljene su na izravne, kao što su kovrčanje lišća, žučenje i uvijanje izboja zbog ishrane,

te neizravne, poput smanjena procesa fotosinteze, oštećenja plodova, smanjenja njihove kvalitete i prenošenja virusa (Maceljski, 2002; Gotlin Čuljak i Juran, 2016). Ako se radi o maloj populaciji, lisne uši mogu se suzbiti ručnim uklanjanjem, ali na malim proizvodnim površinama. Lisne se uši suzbijaju kemijskim i biološkim mjerama. Kemijsko suzbijanje zaštitnim sredstvima provodi se pripravcima na osnovi djelatne tvari lambda-cihalotrin, pirimikarb, spirotetramat (Sevim i sur., 2012; FIS, 2023), a biološko suzbijanje provodi se ispuštanjem predatora i parazitoida te entomopatogenih gljivica iz porodice Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacillaceae, Micrococcaceae i Bacillaceae.

2.2.3 Štitaste uši (Coccoidea)

Štitaste uši daleko su značajniji štetnici agruma od lisnih ušiju (Biško i sur., 2021). Polifagni su štetnici koji mogu biti od velike ekonomske važnosti. Dosad su potvrđene 332 vrste štitastih ušiju na agrumima, prvenstveno u tropskim i suptropskim područjima svijeta gdje se uzgajaju agrumi (García Morales i sur., 2016; Almeida i sur., 2018). Većina vrsta nalazi se u tropskim i suptropskim područjima svijeta (García Morales i sur., 2016). Po taksonomiji pripadaju redu *Hemiptera*, natporodici *Coccoidea*, i podijeljene su u 30 porodica (Gullan i Cook, 2007). U Republici Hrvatskoj ukupno je registrirano 18 vrsta iz porodica *Coccidae* i *Pseudococcidae* koje obitavaju na agrumima (Biško i sur., 2021).

Štitaste uši sitni su kukci dužine tijela 2 – 5 mm. Ženke imaju izduženo, okruglasto ili jajoliko tijelo prekriveno voštanim izlučinama ili štitićem različite građe (vosak, svlakovi ili razne izlučine), apodne su i bez krila (Gullan i Martin, 2009). Njihov usni organ prilagođen je za sisanje (Maceljski, 2002). Mužjaci imaju noge, jedan par krila i tijelo koje je jasno segmentirano. Njihov usni organ reduciran je, zbog čega se ne hrane, pa im je životni vijek vrlo kratak (Maceljski, 2002). Kod štitastih ušiju razmnožavanje može biti spolno ili partenogenetski, dok je kod vrste *Icerya purchasi* prisutan hermafrodizam (Maceljski, 2002; Gullan i Martin, 2009). Ženke su oviparne ili viviparne i imaju tri do četiri razvojna stadija: jaje, dva ili tri stadija ličinke i odrasli stadij. Kod ženki preobrazba je nepotpuna. Mužjaci prolaze kroz pet razvojnih stadija s potpunom preobrazbom. Pokretan je jedino prvi stadij ličinke koji nakon izlijezanja traži pogodno mjesto za hranjenje (Gullan i Martin, 2009). Broj generacija godišnje ovisi o vrsti štitastih ušiju, klimatskim uvjetima i biljkama domaćinima, a štitaste uši imaju uglavnom od jedne do sedam generacija godišnje (Gullan i Martin, 2009). Štete pričinjavaju izravno sisanjem biljnih sokova, čime uzrokuju deformaciju biljnih organa, promjene boje i kržljanje (Maceljski, 2002), dok neizravno ubadanjem rila u biljno tkivo unose otrovnu slinu, čime prenose patogene i izlučuju mednu rosu na koju se naseljavaju gljivice čađavice (Almeida i sur., 2018). U Republici Hrvatskoj vrsta *Coccus*

pseudomagnoliarum smatra se najštetnijom vrstom na agrumima na cijelom uzgojnom području (Masten Milek i sur., 2017).

Biološke mjere suzbijanja štitastih ušiju u prošlosti pokazale su veliki uspjeh. Predator poput božje ovčice, *Rodolia cardinalis* Mulsant, 1850 tijekom 1888. godine unesena je u Kaliforniju s ciljem suzbijanja *Icerya purchasi*. Nakon 18 mjeseci, u 208 nasada agruma diljem Kalifornije, štetnik je bio pod kontrolom (Caltagirone i Doult, 1989). Također, parazitoidi *Aphytis lingnanensis* Compere, 1955 i *Comperiella bifasciata* Howard, 1906 pokazali su se učinkovitima u suzbijanju vrste *A. aurantii* tijekom 1977. godine u Australiji. Zahvaljujući parazitoidnim osicama, zaraza štetnika smanjena je na ekonomski prihvatljivu razinu od 0,05 odraslih ženki po plodu u 12 mjeseci (Smith, 1978). Međutim, i dalje je najvažniji način suzbijanja štitastih ušiju primjenom insekticida. Zimsko prskanje na osnovi mineralnih ulja u vrijeme mirovanja vegetacije osnovna je mjera sprječavanja šteta od štitastih ušiju, a kasnije, u vremenu vegetacije, potrebna je ciljana primjena insekticida, i to u vrijeme masovne pojave njihovih ličinki (Castle i Prabhaker, 2011).

2.2.4 Štitasti moljci (Aleyrodoidea)

U pregledu literature prikazat će se dosadašnje spoznaje o važnosti, rasprostranjenosti, sistematskoj pripadnosti, morfološkim karakteristikama, životnom ciklusu i ekološkim čimbenicima, štetnosti i načinu suzbijanja štitastih moljaca u svijetu i Republici Hrvatskoj.

Važnost štitastih moljaca

Štitasti moljci predstavljaju ozbiljne štetnike agruma, kako na različitim povrtnim i ukrasnim biljnim vrstama uzgajanim u zaštićenim prostorima tako i na povrtnim kulturama na otvorenom (Mound i Halsey, 1978). Zbog svoje sitne građe ostaju nezamijećeni sve dok se ne otkriju simptomi napada. Polifagni su štetnici i imaju široki krug biljaka domaćina i nedovoljan broj prirodnih neprijatelja. Pojedini štitasti moljci, poput *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889), s vremenom postaju gospodarski važniji štetnici zbog prisutnosti agresivnih biotipova s visokom fertilnošću i većim potencijalom u prijenosu virusa, kao i zbog njihova šireg spektra biljaka domaćina (Šimala, 2008). Prema Byrne i sur. (1990) štitasti moljci, kao izravni štetnici, registrirani su na oko 40 drvenastih dvogodišnjih ili višegodišnjih poljoprivrednih kultura, dok ozbiljne probleme uzrokuju na osam vrsta, a najveće štete zabilježene su u nasadima agruma i kokosa. Na agrumima je zabilježen najveći broj štetnih vrsta, što ima za posljedicu veliki gubitak prinosa (Byrne i sur., 1990). Yothers 1913, cit. Byrne i sur., 1990 navodi gubitak uroda u visini 25 – 50 % uzrokovan napadom vrste *D. citri* na Floridi tijekom 1913. godine, dok Watts i Alam, 1973 cit. Bryne i

sur., 1990) navode gubitak prinosa od 60 % u Omanu 1973. godine uzrokovan vrstom *Aleurocanthus woglumi* (Ashby 1915).

Rasprostranjenost štitastih moljaca

Većina štitastih moljaca podrijetlom je iz tropskog područja, stoga imaju vrlo dobru sposobnost prilagodbe na nova staništa.

Prvi sistematski popis štitastih moljaca napravio je Kirkaldy 1907. godine u kojem je 150 vrsta podijelio u dva roda, a 1908. godine Quaintance je izradio popis sa 156 vrsta podijeljenih u tri roda (Mound i Halsey, 1978). Nakon njih su Quaintance i Baker (1914) porodicu Aleyrodidae podijelili u tri potporodice: Udamoselinae, Aleurodicinae i Aleyrodinae. Prema sistematskom katalogu „Whitefly of the World“ Mound i Halsey (1978) navode 1156 vrsta unutar 126 rodova porodice Aleyrodidae s podacima o rasprostranjenosti, biljkama domaćinima i prirodnim neprijateljima. Evans (2007a) je objavio kataloški pregled prema kojem porodica Aleyrodidae sadrži 1551 vrstu u 166 rodova podijeljenih na tri živuće potporodice (Aleurodicinae, Aleyrodinae i Udamoselinae) i jednu fosilnu potporodicu (Bernaeinae) koje su svrstane u devet zoogeografskih regija. Ovaj pregled pruža sveobuhvatan uvid u dosad identificirane vrste i rodove štitastih moljaca i njihovu geografsku rasprostranjenost. Potporodica Aleyrodinae obuhvaća 1424 vrste i 148 rodova koji su rasprostranjeni u cijelom svijetu (Evans, 2007a). Danas je porodica Aleyrodidae skupina s više od 1610 opisanih vrsta štitastih moljaca u svijetu svrstanih u 170 rodova (Martin i Mound, 2007; Ouvrard & Martin, 2021; Streito & Germain, 2020).

Prema Martin i sur. (2000) unutar porodice Aleyrodidae postoji 56 vrsta štitastih moljaca koji se nalaze unutar Europe i mediteranskog bazena za koje se smatra da su autohtone ili introducirane vrste, a svrstane su unutar 25 rodova. Prema najnovijim istraživanjima fauna štitastih moljaca na području Europe i mediteranskog bazena uključuje 57 vrsta u 26 rodova, a od toga šest vrsta ima status gospodarskog štetnika na agrumima (Šimala i sur., 2020; Uygun i sur., 2010).

U razdoblju od 1940. do 2007. godine istraživana je fauna i rasprostranjenost štitastih moljaca na području Republike Hrvatske. Začetnikom istraživanja štitastih moljaca smatra se entomolog Petar Novak koji 1931. godine u svom djelu „Štetni insekti u Dalmaciji“ spominje neidentificiranu vrstu *Aleurodes* sp. u okviru nadreda Rhynchota (Šimala, 2008).

Zahradnik (1963) i Takahashi (1940) tijekom svojih faunističkih istraživanja objavljuju radove o nalazima štitastih moljaca na području bivše Jugoslavije. Takahashi (1940) objavljuje prvi nalaz vrste *Trialeurodes klemmi* (Takahashi, 1940) i opisuje njezine morfološke karakteristike, a kao mjesto pronalaska navodi otok Rab. U svom djelu

Zahradnik (1963) objavljuje nalaz 11 determiniranih vrsta na području bivše Jugoslavije, od kojih je samo *Trialeurodes lauri* (Signoret, 1882) zabilježena na lovoru u Splitu tijekom 1958. godine.

Kovačević (1961) ističe *Trialeurodes vaporariorum* kao čestog štetnika cvijeća i povrća u zaštićenim prostorima, a vrstu *Aleyrodes proletella* (Linnaeus, 1758), sinon. *Aleyrodes brassicae* (Walker, 1852) kao vrlo rijetkog štetnika kod nas.

O ostalim značajnijim štetnim vrstama porodice Aleyrodidae pisao je i Maceljski (2002). U 2000. godini Republika Hrvatska postala je bogatija za još jednog člana entomofaune, *B. tabaci*. Otad pa do danas postoje brojni radovi vezani za istraživanje rasprostranjenosti i načina suzbijanja ovog štitastog moljca (Žanić i sur. 2001a; 2001b; Šimala i sur., 2002; Masten i sur., 2004; Šimala, 2008).

U razdoblju 2005. – 2007. godine napravljena su zadnja opsežna faunistička istraživanja entomofaune štitastih moljaca (Aleyrodidae) i sastavljen je popis vrsta na području Republike Hrvatske. Šimala (2008) objavljuje obuhvaćeni popis svih vrsta štitastih moljaca koje su dosad zabilježene u istraživanjima različitih autora i vlastitim faunističkim istraživanjima. Ukupno je identificirano 30 vrsta koje su podijeljene u 18 rodova. Od tih vrsta njih 20 pripada u 13 različitih rodova i predstavljaju nove vrste za Republiku Hrvatsku (Šimala, 2008).

O fauni i zastupljenosti štitastih moljaca na agrumima Bakarić (1983) u svom djelu „*Uzgoj mandarine Unshiu*” spominje prisutnost štitastog moljca agruma *Dialeurodes citri*, koji je zabilježen u nasadima agruma u okolici Dubrovnika 1977. godine.

Maceljski (2002) navodi opasnost unosa štetnih vrsta štitastih moljaca agruma u Republiku Hrvatsku poput *P. myricae*, *A. woglumi* i *A. floccosus*.

Vunasti štitasti moljac *A. floccosus* prvi put zabilježen je na području Republike Hrvatske tijekom 2007. godine u mjestu Ražanj kod Trogira. Polifagni je štetnik, a na području mediteranskog bazena prvenstveno napada agrume (Žanić, 2012).

U 2015. godini, tijekom provođenja programa posebnog nadzora štetnih organizama, potvrđen je nalaz regulirane nekarantenske vrste *P. myricae*. Štetnik je otkriven na limunu u mjestu Lumbarda na otoku Korčuli. Osim na limunu vrsta je zabilježena i na listopadnom stablu *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. (Moraceae) (Šimala i sur., 2016). Ova vrsta je polifagni štetnik, invazivna, i u mediteranskim zemljama predstavlja ogromni fitosanitarni problem u proizvodnji agruma. Vrsta *P. myricae*, osim direktnih šteta koje uzrokuje sisanjem biljnog soka na biljci domaćinu, poznata je i kao vektor virusa *Citrus Chlorotic Dwarf* (CCD). Ovaj kukac prenosi virus na semiperzistentan način (Kersing i sur., 1997; Roistacher, 2004).

Nova zabilježena vrsta u entomofauni agruma u Republici Hrvatskoj je *A. aucubae* otkrivena u Istarskoj županiji. Ova vrsta zabilježena je u istočnim zemljama poput Japana i Kine, dok Evans (2007a) navodi kasniju introdukciju na područje Kalifornije. Na području Europe prvi put potvrđena je 2006. godine u Italiji, a u narednim godinama potvrđena je i u ostalim mediteranskim zemljama (Šimala i sur., 2014; Malumphy i sur., 2015; Šimala i sur., 2020). „Kukuljica“ ove vrste je crne boje, bez bijelih voštanih resa na rubu „kukuljice“ i trnovitih seta na leđnoj strani, te je dosta manja u odnosu na „kukuljicu“ vrste *A. spiniferus*. Te su karakteristike važne pri identifikaciji vrste štitastog moljca na terenu.

Sistematska pripadnost štitastih moljaca

U Tablici 2.2.4.1. prikazana je sistematika štitastih moljaca Aleyrodidea (Mound i Halsey, 1978; Gullan 1999).

Tablica 2.2.4.1. Sistematika štitastih moljaca (Aleyrodidea) (izvor: Gullan 1999)

RANG	NAZIV
carstvo	Animalia
koljeno	Arthropoda
potkoljeno	Hexapoda
razred	Insecta
nadred	Rhynchota
red	Hemiptera
podred	Sternorrhyncha
natporodica	Aleyrodoidea
porodica	Aleyrodidae
potporodice	Udamoselinae
	Aleurodicinae
	Aleyrodinae

Unutar nadreda Rhynchota između kukaca postoje morfološke razlike koje se odnose na građu tijela i na način života. Jedina zajednička karakteristika im je usni organ za bodenje i sisanje u vidu rila (*rostrum*) (Gotlin Čuljak i Juran, 2016).

Podredovi Heteroptera (raznokrilci ili prave stjenice) i Homoptera (jednakokrilci) nekada su činili veliki red Hemiptera. Iako pripadnici skupine Homoptera imaju dosta zajedničkih morfoloških obilježja, nedavne molekularne i morfološke analize upućuju na to da se radi o parafiletskoj skupini. Zbog filogenetskog dokaza dolazi do promjene naziva reda Homoptera u Hemiptera (Durbešić i sur., 2018; Gullan 1999) tako se danas u sistematici najčešće navode tri podreda, Auchenorrhyncha (Cercopoidea, Cicadoidea, Cicadelloidea,

Fulgoroidea), Sternorrhyncha (Aleyrodoidea, Aphidoidea, Coccoidea i Psylloidea) i Heteroptera (Gullan, 1999).

Današnja taksonomska klasifikacija štitastih moljaca zasniva se na morfološkim značajkama ličinke četvrtog stadija, tj. „kukuljice“, a ne na morfologiji odraslog stadija (Mound i Halsey, 1978). Postoje i osnovne morfološke karakteristike „kukuljice“ koje se koriste prilikom identifikacije vrsta iz potporodica Aleyrodinae i Aleurodicinae.

Morfološke karakteristike štitastih moljaca

U morfološkoj građi **odraslih štitastih moljaca** postoje razlike između potporodica **Aleurodicinae i Aleyrodinae**. Potporodica Aleurodicinae obuhvaća 118 vrsta u 18 rodova (Šimala i sur., 2021). Odrasli stadiji vrsta iz ove potporodice imaju duljinu tijela veću od 2 mm, s rasponom krila 3,5 – 4 mm. Izuzetak su rodovi *Metaleurodicus* (Quaintance i Baker, 1914) i *Paraleyrodes* (Quaintance, 1909) čije je tijelo kraće i raspon krila manji (Gill, 1990). Prema Martin (2004) krilna nervatura odraslih štitastih moljaca potporodice Aleurodicinae složenija je nego kod odraslih stadija potporodice Aleyrodinae.

Aleyrodinae su sitni, nježni fitofagni kukci. Tijelo im je veličine 1 – 3 mm. Većina štitastih moljaca oligofagna je, međutim, polifagne vrste su od veće važnosti jer se javljaju kao gospodarski štetni organizmi u poljoprivredi (Resh i Cardé, 2003). U svjetskoj literaturi vrste porodice Aleyrodidae poznate su kao *whiteflies*, što u slobodnom prijevodu znači „bijeले mušice“, a točan taksonomski naziv u Republici Hrvatskoj je štitasti moljci. To je zbog činjenice što odrasli stadiji ovih kukaca imaju tijelo i krila prekrivena bijelim voštanim prahom. (Hodges i Evans, 2005). Po tome je porodica Aleyrodidae i dobila ime jer grčka riječ *aleuro*, koju možemo naći u korijenu naziva većine vrsta štitastih moljaca, u prijevodu znači brašno (Gullan i Martin, 2003).

Glava štitastih moljaca s prednje strane je trokutastog oblika. Odrasli razvojni stadiji na glavi imaju po jedan par složenih i jednostavnih očiju, ticala sastavljena od sedam članaka i rilo (*rostrum*). Iznimka je rod *Paraleyrodes* kod kojeg su ticala kod ženki sastavljena od četiri, a kod mužjaka od tri članka (Evans, 2007b; Iaccarino i sur., 2011). U odraslih razvojnih stadija potporodice Aleyrodinae s prednje strane tjeme je široko, zaokruženo i šire nego duže, a u odraslih razvojnih stadija potporodice Aleurodicinae ono je jednake dužine i širine, osim u vrsta roda *Dialeurodicus* Cockerell 1902 (Gill, 1990).

Na člancima **prsišta odraslih** nalaze se krila i noge. Najveći srednji članak nosi prvi par krila, koja su ujedno i veća od stražnjih. Krila štitastih moljaca prozirna su s različitom pigmentacijom, od čega kasnije nastaju šare u obliku pjega ili traka. Odrasli razvojni stadiji iz potporodice Aleyrodinae tijekom mirovanja imaju krila sklopljena u formi krova i reduciranu nervaturu krila bez poprečnih žila, a postojeća nervatura žila ne dodiruje rub

krila (Martin i sur., 2000), dok odrasli razvojni stadiji iz potporodice Aleurodicinae drže krila sklopljena u vodoravnom položaju (Gill, 1990). Na nogama se nalaze određeni važni morfološki dijelovi koji služe prilikom identifikacije, poput metatibialnog češlja (*metatibial comb*) i metatibialne četke (*metatibial brush*), a služe za nanošenje voska po tijelu (Gill, 1990).

Na leđnoj strani posljednjeg članka **zatka** (*abdomen*) nalazi se analni otvor koji čine polukružni ili trokutasti otvor (*vasiform orifice*), jezičac (*lingula*) koji izbacuje izmet i poklopac (*operculum*), koji djelomično ili u cijelosti prekriva otvor (Martin i sur., 2000). Ovo je struktura koja odrasle jedinice štitaštih moljaca čini jedinstvenim u svijetu. Ova struktura vidljiva je u svih stadija ličinki, ali i u odraslih razvojnih stadija, i omogućuje prepoznavanje štitaštih moljaca u svim stadijima životnog ciklusa (Martin, 2004).

Jaja su pretežno ovalno izduženog oblika. Vršni i donji dio može biti šiljast ili zaokružen. Jaja porodice Aleyrodidae pričvršćena su na list domaćina pomoću drške ili *pedicela* koji se nalazi na donjem dijelu jaja, a duljina *pedicela* može varirati (Gill, 1990). Prema Paulson i Beardsley (1985) važnost *pedicela* je u akumulaciji vlage i sprječavanju dehidracije jaja. Boja jaja varira od blijedožute do tamnosmeđe boje.

Prvi razvojni stadij ličinke jedini je pokretni stadij ličinke štitaštih moljaca. Boja ličinke prvog razvojnog stadija je od svijetlozelene do žute, svijetlosmeđe do tamnosmeđe ili crne boje (Gill, 1990). Do danas je jako malo poznato o morfologiji prvog razvojnog stadija ličinke štitaštih moljaca.

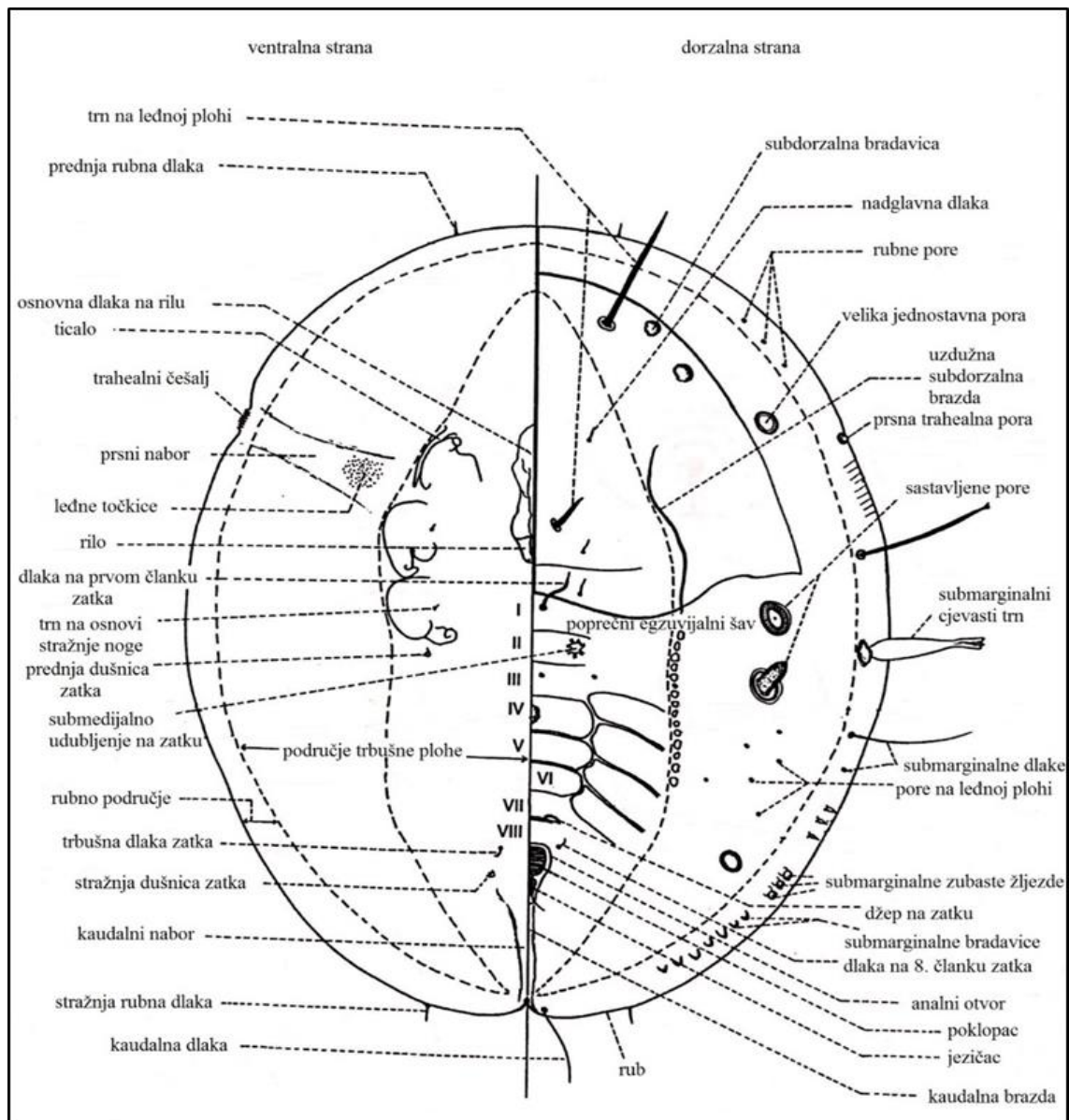
Drugi i treći razvojni stadij ličinke štitaštih moljaca sličan je „kukuljici” po obliku i boji. Morfološki se razlikuju od „kukuljice” veličinom, oblikom nogu i duljinom leđnih dlaka i po odsutnosti određenih morfoloških dijelova koji su važni pri identifikaciji vrste. Kod potporodice Aleyrodinae segmentacija nogu i ticala svedena je na jedan članak (Gill, 1990). Ličinke drugog i trećeg razvojnog stadija stvaraju karakteristične voštane izlučevine, čija forma je specifična za svaku vrstu, i obično se razlikuje od voštanih izlučevina kod „kukuljice” (Gill, 1990).

Na temelju morfoloških karakteristika **četvrtog razvojnog stadija ličinke**, odnosno „**kukuljice**“, radi se identifikacija i taksonomija vrste (Slika 2.2.4.1.). Oblik „kukuljice“ ovalnog je ili ovalno izduženog oblika. Neke vrste mogu imati nepravilan oblik „kukuljice“ ako im čvrste dlake lista biljke domaćina ili neka druga tvorevina sprječavaju normalan rast. Tijelo „kukuljice“ može biti prozirno, a kroz tijelo se reflektira boja biljke domaćina. Kod pojedinih vrsta, čije su „kukuljice“ prozirne, poput *D. citri*, vidljivi su unutarnji organi i dvije crvene točke, odnosno složene oči budućeg odraslog razvojnog stadija (Gill, 1990). Neke vrste imaju karakterističnu boju, poput *A. woglumi* čija je „kukuljica“ crne boje i lako je

uočljiva na listovima. Osim ličinki drugog i trećeg stadija i „kukuljice“ proizvode tanki, prozirni voštani sloj preko cijele leđne površine ili je voštani sloj prisutan u vidu resica na rubovima „kukuljice“. Voštane izlučevine javljaju se u dvije boje kod štitastih moljaca. Jedna boja može biti prozirna i reflektira boje neposredne okoline, a druga je čista, bijela boja (Gill 1990). Kod nekih vrsta voštane nakupine mogu izlučivati submarginalne pore, odnosno pore smještene u blizini ruba „kukuljice“ (*submarginal pores*), rubne voštane cijevi (*marginal wax tubes*) i submarginalne pore sa submarginalnim bradavicama (*submarginal papillae*). Površina „kukuljice“ štitastih moljaca obrasla je rijetkim dlakama čija veličina, oblik, smještaj i prisutnost pomažu u identifikaciji vrste (Gill, 1990).

Kod potporodice **Aleurodicinae** građa „kukuljice“ je složenija. Na leđnoj strani „kukuljice“ nalaze se velike složene voštane pore koje izlučuju vosak (Mound i Halsey, 1978). Jezičac (*lingula*) im je vrlo dug i proteže se izvan analnog otvora i na vrhu ima dva ili više para dlaka, a pandžica je prisutna na vrhu svake prsne noge (Evans, 2007b). Vrste potporodice Aleyrodinae imaju manju „kukuljicu“ i nemaju složene voštane pore, jezičac (*lingula*) ne prelazi analni otvor i na vrhu imaju jedan par dlaka, a noge nemaju pandžicu već prijanjajuću pločicu (Martin, 2005; Evans, 2007b). Napuštena prazna „kukuljica“ nakon izlijetanja odraslog kukca je egzoskelet i naziva se egzuvij.

Za identifikaciju vrste koriste se mikroskopski preparati dobiveni obradom „kukuljice“/ *egzuvija* po metodi koju opisuju Martin (1987; 1999; 2000), Murray (1991) i Schmidt (1974) koristeći se klasičnom identifikacijskom metodologijom baziranom na relevantnim morfološkim ključevima koje, između ostalih, opisuju: Bink-Moenen (1992), Dubey i Ko (2012), Hodges i Evans (2005), Martin (1987), Martin i sur. (2000), Suh (2010) i Takahashi (1938; 1952). Na Slici 2.2.4.1. prikazan je shematski prikaz najznačajnijih morfoloških obilježja „kukuljice“ štitastih moljaca prema Martin i sur. (2000), a prevedeni su i objavljeni u radu Šimala i sur. (2008).



Slika 2.2.4.1. Shematski prikaz najznačajnijih morfoloških obilježja „kukuljice“ štita moljca prema Martinu i sur. (2000)

Životni ciklus i ekološki čimbenici razvoja štita moljca

Vrste iz porodice Aleyrodidae tijekom svog života imaju šest razvojnih stadija: jaje, četiri razvojna stadija ličinke i odrasli stadij. Štitasti moljci razmnožavaju se spolno, a samo ponekad partenogenetski. U slučaju partenogeneze iz oplodjenih jaja razvijaju se ženke (telitokija), a iz neoplodjenih mužjaci (arhenotokija) (Resh i Cardé, 2003). Postembrionalni razvoj štita moljca po tipu preobrazbe spada u neometaboliju, podtip alometabolija (Oštrec i Gotlin Čuljak, 2005). Ženke štita moljca odlažu jaja na naličju lista biljke domaćina. Ličinka prvog razvojnog stadija pokretna je kratko vrijeme dok ne pronađe

odgovarajuće mjesto za ishranu (Mound i Halsey, 1978). Nakon što zauzme konačno mjesto, preostala tri razvojna stadija ličinke nepokretna su i ne mogu se premjestiti u slučaju nepovoljnih uvjeta prehrane (Martin i sur., 2000). Stoga je odabir biljke domaćina za polaganje jaja kod štitastih moljaca od velike važnosti jer ima snažan utjecaj na kasniji razvoj ličinki (Lenteren i Noldus, 1990). Kada ličinka dosegne četvrti razvojni stadij, prekida hranjenje i iz nje se razvija odrasli štitasti moljac (Resh i Cardé, 2003; Oštrec i Gotlin Čuljak, 2005). Odrasli štitasti moljac najčešće se pojavljuje uzdužnim i poprečnim pucanjem kukuljice“ na mjestu egzuvijalnog šava u obliku obrnutog slova T na leđnoj strani „kukuljice“ (Martin i sur., 2000).

Kod određenih vrsta iz potporodice Aleyrodinae ženke polažu jaja u skupinama, stvarajući oblik djelomičnog ili potpunog kruga. Ovaj oblik nastaje rotacijom ženke oko njezina usnog organa za vrijeme ovipozicije (Mound i Halsey, 1978). Većina ženki štitastih moljaca odlaže jaja na mlade i vršne listove zbog visoke koncentracije topivih dušičnih spojeva koja kasnije osigurava hranu mlađim razvojnim stadijima ličinke (Šimala, 2008). Vrsta *P. myricae* za ovipoziciju bira najmlađe listove, čak i listove koji nisu potpuno otvoreni, mlade plodove i mladi zeleni porast, ali nikad starije listove. Stilet ličinki vrste *P. myricae* lakše prodire u tkivo na mlađim dijelovima biljke (Walker, 1987). Ženke vrste *P. myricae* jaja odlažu uvijek na gornjoj strani lista, a kasnije se dio mladih ličinki premješta na naličje lista, ne napuštajući matični list (Uygun i sur., 1990; Šimala i sur., 2016; Šimala i sur., 2020). Žanić i sur. (2000) navode prosjek od 28 % ličinki koje ostanu na licu lista. Vrste *D. citri* i *A. floccosus* za ovipoziciju biraju potpuno razvijene mlade listove, a za razliku od vrste *P. myricae*, odlažu jaja i na naličju starijih listova (Uygun i sur., 1990).

Štitasti moljci uglavnom su slabi letači. Prema Bryne i sur. (1990) ne mogu se samostalno preseliti na udaljenosti većoj od 25 km, stoga se obično na duže udaljenosti prenose putem vjetra.

Biološki ciklus svih štitastih moljaca koji obitavaju na agrumima podređen je fenologiji agruma, točnije mladom porastu. Agrumi godišnje imaju tri mlada porasta pa se javljaju minimalno tri generacije godišnje (Hodgson i Frost, 1968).

Uygun i sur. (1990) navode *P. myricae* i *D. citri* kao dvije najopasnije polifagne vrste štitastih moljaca na agrumima u mediteranskim zemljama. Vrsta *P. myricae* dosta je agresivna vrsta jer tijekom godine razvije 7 – 8 generacija, a za potpuni razvoj od jaja do odraslog stadija potrebna su samo 24,4 dana na temperaturi 25 – 26 °C i 60 ± 5 % rH (Franco i sur., 1996; Soto i sur., 2002; Rose i sur., 1981; Uygun i sur., 1990). Vrlo brzo zauzima nova staništa zbog nespornog razmnožavanja.

Vrsta *D. citri* jedna je od najčešćih štetnika u gustim i neprozračnim nasadima agruma. Razvoj vrste sporiji je od vrste *P. myricae* i potrebno mu je oko 43,5 dana pri temperaturi od 25 °C i 60 ± 5 % rH te stoga ima i manji broj generacija tijekom godine. U laboratorijskim uvjetima dužeg dana L16:D8 i na temperaturi od 25 °C vrijeme razvoja vrste traje 54 dana. Prezimljuje kao „kukuljica”, dok je udio trećeg razvojnog stadija ličinke mali (Lloréns i Capilla, 1994). Tijekom provođenja istraživanja u svrhu izrade doktorske disertacije Žanić (1999) temeljito iznosi podatke o biologiji i ekologiji ove vrste na području Republike Hrvatske i navodi prisutnost štetnika od Prevlake do Istre. Argov i sur. (1999) objavili su rezultate istraživanja vrste *D. citri* u poljskim i laboratorijskim uvjetima u Izraelu. U izvršenim zapažanjima tijekom tri godine zabilježene su tri generacije godišnje, a početak dijapauze induciran je skraćivanjem dana i sniženjem temperature.

Treća važna vrsta na agrumima iz porodice Aleyrodidae je *Aleurothrixus floccosus*. Engleski naziv je Woolly whitefly zbog tankih voštanih izlučevina koje prekrivaju ličinke kasnijih razvojnih stadija i „kukuljica”, a izgledom nalikuju na vunastu tvorevinu. Tijekom 70-tih godina vrsta *A. floccosus* nastanila se u dijelovima južne Europe (Mound i Halsey, 1978). Prema literaturi ovaj štetnik agruma ima četiri do pet generacija godišnje, a prezimljuju ličinke trećeg ili četvrtog stadija (Žanić i sur., 2012; Chermiti i sur., 1992; Soto i sur., 2002; Radonjić i Hrnčić, 2003; Žanić 2012; Šimala i sur., 2016). U Čileu je tijekom istraživanja 2010. i 2011. utvrđeno sedam preklapajućih generacija u nasadima naranče, što je rezultiralo prisutnošću tijekom cijele godine (Tello i sur., 2019). Ukupni razvoj od jaja do odraslog stadija traje 22 – 31 dan pri prosječnoj dnevnoj temperaturi od 22,5 °C (Paulson i Beardsley, 1986).

Štetnost štitastih moljaca

Unutar porodice Aleyrodidae postoji nekoliko vrsta koje su gospodarski važni štetnici u poljoprivredi jer smanjuju prinos. Bryne i sur. (1990) štete od štitastih moljaca svrstavaju u tri grupe.

U prvu se grupu ubrajaju izravne štete koju čine ličinke i odrasli razvojni stadij sišući sok i ostale nutrijente koji kolaju floemom. Ličinke štitastih moljaca uslijed hranjenja oslabljuju i oštećuju epidermu lista, dolazi do zadebljanja stanične stijenke i gubitka staničnih sastojaka te pojave klorotičnih mrlja (Hart i sur., 1976). Uslijed visoke gustoće populacije štetnika dolazi do smanjenja produktivnosti biljke domaćina zbog toga što štitasti moljci uzimaju ugljikohidrate koji su biljci neophodni.

U drugu se grupu ubrajaju neizravne štete koje štitasti moljci čine stvaranjem obilne količine sekreta bogatih šećerom, poznatog kao medna rosa, koji potiče rast gljivica čađavica (*Capnodium* spp.). Medna rosa pojavljuje se na svim nadzemnim dijelovima biljke

domaćina. Ona privlači mrave koji se njome hrane, a u iznimnim slučajevima mravi mogu izazvati pojačano lučenje medne rose čime se štetnost povećava (Maceljski, 2002). Također, prisutnost mrava može ometati prirodne neprijatelje štitastih moljaca u nasadu (Martin i sur., 2000; Hodges i Evans, 2005).

U treću grupu ubrajaju se štete uzrokovane biljnim virusima čiji su prenositelji štitasti moljci. Posljedice virusnih bolesti su smanjenje prinosa i kvalitete, a na kraju uzrokuju odumiranje biljaka. Unutar potporodice Aleyrodinae najznačajniji prenositelji virusnih bolesti su vrste *B. tabaci*, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) i *Trialeurodes abutilonea* (Haldeman, 1850) (Bryne i sur., 1990).

Vrsta *P. myricae* od velike je važnosti u nasadima agruma jer prenosi virus *Citrus Chlorotic Dwarf* (CCD) koji može zaraziti sve komercijalno uzgajane vrste i sorte agruma. Štitasti moljac *P. myricae* prenosi virus na semiperzistentan način (Roistacher, 2004). Iako može zaraziti sve vrste agruma, vrsta *P. myricae* preferira vrste koje imaju više izboja s mekim mladim lišćem, poput limuna i grejpa (Roistacher, 2004). Simptomi zaraženosti virusom CCD vidljivi su na mladom porastu agruma, a uključuju nabiranje, savijanje, deformaciju i izgled lišća poput obrnute šalice. Mlado lišće može pokazivati simptome kloroze, dok biljke zaostaju u rastu. Kod zaraženih stabala dolazi do pada prinosa, posebno kod osjetljivijih sorti (Korkmaz i Garnsey, 2000; Catara i sur., 2021). Osim vrste *P. myricae* značajna je i vrsta *D. citri* (Zhang i sur., 2019). Istraživanja provedena u Kini dokazala su da vrsta *D. citri* sudjeluje u prijenosu virusa *Citrus yellow vein clearing* (CYVCV) (Zhang i sur., 2019).

Suzbijanje štitastih moljaca

Suzbijanje štitastih moljaca uključuje primjenu niza mjera, kao što su kemijske, biološke, agrotehničke, mehaničke i fizikalne mjere (Šimala, 2008). Važno je otkriti zarazu na vrijeme putem redovitih vizualnih pregleda i korištenjem žutih ljepljivih ploča. U Americi najučestaliji način suzbijanja štitastih moljaca je korištenje entomopatogene gljivice *Aschersonia* Mont, 1848 (Griffiths i Thompson, 1957) i parazitoida *Encarsia smithi* Silvestri, 1927 i *Encarsia formosa* Gahan, 1924. Kako bi se u potpunosti suzbili štitasti moljci potrebno je stalno unošenje parazitoida u nasade agruma tijekom cijele godine u razmaku od dva tjedna (Boisclair i sur., 1990). Na Floridi su zabilježeni predatori štitastih moljaca *Delphastus pusillus* LeConte, 1852, i *Delphastus pallidus* LeConte, 1878, koji se primarno hrane ličinkama štitastih moljaca. U Izraelu i u mediteranskim zemljama u suzbijanju vrste *D. citri* najčešće se koriste parazitoidske osice *Encarsia* sp., (Argov i sur., 2000; Uygun i sur., 2010) i dvije vrste predatora, *Clitostethus arcuatus* Rossi, 1794 i *Serangium montazerii* Fürsch, 1995 (Yigit i Canhilal, 2005). U suzbijanju *A. floccosus* najuspješnijim se pokazao prirodni neprijatelj *Cales noacki* Howard, 1907 (Hymenoptera: Aphelinidae) (Tello Mercado i sur.,

2014; Katsouannos, 1991; Ulusoy i sur., 2003). Kemijsko suzbijanje je vrlo prisutno, ali štitači moljci brzo razvijaju rezistentnost na primijenjene insekticide.

2.2.4.1 Štitasti moljac agruma *Dialeurodes citri* (Ashmead, 1885)

D. citri jedan je od najraširenijih i najvažnijih ekonomskih štetnika u gustim i neprozračnim krošnjama agruma diljem svijeta (Rapisarda i sur., 1990; Mifsud, 1995). Vrsta *D. citri* polifagni je štetnik i ima veliki areal rasprostranjenosti (Uygun i sur., 1990). U Republici Hrvatskoj najraširenija je vrsta štitastog moljca koja se javlja u nasadima agruma (Šimala i sur., 2020). Plodovi sa zaraženih stabala imaju manju tržišnu vrijednost zbog prekrivenosti gljivicama čađavicama. Vrsta potječe iz Indije (Reuther i sur., 1989) otkuda se sadnim materijalom proširila u ostale djelove svijeta (Žanić, 1999). Njegova prisutnost potvrđena je u Sjevernoj i Južnoj Americi, jugozapadnom dijelu Azije i u područjima uzgoja agruma u mediteranskim zemljama (Martin, 1987; Žanić, 1999). U Republici Hrvatskoj prvi put se spominje 1977. godine kada je i otkriven (Bakarić, 1983). Pripada porodici Aleyrodidae, potporodici Aleyrodinae, rodu *Dialeurodes* (Cockerell, 1902). U odraslom razvojnom stadiju je mali kukac veličine oko 1,5 mm. Tijelo i krila prekriveni su bijelim voštanim prahom. Ličinke i „kukuljica“ vrste *D. citri* spljoštene su, svijetle boje i ovalnog stadija. Zelena boja biljke domaćina reflektira se kroz ličinke i „kukuljicu“ pa ih je teško uočiti na listovima (Fasulo i Weems, 1999). Površina tijela svih razvojnih stadija ličinki gola je, bez voštanih nakupina i debelih seta (Žanić, 2000). U Republici Hrvatskoj zabilježene su tri generacije godišnje. Prezimljuje u obliku „kukuljice“. Prva generacija javlja se krajem travnja, odnosno početkom svibnja, druga tijekom kolovoza i treća tijekom rujna i listopada (Žanić, 1999, 2000; Maceljki, 2002). Razvoj jaja traje 8 – 24 dana, životni vijek mlađih razvojnih stadija ličinki traje 24 – 30 dana, a „kukuljice“ 13 – 30 dana. Ukupni životni ciklus im je od 41 do 333 dana (Fasulo i Weems, 1999). Vrsta se razmnožava spolno, a odnos spolova je 1:1 (Žanić, 2000). Pogoduje im visoka vlažnost zraka i temperatura od oko 25 °C (Žanic, 1999). Štete prčinja, kao i ostali štitači moljci, sisanjem biljnog soka na naličju listova prilikom čega dolazi do lučenja medne rose, a za vrijeme jačeg napada, list otpada (Žanić, 1999; Maceljki, 2002). Jako napadnuta stabla postaju slaba i daju male plodove loše kvalitete (Fasulo i Weems, 1999). Kod suzbijanja vrste *D. citri* primjenjuju se biološke i kemijske mjere. Biološko suzbijanje vrste *D. citri*, parazitskom osicom *Encarsia lahorensis* Howard, 1911, vrlo je učinkovito u Italiji i u Izraelu (Moud i Halsey, 1978; Fasulo i Weems, 1999; Maceljki, 2002), kao i predatorima poput *Delphastus pusillus* (LeConte, 1852), *Chrysoperla carnea* (Stephens, 1836), *Clitostethus arcuatus* (Rossi, 1794), *Chilocorus bipustulatus* (Linnaeus, 1758) (Žanić, 2000) i *Serangium paracesetosum* Sicard, 1929 (Yiğit, 1992; Uygun i sur., 1996). Kemijske mjere primjenjuju se kasno zimi ili u rano proljeće kombinacijom mineralnih ulja i insekticida, a prilikom primjene potrebno je dobro okupati stablo, posebno naličje lišća.

2.2.4.2 Narančin trnoviti štitasti moljac agruma *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903)

Budući da je navedena vrsta u fokusu istraživanja, u daljnjem će se tekstu prikazati opsežniji relevantni literaturni podatci o fitosanitarnom statusu vrste, podrijetlu i širenju vrste, sistematskoj pripadnosti vrste, morfologiji, biološkim obilježjima vrste, molekularnoj biologiji vrste *A. spiniferus*, štetnosti, biljkama domaćinima vrste, metodama praćenja pojave vrste *A. spiniferus* i o načinu suzbijanja štetnika.

Fitosanitarni status

Karantenski štetni organizmi Unije organizmi su za koje postoje mjere sprječavanja unosa i širenja na području Europske unije. Kako bi se suzbila prisutnost karantenskih štetnih organizama, potrebno je uspostaviti zabranu unosa tih organizama na područje Europske unije ili njihovo premještanje unutar Unije na bilju namijenjenom za sadnju. U području biljnog zdravlja zakonodavni okvir Europske unije trenutačno reguliraju Uredba (EU 2016/2031) Europskog parlamenta i Vijeća kojom se propisuju zaštitne mjere protiv organizama štetnih za bilje i Provedbena uredba Komisije (EU 2019/2072) koja utvrđuje jedinstvene uvjete za provedbu Uredbe (EU 2016/2031). U Europi ove dvije nove Uredbe zamjenjuju dosadašnje direktive Europske unije prema kojima su se štetni organizmi regulirali te temeljnu Direktivu Vijeća 2000/29/EC. Direktiva 2000/29/EC postavila je temelje za pokretanje nadzora i sufinanciranja programa posebnih nadzora na teritoriju Europske unije.

Uredba (EU 2019/2072) u Prilogu II. sadrži popis karantenskih štetnih organizama Unije, a on je podijeljen na dva dijela. Dio A popisa sadrži štetne organizme za koje nije poznato da se pojavljuju na području Europske unije, dok se u Dijelu B nalaze štetni organizmi za koje je poznato da se pojavljuju na području Unije. Osim Uredbi Europska i mediteranska organizacija za zaštitu bilja (EPPO) održava i ažurira svoje karantenske liste za mnogo veći teritorijalni opseg od Europske unije. Te liste uključuju A I. listu na kojoj su štetni organizmi odsutni iz EPPO regije, A II. listu na kojoj su štetni organizmi prisutni u određenim dijelovima EPPO regije i Alert listu koja sadrži štetne organizme koji predstavljaju potencijalnu opasnost ako bi bili uneseni u zemlje članice.

Nakon prvog nalaza vrste na području EU vrsta *A. spiniferus* prebačena je s EPPO A I. na EPPO A II. listu (Paladin Soče i sur., 2020). Prema navedenoj Uredbi 2019/2072 vrsta *A. spiniferus* nalazi se u Prilogu II., Dio B i ima status karantenskog štetnog organizma (EPPO, 2022a). U Republici Hrvatskoj zabilježeno je njegovo intenzivno širenje, a kako bi se spriječilo daljnje širenje izvan demarkiranih područja, donesena je odluka o: „*određivanju demarkiranih područja u kojima se provode mjere za sprječavanje širenja i suzbijanje*

narančinog trnovitog štitastog moljca – Aleurocanthus spiniferus (Quaintance)” (NN 111/2020; 36/2023). Demarkirano područje obuhvaća katastarsku općinu u kojoj se nalazi zaraženo područje, odnosno ono u kojem je utvrđena prisutnost *A. Spiniferus*, i sigurnosno područje širine najmanje 2 km računajući od granice zaraženog područja i obuhvaća više susjednih katastarskih općina koje okružuju zaraženo područje. U Tablici 2.2.4.2.1. navedena su demarkirana područja Republike Hrvatske u 2023. godini.

Tablica 2.2.4.2.1. Popis katastarskih općina koje čine zaraženo i sigurnosno područje u demarkiranim područjima vrste *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj (izvor: NN 36/2023)

ŽUPANIJA	OPĆINA	KATASTARSKA OPĆINA		
		ZARAŽENO PODRUČJE	SIGURNOSNO PODRUČJE	
Dubrovačko - neretvanska	Konavle	Vitaljina	Pločice	
		Ljuta	Poljice	
		Đurinići	Vodovađa	
		Gruda	Dubravka	
		Palje Brdo	Dunave	
		Lovorno	Popovići	
		Zastolje	Komaji	
	Dubrovačko primorje	Slano		Kuna Konavoska
				Pridvorje
				Radovčići
Grad Dubrovnik	Zaton		Majkovi Donji	
			Majkovi Gornji	
			Banići	
			Trnova	
			Mravinjac	
			Grad Dubrovnik	
			Obuljeno	
Opuzen	Opuzen I. Opuzen II.		Sustjepan	
			Petrovo Selo	
Ploče	Komin		Osojnik	
			Orašac	
			Gromača	
Kula Norinska			Ljubač	
			Opuzen	
Zažablje			Baćina	
			Plina	
			Rogotin	
			Ploče	
			Desne	
			Metković	
			Krvavac II.	
			Vidonje	

ŽUPANIJA	OPĆINA	KATASTARSKA OPĆINA	
		ZARAŽENO PODRUČJE	SIGURNOSNO PODRUČJE
Splitsko - dalmatinska	Slivno		Slivno Komarna – Duboka Klek Pižinovac – Lovorje Vlaka – Tuštevac Mihalj – Otok – Lučina Blace –Trn
			Gdinj Zastražišće
	Jelsa	Vrisnik Jelsa Pitve Svirče Vrboska	
	Milna	Milna	Bobovišća
	Sutivan	Sutivan	Sutivan
	Bobovišća	Bobovišća	
	Šolta		Gornje Selo
	Nerežišća		Donji Humac Dračevica Nerežišća
			Marina Blizna Mitlo Vinovac Račice Sevid
	Supetar	Mirca Supetar	Splitska Škrip
	Sučuraj	Bogomolje	Sučuraj
	Omiš		Rogoznica Slime
	Šestanovac		Žeževica Grabovac
	Zagvozd		Zagvozd Župa
	Makarska		Veliko Brdo Kotišina
	Vrgorac		Raščane Kozica
	Starigrad	Stari Grad	
	Postira	Dol	
	Hvar	Hvar	Brusje Grablje
	Vrbanj		Vrbanj
	Podgora	Podgora	Igrane
	Tučepi	Tučepi	Drašnice
	Baška Voda	Baška Voda	
	Brela	Brela	

ŽUPANIJA	OPĆINA	KATASTARSKA OPĆINA	
		ZARAŽENO PODRUČJE	SIGURNOSNO PODRUČJE
	Makarska	Makarska	
Šibensko - kninska	Rogoznica	Rogoznica	
	Primošten		Primošten

Zbog izrazito brzog širenja i polifagnosti novootkrivene vrste na području RH vrsta *A. spiniferus* predstavlja visoki fitosanitarni rizik za brojne poljoprivrednike. Ponajviše su ugroženi poljoprivrednici koji se bave uzgojem i proizvodnjom agruma u dolini Neretve, ali i drugi koji uzgajaju razne poljoprivredne kulture koje su domaćini štetniku.

Podrijetlo i širenje *A. spiniferus*

Štetnika *A. spiniferus* prvi put je opisao Quaintance 1903. godine na temelju materijala koji je tijekom 1901. godine na otoku Javi prikupio Marlatti (Cioffi i sur., 2013).

Prvotno ime ove vrste bilo je *Aleurodes spinifera* (Mound i Halsey, 1978). Tijekom vremena postojalo je svega nekoliko sinonima za vrstu *A. spiniferus* koji su navedeni u Tablici 2.2.4.2.2. (Ouvard i Martin, 2021; EPPO Bulletin, 2022a).

Tablica 2.2.4.2.2. Sinonimi vrste *A. spiniferus* (izvor: Ouvard i Martin, 2021; EPPO Bulletin, 2022a)

SINONIMI	REFERENCA
<i>Aleurodes spinifera</i> (Quaintance, 1903)	Quaintance i Baker, 1914 (cit. Ouvard i Martin, 2021)
<i>Aleurodes citricola</i> (Newstead, 1911)	Silvestri, 1927 (cit. Ouvard i Martin, 2021; Mound i Halsey, 1978)
<i>Aleurocanthus citricolus</i> (Newstead, 1911)	EPPO Bulletin 2022
<i>Aleyrodes marlatti</i> (Quaintance, 1903)	EPPO Bulletin 2022
<i>Aleurocanthus spiniferus</i> var. <i>intermedia</i> (Silvestri, 1928)	Mound i Halsey, 1978
<i>Aleurocanthus spiniferus</i> var. <i>intermedius</i> (Silvestri, 1928)	Martin and Mound (2007)
<i>Aleurocanthus rosae</i> (Singh, 1931)	Takahashi, 1932 (cit. Ouvard i Martin, 2021)
<i>Aleurocanthus cheni</i> (Young, 1942)	Martin i Lau, 2011

Naziv *A. spiniferus* do prije desetak godina uključivao je dvije različite vrste, sve dok nije opisana vrsta *Aleurocanthus camelliae* Kanmiya & Kasai, 2011 u radu Kanmiya i sur., (2011). Zbog toga neki prijašnji podaci za *A. spiniferus* mogu uključivati i podatke za *A. camelliae* pogotovo za populaciju koja napada čajevac (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) (Kanmiya i sur., 2011; EPPO 2022a).

Narančin trnoviti štitasti moljac *A. spiniferus* potječe iz jugoistočne Azije (Gyeltshen i sur., 2017; Kanmiya i sur., 2011) odakle se proširio u ostale tropske i subtropske dijelove Azije, Afrike te u područja Australije i Pacifika (Nguyen i sur., 1993). Na temelju podataka EPPO (2022) u Tablici 2.2.4.2.3. prikazana je rasprostranjenost vrste *A. spiniferus* u svijetu.

Tablica 2.2.4.2.3. Rasprostranjenost vrste *A. spiniferus* u svijetu (Izvor: EPPO, 2022a)

PRISUTNOST PO DRŽAVAMA	STATUS
Afrika: Svazi, Kenija, Mauricijus, Nigerija, Južnoafrička Republika, Tanzanija, Uganda Azija: Bangladeš, Butan, Brunej, Kina, Indija Indonezija, Iran, Japan, Koreja, Mjanmar, Nepal, Pakistan, Filipini, Šri Lanka, Tajvan, Tajland, Vijetnam, Sjeverna Amerika: Havaji Oceanija: Guam, Mikronezija, Papua Nova Gvineja, Sjevernomarijanski otoci, Palau EPPO regija: Albanija	prisutna vrsta, rasprostranjena
Afrika: Reunion, Oceanija: Australija EPPO regija: Italija, Republika Hrvatska, Grčka, Crna Gora	prisutna, vrsta ograničeno rasprostranjena
Azija: Malezija	prisutna, vrsta široko rasprostranjena
EPPO regija: Belgija, Češka Republika	vrsta introducirana, u postupku eradikacije

U Europskoj Uniji vrsta *A. spiniferus* prvi put je potvrđena 2008. u Italiji (Porcelli, 2008). Do kraja 2011. godine prisutnost vrste zabilježena je unutar cijele regije Apulije (Kenawy i sur., 2014). Tijekom 2013. godine vrsta je prvi put pronađena u Crnoj Gori, u mjestu Herceg Novi (Radonjić i sur., 2014), u Grčkoj 2016. (Kypriotis i sur., 2017), a u Albaniji 2020. (Nugnes i sur., 2020). U 2022. vrsta je zabilježena u Češkoj i u Belgiji gdje su poduzete mjere eradikacije (EPPO, 2022b; EPPO, 2022c).

Na Sredozemlju, u područjima intenzivnog uzgoja agruma, štetnik predstavlja veliku opasnost jer dosad nisu nađeni autohtoni prirodni neprijatelji koji bi doveli do smanjenja prirodne populacije ovog štetnika.

U Republici Hrvatskoj vrsta je prvi put zabilježena 2012. godine na ukrasnim sadnicama ljute (gorke) naranče (*Citrus aurantium* L.) u jednom vrtnom centru u Splitu. Nakon

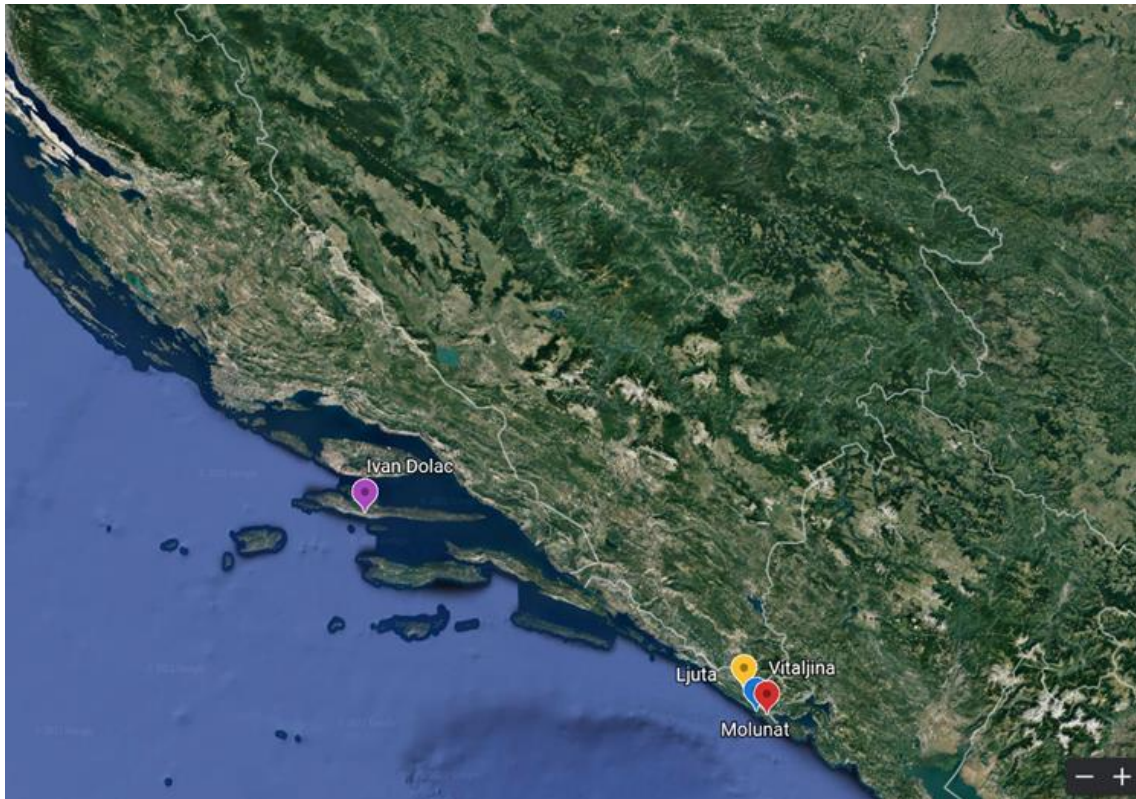
mikroskopske identifikacije u laboratoriju primijenjene su mjere eradikacije (Šimala i sur., 2013). Prvi nalaz u Splitu smatra se slučajnim unosom karantenskog štetnika u Republiku Hrvatsku na bilju proizvedenom u Italiji koji se nije proširio na ostalo bilje i u okolna mjesta. Program posebnog nadzora karantenskih vrsta roda *Aleurocanthus* započeo je 2015. godine u Republici Hrvatskoj. Prisutnost vrsta *A. spiniferus*, *Aleurocanthus citriperdus* Quaintance & Baker, 1916 i *A. woglumi* u nasadima agruma određuje se vizualnim pregledima naličja listova kako bi se ustanovila prisutnost tamnih „kukuljica“ ili egzuvija štitaštih moljaca i hvatanjem odraslih razvojnih stadija na žute ljepljive ploče. U sklopu programa posebnog nadzora tijekom 2018. godine obavljani su vizualni pregledi nasada agruma. Štetni organizam *A. spiniferus* nađen je 28. rujna 2018. u komercijalnom nasadu Satsuma mandarine (*Citrus Unshiu* Marc.), površine 0,05 ha u Vitaljini (EPPO, 2018), a nakon mikroskopske identifikacije pomoću dijagnostičkih protokola PM 7/7(1) (OEPP/EPPO, 2002a) i PM 7/8 (1) (OEPP/EPPO, 2002b) i ključeva za morfološku identifikaciju Dubey i Ko (2012) i Jansen i Porcelli (2018) potvrđen je pozitivan nalaz vrste *A. spiniferus*. Svi razvojni stadiji štetnika nađeni su u samom nasadu mandarine i na divljem bilju u neposrednoj blizini nasada. Pretpostavlja se kako je zaraza ostvarena letom odraslih stadija uz pomoć zračnih strujanja iz Crne Gore (Šimala i sur., 2020).

Mjesec dana od prvog pozitivnog nalaza, 24. listopada, pronađen je na divljoj ruži (*Rosa canina* L.) i bršljanu (*Hedera helix* L.), također u mjestu Vitaljina u Dubrovačko-neretvanskoj županiji (Šimala i sur., 2019b).

Tijekom 2019. godine u sklopu programa posebnog nadzora karantenskih vrsta roda *Aleurocanthus* obavljani su vizualni pregledi nasada agruma u županijama Republike Hrvatske. Populacija vrste *A. spiniferus* visoko je uspostavljena na jugu Republike Hrvatske otkuda dolazi do njegova širenja prema sjeverozapadu Dubrovačko-neretvanske županije. Karantenski štetni organizam *A. spiniferus* nađen je u dva komercijalna nasada u mjestu Ljuta i u mjestu Molunat u Dubrovačko-neretvanskoj županiji (Šimala i sur., 2019b). Svi razvojni stadiji štetnika u visokoj populaciji zabilježeni su u mjestu Molunat na gorkoj naranči (*Citrus aurantium* L.), vinovoj lozi (*Vitis vinifera* L.) i na šipku (*Punica granatum* L.). Manja populacija štetnika zabilježena je u dva privatna voćnjaka slatke naranče (*Citrus sinensis* L.) i mandarine (*Citrus reticulata* L.) u mjestu Ljuta (Tablica 2.2.4.2.4). Osim u Dubrovačko-neretvanskoj županiji vrsta *A. spiniferus* je u 2019. potvrđena i u mjestu Ivan Dolac na otoku Hvaru (Slika 2.2.4.2.2.) (Šimala i sur., 2019b).

Tablica 2.2.4.2.4. Pozitivni nalazi vrste *A. spiniferus* i biljke domaćini tijekom provođenja Programa posebnog nadzora u Republici Hrvatskoj u razdoblju 2018. – 2019. (izvor: Šimala i sur., 2019a)

GODINA NALAZA	DATUM NALAZA	ŽUPANIJA	BILJNA VRSTA	MJESTO NALAZA
2018.	28. 9.	Dubrovačko-neretvanska županija	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Vitaljina (N 42° 26' 8.23" E 18° 28' 57.50")
2018.	24. 10.	Dubrovačko-neretvanska županija	<i>Rosa canina</i> L. <i>Hedera helix</i> L.	Vitaljina (N 42° 26' 8.23" E 18° 28' 57.50")
2019.	21. 5. 11. 6. 24. 7.	Dubrovačko-neretvanska županija	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Vitaljina (N 42° 26' 8.23" E 18° 28' 57.50")
2019.	24. 7. 25. 9.	Dubrovačko-neretvanska županija	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Ljuta 1 (N 42° 32' 16.9" E 18° 22' 41.5") Ljuta 2 (N 42° 32' 14.9" E 18° 22' 56.0")
2019.	25. 9.	Dubrovačko-neretvanska županija	<i>Citrus aurantium</i> L. <i>Prunus avium</i> L. <i>Vitis vinifera</i> L. <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl. <i>Rosa</i> sp. <i>Cydonia oblonga</i> Mill. <i>Prunus armeniaca</i> L. <i>Punica granatum</i> L.	Molunat (N 42° 27' 2.91" E 18° 26' 6.61")
2019.	12. 9.	Splitsko-dalmatinska županija	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. F. <i>Parthenocissus quinquefolia</i> (L.) Planch. <i>Hedera helix</i> L. <i>Ficus carica</i> L. <i>Punica granatum</i> L. <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl. <i>Prunus laurocerasus</i> L. <i>Vitis vinifera</i> L. <i>Melia</i> sp.	Ivan Dolac (N 43° 7' 38.2" E 16° 38' 28.5")



Slika 2.2.4.2.1. Rasprostranjenost vrste *A. spiniferus* u razdoblju 2018. – 2019. godine (izvor: <https://earth.google.com/web/search/> , pristupljeno 4. 4. 2020.)

Sistematska pripadnost *A. spiniferus*

U Tablici 2.2.4.2.5. prikazano je sistematsko mjesto vrste *A. spiniferus* (izvor: EPPO, 2022a).

Tablica 2.2.4.2.5. Sistematika štitastog moljca *A. spiniferus* (Izvor: EPPO, 2022a)

RANG	NAZIV
carstvo	Animalia
koljeno	Arthropoda
podkoljeno	Hexapoda
razred	Insecta
red	Hemiptera
podred	Sternorrhyncha
natporodica	Aleyrodoidea
porodica	Aleyrodidae
rod	<i>Aleurocanthus</i>
vrsta	<i>Aleurocanthus spiniferus</i>

Morfologija roda *Aleurocanthus*

Vrsta *A. spiniferus* spada u paleotropski rod *Aleurocanthus* Quaintance & Baker, 1914. koji trenutačno uključuje 91 vrstu (Ouvrard i Martin, 2021). U ovaj rod spadaju vrste koje dijele ista morfološka obilježja. Kod vrsta iz roda *Aleurocanthus* „kukuljica“ je najčešće tamne boje, prepoznatljiva po uočljivim šiljatim dlakama na dorzalnoj strani na kojima su vidljive kapljice želatinoznog žutog voska na vrhovima (Dubey i Ko, 2012). Rub „kukuljice“ često je nazubljen, ali nije zakrivljen ili savijen prema leđnoj ili trbušnoj strani, te ima rubne voštane izlučevine. Uzdužni i poprečni egzuvijalni šav doseže rub „kukuljice“ (Martin, 2005).

Kod vrsta iz roda *Aleurocanthus* prisutan je spolni dimorfizam. „Kukuljica“ mužjaka manja je u odnosu na „kukuljicu“ ženke (Martin, 2005). Svlakovi ličinki drugog i trećeg stadija ostaju pričvršćeni na naličju lista i najčešće se nalaze na hrpi zalijepljeni na živu „kukuljicu“ (Martin, 2005). Prisutna je nadglavna, osma abdominalna i kaudalna dlaka što je ujedno i mikroskopska karakteristika važna za determinaciju „kukuljice“ iz roda *Aleurocanthus* (Martin, 2005; Dubey i Ko, 2012). Duljina ticala varira između „kukuljice“ ženke i mužjaka, a prijanjajuće pločice i kod mužjaka i ženke dobro su razvijene (Dubey i Ko, 2012). Kod roda *Aleurocanthus* analni otvor (*vasiform orifice*) je posteriorno izdignut, poklopac (*operculum*) pokriva, odnosno zaklanja jezičac (*lingula*) (Martin, 2005; Dubey i Ko, 2012).

Morfologija vrste *A. spiniferus*

Morfološke karakteristike svih razvojnih stadija vrste *A. spiniferus* objedinjene su na temelju literaturnih opisa Mound i Halsey (1978), Carver (1991), EPPO/CABI (1997), Gyeltshen i Hodges (2005), Martin (2005), Argov i sur., (2010), Dubey i Ko (2012), Radonjić i sur., (2014), Šimala i sur., (2015), Jansen i Porcelli (2018).

Jaja su izduženo ovalnog oblika, veličine 0,2 x 0,1 mm. Ženka polaže jaja u karakterističnom spiralnom obliku na naličju lista koja su pričvršćena na njega pomoću kratke, vitke drške (*pedicel*). Vrh drške ima poroznu vlaknastu strukturu koja usvaja vodu iz lista. Drška je kratka i drži jaja uspravno u odnosu na površinu lista. Na vanjskom ovoju jajeta (*chorion*) mikroskopski se može vidjeti jasna rešetka s malo tragova voska. Jaja su u početku žute, zlatne boje, a neposredno prije izlaska ličinke prvog razvojnog stadija dolazi do promjene boje u tamnozlatnu do tamnosmeđu boju. Ženke za ovipoziciju preferiraju mlade, nepotpuno razvijene listove biljke domaćina tako da se početne zaraze nalaze na mladim izbojcima tijekom tri vegetacijska porasta.

Ličinka vrste *A. spiniferus* tijekom biološkog razvoja prolazi kroz četiri razvojna stadija. Svi stadiji ličinke imaju tijelo eliptičnog ili ovalnog oblika. **Prvi razvojni stadij ličinke** ima 3 para nogu koje završavaju pandžicom. Tijelo je crne boje, veličine 0,30 x 0,15 mm. Ticala se

sastoje od dva segmenta, s tim da je zadnji segment izdužen. Za ovaj stadij karakteristična su dva para proširenih dorzalnih dlaka (prvi abdominalni i par na glavi). Ličinke prvog razvojnog stadija jedini su pokretni stadij ličinke koje se nakon izlaska iz jaja kreću po lisnoj površini u potrazi za odgovarajućim mjestom za hranjenje. Nakon pronalaska pričvrste se za list usnim organom (aparatom) i počinju se hraniti floemskim sokom. Jedinke ličinki prvog razvojnog stadija pričvrste se za list jedna blizu druge tvoreći kolonije i do nekoliko stotina jedinki na naličju lista. Ličinke prvog razvojnog stadija nakon fiksacije ostaju pričvršćene tijekom cijelog razvoja ličinke sve dok ne dosegnu odrasli razvojni stadij.

Drugi razvojni stadij ličinke ovalnog je, lagano ispupčenog oblika, veličine do 0,4 x 0,2 mm. Noge atrofiraju, a ticala su smanjenja. Noge su trokutasto-konusnog oblika, s vrhom okrenutim prema vanjskom rubu tijela, nefunkcionalne. Ticala su uspravna, ali ne preklapaju noge. Boja drugog stadija ličinki je tamnosmeđe do blijedocrne boje s prepoznatljivim trnovitim privjescima.

Treći stadij ličinki ne odstupa morfološki previše od drugog stadija. Tijelo je ovalnije, veličine 0,74 x 0,87 mm. Crne je boje sa zelenkastom pjegom na prednjem dijelu zatka i s vidljivim trnovitim privjescima. Noge su reducirane i nefunkcionalne, stožastog su oblika i okrenute prema rubu tijela, a završavaju s prianjajućom pločicom. Noge su većih dimenzija u usporedbi s nogama iz prethodnog razvojnog stadija.

Kod drugog i trećeg stadija ličinki abdominalni su segmenti izraženiji od prsnih. Leđna strana ima jedan red od osam abdominalnih i šest prsnih jakih dlaka s obje strane ruba tijela.

Četvrti razvojni stadij ličinke, tj. „kukuljica”, jajolikog je oblika, svjetlocrne boje. Oči su slabo definirane, smještene bliže trećoj submarginalnoj dlaki. Noge su bez funkcije, okrenute prema stražnjem rubu, pa „kukuljica“ nema mogućnost kretanja. Kod ove vrste prisutan je spolni dimorfizam, odnosno „kukuljica“ mužjaka manja je u odnosu na „kukuljicu“ ženke. Tijela „kukuljice“ ženke kreću se u rasponu duljine 1.08 – 1.28 mm, a „kukuljica“ mužjaka u rasponu 0,8 – 1 mm. Pod mikroskopskim povećanjem vidljivo je da „kukuljica“ ženke posjeduje 11 pari submarginalnih dlaka, dok „kukuljica“ mužjaka ima deset pari submarginalnih dlaka, od kojih je pet parova na glavopršnjaku (*cephalotorax*). Izuzetak je taj da jedan par submarginalnih dlaka može biti udvostručen na stražnjem dijelu abdomena. Na dorzalnoj strani ima 30 parova dugih šiljastih dlaka sa žlijezdama za izlučivanje te uz rub bijele voštane sekrecije vidljive golim okom. Tijekom rasta „kukuljice“ pojačava se i rubno izlučivanje voska što u konačnici dovodi do proširenja „kukuljice“ u širinu za otprilike 17 – 30 %. Na vrhu dlaka nalaze se žlijezde za izlučivanje koje izlučuju viskoznu, bezbojnu tekućinu na koju se lijepe svlakovi prethodnih razvojnih stadija koji imaju obrambenu

zadaću. Ukupni broj rubnih zubaca duž „kukuljice“ kreće se u rasponu 205 – 242. Broj rubnih zubaca po 0,1 mm (100 µm) kreće se 7 – 11 (rijetko 6 – 12). Rubni zubci iste su boje kao i kutikula. Pod mikroskopom vidljive su mikroskopske bradavice koje su smještene blizu submarginalnih dlaka. Vasiformni otvor srcolikog je oblika, izdignut, i gotovo ga ispunjava poklopac (*operculum*), a jezičac (*lingula*) je prekriven.

Odrasli razvojni stadij ima krila svjetloplave metalne boje s prisutnim bijelim mrljama koje na unutarnjim rubovima tvore prugu. Ticala i noge bijele su boje sa svjetložutim mrljama, a oči su crvenkastosmeđe boje. Odrasli razvojni stadij vrste *A. spiniferus* ima crvenu boju abdomena što mu, zajedno s bojom krila, daje na prepoznatljivosti. Oba spola imaju krila. Ženke su veće od mužjaka, prosječne duljine 1,7 mm, dok je kod mužjaka duljina u prosjeku 1,33 mm. Odrasli stadij pojavljuje se uzdužnim i poprečnim pucanjem „kukuljice“ na mjestu egzuvijalnog šava (*transverse moulting suture*) na leđnoj strani „kukuljice“. U slučaju parazitacije „kukuljica“ na leđnoj strani ima kružni otvor nepravilnog oblika koji načini parazitoid prilikom izlaska iz „kukuljice“. Prazna „kukuljica“ je vanjski skelet i naziva se egzuvij ili *pupal case*. Pri izlasku iz egzuvija odrasli štitasti moljac pokriva tijelo i krila bijelim voštanim prahom koji izlučuju posebne voštane abdominalne žlijezde. Na „kukuljicama“, kasnije egzuvijima, nalaze se svlakovi prethodnih razvojnih stadija ličinke nalijepljeni na kapljice voska.

Biološka obilježja vrste *A. spiniferus*

Vrsta *A. spiniferus*, kao i ostale vrste iz porodice Aleyrodidae, imaju nepotpunu metamorfozu, alometabolu, koja podrazumijeva šest razvojnih stadija (jaje, četiri razvojna stadija ličinke, odrasli stadij).

Odrasli stadiji javljaju se iz prezimjelih ličinki sredinom travnja. Potom slijedi sušenje i širenje krila u blizini egzuvija (Bryne i sur., 1991). Nakon izlaska odraslih stadija iz „kukuljice“ i njihova potpunog razvitka dolazi do spolnog razmnožavanja. Prije parenja mužjak udvara ženki. Mužjak se paralelno približi tijelu ženke i dodiruje je po rubu krila ticalima ili stopalom prednjih nogu (Butler i sur., 1986). Analizom muških vibracijskih signala tijekom udvaranja, u kombinaciji s genetskom i morfološkom analizom, omogućeno je razlikovanje vrsta *A. camelliae* i *A. spiniferus* (Kanmiya i sur., 2011). Prema istraživanju Wang i suradnika (2015) najveća aktivnost mužjaka vrste *A. spiniferus* zabilježena je tijekom dana u razdoblju od 7:00 do 11:00 sati, kada je uhvaćeno 95,13 % mužjaka, te između 11:00 i 15:00 sati, kada je uhvaćeno 94,97 % mužjaka. Ženka *A. spiniferus* polaže jaja na naličju listova pojedinačno ili u skupinama u obliku potpunog kruga ili polukružnog oblika. Ovaj oblik odlaganja jaja nastaje kao posljedica rotacije ženke oko uloženog rila u lisno tkivo tijekom ovipozicije

(Basu, 1955). Bryne i sur. (1991) prema Kodama (1931) te EPPO (2022a) navode da jedna ženka odloži od 17 do 22 jaja. Tijekom života pojedina ženka može odložiti ukupno više od 100 jaja. Ovisno o klimatskim uvjetima ličinka prvog razvojnog stadija pojavljuje se nakon 4 do 15 dana (EPPO, 2022a). Ličinke prvog razvojnog stadija, kada nađu odgovarajuće mjesto, ubodu usni aparat u lisno tkivo i započinju se hraniti floemskim sokom, te dolazi do kržljanja nogu (EPPO, 2022a). Nakon presvlačenja sljedeća dva stadija ličinki dolazi do razvoja „kukuljice“. Razvoj stadija ličinke od prvog do trećeg traje ukupno 36 do 43 dana dok razvoj „kukuljice“ traje od 12 do 17 dana (Paladin Soče i sur., 2020b). Završetkom razvoja „kukuljice“ javljaju se odrasli stadiji i životni ciklus ponavlja se do pada temperature. U hladnijem dijelu godine štetnik *A. spiniferus* prezimljuje kao ličinka trećeg stadija i kao „kukuljica“ na naličju lista (Kato, 1970). U tropskim klimatskim uvjetima svi razvojni stadiji *A. spiniferus* prisutni su tijekom cijele godine, a razmnožavanje je usporeno tijekom hladnijih razdoblja (Hodges i Evans, 2005). Na duljinu trajanja ukupnog razvoja od jaja do odraslog razvojnog stadija najveći utjecaj imaju klimatski uvjeti pojedinog područja, odnosno temperatura i vlažnost zraka (Gyeltshen i sur., 2017). Istraživanja u Japanu tijekom 1927. godine pokazuju veliku varijabilnost u trajanju životnog ciklusa, posebno kod trećeg stadija ličinke i „kukuljice“: razvoj jaja od 11 do 22 dana, razvoj ličinke 1. razvojnog stadija od 7 do 11 dana, razvoj ličinke 2. razvojnog stadija 5 do 7 dana, razvoj 3. razvojnog stadija ličinke od 7 do 130 dana i razvoj „kukuljice“ od 7 do 34 dana (Gyeltshen i sur., 2017; EPPO 2022a). Tijekom godine dolazi do preklapanja generacija, a na naličju lista mogu se vidjeti guste kolonije ličinki od nekoliko stotina jedinki različitih razvojnih stadija (Slika 2.2.4.2.2).

S obzirom na klimatske uvjete cjelokupni životni ciklus traje od 2 do 4 mjeseca. Vrsta može razviti od 3 do 6 preklapajućih generacija tijekom godine (EPPO/ CABI, 1997). Zabilježene su četiri generacije godišnje u Japanu, dok je u Guamu zabilježeno od pet do šest generacija godišnje (Gyeltshen i Hodges., 2005). U laboratorijskim uvjetima s kontroliranom vlagom i temperaturom štetnik može razviti i do 7 generacija godišnje (Gyeltshen i Hodges., 2005).



Slika 2.2.4.2.2. Kolonije ličinki vrste *A. spiniferus* na naličju lista mandarine

Odrasli stadiji nakon izlaska iz „kukuljice“ preferiraju mlado i nerazvijeno lišće za ovipoziciju i hranjenje. Van Lenteren i Noldus (1990) navode razlog tomu tanku kutikulu i lakšu penetraciju rila ličinke prvog razvojnog stadija.

Odrasli stadiji vrste *A. spiniferus* slabi su letači. Aktivno lete na male udaljenosti, međutim, kada napuste biljku domaćina, postaju dio pasivnog migratornog leta koji ih, nošene vjetrom, može odnijeti čak do 20 kilometara udaljenosti (Van Lenteren i Noldus, 1990, EFSA, 2018). Širenje štitastog moljca *A. spiniferus* iz jedne zemlje u drugu pripisuje se mogućem načinu prijenosa putem zaraženog sadnog materijala (EFSA, 2018). Pretpostavlja se da je vrsta *A. spiniferus* dospjela u Republiku Hrvatsku putem transporta sadnog materijala i putem vjetra, a obilje biljaka domaćina i pogodna mediteranska klima uz obalni dio Republike Hrvatske omogućili su prilagodbu i širenje ove tropske strane vrste (Matošević i Pajač Živković, 2013).

Štetniku pogoduju umjerene temperature zraka i visoka relativna vlaga zraka. Idealni klimatski uvjeti unutar nasada usko su vezani za broj generacija štetnika (Kato, 1970). Za razvoj kukca optimalna temperatura je od 20 do 34 °C i visoka relativna vlažnost zraka od

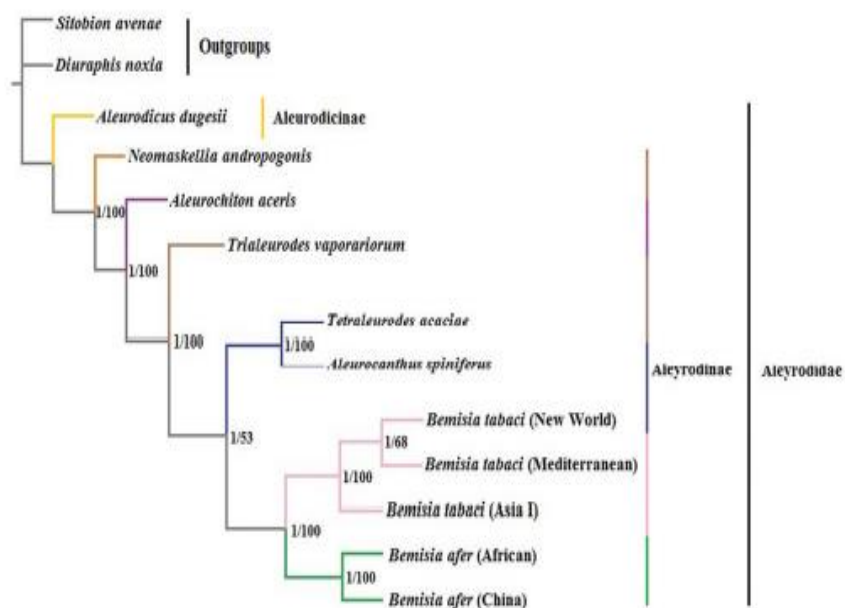
70 do 80 %. Nije zabilježena prisutnost štetnika pri temperaturama ispod 0 °C ni u područjima s temperaturama iznad 43 °C (Kenawy i sur., 2014).

Molekularna biologija kukca

U zadnje vrijeme sve se više odabire mitohondrijska (mtDNA) sekvenca zbog širokog raspona u istraživanjima koja se baziraju na identifikaciji vrste, filogeniji, evolucijskoj biologiji, molekularnoj evoluciji i populacijskoj genetici. Mitohondrijski gen podjedinice I citokrom c oksidaze (COI) ističe se jer posjeduje molekularni marker koristan za evolucijske studije, odnosno mtDNA se puno brže razvija od nuklearne DNA i nakuplja nukleotidne razlike (polimorfizam) između blisko povezanih vrsta (Brown i sur. 1979; Lunt i sur. 1996).

Kodiranja DNA pomoću gena podjedinice I citokrom c oksidaze (COI) u svrhu identifikacije vrste prvi su uveli Hebert i sur. (2003a, 2003b). Citokrom c oksidaza je mitohondrijski protein, smješten je u unutrašnjoj mitohondrijskoj membrani i ključni je enzim u lancu transporta elektrona. Kao takav ima glavnu ulogu u metabolizmu eukariotskih aerobnih organizama. Sastoji se od nekoliko podjedinica od kojih se citokrom c oksidaza podjedinica I kodira u genomu mitohondrija. COI je, međutim, jedan od najočuvanijih gena koji kodiraju mitohondrijske proteine kod životinja (Mueller, 2006) i na taj način pokazuje bolji filogenetski signal (Hebert i sur., 2003b). U skladu sa svim navedenim, prilikom istraživanja genetske varijabilnosti unutar istih ili različitih vrsta kukaca molekularnim metodama, umnožava se mtCOI regija gena ili njena podjedinica citokrom c oksidaza I. Prema vodiču koji su napisali Boykin i De Barro (2014), potvrda vrste *B. tabaci* i ostalih štitastih moljaca temelji se na umnožavanju fragmenta mitohondrijskog gena (mtCOI) kao što je citokrom c oksidaza podjedinica I.

Zhi-Teng i sur. (2016) objavili su rad u kojem su sekvencirali kompletan mitohondrijski genom *A. spiniferus* i na temelju toga objavili filogenetske odnose među vrstama unutar porodice Aleyrodidae. Prema njihovim objavljenim podacima ukupni mitohondrijski genom veličine 15,220 bp sadrži 36 gena, uključujući 13 gena koji kodiraju proteine, 21 prijenosnu RNA (tRNA), dvije ribosomske RNA (rRNA) i veliku kontrolnu regiju. Na temelju 13 gena koji kodiraju proteine napravljen je filogenetski odnos. Prema obavljenoj analizi, koja je u skladu s morfološkim klasifikacijama i filogenetskim studijama štitastih moljaca, *A. spiniferus* sestrinska je grupa vrsti *Tetraleurodes acaciae*, dok su tri vrste *B. tabaci* grupirane zajedno, kao i dvije vrste *B. afer* (Slika 2.2.4.2.3).



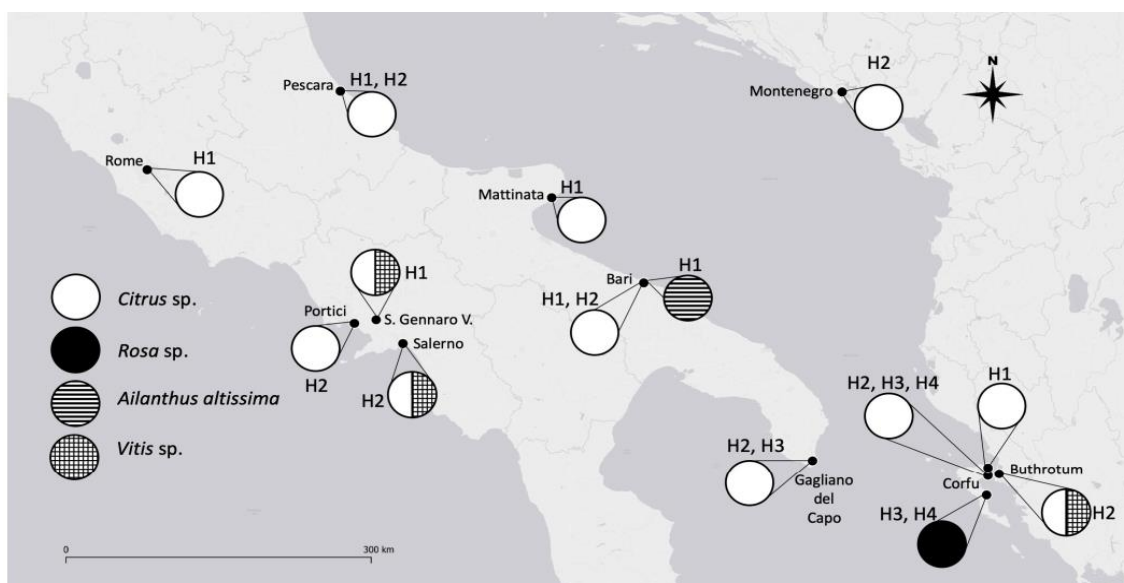
Slika 2.2.4.2.3. Filogenetski odnosi Aleyrodidae na temelju 13 proteinskih gena (izvor: Zhi-Teng, 2016)

Iste godine objavljen je rad Uesugija i sur. (2016) u kojem su istražili genetsku raznolikost *A. spiniferus* i *A. camelliae* i njihovog prirodnog neprijatelja *E. smithi*. Tijekom provedbe analiza prvo su istražili genetske razlike između ove dvije slične vrste, a zatim su procijenili njihovo potencijalno nativno područje korištenjem dijela sekvence podjedinice I citokrom C oksidaze mitohondrija (mtCOI). Kod *A. spiniferus* otkrivene su dvije filogenetske skupine (haplogrupe A1 i A2), a kod *A. camelliae* tri (haplotipovi B1 i B2 i haplogrupa B3). Prema rezultatima, Kina je nativna zemlja obje navedene vrste, a vrsta *A. spiniferus* počela se širiti početkom 20. st. u ostale dijelove svijeta, dok se vrsta *A. camelliae* počela širiti zadnjih 50-ak godina.

Genetsku analizu na temelju sekvenci fragmenta COI populacije *A. spiniferus* na području Europe prvi put izradili su Kapantaidaki i sur. (2019). Utvrđena su četiri različita haplotipa (H1-H4) populacije *A. spiniferus* iz Grčke. Pretpostavka visoke razine genetičke raznolikosti i stvaranje novih genetskih kombinacija u kratkom vremenskom razdoblju posljedica je višestrukih invazija iz različitih izvornih regija. Smatra se da je razlog tomu nekoliko neovisnih introdukcija iz različitih regija.

Slično istraživanje proveli su Nugnes i sur. (2020) na talijanskim i albanskim populacijama štetnika. Nugnes i sur. (2020) navode prisutnost dva haplotipa populacije u Italiji i Albaniji. Dobiveni haplotipovi odgovaraju mitohondrijskoj haplogrupi 2 što odgovara haplotipovima H1 i H2. Haplotip 1 potječe od uzoraka skupljenih u južnoj Italiji, dok haplotip 2 potječe,

osim uzoraka iz južne Italije, i iz uzoraka dobivenih iz Butrinta u Albaniji. To je ujedno i prvi zapis o pojavi ovog štetnika u Albaniji. Postoci detekcije haplotipova bili su 57 % za H1 i 43 % za H2. Haplotipovi H3 i H4 koji su pronađeni u Grčkoj, nisu potvrđeni u Italiji (Slika 2.2.4.2.4). Navedena istraživanja potvrdila su kako je haplotip H1 široko rasprostranjen u zemljama Europske unije u kojima je provedena genetska analiza narančina trnovitog štitastog moljca (Grčka, Italija, Albanija, Crna Gora) te se ovim radom pružio uvid u moguće puteve introdukcije stranog štetnika u različitim područjima Sredozemlja.



Slika 2.2.4.2.4. Vrsta *A. spiniferus* – rasprostranjenost, haplotipovi i biljke domaćini u EPPO zoni (izvor: Nugnes i sur. (2020))

Štetnost vrste *A. spiniferus*

Vrsta *A. spiniferus* značajan je gospodarski štetnik. Kao i kod ostalih vrsta iz porodice Aleyrodidae postoje dva osnovna tipa gospodarskih šteta na poljoprivrednom bilju uzrokovanih napadom vrste *A. spiniferus*, a to su izravne i neizravne štete. **Izravne štete** čine svi razvojni stadiji ličinke i odrasli *A. spiniferus* tako da ubadanjem rila sišu biljne sokove iz floema. Naseljavaju naličje listova, dok plodovi nisu izravno napadnuti. Sisanje biljnih sokova dovodi do slabljenja kondicije biljke domaćina, a uslijed jakog napada može doći do žućenja i opadanja listova. **Neizravna šteta** koje uzrokuje vrsta *A. spiniferus* nakupljanje je obilne medne rose po lišću i plodovima, koju ovaj štetnik izlučuje tijekom hranjenja. Istodobno s ispuštanjem medne rose konzumiraju i aminokiseline iz soka floema koje im služe za izgradnju proteina i pomažu u njihovu rastu (Martin i sur., 2000). Na mednu rosu naseljavaju se gljivice čađavice (*Capnodium* spp.). Medna rosa pojavljuje se na svim

nadzemnim dijelovima biljke domaćina, a razvojem gljivica čađavica dolazi do ometanja procesa fotosinteze (Slika 2.2.4.2.5.). Brink i Hewitt (1992.) u svom istraživanju navode kako jako onečišćeni listovi uopće ne obavljaju fotosintetsku aktivnost, a uklanjanjem gljivičnog sloja s listova dolazi do slabijeg obavljanja fotosinteze. Uslijed potpuno prekrivenih listova gljivicom čađavicom dolazi do poremećaja u izmjeni plinova kroz puči lista, povećane apsorpcije topline, što na kraju rezultira povišenom temperaturom lista i odumiranjem lisnog tkiva te defolijacijom (Bryne i sur., 1990). Obilna medna rosa po listovima i mladima uzrokuje slabije cvjetanje i zametanje plodova, novi porast slabije je kondicije, kržljiv, a sklop svih navedenih simptoma rezultira slabijim urodom i kvalitetom plodova (Ba-Angood, 1977). U svom istraživanju Dowell (1983) navodi nižu koncentraciju dušika u listovima napadnutim štitastim moljcima i gubitak ostalih nutritijenata bitnih za dozrijevanje plodova. Plodovi agruma imaju narušen estetski izgled što uzrokuje gubitak vrijednosti, pa čak i upitnost same prodaje. Ako se štetnik ne suzbija, u narednom vremenskom razdoblju moguće je slabije zametanje plodova i izostanak vegetativnog prirasta stabla.



Slika 2.2.4.2.5. Razvoj gljivice čađavice na plodu mandarine

Istraživanje utjecaja karantenskog štetnika *A. spiniferus* na pomološka i fizikalno- kemijska svojstva mandarine Unshiu proveli su Paladin Soče i sur. (2022). U radu su konstatalirali da je djelovanje štetnika značajno utjecalo na pomološka svojstva ploda te su utvrđene statistički značajne razlike u vrijednostima mase, visine i širine između zdravih i onečišćenih plodova. Analizom kakvoće plodova dobivena je lošija kvaliteta plodova prekrivenih gljivicom čađavicom. Na temelju dobivenih podataka utvrđene su statistički značajne razlike kod topljive suhe tvari, ukupne kiselosti, pepela, ukupnih fenola i vitamina C. Plodovi onečišćeni gljivicom čađavicom imali su dosta lošiji izgled čime im je umanjena estetska, ali i tržišna vrijednost. Dobivenim rezultatima mineralnog sastava lista utvrđena je statistički značajna razlika u vrijednostima koncentracije dušika i kalija kod onečišćenih i zdravih listova, dok kod rezultata koncentracije fosfora nije zabilježena statistički značajna razlika. Do danas nisu napravljena istraživanja, niti postoje relevantni podaci o tome da vrsta *A. spiniferus* prenosi biljne viruse.

Biljke domaćini vrste *A. spiniferus*

Biljke domaćini trnovitog štitastog moljca agruma *A. spiniferus* su biljne vrste na kojima se odvio cjelokupni razvoj štetnika, odnosno one na kojima se utvrdi prazna „kukuljica”(egzuvij). Vrsta *A. spiniferus* polifagni je štetnik, a najvažnije biljke domaćini su iz porodice *Citrus*, *Vitis* i *Pyrus*. U Italiji je, osim na agrumima, utvrđena njegova prisutnost i na vinovoj lozi, jezgričavom i koštičavom voću i u urbanim sredinama na ukrasnim biljkama (EPPO, 2010) poput *Laurus nobilis* L., *Prunus* spp. i *Salix* spp., *Pyracantha* spp. (Cioffi i sur., 2013).

Mound i Halsey (1978) navode kako je *A. spiniferus* zabilježen na 18 biljnih vrsta iz 13 porodica, dok Evans (2007a) navodi 16 porodica i 30 biljnih vrsta domaćina. Prema zadnjem dostupnom popisu vrsta biljaka domaćina i porodica Kenawy i sur. (2014) objavljuju podatak kako se vrsta *A. spiniferus* hrani na 94 različite biljne vrste iz 38 porodica. Bubici i sur. (2020) utvrđuju novu biljku domaćina na kojoj se odvio cjelokupni razvoj *A. spiniferus*, a to je *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. Nugnes i sur. (2020) nadopunjuju listu novootkrivenih biljaka domaćina ovog štetnika poput *Arbutus unedo* L., *Pistacia vera* L., i *Rosa x damascena* Herrm. Biljke domaćini provjerene su i u EPPO-voj globalnoj bazi podataka te je utvrđeno novih šest vrsta biljaka domaćina iz tri nove porodice. Tako su, u konačnici, prema EPPO-voj globalnoj bazi, unesene 43 porodice sa 112 vrsta biljaka domaćina. U nastavku je Tablica 2.2.4.2.6. koja sadržava popis biljaka domaćina narančina trnovitog štitastog moljca.

Tablica 2.2.4.2.6. Prikaz porodica i biljnih vrsta kao biljaka domaćina vrste *A. spiniferus*

PORODICA	VRSTE BILJAKA DOMAĆINA	IZVOR
Anacardiaceae	<i>Pistacia vera</i> L.	Nugnes i sur. (2020)
Annonaceae	<i>Annona cherimola</i> x <i>squamosa</i> Mill	Gillespie (2012)
	<i>Annona muricata</i> L.	Gillespie (2012)
	<i>Annona reticulata</i> L.	Evans (2007a)
	<i>Annona squamosa</i> L.	Evans (2007a)
	<i>Rollinia deliciosa</i> Saff.	Gillespie (2012)
Apocynaceae	<i>Plumeria rubra</i> L.	Evans (2007a)
Araliaceae	<i>Hedera helix</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Fatsia</i> sp.	Cioffi i sur. (2013)
Arecaceae	<i>Cocos nucifera</i> L.	Evans (2007a)
Asteraceae	<i>Synedrella nodiflora</i> (L.) Gaertn.	Gillespie (2012)
Betulaceae	<i>Alnus formosana</i> (Burkill) Makino	Dubey i Ko (2012)
Caesalpiniaceae	<i>Cassia siamea</i> Lam.	Gillespie (2012)
Cannabaceae	<i>Aphananthe philippinensis</i> Planchon	Gillespie (2012)
Chrysobalanaceae	<i>Maranthes corymbosa</i> Blume	Gillespie (2012)
Convolvulaceae	<i>Erycibe acutifoliae</i> Hayata	Evans (2007a)
Ebenaceae	<i>Diospyros kaki</i> Thunb.	Evans (2007a)
	<i>Diospyros maritima</i> Blume	Gillespie (2012)
Eleocarpaceae	<i>Sloanea dasycarpa</i> (Benth.) Hemsl	Evans (2007a)
Ericaceae	<i>Rhododendron ellipticum</i> Maxim.	Dubey i Ko (2012)
	<i>Arbutus unedo</i> L.	Nugnes i sur. (2020)
Euphorbiaceae	<i>Macaranga tanarius</i> (L.) Müll. Arg.	Martin (1999)
	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	Gillespie (2012)
	<i>Sapium sebiferum</i> (L.) Dum. Cours.	Evans (2007a)
Fabaceae	<i>Bauhinia championii</i> (Benth.) Benth.	Evans (2007a)
	<i>Bauhinia blinii</i>	Dubey i Ko (2012)
	<i>Ceratonia siliqua</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Entada phaseoloides</i> (L.) Merr.	Dubey i Ko (2012)
	<i>Myroxylon japonicum</i> (Thunb.) Makino	Evans (2007a)
	<i>Vigna unguiculata</i> subsp. <i>sesquipedalis</i> (L.) Verdcourt	Gillespie (2012)
	<i>Wisteria sinensis</i> (Sims) A.P. de Cand	Radonjić i Hrnčić (2021)
Flacourtiaceae	<i>Casearia aculeata</i> Jacq.	Evans (2007a)
Hamamelidaceae	<i>Liquidambar formosana</i> Hance	Mound i Halsey (1978)
Lardizabalaceae	<i>Akebia lobata</i> Dekne.	Evans (2007a)
	<i>Akebia longiracemosa</i> Matsum.	Dubey i Ko (2012)
Lauraceae	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) J. Presl.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Laurus nobilis</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Persea zuihoensis</i> (Hayata) H.L. Li	Evans (2007a)
	<i>Persea americana</i> Miller	Gillespie (2012)
	<i>Phoebe formosana</i> (Hayata)	Dubey i Ko (2012)
Lecythidaceae	<i>Barringtonia acutangulata</i> (L.) Gaertn.	Gillespie (2012)
Leguminosae	<i>Entada phaseoloides</i> (L.) Merr.	Dubey i Ko (2012)
Malvaceae	<i>Gossypium</i> sp.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Hibiscus cannabinus</i> L.	Evans (2007a)
	<i>Hibiscus</i> sp.	Evans (2007a)
	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> L.	Gillespie (2012)
	<i>Hibiscus tiliaceus</i> L.	Dubey i Ko (2012)

PORODICA	VRSTE BILJAKA DOMAĆINA	IZVOR
	<i>Urena lobata</i> L.	Gillespie (2012)
	<i>Malva</i> sp.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Urena lobata</i> L.	Gillespie (2012)
Meliaceae	<i>Toona ciliata</i> M. Roem.	Gillespie (2012)
Meliosmaceae	<i>Meliosma rigida</i> Siebold et Zucc.	Mound i Halsey (1978)
Moraceae	<i>Ficus capensis</i> Thunb.	Evans (2007a)
	<i>Ficus carica</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Ficus racemosa</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Ficus</i> sp.	Martin (1999)
	<i>Ficus</i> sur Forsskål	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Morus alba</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Streblus</i> sp.	Cioffi i sur. (2013)
Myrsinaceae	<i>Maesa perlaria</i> (Lour.) Merr.	Dubey i Ko (2012)
Myricaceae	<i>Myrica rubra</i> (Loureiro) Siebold & Zuccarini	Wang i sur. (2019)
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Syzygium samarangense</i> (Blume) Merr. Et L.M. Perry	Dubey i Ko (2012)
Piperaceae	<i>Piper kadsura</i> (Choisy) Ohwi	Dubey i Ko (2012)
Pentaphylacaceae	<i>Eurya japonica</i> Thunberg	Andrianto i Kasai (2022)
Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
Ranunculaceae	<i>Clematis vitalba</i> L.	Nugnes i sur. (2020)
Rosaceae	<i>Cydonia</i> cv	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Evans (2007a)
	<i>Malus</i> sp.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Prunus armeniaca</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Prunus cerasus</i> L.	Nugnes i sur. (2020)
	<i>Prunus avium</i> L.	Nugnes i sur. (2020)
	<i>Prunus domestica</i> L.	Nugnes i sur. (2020)
	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Prunus serotina</i> Ehrh.	Evans (2007a)
	<i>Pyracantha coccinea</i> M. Roem.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Pyrus communis</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Pyrus pyraister</i> (L.) Du Roi	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Pyrus pyrifolia</i> (Burm. F) Nakai	Dubey i Ko (2012)
	<i>Rosa banksiae</i> Aiton	Nugnes i sur. (2020)
	<i>Pyrus serotina</i> Rehder	Mound i Halsey (1978)
	<i>Rosa chinensis</i> Jacq.	Evans (2007a)
	<i>Rosa indica</i> L.	Evans (2007a)
	<i>Rosa</i> sp.	Dubey i Ko (2012)
	<i>Rosa damascena</i> Herrm.	Nugnes i sur. (2020)
Rubiaceae	<i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis	Dubey i Ko (2012)
	<i>Mussaenda pubescens</i> Dryand.	Dubey i Ko (2012)
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> L.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Citrus bigaradia</i> Loisel.	Evans (2007a)
	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. F.	Mound i Halsey (1978)
	<i>Citrus medica</i> L.	Nugnes i sur. (2020)
	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Nugnes i sur. (2020)
	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Evans (2007a)
	<i>Flindersia</i> sp.	Gillespie (2012)
	<i>Fortunella</i> Swingle	Jansen (2011)

PORODICA	VRSTE BILJAKA DOMAĆINA	IZVOR
	<i>Murraya koenigii</i> (L.) Spreng.	Dubey i Ko (2012)
	<i>Zanthoxylum</i> [Fagara] <i>nitidum</i> (Roxb.) DC.	Evans (2007a)
Sabiaceae	<i>Meliosma rigida</i> Siebold et Zucc	Evans (2007a)
Salicaceae	<i>Salix</i> sp.	Evans (2007a)
	<i>Xylosma congesta</i> (Loureiro) Merrill	Dubey i Ko (2012)
	<i>Casearia aculeata</i> Jacquin	Gillespie (2012)
	<i>Scolopia oldhamii</i> Hance	Dubey i Ko (2012)
Sapindaceae	<i>Cupaniopsis anacardiodes</i> (A. Rich.) Radlk.	Gillespie (2012)
	<i>Ganophyllum falcatum</i> Blume	Gillespie (2012)
Simaroubaceae	<i>Ailanthus altissima</i> (Mill.) Swingle	Bubici i sur. (2020)
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	Cioffi i sur. (2013)
Ulmaceae	<i>Aphananthe philippinensis</i> Planch.	Gillespie (2012)
Urticaceae	<i>Boehmeria virgata</i> var. <i>densiglomerata</i> W.T.Wang	Dubey i Ko (2012)
	<i>Boehmeria zollingeriana</i> var. <i>Blinii</i> H. Léveillé	Dubey i Ko (2012)
Vitaceae	<i>Parthenocissus tricuspidata</i> (Siebold et Zucc.) Planch.	Cioffi i sur. (2013)
	<i>Vitis vinifera</i> L.	Evans (2007a)

Metode praćenja pojave *A. spiniferus*

Karantenskog štetnika *A. spiniferus* u nasadima agruma moguće je rano otkriti pomoću žutih ljepljivih ploča. Žute ljepljive ploče najčešće se postavljaju u svrhu kontrole, praćenja populacije i hvatanja odraslih razvojnih stadija. Pomoću ploča može se odrediti početak leta štetnika i dobiti uvid u stvarno stanje populacije, odnosno prema broju uhvaćenih odraslih razvojnih stadija može se odrediti visina populacije štetnika u nasadu (Slika 2.2.4.2.6.) (EFSA, 2018; EPPO/OEPP 2022a). Osim žutih ljepljivih ploča u nasadu izvrstan pokazatelj je medna rosa i crne gljivice čađavice na nadzemnim organima biljke domaćina. Međutim, slični simptomi mogu proizaći iz napada drugih vrsta štitastih moljaca, lisnih uši, štitastih uši ili lisnih buha. Prema tome, važno je obaviti vizualni pregled naličja listova pomoću džepne lupe kako bi se identificirala prisutnost ličinki i/ili odraslih stadija vrste *A. spiniferus* na temelju njihova izgleda i boje. Izbjegavanje mogućnosti pogreške pri identifikaciji uzroka simptoma napada zahtijeva analizu i u dijagnostičkom laboratoriju.

Detekcija ove vrste štetnika provodi se i vizualnim pregledom naličja listova kako bi se ustanovila prisutnost odraslih stadija i razvojnih stadija ličinki. Vizualni pregled naličja listova dosad se pokazao puno učinkovitijim od metode žutih ljepljivih ploča. U prilog tomu ide i činjenica da se vizualnim pregledom otkrila prva zaraza *A. spiniferus* u Italiji (Porcelli, 2008). Vizualnim pregledima stabala agruma u Floridi Dowell i Cherry (1981) otkrili su prisutnost vrste *A. woglumi* u ranoj fazi zaraze (<5 % zaraženih listova). Pregled naličja listova na

prisutnost preimaginalnih razvojnih stadija provodi se džepnom lupom u nasadu. Odrasle razvojne stadije lako je uočiti na mladim listovima, odnosno na mladom porastu (Šimala i Pintar 2020).



Slika 2.2.4.2.6. Žuta ljepljiva ploča u nasadu mandarine Unshiu u mjestu Vitaljina



Slika 2.2.4.2.7. Odrasli razvojni stadij *A. spiniferus* na listu mandarine Unshiu

Odrasli razvojni stadiji teško se mogu zamijeniti s nekom drugom vrstom zato što ostali, do sada zabilježeni članovi faune štitastih moljaca u Republici Hrvatskoj nemaju krila tamne boje (Slika 2.2.4.2.7).

Suzbijanje narančina trnovitog štitastog moljca *A. spiniferus*

Vrstu *A. spiniferus* zbog visokog reproduktivnog potencijala, polifagnosti, prisutnosti svih razvojnih stadija istovremeno u nasadu i preklapanja generacija, dosta je teško suzbiti. U područjima u kojima je zabilježena prisutnost vrste *A. spiniferus*, u cilju sprječavanja daljnjeg širenja, provode se sve raspoložive mjere (agrotehničke, fizikalne, biološke i kemijske).

Agrotehničke i fizikalne mjere su alternativne metode u suzbijanju vrste *A. spiniferus*. Potpuno su bezopasne za okoliš, a njihovom primjenom smanjuje se potreba za korištenjem kemijskih sredstava. Ove mjere uključuju oštru rezidbu agruma, ali i potencijalnih domaćina štetnika. Rezidbom i prorjeđivanjem krošnji nastoji se spriječiti visoka zračna vlaga koja pogoduje razvoju vrste *A. spiniferus* i omogućuje bolje strujanje zraka u nasadima. Odrezane dijelove potrebno je spaliti ili zakopati u zemlju. U slučaju podizanja novog nasada preporuka je sadnja na široki razmak (Uygun i sur., 1990; Šimala i sur., 2013). Vizualnim pregledom biljaka u nasadu i primjenom žutih ljepljivih ploča može se ustanoviti prisutnost štetnika kod niske populacije. Prema Wang i sur. (2015) *A. spiniferus* preferira žute ljepljive ploče, a najuspješnijim se pokazalo 20 žutih ploča na 667 m² površine. Optimalna visina postavljanja žute ljepljive ploče unutar nasada agruma je 2 – 3 m iznad razine tla, odnosno u razini najvećeg obujma krošnje agruma ili 1,5 m iznad razine tla (Meyerdirk i sur. 1979b).

Oblik žute ljepljive ploče prema Meyerdirku i sur. (1979a) nema utjecaja na učinkovitost, ali ukupan broj uhvaćenih odraslih jedinki po žutoj ljepljivoj ploči imao je pozitivnu korelaciju s površinom nasada. Žute ploče spektra 550 – 553 nm najatraktivnija su boja za odrasle stadije (Meyerdirk i sur., 1979a).

Biološko suzbijanje provodi se primjenom biopesticida (botaničkim – organskim, makrobiološkim i mikrobiološkim insekticidima), učinkovitije je i ekonomičnije u odnosu na kemijsko suzbijanje i pokazuje zadovoljavajuće rezultate u pojedinim dijelovima svijeta.

Botanički – organski insekticidi

U radu Mokraine i sur. (2020) objavljeno je istraživanje o učincima različitih organskih registriranih insekticida na *A. spiniferus* u smislu letalne toksičnosti. U radu je testirano nekoliko organskih insekticida, uključujući eterično ulje slatke naranče, ekstrakt *Clitoria*

ternatea, mineralno ulje, piretrin i azadiraktin. Iako ni jedan od tih spojeva nije uzrokovao značajnu smrtnost različitih razvojnih stadija *A. spiniferus*, primijećeni su zanimljivi učinci djelovanja na vrstu *A. spiniferus*. Prema rezultatima piretrin i eterično ulje slatke naranče spriječili su dolet odraslih jedinki i polaganje jaja na tretirane biljke, dok je ekstrakt *Clitoria ternatea* utjecao na ishranu odraslih štitastih moljaca *A. spiniferus*. Primjena mineralnih ulja nije pokazala značajne rezultate. Više odraslih stadija vrste *A. spiniferus* sletjelo je na tretirane biljke. Prema navedenim rezultatima istraživanja Mokraïne i sur. (2020) smanjeno polaganje jaja bilo je statistički značajno samo kod eteričnog ulja slatke naranče i piretrina. Piretrin je potpuno spriječio odlaganje jaja na biljkama tretiranim tim spojem.

Makrobiološki insekticidi - parazitoidi

Parazitske osice vrste *Encarsia smithi* Silvestri, 1926 iz porodice Aphelinidae smatraju se najučinkovitijima u suzbijanju vrste *A. spiniferus* i *A. woglumi*. O ovoj vrsti i njezinoj učinkovitosti pisali su Gyeltshen i Hodges., 2005; Muniappan i sur., 1992; Van Den Berg i sur., 2000, i ostali. Gyeltshen i Hodges (2005.) navode kako su Japanci postigli mortalitet populacije *A. spiniferus* od 74 % zahvaljujući introduciranim prirodnim neprijateljima iz Kine. Japanci su introducirali parazitsku osicu *Prospaltella smithi* Silvestri, 1926 što je sinonim za *Encarsia smithi* (Silvestri, 1926) i predatora iz porodice Coccinellidae – *Cryptognatha* sp. U Guamu je primjenom parazitskih osica *E. smithi* i *Amitus hesperidum* Silvestri, 1927 postignuta parazitacija od 80 do 95 % ličinki *A. spiniferus* (Gyeltshen i Hodges, 2005). Van Den Berg i sur. (2000) pišu o velikoj zarazi *A. spiniferus* u nasadima agruma u državi Svazi u južnoj Africi. Introdukcijom *E. smithi* unutar nasada agruma ostvarena je parazitacija od 72,9 %, a nakon godine dana 82,4 %. Van Den Berg i sur. (2000) zabilježili su širenje *E. smithi* i parazitaciju *A. spiniferus* do 2 km od mjesta prvog ispuštanja parazitoida. Prema Muniappan i sur. (2006.) u Palau u Oceaniji zahvaljujući parazitoidima *Encarsia aseta* Hayat & Polaszek 1992 i *A. hesperidum* ostvarena je parazitacija od 0 – 42 %.

Osim navedenih vrsta Mound i Halsey (1978) te Evans (2007b) navode još nekoliko parazitoida iz porodice Aphelinidae, a to su: *Ablerus macrochaeta* Silvestri, 1927, *Encarsia merceti* Silvestri, 1926, *Encarsia merceti* var. *Modesta* Silvestri, 1926, *Encarsia divergens* Silvestri, 1926, *Encarsia nipponica* Silvestri, 1927, *Encarsia ishii* Silvestri, 1926, *Encarsia opulenta* Silvestri, 1927, *Eretmocerus serius* Silvestri, 1927, te iz porodice Platygasteridae *Amitus hesperidum* var. *variipes* Silvestri, 1927, uz već navedenu *A. hesperidum*.

Cherry i Pastor J. (1980) navode učinkovitost vrsta *A. hesperidum* i *E. opulenta* u borbi protiv *A. woglumi* u razdoblju od tri godine. Parazitoid *A. hesperidum* učinkovitiji je pri većoj gustoći populacije štetnika i odgovoran je za brzo smanjenje visoke populacije štetnika, dok je *E. opulenta* učinkovitija pri manjoj gustoći populacije domaćina i pridonosi u održavanju

populacije *A. woglumi* ispod ekonomskog praga štetnosti. Quezada (1974) navodi *E. opulenta* kao učinkovitog prirodnog neprijatelja vrste *A. woglumi*.

Makrobiološki insekticidi – predatori

Predatori štitastih moljaca većinom su polifagne vrste koje su sastavni dio entomofaune u nasadima agruma diljem mediteranskog bazena (Uygun i sur., 1990).

U radu Ulusoya i sur. (1996) naveden je popis zabilježenih predatora najznačajnijih štitastih moljaca u nasadima agruma. Među njima spominje i predatorsku vrstu *Clitostethus arcuatus* iz porodice Coccinellidae. U nasadima agruma na jugu Italije Cioffi i sur. (2013.) također su zabilježili pojavu ličinke *C. arcuatus* kako se hrani prvim i drugim stadijima *A. spiniferus*. U Republici Hrvatskoj Mikloš je još 1978. godine tijekom istraživanja jasenovog štitastog moljca *Siphoninus phillyreae* Haliday, 1835 zabilježio navedenu vrstu kao jednu od predatora štitastih moljaca (Mikloš, 1978).

Evans (2007b) navodi i ostale vrste predatora štitastih moljaca iz porodice Coccinellidae (Coleoptera) poput *Axinoscymnus beneficus* Kanmya 1963, *Catana clauseni* Chapin 1940, *Chilocorus kuwanae* Silvestri, 1909, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant, 1850, *Cryptognatha flaviceps* Crotch 1874, *Cryptognatha* sp. Mulsant, 1850, *Delphastus* sp. Casey, 1899, *Scymnus* sp. Kugelann, 1794, *Scymnus hilaris* Sasaji, 1971 te *Serangium flavescens* Motschulsky, 1866. Iz porodice Drosophilidae (Diptera) navodi vrste: *Acletoxenus indicus* Malloch, 1929, iz porodice Chrysopidae (Neuroptera): *Chrysopa* sp. Leach, 1815, a Mound i Halsey (1978) i EPPO (2021) uz *Cryptognatha* sp., navode i *Delphastus* sp.

Nugnes i sur. (2020). navode vrstu *Oenopia conglobata* Linnaeus, 1758 (Coccinellidae) koja je uglavnom predator lisnih ušiju (Hemiptera: Aphididae) i lisnih buha (Hemiptera: Psyllidae), dok se sporadično pojavljuje kao predator vrste *A. spiniferus*. Prema zadnjem istraživanju u Italiji (Sicilija) prema morfološkim i molekularnim analizama potvrđena je prvi put vrsta *Serangium montazerii* Fürsch, 1955 (Coccinellidae) kao predator *A. spiniferus*. Vrsta *S. montazerii* hrani se jajima i ličinkama štetnika *A. spiniferus* (Cocuzza i sur., 2023). Navedena vrsta predatora prepoznata je u biološkom suzbijanju vrsta štitastih moljaca *D. citri* i *B. tabaci* (Fotukiaii i sur., 2013; Al-Zyound, 2008).

Mikrobiološki insekticidi – entomopatogene gljivice

U Brazilu su provedena istraživanja s entomopatogenim gljivicama *Aschersonia* var. *aleyrodis* Webber, 1894 i *Aegerita webberi* Fawcett, 1908 i njihov utjecaj na mortalitet vrste *A. woglumi* Ashby (Lima i sur., 2017). Entomopatogene gljivice uzrokovale su visok postotak mortaliteta populacije *A. woglumi* od čak 93,84 do 99,10 % pri najvišim koncentracijama konidija nakon samo tri dana od inokulacije. Gong-Yin i sur. (2014) navode

podatak o utjecaju *A. webberi* na mortalitet vrste *A. spiniferus* od čak 90 %. Visok postotak smrtnosti ličinki štitastih moljaca uzrokovan entomopatogenim gljivicama može se povezati s nepokretnošću i blizinom jedinki ličinki na naličju lista, a to omogućuje ujednačen rast gljivica na ličinkama štitastih moljaca *A. spiniferus* u obliku pamuka. Ličinke prekrivene gljivicama dobivaju potpuno mumificiran izgled (Lima i sur., 2017. prema Lemos 2008).

Kemijsko suzbijanje najrašireniji je oblik suzbijanja štetnika u modernoj poljoprivredi. Međutim, ova metoda ima nekoliko nedostataka koji povećavaju troškove proizvodnje i ograničavaju njezinu primjenu u nasadima agruma. Kemijsko suzbijanje uništava prirodne neprijatelje, a kod štetnika pri nepravilnoj primjeni utječe na brži razvoj rezistentnosti na insekticide. Primjena insekticida preporučuje se samo pri vrlo niskoj populaciji štetnika i na mladim listovima kako bi se spriječio daljnji razvoj štetnika (Uygun i sur., 2010). U velikim nasadima agruma izravno suzbijanje štetnika pomoću insekticida gotovo je nemoguće zbog njihove velike disperzije i leta odraslih stadija. Insekticidi izravno suzbijaju štetnika ako dođu u kontakt s njima, što je u velikim nasadima agruma gotovo nemoguće (Cioffi i sur., 2013). Važno je napomenuti da je primjena insekticida u suzbijanju štetnika vrste *A. spiniferus* pokazala neučinkovitost zbog širokog područja rasprostranjenosti štetnika i velikog broja biljaka domaćina (Gyeltshen i Hodges., 2005; Šimala i sur., 2013). Kod mladih stabala s dosta novih mladih izboja preporučuje se korištenje mineralnih ulja koja su učinkovita u suzbijanju razvojnih stadija ličinke u rano proljeće i u suzbijanju gljiva čađavica (Uygun i sur., 2010). U nasadima agruma na Floridi tijekom ranog proljeća bordoška juha u kombinaciji s mineralnim uljima rezultirala je smrtnošću ličinki štitastih moljaca od 99,2 % (English i Turnipseed, 1940).

U Grčkoj su dozvoljeni pripravci na osnovi spirotetramata, acetamiprida, sulfaksoflora i kalijevih soli masnih kiselina. Zbog brzog širenja štetnika u 2018. godini u Republici Hrvatskoj zatraženo je administrativno priznavanje registracija spomenutih insekticida iz Grčke za sredstva koja su dozvoljena u suzbijanju vrste *A. spiniferus* (Šimala i sur., 2019b). U Republici Hrvatskoj za suzbijanje narančina trnovitog štitastog moljca agrumima, prema FIS-u (2023), odobreni su pripravci Movento na bazi aktivne tvari spirotetramat, Proximo na bazi aktivne tvari piriproksifen i Closer u zaštićenom prostoru na bazi aktivne tvari sulfoksaflo. Osim navedenog registriran je i kontaktni insekticid Prevl-Gold na bazi narančina ulja, Flipper na bazi masnih kiselina kalijevih soli i biološki insekticid Azatin na bazi aktivne tvari azadiraktin. Azatin djeluje kao regulator rasta i smanjuje plodnost ženki.

3 MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

U ovom poglavlju prikazat će se metode i materijali morfološke dijagnostike vrste *A. spiniferus*, opis lokacije istraživanja i ekološki čimbenici navedene lokacije, metode i materijali istraživanja životnog ciklusa štetnika te identifikacija vrste PCR metodom i određivanje haplotipova vrste *A. spiniferus*.

3.1 Morfološka dijagnostika vrste *A. spiniferus*

Vizualnim pregledom nasada u Vitaljini prikupljeni su listovi mandarine Unshiu s „kukuljicama“/egzuvijima štitastog moljca *A. spiniferus*. Listovi na kojima je određena prisutnost razvojnog stadija „kukuljice“/egzuvija pohranjeni su do laboratorijske analize metodom suhog čuvanja uzorka u papirnatim omotnicama (Martin, 1987; 1999). Mikroskopska morfološka identifikacija vrste provedena je u laboratoriju Centra za zaštitu bilja HAPIH pomoću relevantnih dijagnostičkih protokola PM 7/7(1) (OEPP/EPPO, 2002a) i PM 7/8(1) (OEPP/EPPO, 2002b) te ključeva za morfološku identifikaciju Dubey i Ko (2012) i Jansen i Porcelli (2018). Identifikaciju i potvrdu vrste verificirao je dr. sc. Mladen Šimala. Postupak preparacije kod izrade trajnih preparata proveden je modificiranom metodom Watson i Chandler (1999). Pupariji i egzuviji štitastog moljca pričvršćeni na sakupljenim listovima obrađeni su i pripremljeni za izradu trajnih mikroskopskih preparata pod binokularnom lupom Olympus SZX 7, opremljene digitalnom kamerom Olympus LC 20. Preparacija tamnih „kukuljica“/egzuvija štitastih moljaca započinje izbjeljivanjem u svježe pripremljenoj smjesi 30 %-tnog amonijaka i 30 %-tnog vodikova peroksida. Jedinke ostaju uronjene u toj otopini od 15 do 60 minuta, ovisno o intenzitetu zatamnjenosti. Proces izbjeljivanja prekida se prebacivanjem jedinki u glacijalnu octenu kiselinu. Fiksacija jedinki odvija se u Clove ulju tijekom minimalno 15 minuta. Preparirane „kukuljice“/egzuviji stavljaju se pincetom na predmetno stakalce u kap Canada balsama razrijeđenog s 1/3 benzilnog alkohola i pokrivaju pokrovnim stakalcem. Determinacija vrste štitastog moljca izvršena je klasičnom mikroskopskom metodom na osnovi morfoloških karakteristika „kukuljice“/egzuvija, uz pomoć svjetlosnog mikroskopa Olympus BX 51 digitalnom kamerom Olympus model DP 25. Mikroskopski trajni preparati su nakon završenog postupka preparacije i etiketiranja sušeni u sterilizatoru tipa MS-1 na temperaturi od 40 °C, u razdoblju od oko 2 mjeseca (Slika 3.1.1).

Kod vrsta štitastih moljaca koji su zabilježeni na agrumima u Republici Hrvatskoj, razvojni stadiji ličinki su bjelastožućkaste boje. Međutim, ličinke vrste *A. spiniferus* razlikuju se od ostalih ličinki štitastih moljaca na agrumima po svojoj tamnoj boji, prisustvu bijelih voštanih resa na rubovima i trnovitim dlačicama na svojoj leđnoj strani. Na osnovi ovih karakteristika

ličinke vrste *A. spiniferus* teško se mogu zamijeniti s ličinkama drugih vrsta štitastih moljaca. Izuzetak je vrsta *A. aucube* čije su ličinke crne boje, ali nemaju bijele voštane resice ni trnovite dlačice na svojoj leđnoj strani.

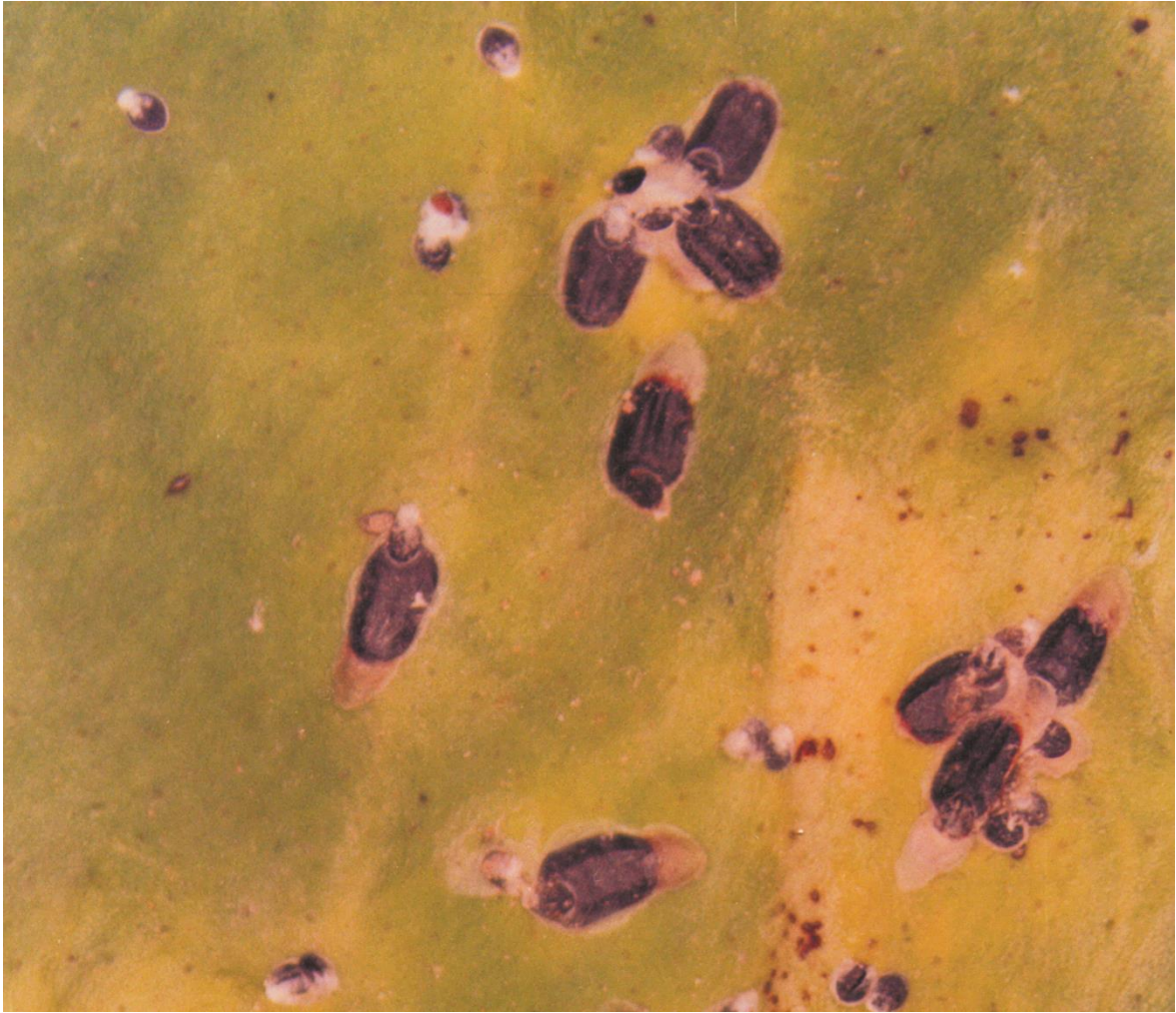


Slika 3.1.1. Mikroskopska slika prepariranog egzuvija (Izvor: Šimala, M.)

Važno je napomenuti da može doći do pogrešne identifikacije ako se ličinke *A. spiniferus* zamijene s ličinkama drugih vrsta štitastih ušiju, koje su također zabilježene na agrumima u Republici Hrvatskoj, kao što su vrste *Saissetia oleae* Olivier, 1791 (Slika 3.1.2.) ili *Parlatoria ziziphi* Lucas, 1853 (Slika 3.1.3.) (Šimala i Pintar, 2020).



Slika 3.1.2. Vrsta *Saissetia oleae* Olivier, 1791 (Izvor: Masten Milek, T.)



Slika 3.1.3. Vrsta *Parlatoria ziziphi* Lucas, 1853 (Izvor: Masten Milek, T.)

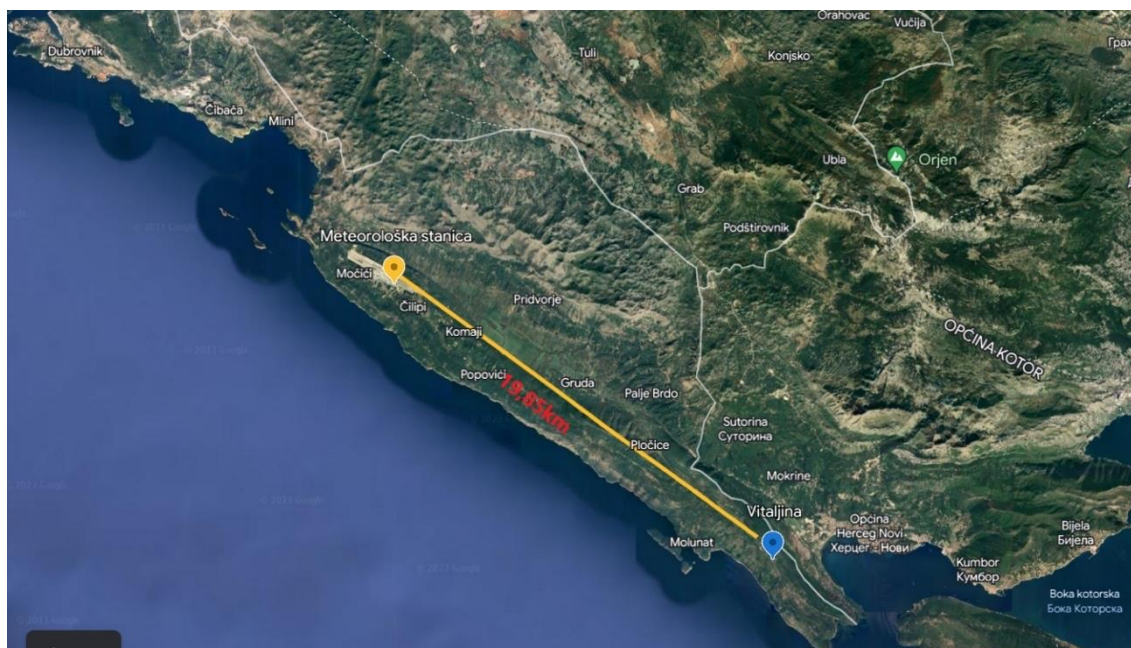
3.2 Opis lokacije istraživanja i klimatski čimbenici

Istraživanje je provedeno u privatnom nasadu mandarina u općini Konavle (Slika 3.2.1.) tijekom 2020. i 2021. godine. Nasad se nalazi u Vitaljini (N42'37'39 E18'10'48) gdje je štetnik prvi put otkriven 2018. godine. Nasad je veličine 0,05 ha. Unutar nasada posađeno je 18 stabala Satsuma mandarina (*Citrus Unshiu* Marc. 'Owari' i 'Kawano Wase'). Razmak između stabala iznosi 4 x 4 m, a krošnja stabala gusta je i neprozračna. Nasad mandarina star je 35 godina, nalazi se na 144 m nadmorske visine i okrenut je prema jugozapadnoj strani. Okolni prostor nasada je omeđen šumom i nasadima maslina (*Olea europaea* L.) sorte 'Bjelica'.



Slika 3.2.1. Privatni nasad mandarina u Vitaljini u kojem se provodilo istraživanje

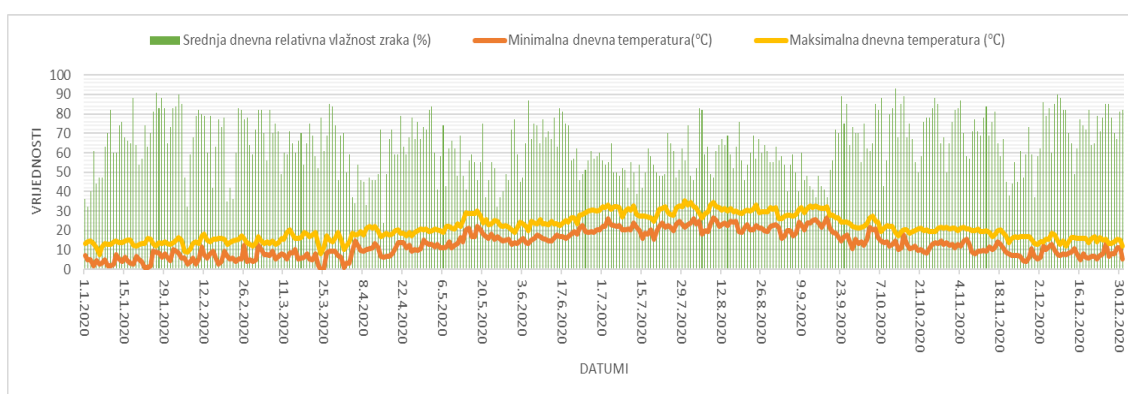
Tijekom dvogodišnjeg istraživanja dobiveni su meteorološki podaci s najbliže meteorološke stanice smještene u Čilipima u općini Konavle. Meteorološka stanica je u službi Državnog hidrometeorološkog zavoda i udaljena je oko 20 km zračne linije od istraživanog nasada (Slika 3.2.2.) Od meteoroloških podataka korišteni su sljedeći parametri: minimalna dnevna temperatura (min. °C), srednja dnevna temperatura (sr. °C), maksimalna dnevna temperatura zraka (max. °C), količina oborina (mm) i relativna vlažnost zraka (%).



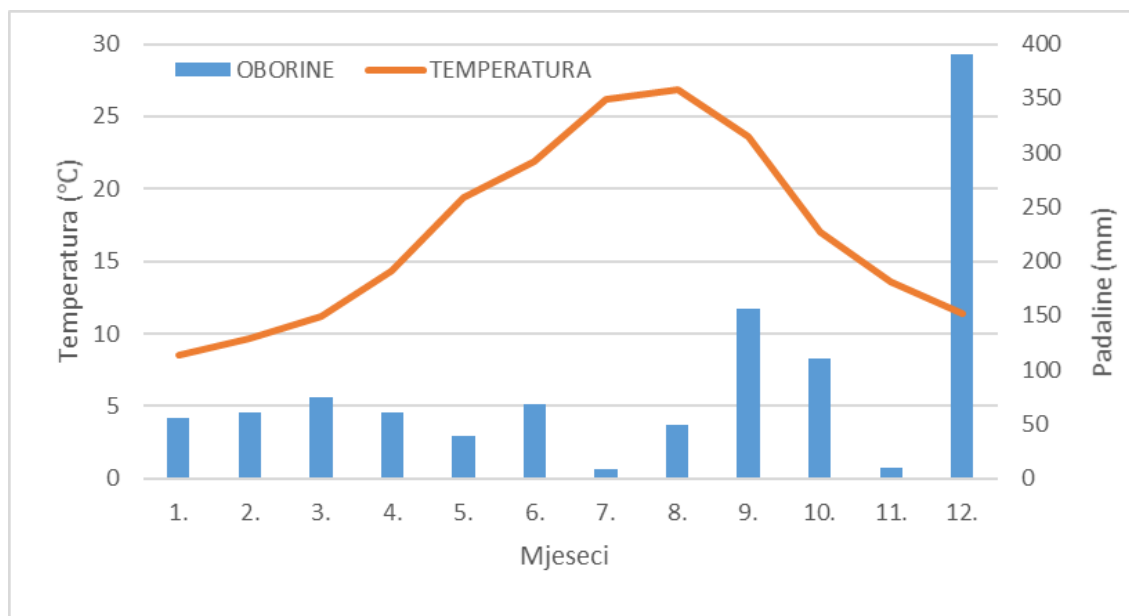
Slika 3.2.2. Zračna udaljenost između lokacije Čilipi na kojoj se nalazi meteorološka postaja i mjesta provođenja istraživanja Vitaljina

(izvor: <https://earth.google.com/web/@42.52458747,18.4434581,983.19820144a,50177.43628456d,35y,0h,0t,0r>, pristupljeno: 3. 6. 2023.)

Za 2020. godinu rezultati kretanja temperatura i relativne vlažnosti zraka prikazani su u klimadijagramu (Grafikon 3.2.1.), dok je srednja mjesečna količina padalina i srednja mjesečna temperatura prikazana Grafikonom 3.2.2.



Grafikon 3.2.1. Klimadijagram s minimalnim i maksimalnim dnevnim temperaturama i relativnom vlažnošću zraka u 2020. godini za meteorološku postaju Čilipi (izvor: DHMZ)

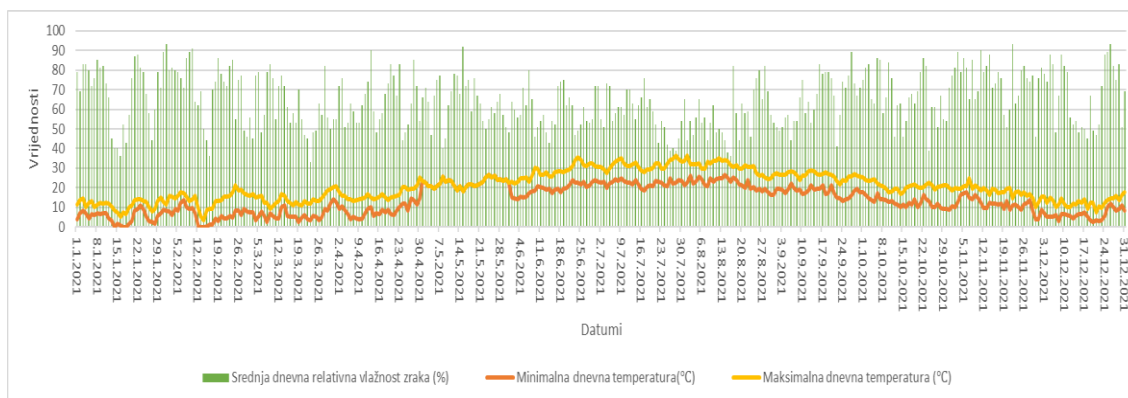


Grafikon 3.2.2. Klimadijagram sa srednjim mjesečnim temperaturama i padalinama za 2020. godinu za meteorološku postaju Čilipi (izvor: DHMZ)

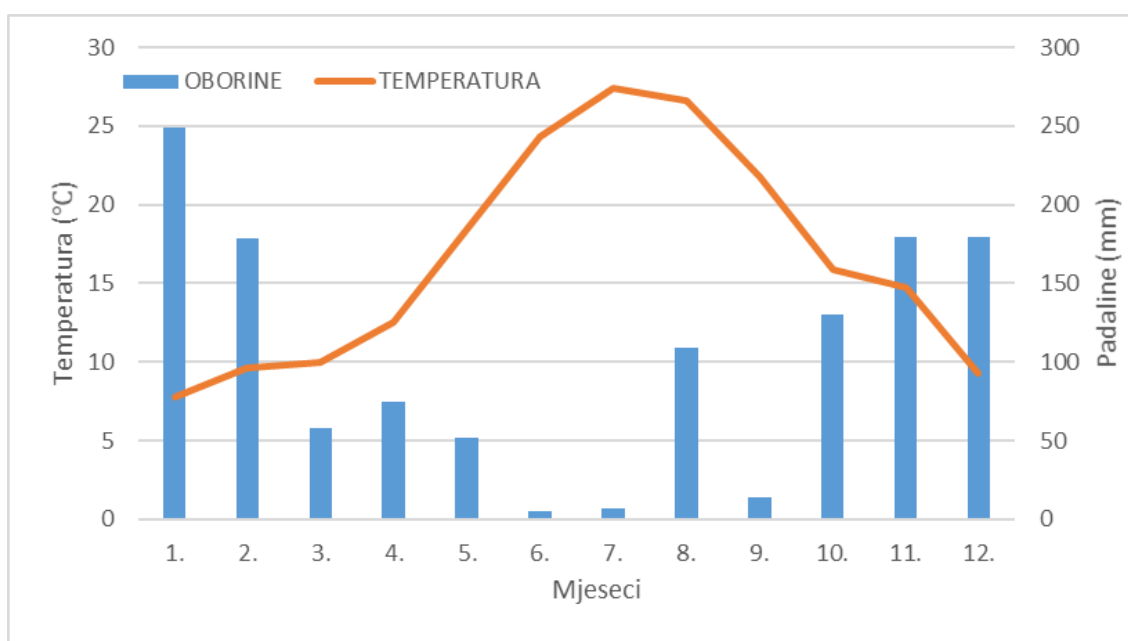
Grafikon 3.2.1. prikazuje kretanje minimalnih i maksimalnih temperatura tijekom 2020. godine. Od kraja lipnja do polovine srpnja, te od kraja srpnja do polovine kolovoza temperature su prelazile 30 °C, uz nižu relativnu vlažnost zraka (54 – 64 %).

Priloženi klimadijagram (Grafikon 3.2.2.) prikazuje srednje mjesečne temperature i količinu padalina u prvoj godini istraživanja. Najviše srednje mjesečne temperature (26,2 – 26,9 °C) zabilježene su u srpnju i kolovozu. U svibnju i kolovozu zabilježene su manje količine padalina (39,5 – 49,5 mm), dok je u srpnju zabilježena najmanja količina padalina (9 mm). U travnju na početku vegetacije, prosječna dnevna temperatura je iznosila 14,5 °C, a relativna vlažnost 57 %, dok je tijekom rujna i listopada zabilježena srednja dnevna jesenska temperatura od 20 – 25 °C i viša relativna vlažnost zraka (72 % rH).

Za 2021. godinu rezultati kretanja temperatura i relativne vlažnosti zraka prikazani su u klimadijagramu (Grafikon 3.2.3.), dok je količina padalina i srednja dnevna temperatura prikazana u Grafikonu 3.2.4.



Grafikon 3.2.3. Klimadijagram s minimalnim i maksimalnim dnevnim temperaturama i relativnom vlažnošću zraka u 2021. godini za meteorološku postaju Čilipi (izvor: DHMZ)



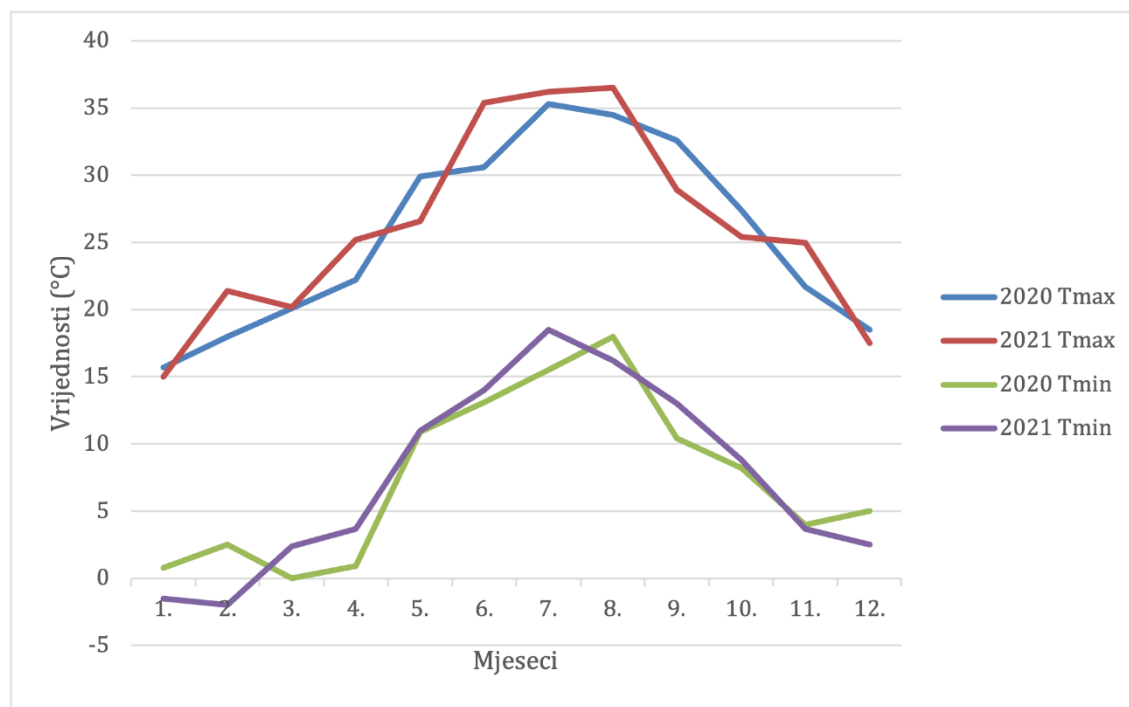
Grafikon 3.2.4. Klimadijagram sa srednjim mjesečnim temperaturama i padalinama za 2021. godinu za meteorološku postaju Čilipi (izvor: DHMZ)

U Grafikonu 3.2.3. vidi se da su od kraja lipnja do polovine kolovoza temperature prelazile 30 °C, pa čak 35 °C, uz nisku relativnu vlažnost zraka (58 % rH).

U Grafikonu 3.2.4. vidljiva je veća količina oborina tijekom cijele godine u odnosu na 2020. godinu, i to za 152,2 mm. U lipnju (4,9 mm) i u srpnju (6,9 mm) zabilježene su najmanje količine padalina. Krajem kolovoza, nakon dva mjeseca suše, zabilježena je količina padalina u iznosu od 108,8 mm što je potaknulo ispiranje gljive čađavice s listova i razvoj mladih jesenskih izboja. U svibnju, početkom vegetacije, srednja mjesečna temperatura

iznosila je 18,4 °C s relativnom vlažnošću zraka 64 %. Od polovice lipnja zabilježene su prve srednje dnevne temperature preko 30 °C, što se nastavilo i u srpnju. Srednje dnevne temperature u kolovozu iznosile su oko 26 °C. Najviše srednje mjesečne temperature (26,6 – 27,4 °C) zabilježene su u srpnju i u kolovozu. Temperatura tijekom rujna i listopada kretala se od 22 – 26 °C, a relativna vlažnost bila je 65 – 67 %.

Zaključno, usporedbom apsolutnih maksimalnih i apsolutnih minimalnih temperatura tijekom dvije godine istraživanja nije zabilježena veća značajna razlika (Grafikon 3.2.5.).



Grafikon 3.2.5. Kretanje mjesečne apsolutne maksimalne i apsolutne minimalne temperature zraka tijekom rasta mladica i razvoja *A. spiniferus* u 2020. i 2021. godini za meteorološku postaju Čilipi

Prosječne dnevne temperature iznad 30 °C zabilježene su tijekom ljeta, odnosno od lipnja do početka rujna u obje godine istraživanja. U 2020. broj vrućih dana (prosječne dnevne temperature iznad 30 °C) u lipnju, srpnju i kolovozu ne razlikuje se značajno od 2021. godine. U 2020. godini zabilježeno je još deset vrućih dana u rujnu. Najviša dnevna temperatura u 2020. godini zabilježena je u srpnju (35,3 °C), dok je u 2021. godini zabilježena u kolovozu (36,5 °C).

U 2021. godini zabilježena je temperatura prosječno niža za 1 °C u usporedbi s onom u 2020. godini. U 2020. godini zabilježena su četiri dana s prosječnom dnevnom

temperaturom nižom od 12 °C tijekom vegetacijskog razdoblja, dok je u 2021. godini taj broj iznosio 18 dana.

Usporedbom podataka o kretanju temperatura i količini oborina u 2020. i 2021. godini može se zaključiti kako je 2020. godina bila toplija i sušnija godina.

Tijekom 2020. godine, u vrijeme proljetnog i ljetnog vegetacijskog porasta, zabilježeni su manji postoci relativne vlažnosti zraka. Prema tome, u 2020. godini, u vremenu od travnja do početka rujna prosječna mjesečna relativna vlažnost zraka kretala se 55 – 64 %, dok se u 2021. godini, u istom vremenskom razdoblju relativna vlažnost zraka kretala između 57 i 69 %.

3.3 Istraživanja bioloških obilježja *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima

3.3.1 Istraživanja životnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima

Životni ciklus *A. spiniferus* utvrđen je praćenjem pojave razvojnih stadija u razdoblju od siječnja 2020. do siječnja 2022. godine. Za utvrđivanje prisutnosti jaja, ličinki i „kukuljica“ listovi mandarina uzorkovani su nasumično, pri čemu su s donjeg, srednjeg i gornjeg dijela krošnje uzorkovana najmanje tri lista sa svakog stabla. U 2020. godini ukupno je pregledano 1620 listova, a u 2021. godini 1512 listova. Uzorkovani materijal stavljen je u plastične vrećice i donesen u laboratorij Zavoda za mediteranske kulture Sveučilišta u Dubrovniku. Datumi uzimanja uzoraka listova mandarine u nasadu Vitaljina tijekom dvogodišnjeg istraživanja prikazani su u Tablici 3.3.1.1.

Tablica 3.3.1.1. Datumi uzimanja uzoraka listova mandarine u nasadu Vitaljina tijekom 2020. i 2021. godine radi utvrđivanja prisutnosti svih stadija štetnika, duljine trajanja stadija i gustoće populacije vrste *A. spiniferus*

Redni broj uzorkovanja	prva godina istraživanja -2020.	druga godina istraživanja - 2021.
Datumi uzimanja uzoraka nepokretnih stadija štetnika i vizualnih pregleda odraslih stadija u nasadu mandarine		
1.	7. 1. 2020.	25. 1. 2021.
2.	10. 2. 2020.	26. 2. 2021.
3.	11. 3. 2020.	18. 3. 2021.
4.	8. 4. 2020.	15. 4. 2021.
5.	16. 4. 2020.	21. 4. 2021.
6.	22. 4. 2020.	29. 4. 2021.
7.	30. 4. 2020.	6. 5. 2021.
8.	6. 5. 2020.	19. 5. 2021.
9.	13. 5. 2020.	31. 5. 2021.
10.	20. 5. 2020.	10. 6. 2021.
11.	27. 5. 2020.	18. 6. 2021.
12.	4. 6. 2020.	28. 6. 2021.
13.	10. 6. 2020.	5. 7. 2021.
14.	20. 6. 2020.	14. 7. 2021.
15.	27. 6. 2020.	21. 7. 2021.
16.	6. 7. 2020.	26. 7. 2021.
17.	15. 7. 2020.	6. 8. 2021.
18.	22. 7. 2020.	17. 8. 2021.
19.	29. 7. 2020.	25. 8. 2021.
20.	8. 8. 2020.	2. 9. 2021.
21.	17. 8. 2020.	11. 9. 2021.
22.	24. 8. 2020.	20. 9. 2021.

Redni broj uzorkovanja	prva godina istraživanja -2020.	druga godina istraživanja - 2021.
Datumi uzimanja uzoraka nepokretnih stadija štetnika i vizualnih pregleda odraslih stadija u nasadu mandarine		
23.	1. 9. 2020.	29. 9. 2021.
24.	7. 9. 2020.	6. 10. 2021.
25.	17. 9. 2020.	14. 10. 2021.
26.	30. 9. 2020.	24. 10. 2021.
27.	14. 10. 2020.	3. 11. 2021.
28.	21. 10. 2020.	
29.	28. 10. 2020.	
30.	5.11. 2020.	
31.	2. 12. 2020.	

U laboratoriju su svi razvojni stadiji od jaja do „kukuljice“ utvrđeni i zabilježeni pomoću stereoskopa Nikon SMZ745T (Slika 3.3.1.1.).



Slika 3.3.1.1. Stereoskop Nikon SMZ745T

Životni vijek svakog pojedinog razvojnog stadija izračunat je od datuma kada je prvi put zabilježen do pojave sljedećeg razvojnog stadija.

U nasadu, dinamika pojave odraslih stadija određena je uzorkovanjem najmanje 50 mladih listova iz proljetnog, ljetnog i jesenskog porasta. Utvrđivanje broja odraslih stadija obavljeno je brojanjem jedinki na naličju mladih listova u predvečernjim satima, jer je u to vrijeme zabilježena manja aktivnost odraslih stadija (Slika 3.3.1.2).



Slika 3.3.1.2. Odrasli stadiji na mladom proljetnom porastu u 2020. godini (lijevo) i odrasli stadiji na jesenskom porastu u 2021. godini (desno)

Uzorkovani listovi skenirani su pomoću skenera (EPSON Perfection V800, Flatbed scanner) (Slika 3.3.1.3.), a potom je površina lista izmjerena pomoću sustava WinFOLIA (Regent Instruments, Inc., Quebec, Canada). WinFOLIA računalni je sustav za analizu slika koji je posebno izrađen za precizna morfološka mjerenja listova. Podaci koji su dobiveni u programu WinFOLIA pohranjeni su u standardnim ASCII tekstualnim datotekama koje je kasnije moguće otvoriti u programima za statistiku ili u proračunskim tablicama kao onima Microsoft Office Excela. Svaki stadij štetnika izražen je kao broj jaja, ličinki, „kukuljica“ i odraslih stadija na 100 cm² lisne površine. Nakon prebrojavanja svih prisutnih razvojnih stadija stariji listovi bili su potopljeni u 97 %-tni alkohol na 30 minuta kako bi se usmrtili svi razvojni stadiji karantenskog štetnika. Listovi su zatim bili isprani vodom, obrisani ubrusom od papira i stavljeni na sušenje. Osušeni listovi skenirani su i površine lista bile su izračunate.



Slika 3.3.1.3. Uzorkovani listovi skenirani pomoću skenera EPSON kako bi se izmjerila površina lista pomoću računalnog sustava WinFOLIA

Uzorkovanje je provedeno svakih 7 – 10 dana u razdoblju vegetacije i jednom mjesečno u razdoblju mirovanja. Tijekom istraživanja ličinke 2. i 3. stadija praćene su zajedno kao cjelina jer nema uočljivih morfoloških razlika između navedenih stadija. Žute ljepljive ploče korištene su za signalizaciju početka leta odraslih stadija.

Na slikama od 3.3.1.4. do 3.3.1.8. prikazani su svi razvojni stadiji štitastog moljca *A. spiniferus* slikani pod binokularnim lupama (stereomikroskopi) Zeiss Discovery. V12 i Olympus SZX7 koji su opremljeni digitalnim mikroskopskim kamerama Olympus LC 20 i softverom za morfometriju LC *mikro*.



Slika 3.3.1.4. Jaja vrste *A. spiniferus*



Slika 3.3.1.5. Ličinka prvog razvojnog stadija *A. spiniferus*



Slika 3.3.1.6. Prijelaz ličinke 3. razvojnog stadija u 4. razvojni stadij ličinke „kukuljica”



Slika 3.3.1.7. Svlakovi prethodnih razvojnih stadija ličinke *A. spiniferus* nalijepljeni na kapljice voska



Slika 3.3.1.8. Odrasli stadij *A. spiniferus*

3.3.2 Istraživanje prirodnih neprijatelja

Na uzorcima listova koji su uzeti u nasadu mandarina u Vitaljini radi utvrđivanja pojedinih stadija i populacije *A. spiniferus* (opisano u Potpoglavlju 3.3.1.) izvršena je procjena ostale entomofaune s ciljem utvrđivanja potencijalne prisutnosti prirodnih neprijatelja *A. spiniferus*. „Kukuljice“ štetnika *A. spiniferus* detaljno su pregledane na moguću parazitaciju pod stereoskopom Nikon SMZ745T. Prilikom pregleda ostala entomofauna koja se nalazila na uzorcima listova sakupljena je kistom namočenim u 97 %-tni alkohol i prebačena u Eppendorf epruvete. Prikupljena entomofauna čuvana je u hladnjaku na -5 °C u Eppendorf epruvetama od 2 ml napunjenima s 97 %-tnim alkoholom do analize i identifikacije vrste. Identifikacija entomofaune provedena je u Centru za zaštitu bilja (HAPIH), prema morfološkim karakteristikama prikupljenih jedinki uz uporabu relevantnih identifikacijskih ključeva (Monserrat i sur., 2012.; Díaz-Aranda i Monserrat 1995.; Ansi i sur., 2020.; Metwally i sur., 1999.; Iqbal i sur., 2018.; Biranvand i sur., 2018) pomoću binokularne lupe Olympus SZX 7, opremljene digitalnom kamerom Olympus LC 20 i binokularnog svjetlosnog mikroskopa Olympus BX51 opremljenog digitalnom mikroskopskom kamerom Olympus DP25 te softverom za morfometriju analySIS doc. U Tablici 3.3.2.1. prikazani su datumi uzimanja uzoraka listova mandarine u svrhu identifikacije ostale entomofaune sa ciljem utvrđivanja moguće prisutnosti prirodnih neprijatelja *A. spiniferus*.

Tablica 3.3.2.1. Datumi uzimanja uzoraka listova mandarine u nasadu Vitaljina tijekom 2020. i 2021. godine sa ciljem utvrđivanja moguće prisutnosti prirodnih neprijatelja *A. spiniferus*.

Redni broj uzorkovanja	prva godina istraživanja -2020.	druga godina istraživanja - 2021.
Datumi uzimanja uzoraka nepokretnih stadija štetnika u nasadu mandarine		
1.	7. 1. 2020.	19. 5. 2021.
2.	10. 2. 2020.	5. 7. 2021.
3.	20. 5. 2020.	17. 8. 2021.
4.	27. 5. 2020.	11. 9. 2021.
5.	10. 6. 2020.	6. 10. 2021.
6.	20. 6. 2020.	24. 10. 2021.
7.	5. 11. 2020.	3. 11. 2021.
8.	2. 12. 2020.	

3.3.3 Istraživanje novih potencijalnih biljaka domaćina

Tijekom istraživanja šest biljnih vrsta, koje se komercijalno uzgajaju u Dubrovačko-neretvanskoj županiji, testirane su kao potencijalne biljke domaćini štetnika. Biljne vrste odabrane su na temelju njihove veće prevalencije u okućnicama, a da dosad nisu zabilježene kao biljke domaćini za *A. spiniferus*. To su sljedeće vrste: *Acca sellowiana* Berg. (Myrtaceae), *Actinidia deliciosa* (A.Chev.) (Actinidiaceae), *Aspidistra elatior* Blume (Asparagaceae), *Sorbus domestica* L. (Rosaceae), *Arbutus unedo* L. (Ericaceae), *Pittosporum tobira* (Thunb.) 'nanum' (Pittosporaceae). Radi provedbe istraživanja potencijalnih biljaka domaćina štetnika unutar pokusnog nasada mandarina u Vitaljini postavljen je entomološki kavez veličine 80 x 50 x 50 cm bez regulacije temperature i vlage (Slika 3.3.3.1.). Kavez je imao dvoja bočna vrata i poklopac koji se mogao podignuti. Cijeli entomološki kavez i vrata bila su omeđena antiinsekt mrežom 0,2 x 0,8 mm. U obje godine istraživanja, ovisno o dostupnosti odraslih razvojnih stadija i mogućnosti primjene umjetne zaraze, sadnice potencijalnih biljaka domaćina izmjenjivane su unutar entomološkog kaveza. Najintenzivnije razdoblje praćenja tijekom obje godine istraživanja provodilo se od mjeseca lipnja do mjeseca listopada. Za svaku navedenu biljku uporabljena je po jedna sadnica koja se stavljala unutar entomološkog kaveza. U 2020. godini u lipnju je postavljena sadnica *Acca sellowiana*, u kolovozu sadnica *Actinidia deliciosa*, sorta 'Hayward', a u rujnu *Aspidistra elatior* i *P. tobira* 'nanum'. U 2021. godini, u lipnju, postavljena je sadnica *Sorbus domestica*, u kolovozu sadnica *Arbutus unedo*, a u rujnu po drugi put *Pittosporum tobira* 'nanum' i *Arbutus unedo*. U Tablici 3.3.3.1. i 3.3.3.2. navedeni su datumi kada su potencijalne biljke domaćina postavljene u entomološki kavez sa ciljem praćenja razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus*.

Tablica 3.3.3.1. Datumi postavljanja potencijalnih biljaka domaćina i praćenja razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u entomološkom kavezu u nasadu tijekom 2020. godine

Godina istraživanja – 2020.				
Potencijalne biljke domaćini	<i>A. sellowiana</i>	<i>A. deliciosa</i>	<i>A. elatior</i>	<i>P. tobira</i> 'nanum'
datum ispuštanja 600 odraslih stadija	10. 6. 2020.	8. 8. 2020.	17. 9. 2020.	29. 9. 2020.
datumi očitavanja i praćenja razvojnih stadija u nasadu	15. 6. 2020.	17. 8. 2020.	24. 9. 2020.	30. 9. 2020.
	20. 6. 2020.	24. 8. 2020.	30. 9. 2020.	7. 10. 2020.
	27. 6. 2020.	1. 9. 2020.	7. 10. 2020.	14.10.2020.
	6. 7. 2020.	7. 9. 2020.	14.10.2020.	21.10.2020.
	15. 7. 2020.	17. 9. 2020.	21.10.2020.	28.10.2020.
	22. 7. 2020.		28.10.2020	05.11.2020.
	29. 7. 2020.			

Tablica 3.3.3.2. Datumi postavljanja potencijalnih biljaka domaćina i praćenja razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u entomološkom kavezu u nasadu tijekom 2021. godine

Godina istraživanja – 2021.			
potencijalne biljke domaćini	<i>S. domestica</i>	<i>A. unedo</i>	<i>P. tobira</i> 'nanum'
datum ispuštanja 600 odraslih stadija	18. 6. 2021.	6. 8. 2021. 11. 9. 2021.	13. 9. 2021.
datumi očitavanja i praćenja razvojnih stadija u nasadu	28. 6. 2021.	17. 8. 2021.	20. 9. 2021.
	5. 7. 2021.	25. 8. 2021.	29. 9. 2021.
	14. 7. 2021.	2. 9. 2021.	6. 10. 2021.
	21. 7. 2021.	11. 9. 2021.	14.10.2021.
	26. 7. 2021.	20. 9. 2021.	24.10.2021.
	6. 8. 2021.	29. 9. 2021. 6. 10. 2021. 14.10.2021. 24.10.2021.	3.11.2021.

Dužina praćenja razvoja štetnika na potencijalnoj biljci domaćinu u entomološkom kavezu ovisila je o samom razvoju štetnika na njoj.

Umjetna zaraza potencijalnih biljaka domaćina u entomološkom kavezu obavljena je na sljedeći način: pomoću usnog aspiratora sakupljeno je u nasadu 600 odraslih jedinki koji su ispuštene u entomološki kavez s bočnih strana kaveza.

Listovi potencijalnih biljaka domaćina svakih su 7 – 10 dana pregledavani pomoću ručnog povećala s povećanjem do 60 x kako bi se utvrdila i zabilježila ovipozicija štetnika, ali i ostali razvojni stadiji štetnika.

Unutar entomološkog kaveza biljke su zalijevane svakih 7 – 10 dana. Prihrana sadnica potencijalnih biljaka domaćina nije primjenjivana.



Slika 3.3.3.1. Sadnica maginje *A. unedo* unutar entomološkog kaveza u nasadu u Vitaljini

Osim opisanog istraživanja potencijalnih biljaka domaćina, u sklopu Programa posebnog nadzora (PPN) koji su provodili djelatnici Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu, Zavoda za zaštitu bilja, provedeni su vizualni pregledi biljka na krajnjem jugu Dubrovačko-neretvanske županije za koje je iz podataka iz literature poznato da su biljke domaćini tog štetnika. Datumi vizualnih pregleda i lokaliteta prikazani su u Tablici 3.3.3.3.

Tablica 3.3.3.3. Datumi vizualnih pregleda i lokalitet uzorkovanja biljnih vrsta u sklopu PPN-a za razdoblje od 2018. – 2022.

Županija	Mjesto pregleda	Datum pregleda
Dubrovačko-neretvanska županija	Vitaljina	24. 10. 2018.
		21. 5. 2019.
		11. 6. 2019.
		24. 7. 2019.
		20. 5. 2020.
	Ljuta	24. 10. 2018.
		24. 7. 2019.
		25. 9. 2019.
	Molunat	20. 5. 2020.
		8. 7. 2020.
25. 9. 2019.		
Komaji – Vignje	20. 5. 2020.	
	8. 7. 2020.	
Dubrovnik	22. 4. 2021.	
Slano	20. 7. 2021.	

3.4 Istraživanja bioloških obilježja vrste *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima

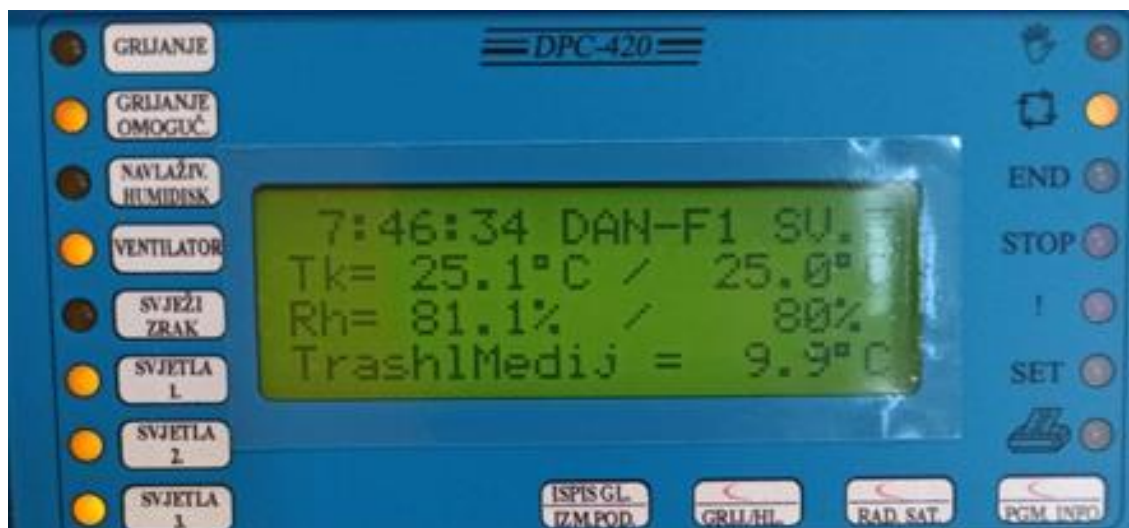
3.4.1 Istraživanja životnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima

Istraživanje životnog ciklusa štetnika u kontroliranim uvjetima provedeno je prema metodi (Argov i sur., 1999.) u klimakomorama Centra za zaštitu bilja (HAPIH) u Zagrebu. Odrasli stadiji štetnika su prikupljeni pomoću usnog aspiratora u nasadu. U klimakomorama praćenje biologije obavljeno je na istim sortama mandarina 'Owari' i 'Kawano Wase' (Citrus Unshiu Marc.) koje su bile nacijeppljene na trolisnu naranču *Poncirus trifoliata* L. Raf. Dvije sadnice mandarina bile su postavljene u entomološki kavez i zaražene s tristo jedinki odraslih oblika štetnika na 24 sata. Entomološki kavez premješten je u klimakomoru koja je bila podešena na fotoperiod L16:D8 i relativnu vlagu zraka (ϕ) 80 ± 10 %, dok su temperature bile varirane u četiri različite vrijednosti – tretmana: 20 °C, 25 °C, 30 °C i 35 °C (Slika 3.4.1.1). Prema metodi Argov i sur. (1999) relativna vlaga zraka podešena je na 60 %, međutim, u prva godini istraživanja svi preimaginalni razvojni stadiji uginuli su na svim zadanim temperaturama. Prema dostupnoj literaturi (EFSA, 2018; Murad i Ba-Angood, 2021), za razvoj preimaginalnog stadija potrebna je viša relativna vlaga zraka koja je i na kraju podešena na 80 %. Na svakoj sadnici bili su pregledavani potpuno razvijeni i mladi listovi. Pregled listova obavljen je pomoću ručnog povećala povećanja 60 x. Brojani su primjerci pojedinih razvojnih stadija te je na temelju dobivenih podataka određena prosječna duljina razvoja svakog pojedinog stadija po biljci. Varijante u pokusu bile su sljedeće:

- 1.) duljina razvoja stadija jaja, stadija ličinki, stadija „kukuljice“ i odraslih stadija –L16:D8; relativna vlažnost 80 ± 10 % i 20 °C
- 2.) duljina razvoja stadija jaja, stadija ličinki, stadija „kukuljice“ i odraslih stadija –L16:D8; relativna vlažnost 80 ± 10 % i 25 °C
- 3.) duljina razvoja stadija jaja, stadija ličinki, stadija „kukuljice“ i odraslih stadija –L16:D8; relativna vlažnost 80 ± 10 % i 30 °C
- 4.) duljina razvoja stadija jaja, stadija ličinki, stadija „kukuljice“ i odraslih stadija –L16:D8; relativna vlažnost 80 ± 10 % i 35 °C
- 5.) duljina razvoja stadija jaja, ličinki, stadija „kukuljice“ i odraslih stadija u prirodnim uvjetima.

Istraživanje životnog ciklusa u kontroliranim uvjetima provedeno je od kraja svibnja do sredine studenog u 2021. godini. U Tablici 3.4.1.1. prikazani su datumi očitavanja i praćenja

razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u *walk-in* komorama za svaku istraživanu temperaturu. Od 24. svibnja 2021. do 11. kolovoza 2021. istraživani su životni ciklus vrste *A. spiniferus* na 20 °C i 25 °C, a od 7. rujna 2021. do 18. studenog 2021. na temperaturama od 30 °C i 35 °C.



Slika 3.4.1.1. Zadani parametri klima komore u Centru za zaštitu bilja (HAPIH)

Tablica 3.4.1.1. Datumi očitavanja i praćenja razvojnog ciklusa vrste *A. spiniferus* na različitim temperaturama uz konstantnu relativnu vlagu zraka u *walk-in* komorama (Centru za zaštitu bilja (HAPIH))

Godina istraživanja 2021.					
četiri temperaturna pokusa	20°C	25°C	30°C	35°C	
datum ispuštanja 300 odraslih stadija	24. 5. 2021.	24. 5. 2021.	7. 9. 2021.	7. 9. 2021.	
datumi očitavanja i praćenja razvojnih stadija u centru za zaštitu bilja (HAPIH)		25. 5. 2021.	8. 9. 2021.	8. 9. 2021.	
		28. 5. 2021.	28. 5. 2021.	14. 9. 2021.	14. 9. 2021.
		31. 5. 2021.	31. 5. 2021.	17. 9. 2021.	17. 9. 2021.
		4. 6. 2021.	4. 6. 2021.	21. 9. 2021.	21. 9. 2021.
		8. 6. 2021.	8. 6. 2021.	24. 9. 2021.	24. 9. 2021.
		11. 6. 2021.	11. 6. 2021.	28. 9. 2021.	28. 9. 2021.
		14. 6. 2021.	14. 6. 2021.	1. 10. 2021.	1. 10. 2021.
		18. 6. 2021.	18. 6. 2021.	5. 10. 2021.	5. 10. 2021.
		21. 6. 2021.	21. 6. 2021.	8. 10. 2021.	8. 10. 2021.
		24. 6. 2021.	24. 6. 2021.	12.10.2021.	12.10.2021.
		28. 6. 2021.	28. 6. 2021.	15.10.2021.	15.10.2021.
		1. 7. 2021.	1. 7. 2021.	19.10.2021.	19.10.2021.
		5. 7. 2021.	5. 7. 2021.		22.10.2021.
		8. 7. 2021.	8. 7. 2021.		26.10.2021.
		12. 7. 2021.	12. 7. 2021.		29.10.2021.
		15. 7. 2021.	15. 7. 2021.		31.10.2021.
	19. 7. 2021.	19. 7. 2021.		3. 11.2021.	
	22. 7. 2021.	22. 7. 2021.			

26. 7. 2021.
3. 8. 2021.
6. 8. 2021.
11. 8. 2021.

Za svaku je varijantu u pokusu postavljen jedan entomološki kavez u koji su stavljene po dvije sadnice mandarina sorte 'Owari' i dvije sadnice 'Kawano Wase' (Slika 3.4.1.2. lijevo). Sadnice su umjetno zaražene s 300 odraslih stadija štetnika koji su skupljeni u pokusnom nasadu mandarina u Vitaljini. Umjetna zaraza mandarina sa štetnikom obavljena je u entomološkim kavezima koji su bili unijeti u klima komore.

24 sata od umjetne zaraze odrasli stadiji bili su usisani pomoću usnog aspiratora u entomološkom kavezu unutar klima komora. Svi listovi sadnica pregledani su pomoću ručnog povećala povećanja 60 x. Listovi na kojima je došlo do odlaganja jaja označeni su ljepljivim papirom i označeni brojem (Slika 3.4.1.2. desno). Odložena jaja po listu bila su prebrojana.

U naredno vrijeme, svaka tri dana pratio se biološki razvoj vrste i brojanje jedinki pojedinih stadija po listovima (Tablica 3.4.1.1). Završetak praćenja obilježen je pojavom odraslog stadija na zadanim temperaturama (Slika 3.4.1.2, Slika 3.4.1.3)

Sadnice su se navodnjavale dva puta tjedno i prihranjivale svaka dva tjedna s Fe – EDDHA helatni oblik (Ultraferro) i mješavinom mikrognojiva s dodatkom huminskih kiselina (Trazex-Cosmocel).



Slika 3.4.1.2. Sadnice mandarina u kavezu u *walk-in* komorama (lijevo) i označeni listovi na kojima su zabilježena i označena jaja štetnika (desno)



Slika 3.4.1.3. Izlazak i pojava odraslih stadija iz „kukuljice“ u *walk-in* komorama na temperaturi od 20 °C i vlagi 80 % (lijevo) i izlazak i pojava odraslih stadija iz „kukuljice“ u *walk-in* komorama na temperaturi od 30°C i vlagi 80 % (desno)



Slika 3.4.1.4. Zabilježen izlazak odraslog stadija iz „kukuljice“ u *walk-in* komorama na temperaturi od 25 °C i vlagi 80 %

3.4.2 Određivanje indeksa ovipozicije

Indeks ovipozicije odraslog razvojnog stadija ženke *A. spiniferus* određen je prema modificiranim metodologijama Simmons i sur. (2008) te Mansaray i Sundufu (2009). Indeks ovipozicije proveden je za sve četiri različite temperature (20 °C, 25 °C, 30 °C i 35 °C), pri L16:D8 i rH 80 ± 10 %. Za istraživanje indeksa ovipozicije korišten je entomološki kavez veličine 40 x 40 cm, prekriven antiinsekt mrežom, u kojem su bile postavljene četiri bočice zapremnine 1dcl ispunjene vodom. U svaku od tih bočica bile su uronjene po dvije vršne mladice, obje sorte mandarina 'Owari' i 'Kawano Wase' (Citrus Unshiu Marc.) korištene kao i u prirodnim uvjetima. Ukupno je bilo 16 mladica u entomološkom kavezu. Entomološki kavez bio je postavljen u *walk-in* klimakomori, a 13. 9. 2021. izvršena je umjetna zaraza s odraslim stadijima *A. spiniferus*. Nakon 24 sata od umjetne zaraze, točnije na datum 14. 9. 2021., odrasli stadiji *A. spiniferus* usisani su pomoću usnog aspiratora i usmrćeni u Falcon epruvetma s 96 % -nim etanolom. Budući da se broj razvijenih ženki *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima dobivenih tijekom istraživanja životnog ciklusa nije pokazao dostatan, bilo je potrebno prikupiti 1200 odraslih stadija ženki *A. spiniferus* iz prirode. Ova mjera bila je neophodna s obzirom na karantenski status štetnika kako bi se osigurala dovoljna populacija za provedbu daljnjih eksperimenata. U svaki zasebni entomološki kavez unutar *walk-in* komore i na svakoj različitoj vrijednosti temperature pušteno je 300 odraslih razvojnih stadija ženke *A. spiniferus* (13. 9. 2021). Sljedeći dan (14. 9. 2021.) odrasli razvojni stadiji usisani su usnim aspiratorom, a entomološki kavezi preneseni su u prostor laboratorija Centra za zaštitu bilja (HAPIH) iz kojeg su uzete vršne mladice s listovima. Pregled listova obavljen je pomoću binokulara Olympus SZX7 (Slika 3.4.2.1. lijevo) na isti dan kada su odrasli stadiji i usisani usnim aspiratorom (14. 9. 2021.). Na sve četiri istraživane konstantne temperature ukupno je skupljeno 300 jedinki po temperaturi, koliko ih je i ispušteno. Pregledani su svi listovi i zabilježen je ukupni broj jaja po listovima (Slika 3.4.2.1. desno). Indeks ovipozicije izračunat je tako da je broj jaja podijeljen s brojem ženki, odnosno dobiven je prosječni broj jaja koje je ženka odložila tijekom 24 sata na određenoj temperaturi.



Slika 3.4.2.1. Binokular Olympus SZX7 pomoću kojeg je obavljan pregled listova i vršnih dijelova mladica sorte 'Owari' *Citrus Unshiu* na temperaturi od 25 °C

3.4.3 Određivanje seksualnog indeksa

Istraživanje seksualnog indeksa štetnika provedeno je određivanjem spola usmrćenih primjeraka identifikacijom odraslih stadija vrste *A. spiniferus* koji su korišteni u istraživanju indeksa ovipozicije (opisano u Potpoglavlju 3.4.2). Nakon određenog indeksa ovipozicije prikupljeni odrasli stadiji (14. 9. 2021.) analizirani su u laboratoriju Centra za zaštitu bilja (HAPIH) i odvajani prema spolu (Slika 3.4.2.2.). Određivanje spola odraslih stadija vrste *A. spiniferus* obavljalo se prema morfološkim značajkama zatka. Mužjaci *A. spiniferus*, kao i ostale vrste štitastih moljaca, na vrhu zatka imaju organ za kopulaciju, a ženke leglicu.

Seksualni indeks prikazuje udio ženki u ukupnoj populaciji, a izračunat je prema formuli (Oštrec i Gotlin Čuljak, 2005):

seksualni indeks = broj mužjaka/(broj mužjaka + broj ženki)



Slika 3.4.3.1. Petrijeva posuda s 97%-nim etanolom i odvojenim ženkama

3.5 Identifikacija vrste *A. spiniferus* PCR metodom i određivanje haplotipova

Iako se prema službenim protokolima (EPPO, 2002) potvrda vrste temelji isključivo na morfološkoj identifikaciji, mogu se koristiti i različite molekularne metode identifikacije. Tako je identifikacija štetnika, osim prema identifikacijskim ključevima i morfološkim obilježjima, provedena i metodom lančane reakcije polimerazom – PCR (*Polymerase Chain Reaction*) na temelju analize mitohondrijske DNA citokrom C oksidaze podjedinice I.

S lokacije u Vitaljini, Moluntu i s dvije lokacije u Ljutoj na području Dubrovačko-neretvanske županije te s lokacije Ivan Dolac u Splitsko-dalmatinskoj županiji na kojima je utvrđena prisutnost *A. spiniferus* sakupljeno je devet uzoraka tijekom 2019. godine i jedan uzorak tijekom 2020. godine za molekularnu analizu. Odrasli stadiji ili ličinke sakupljeni su u Eppendorf epruvete od 2 ml napunjene s 96 %-tnim alkoholom. Na svakoj epruveti napisana je oznaka uzorka i zabilježeni su podaci o mjestu uzorkovanja, biljnoj vrsti s koje je uzorak uzet, datum uzorkovanja i GPS koordinata (Tablica 3.5.1.). Uzorci su do analize čuvani na temperaturi od -20 °C.

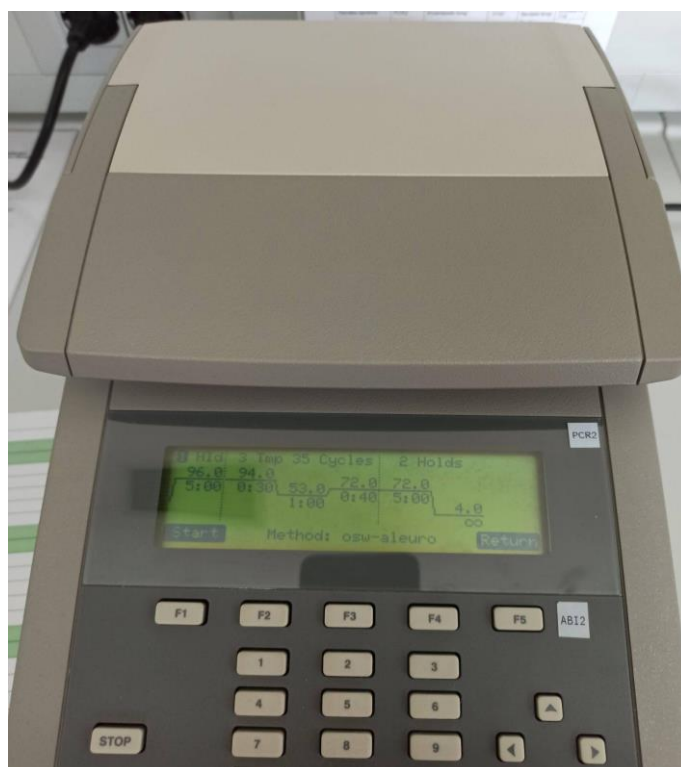
Izolacija DNA provedena je korištenjem kompleta za izolaciju DNeasy Blood & Tissue (Qiagen® GmbH, Hilden, Njemačka) prema uputama proizvođača. Do analize izolirana DNA pohranjena je na temperaturi od -20 °C.

Tablica 3.5.1. Uzorci razvojnih stadija *Aleurocanthus spiniferus* skupljeni na različitim biljnim vrstama na području Dubrovačko-neretvanske i Splitsko-dalmatinske županije tijekom 2019. i 2020. godine za provedbu molekularne analize

OZNAKA UZORKA	RAZVOJNI STADIJ	LOKACIJA	GPS OZNAKA	DATUM UZORKOVANJA	BILJNA VRSTA
1	odrasli stadij	Vitaljina 3	N 42°26'8.23" E 18°28'57.50"	24. 7. 2019.	<i>Citrus reticulata</i> Blanco
2	odrasli stadij	Ivan Dolac, Hvar	N 43°7'38.2" E 16°38'29.5"	12. 9. 2019.	<i>Bougainvillea</i> <i>spectabilis</i> Willd.
3	odrasli stadij	Molunat	N 42°27'2.9" E 18°26'6.61"	25. 9. 2019.	<i>Citrus aurantium</i> L.
4	odrasli stadij	Ljuta 2	N 42°32'14.9" E 18°22'56.0"	25. 9. 2019.	<i>Citrus aurantium</i> L.
5	odrasli stadij	Ivan Dolac, Hvar	N 43°7'38.2" E 16°38'29.5"	12. 9. 2019.	<i>Parthenocissus</i> <i>quinquefolia</i> (L.) Planch.
6	ličinka L4	Ljuta 1	N 42°32'16.9" E 18°22'41.5"	25. 9. 2019.	<i>Citrus reticulata</i> L.
7	ličinka L4	Ivan Dolac, Hvar	N 43°7'38.2" E 16°38'29.5"	12. 9. 2019.	<i>Citrus limon</i> (L.) Burm. F.
8	ličinka L4	Vitaljina 3	N 42°26'8.23" E 18°28'57.50"	24. 7. 2019.	<i>Citrus reticulata</i> Blanco
9	ličinka L4	Molunat	N 42°27'2.9" E 18°26'6.61"	25. 9. 2019.	<i>Citrus aurantium</i> L.
L.10	odrasli stadij	Vitaljina 3	N 42°26'8.23" E 18°28'57.50"	20. 5. 2020.	<i>Citrus reticulata</i> Blanco

3.5.1 Lančana reakcija polimerazom (PCR)

Regija mitohondrijske DNA (mtDNA) citokrom c oksidaza podjedinice I (COI) umnožena je metodom lančane reakcije polimerazom (PCR) prema metodi koji opisuje Uesugi i sur. (2016). Korišteni su parovi početnica OSW-F (5' GTG TCC CAT TTA ATT AGT AGA GA 3') i OSW-R (5' GAG CCA TAA TAA AAG ACT CCA TC 3') (Uesugi i Sato, 2011). Reakcija je provedena korištenjem uređaja ABI 2720, (Applied Biosystems, SAD) (Slika 3.5.1.1). Sastojci i koncentracije reakcijske smjese potrebne za jedan uzorak prikazani su u Tablici 3.5.1.1., a temperaturni ciklusi za PCR reakciju u Tablici 3.5.1.2.



Slika 3.5.1.1. Thermal cycler 2720 ABI – proces umnažanja PCR-om

Tablica 3.5.1.1. PCR reakcijska smjesa po jednom izolatu

SASTOJAK	VOLUMEN (µL)	FINALNA KONCENTRACIJA
EmeraldAmp® MAX PCR Master Mix (Takara) 2 x	12.5	1 X
OSW-R (10 µM)	1	0,4 µM
OSW-F (10 µM)	1	0,4 µM
H ₂ O (UPW)	7,5	np*
izolirana DNA	3	np*
UKUPNO	25	

*np – nije primjenjivo

Tablica 3.5.1.2. Temperaturni ciklusi za PCR reakciju

FAZA	BROJ CIKLUSA	TEMPERATURA	TRAJANJE
početno razdvajanje	1	96 °C	5 minuta
razdvajanje		94 °C	30 sekundi
polijeganje	35	53 °C	1 minuta
produljenje		72 °C	40 sekundi
završno produljenje	1	72 °C	5 minuta
hlađenje		4 °C	∞

Prvi korak u PCR reakciji je početno razdvajanje komplementarnih lanaca DNA na temperaturi od 96 °C. Slijedi 35 ciklusa uzastopnog razdvajanja, sparivanja početnica s kalupom na temperaturi od 53 °C te produljivanje DNA lanaca na 72 °C, što rezultira velikim brojem kopija željenog produkta zbog eksponencijalne prirode reakcije. Nakon završnog koraka produljivanja lanca uređaj hladi uzorke na temperaturi od 8 °C dok se uzorci ne izvade iz PCR uređaja.

3.5.2 Elektroforeza

Produkti PCR reakcije vizualiziraju se postupkom elektroforeze u gelu agaroze. Za pripremu gela i kao pufer za elektroforezu korišten je 1 x TAE pufer pripremljen razrjeđivanjem 10 x TAE koncentriranog pufera u destiliranoj vodi (UltraPure™, Thermo Fisher Scientific, SAD; sastav 40 mM Tris-acetate i 1 mM EDTA). Gel je pripremljen otapanjem 1g agaroze za elektroforezu u 100 ml 1 x TAE pufera (1 %). U rashlađeni gel dodane su dvije kapi boje GelRed™ (Olerup SSP®, Švedska) te je on izliven u pripremljeni kalup s češljicom. Polimerizirani gel smješten je u kadicu za elektroforezu (Mini-Sub Cell GT, Bio-Rad, SAD) i prekriven puferom za elektroforezu. U jažice gela nanošeno je po 5 µL smjese. Kao standard za određivanje duljine dobivenog produkta korištena je DNA ljestvica od 200 bp koja sadrži 13 fragmenata redom duljine 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400,

1600, 1800, 2000, 2500, 3000 i 4000 bp (Takara, 200 bp DNA Ladder). Nakon elektroforeze pri stalnom naponu od 100 V i trajanju od 45 minuta gel je pregledan i fotografiran korištenjem UV transiluminatora s kamerom UVIdoc HD2 (UVIttec, UK).

3.5.3 Sekvenciranje i analiza sekvenci

Umnoženi dijelovi mtCOI veličine 670 bp, pročišćeni su kitom za purifikaciju GenElute® PCR Clean-up Kit (Sigma-Aldrich, USA) prema uputama proizvođača. Svaki uzorak direktno je sekvenciran u oba smjera (nizvodno i uzvodno) kako bi se dobila 2 x pokrivenost sekvence korištenjem istih početnica kao i za PCR reakciju. Za sekvenciranje je korištena usluga EZ-seq komercijalnog servisa i Macrogen Europe® (Amsterdam, Nizozemska). Dobivene sekvence sastavljene su, provjerene, uređene i konačno uspoređene sa sekvencama iz *online* baze podataka Genbank.

(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome) korištenjem računalnog programa Geneious prime 2023.1.1 (<http://www.geneious.com>).

3.5.4 Određivanje haplotipova *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj

Dobivene uređene sekvence svih uzoraka, zajedno s referentnim sekvencama iz baze podataka GenBank, višestruko su sravnjene korištenjem računalnog programa ClustalX 2.0, čime je omogućeno pronalaženje polimorfizma među sekvencama (Thompson i sur., 1997.; Larkin i sur., 2007.; <http://www.clustal.org>). Za grafički prikaz višestrukog poravnanja uzoraka i referentnih sekvenci korišten je računalni program BioEdit (Hall, 1999).

U filogenetsku analizu i prikaz evolucijskih odnosa, kao vanjska grupa, uključena je i sekvenca vrste *Bemisia tabaci* koja pripada istoj porodici Aleyrodidae (Tablica 3.6.4.1.) uz korištenje metode *neighbour-joining* i modela *number of differences* (Saitou i sur., 1987). Nakon višestrukog poravnavanja i uređivanja sekvenci utvrđeni su haplotipovi za sve analizirane uzorke. Haplotip predstavlja skupinu sekvenci s identičnim nukleotidnim slijedom. Svaki haplotip karakterizira jedinstveni nukleotidni slijed te između sekvenci unutar istog haplotipa ne postoji nikakva genetska udaljenost.

Tablica 3.6.4.1. Referentne sekvence iz banke gena korištene za filogenetske analize

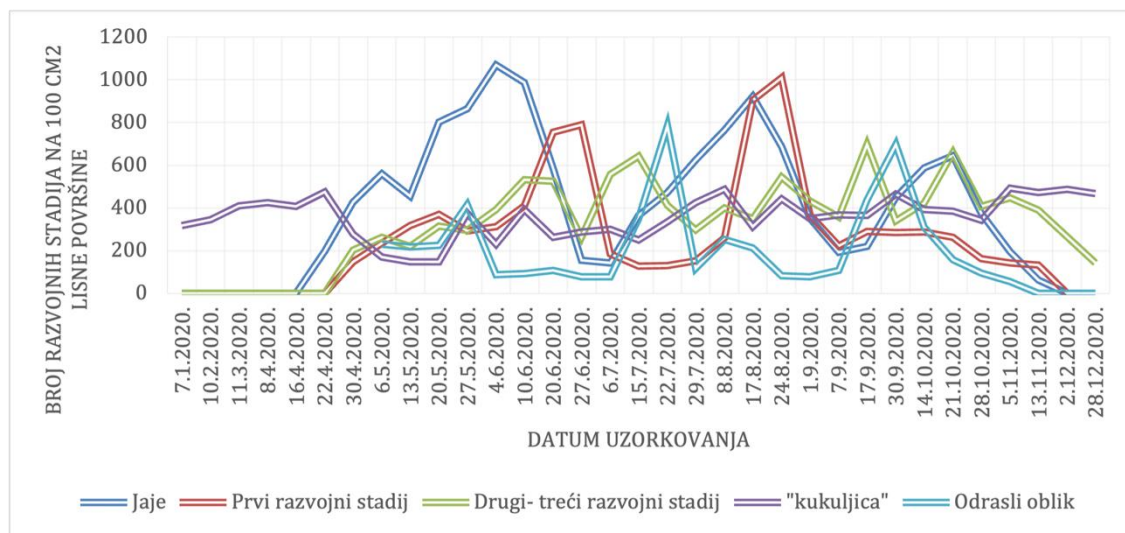
Pristupni broj (accession number)	Vrsta	Haplotip
MN662916		H1
MN662913		
MN662911		H2
MN662906		
ON955791		

4 REZULTATI ISTRAŽIVANJA

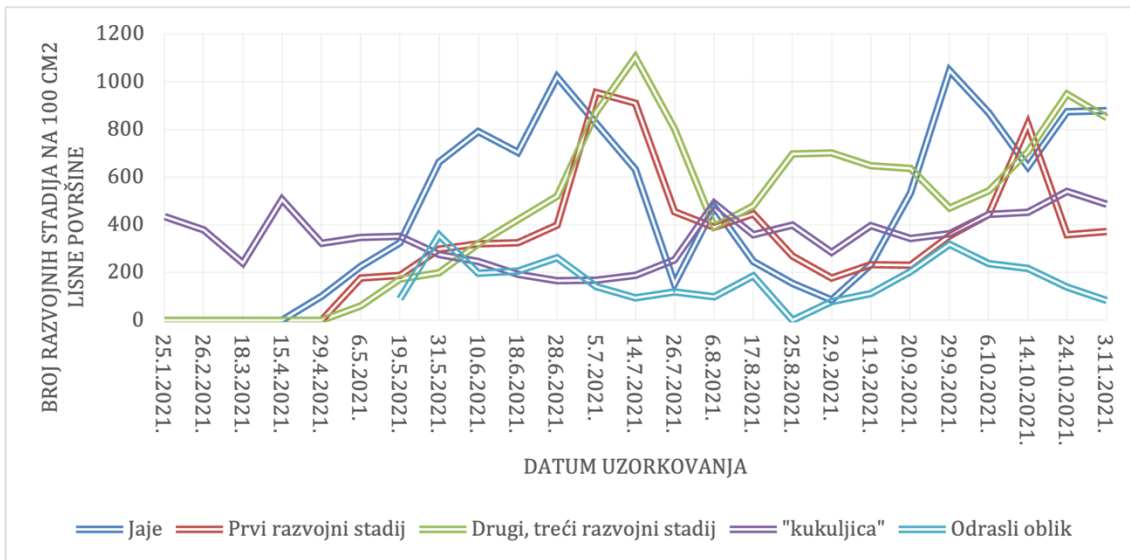
4.1 Rezultati istraživanja bioloških obilježja vrste *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima

4.1.1 Rezultati istraživanja životnog ciklusa *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima

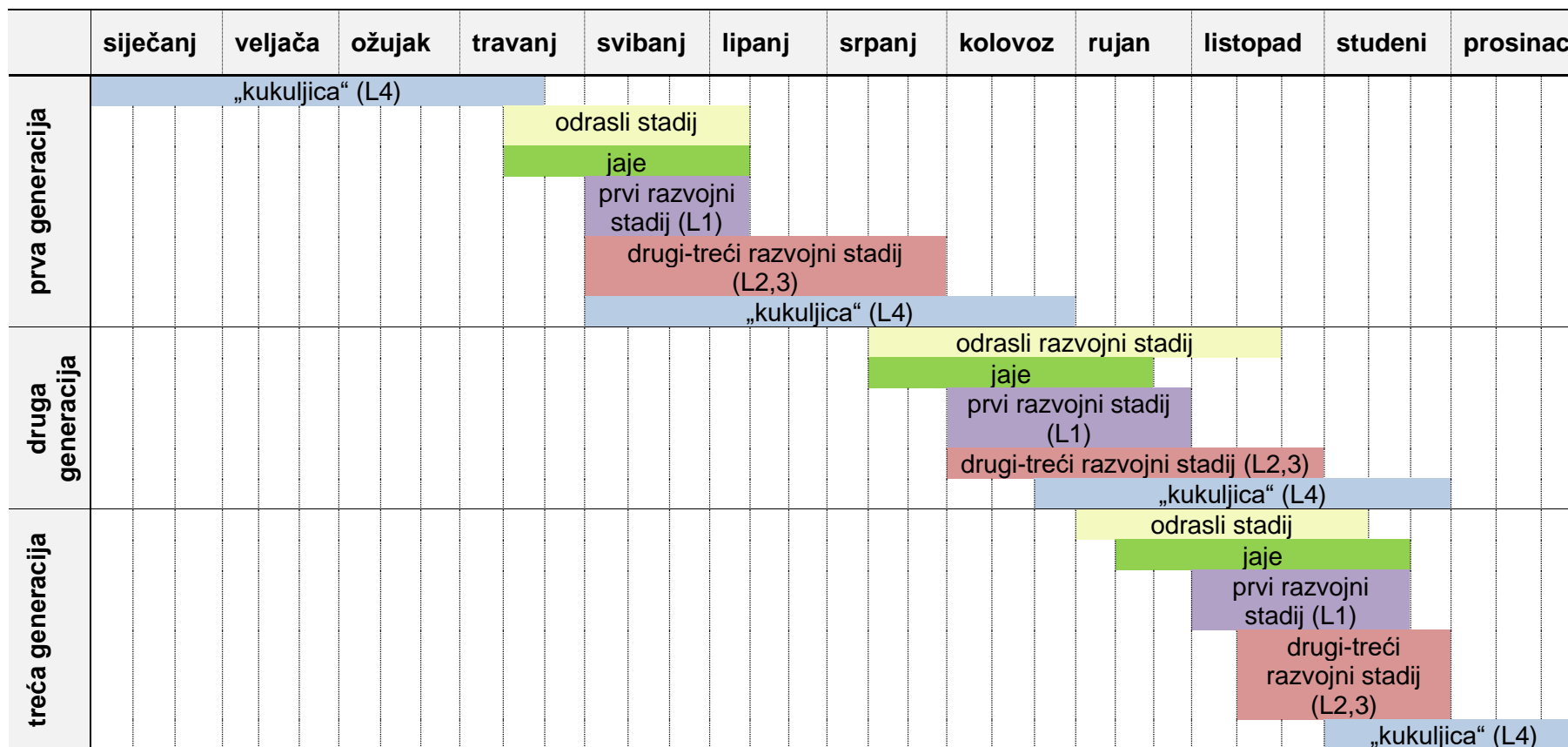
Dinamika populacije uzorkovanjem listova mandarine i njihovim vizualnim pregledom (broj generacija, gustoća populacije svih razvojnih stadija štetnika, vrijeme pojave) vrste *A. spiniferus* za 2020. godinu prikazana je Grafikonom 4.1.1.1., a za 2021. godinu Grafikonom 4.1.1.2. Na temelju dobivenih rezultata izrađeni su fenogrami razvoja štetnika za 2020. i 2021. godinu (Grafikoni 4.1.1.3. i 4.1.1.4.).



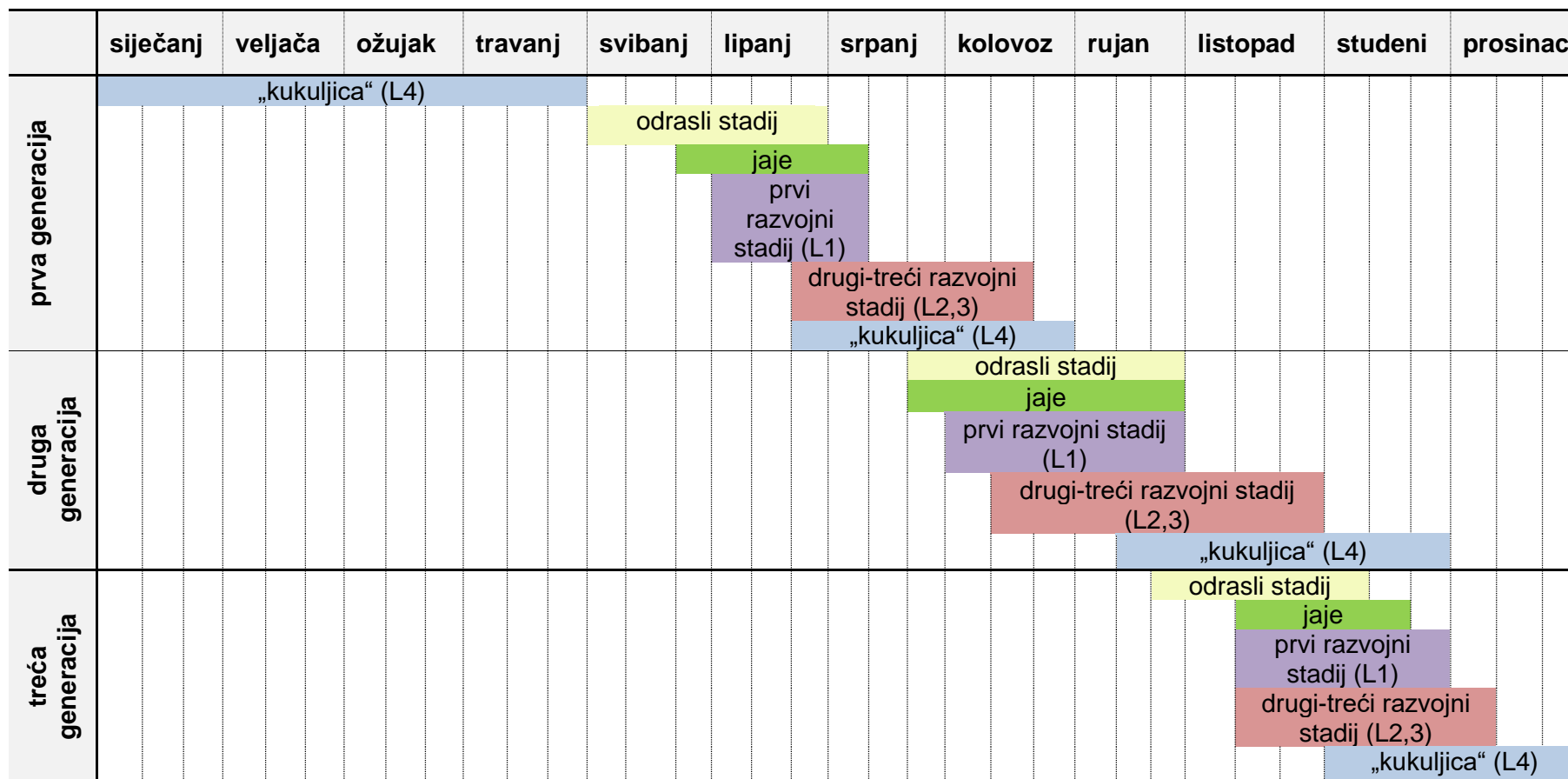
Grafikon 4.1.1.1. Životni ciklus vrste *A. spiniferus* (gustoća populacije svih razvojnih stadija, broj generacija i vrijeme pojave) u 2020. godini u prirodnim uvjetima



Grafikon 4.1.1.2. Životni ciklus vrste *A. spiniferus* (gustoća populacije svih razvojnih stadija, broj generacija i vrijeme pojave) u 2021. godini u prirodnim uvjetima

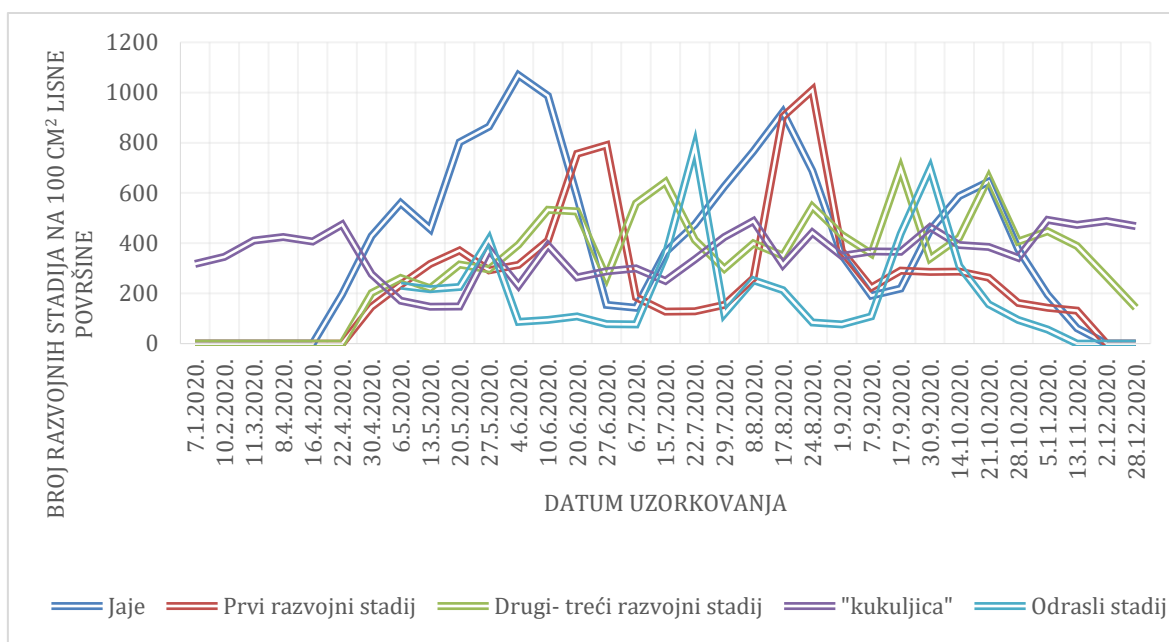


Grafikon 4.1.1.3. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* dobiven praćenjem pojave i razvoja pojedinih razvojnih stadija u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina u 2020. godini

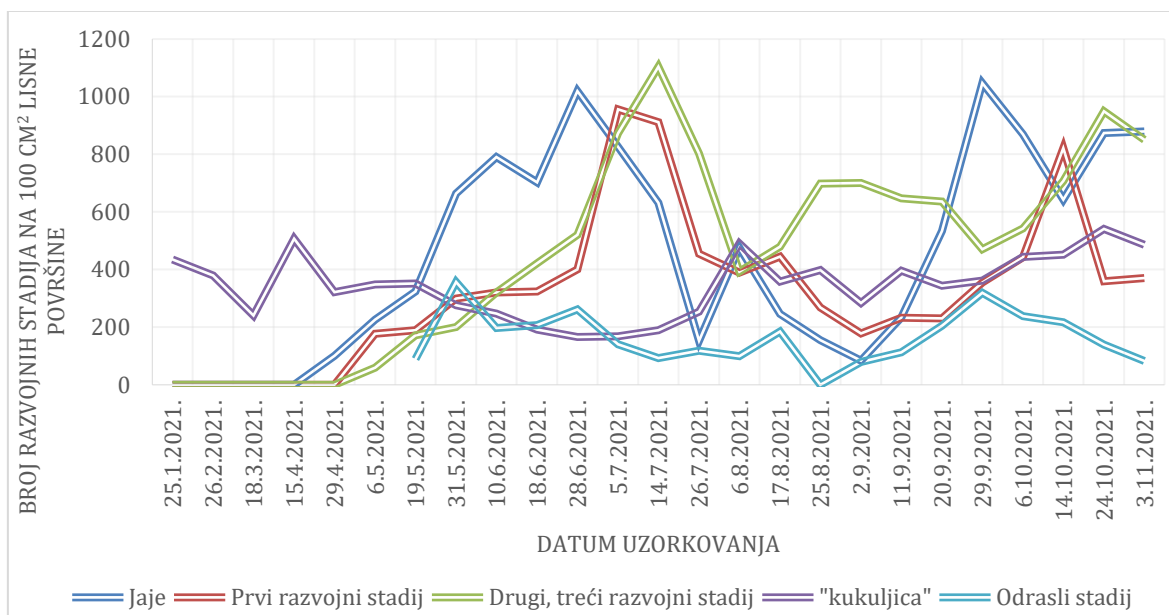


Grafikon 4.1.1.4. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* dobiven praćenjem pojave i razvoja pojedinih razvojnih stadija u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina u 2021. godini

Dinamika populacije svih razvojnih stadija *A. spiniferus* na 100 cm² lisne površine mandarine prikazana je grafikonima 4.1.1.5. (2020. godina) i 4.1.1.6. (2021. godina) i služit će kao podloga u provedbi daljnjih znanstvenih istraživanja.



Grafikon 4.1.1.5. Dinamika populacije svih razvojnih stadija i vrijeme pojave u 2020. godini u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina



Grafikon 4.1.1.6. Dinamika populacije svih razvojnih stadija i vrijeme pojave u 2021. godini u prirodnim uvjetima na lokaciji Vitaljina

Odrasli stadiji **prve generacije** vrste *A. spiniferus* u 2020. godini zabilježeni su krajem travnja (22. 4. 2020.) na mladim, nepotpuno razvijenim listovima proljetnog porasta i na žutim ljepljivim pločama. Broj odraslih razvojnih stadija u nasadu povećavao se s povećanjem temperature, a tijekom prve godine istraživanja prisutnost odraslih razvojnih stadija bila je zabilježena tijekom cijele godine, s manjim prekidom početkom srpnja. Zabilježena je istovremena pojava odraslih stadija i ovipozicije na listovima, što može sugerirati da pojava prvih odraslih stadija nije zabilježena na vrijeme. Tijekom razvoja jaja su mijenjala boju od žute do potpuno smeđe boje. Na Grafikonu 4.1.1.5. vidljiv je najveći broj odloženih jaja na dan 4. 6. 2020. godine. Nakon što je prošao embrionalni razvoj u trajanju 8 – 17 dana kod prve generacije, uslijedio je izlazak prvog razvojnog stadija (L1). Pomoću ručne lupe uočeni su prvi razvojni stadiji ličinke (30. 4. 2020.). Mlade ličinke aktivno su se kretale po listu dok nisu našle odgovarajuće mjesto za hranjenje. Razvoj ličinke prvog razvojnog stadija prve generacije (L1) trajao je 7 – 18 dana. Drugi i treći razvojni stadij vrste *A. spiniferus* (L2, L3) zabilježeni su 6. 5. 2020. Razvoj navedenih stadija ličinki trajao je 21 – 35 dana, nakon čega je zabilježen i zadnji četvrti razvojni stadij „kukuljica“ (L4) (27. 5. 2020.). Razvoj „kukuljice“ trajao je 23 – 29 dana. U 2020. godini razvoj prve generacije vrste *A. spiniferus* trajao je 58 – 99 dana (Grafikon 4.1.1.3.). Životni vijek odraslog razvojnog stadija u prirodnim uvjetima nije utvrđen zato što se individualni odrasli stadij štitastog moljca ne može pratiti sa sigurnošću.

Početkom srpnja (6. 7. 2020.) let odraslih razvojnih stadija štetnika **druge generacije** zabilježen je na žutim ljepljivim pločama. Krajem srpnja (22. 7. 2020.), što se podudaralo s pojavom mladog ljetnog vegetacijskog porasta, zabilježen je najveći broj odraslih stadija od 785 odraslih stadija na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.5.). Istog datuma (22. 7. 2020.) zabilježena su i jaja druge generacije. Odlaganje jaja na plodovima nije zamijećeno. Nakon embrionalnog razvoja 7 – 11 dana uslijedila je pojava prvog razvojnog stadija ličinke (L1) (29. 7. 2020., Grafikon 4.1.1.1.). Razvoj prvog stadija ličinke trajao je od 10 do 16 dana (Grafikon 4.1.1.3.). Populacijski maksimumi bili su zabilježeni deset dana nakon pojave jaja. Zabilježena su dva maksimuma, prvi je bio 17. 8. 2020. (904), a drugi 24. 8. 2020. (1010) (Grafikon 4.1.1.5.). Ličinke drugog i trećeg razvojnog stadija (L2, L3) zabilježene su 8. 8. 2020. Razvoj drugog i trećeg razvojnog stadija ličinke u prirodnim uvjetima trajao je 15 – 26 dana (Grafikon 4.1.1.3.). U vremenu praćenja razvoja ličinki drugog i trećeg stadija zabilježen je drugi maksimum polaganja jaja dana 17. 8. 2020. (Grafikon 4.1.1.1.). Na dan 24. 8. 2020. zabilježene su „kukuljice“ štitastog moljca. Tijekom kolovoza i rujna na pojedinim listovima nalazile su se „kukuljice“ prve generacije, odnosno ličinke čiji se razvoj odvijao iz kasnije položenih jaja. Razvoj „kukuljica“ druge generacije trajao je od 16 do 25 dana. Duljina razvoja pojedinih razvojnih stadija bila je kraća u odnosu na prvu proljetnu

generaciju. Ukupni razvoj druge ljetne generacije, od jaja do odraslog stadija, trajao je oko 43 – 78 dana (Grafikon 4.1.1.3.). Tijekom trajanja druge generacije zabilježen je prvi populacijski maksimum ličinki drugog i trećeg razvojnog stadija (L2, L3) prve generacije polovicom srpnja (15. 7. 2020.) kada su zabilježene 844 jedinke na 100 cm² dok je drugi populacijski maksimum zabilježen 17. 9. 2020. i iznosio je 1197 jedinki (Grafikon 4.1.1.5.).

U rujnu dolazi do pojave **treće generacije**, što se podudara s trećim jesenskim porastom mladica agruma. Odrasli stadiji bili su prisutni u nasadu tijekom cijelog kolovoza i početkom rujna. Na mladim jesenskim porastima, 17. 9. 2020., zabilježeno je 973 odraslih jedinki. Na isti datum zabilježena su i jaja *A. spiniferus*. Na datum 30. 9. 2020. zabilježena je najveća gustoća populacije od 698 odraslih jedinki na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.5.). Jaja treće generacije bila su prisutna na naličju listova od sredine rujna do kraja listopada. Prvi razvojni stadij ličinke zabilježen je krajem rujna (30. 9. 2020.), dok su drugi i treći razvojni stadij zabilježeni sredinom listopada (14. 10. 2020.). Embrionalni razvoj treće generacije trajao je 10 – 13 dana, razvoj ličinki prvog stadija 14 – 17 dana, a razvoj drugog i trećeg stadija 15 – 41 dan. Sredinom rujna zabilježen je treći populacijski maksimum ličinki drugog i trećeg razvojnog stadija druge generacije, a iznosio je 1197 jedinki na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.5.). Duljina razvoja „kukuljice“ nije utvrđena jer su ličinke tog stadija ostale na listovima do proljeća sljedeće godine. Ličinke ove generacije sporije su se razvijale nego kod druge generacije, a cjelokupni razvoj ličinki trajao je sve do sredine studenog (13. 11. 2020.). Maksimumi pojave „kukuljice“ nisu bili jasno naznačeni zbog preklapanja generacija, što je vidljivo na Grafikonu 4.1.1.1. Od konca rujna krivulja nije padala jer je *A. spiniferus* prezimio u obliku „kukuljice“. Ostali preimaginalni stadiji koji nisu uspjeli završiti razvoj pri padu temperature uginuli su. Jaja su ostala pričvršćena na listu, ali su izgledala osušena i zavijena, dok su ličinke prvog, drugog i trećeg razvojnog stadija bile položene na listu u obliku niti, a pod stereomikroskopom utvrđena je odvojenost tijela od lista.

Krajem ožujka 2021. (26. 3. 2021.) postavljene su žute ljepljive ploče za signalizaciju prve pojave odraslih stadija. Na datum 15. 4. 2021. zabilježeno je svega 20 odraslih stadija na starim listovima. Pri sljedećem uzorkovanju, dana 29. 4. 2021., na žutim ljepljivim pločama zabilježeno je 810 jedinki odraslih stadija, ali mladi porast listova mandarina nije zabilježen. Mladi, nepotpuno razvijeni listovi proljetnog porasta zabilježeni su polovicom svibnja (19. 5. 2021.), kada su na njima utvrđena i jaja **prve generacije** tijekom 2021. godine (Grafikon 4.1.1.2). Krajem svibnja (31. 5. 2021.) uočeni su prvi razvojni stadiji ličinke (L1) na mladim i nešto starijim listovima mandarine, a početkom lipnja (10. 6. 2021.) zabilježene su ličinke drugog i trećeg razvojnog stadija (L2, L3). „Kukuljice“ su zabilježene krajem lipnja (28. 6. 2021.). Embrionalni razvoj prve generacije u drugoj godini istraživanja trajao je 12 – 16 dana, prvi razvojni stadij trajao je 10 – 12 dana, a razvoj drugog i trećeg stadija 18 – 30 dana. Na

datum 14. 7. 2021. dobiven je prvi populacijski maksimum od 1104 jedinke drugog i trećeg razvojnog stadija (L2, L3) na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.6.). Razvoj „kukuljica“ trajao je 16 – 20 dana. Razvoj kompletne prve generacije *A. spiniferus* od jaja do odraslog stadija u 2021. godini trajao je od 56 do 78 dana (Grafikon 4.1.1.2.). Tijekom prve generacije zabilježen je i prvi vrhunac leta odraslih stadija (28. 6. 2021), kada su zabilježene 262 jedinke na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.6.).

Odrasli razvojni stadiji **druge generacije** zabilježeni su krajem srpnja (26. 7. 2021.), kad i jaja na mladom ljetnom porastu. Nakon 11 – 15 dana, početkom kolovoza (6. 8. 2021.), uslijedila je pojava prvog razvojnog stadija (L1). Razvoj prvog razvojnog stadija trajao je 11 – 20 dana, a polovicom kolovoza (17. 8. 2021.) zabilježeni su 2. i 3. razvojni stadiji ličinke (L2 – L3). Nakon 25 – 33 dana, početkom rujna (11. 9. 2021.), zabilježena je pojava kukuljica čiji je razvoj trajao 9 – 15 dana. Ukupni razvoj druge ljetne generacije od jaja do odraslog stadija trajao je oko 56 – 83 dana (Grafikon 4.1.1.2.) Tijekom pojave svih razvojnih stadija druge generacije zabilježene su istovremeno ličinke i trećeg razvojnog stadija i kukuljice prve generacije. Pad gustoće populacije odraslih stadija privremeno se dogodio krajem kolovoza (25. 8.), kada u nasadu nije bilo mladog porasta.

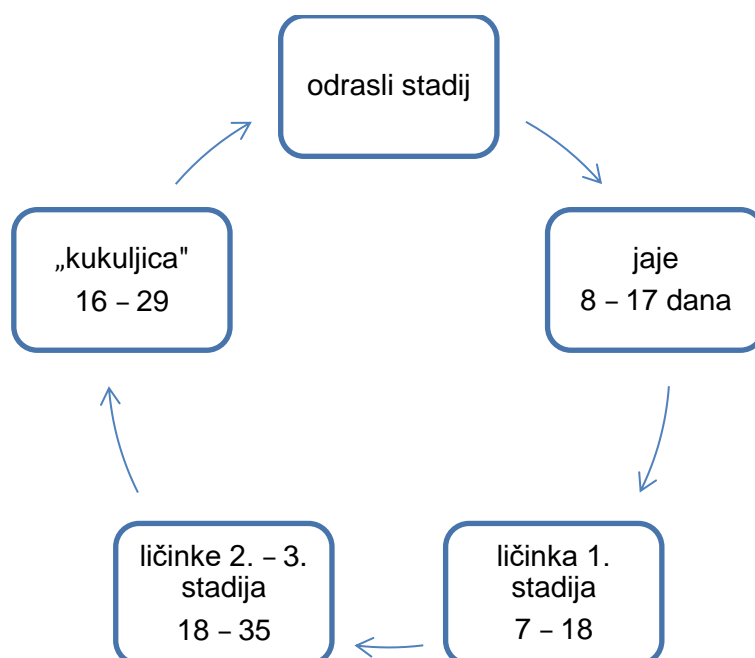
U rujnu dolazi do pojave **treće generacije**, što se i poklapa s trećim jesenskim porastom mladica mandarine. Tijekom praćenja treće generacije zabilježeno je preklapanje s drugom generacijom razvoja *A. spiniferus*. Odrasli razvojni stadiji i jaja zabilježeni su krajem rujna (29. 9. 2021.). Na isti datum zabilježen je i drugi vrhunac leta odraslih stadija od 318 jedinki na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.6.) te najveći broj položenih jaja, njih 1047 na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.6.). Prosječna površina mladog, potpuno nerazvijenog lista mandarine jesenske generacije na kojem su zabilježena odlagana jaja iznosi otprilike 6 cm², što ukazuje da se tijekom vrhunca leta odraslih stadija na mladom listu nalazilo 19 jedinki. Međutim, na pojedinim listovima zabilježeno je i do 50 jedinki (Grafikon 4.1.1.6.). Prvi razvojni stadij (L1) zabilježen je sredinom listopada (14. 10. 2021.), kada je zabilježen prvi populacijski maksimum ličinki prvog razvojnog stadija u brojnosti od 956 jedinki na 100 cm² (Grafikon 4.1.1.6.). Drugi i treći razvojni stadij (L2, L3) zabilježen je krajem listopada (24. 10. 2021.). Na isti datum zabilježen je i drugi populacijski maksimum (949 jedinki/100 cm²). Nakon 10 dana (3. 11. 2021.) zabilježene su prve „kukuljice“ (Grafikon 4.1.1.6.). Potpuni prestanak leta odraslih razvojnih stadija dogodio se sredinom studenog (13.11. 2021.) (Grafikon 4.1.1.2. i Grafikon 4.1.1.4). Prema zabilježenim podacima pojave pojedinih razvojnih stadija embrionalni razvoj trajao je 15 – 20 dana, razvoj ličinki prvog stadija trajao je oko 10 – 12 dana. Razvoj drugog i trećeg stadija ličinke trajao je 17 – 41 dan. Razvoj „kukuljice“ nije zabilježen zbog preklapanja generacija, i to druge i treće generacije.

Tijekom dvogodišnjeg praćenja štetnika zabilježena su preklapanja generacija tijekom godine uz istovremenu pojavu svih razvojnih stadija. Dakle, dio ličinki iz prve generacije bio je prisutan za vrijeme razvoja druge generacije, odnosno dio ličinki druge generacije bio je prisutan za vrijeme razvoja treće generacije.

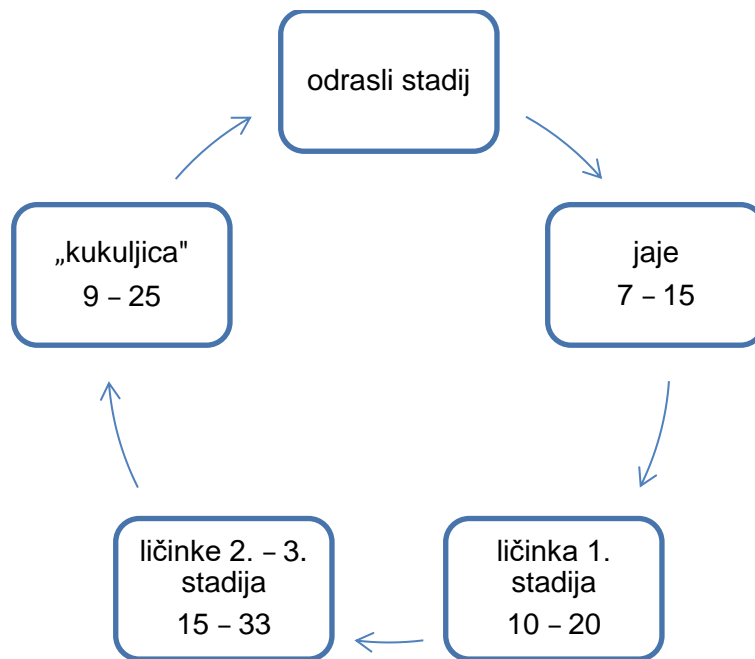
Štitasti moljac *A. spiniferus* tijekom jedne godine istraživanja razvio je tri generacije na mandarini.

Iz dijagrama 4.1.1.7 – 4.1.1.9 može se vidjeti da je u obje godine istraživanja zabilježen duži razvoj prve generacije u odnosu na drugu i treću. Primjerice, u 2020. godini, ukupni razvoj prve generacije bio je 15 – 21 dan duži u odnosu na razvoj druge generacije, dok je u 2021. godini ukupni razvoj prve generacije bio duži za 10 – 14 dana u odnosu na razvoj druge generacije.

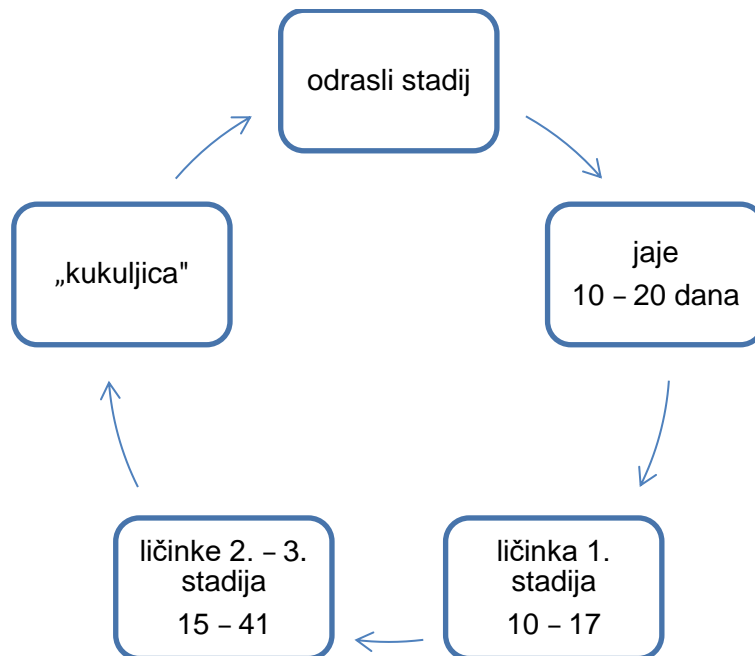
Tijekom razvoja druge generacije zabilježeni su razvojni stadiji iz prve proljetne generacije. Treća generacija, tzv. jesenska, u obje je godine istraživanja duža u odnosu na ljetnu generaciju. Razlika u trajanju je otprilike 10 dana više u odnosu na drugu i 15 dana u odnosu na prvu generaciju. U obje godine istraživanja zabilježen je dvostruko duži razvojni stadij ličinki drugog i trećeg razvojnog stadija, dok se ukupni razvoj „kukuljica“ jesenske generacije nije mogao odrediti zbog preklapanja generacija i prezimljenja štetnika u tom stadiju.



Dijagram 4.1.1.7. Životni ciklus prve (proljetne) generacije *A. spiniferus* u danima (2020. – 2021., Vitaljina)



Dijagram 4.1.1.8. Životni ciklus druge (ljetne) generacije *A. spiniferus* u danima (2020. – 2021., Vitaljina)



Dijagram 4.1.1.9. Životni ciklus treće (jesenske) generacije *A. spiniferus* u danima (2020. – 2021., Vitaljina)

U obje godine istraživanja odrasli stadiji prve (proljetne) generacije pojavili su se krajem travnja. U 2021. godini zbog lošijih vremenskih uvjeta, odnosno nižih temperatura (14 – 18 °C) i niže relativne vlage zraka (58 – 65 %) veća gustoća populacije odraslih stadija zabilježena je početkom svibnja. Razvoj jaja zabilježen je na uzastopnim srednjim dnevnim temperaturama iznad 20 °C i relativne vlažnosti 65 – 70 %. U obje godine istraživanja ličinke 1. razvojnog stadija pojavile su se kada se prosječna dnevna temperatura kretala između 18 – 22 °C, a relativna vlažnost oko 70 %. Ličinke 2. i 3. razvojnog stadija zabilježene su pri srednjim dnevnim temperaturama između 22 – 25 °C i relativne vlažnosti 65 – 70 %. U obje godine istraživanja „kukuljice“ su zabilježene u razdoblju od lipnja do kolovoza kada su se srednje mjesečne temperature kretale između 26 – 28 °C, a relativna vlažnost zraka 58 – 65 %. Druga (ljetna) generacija u obje godine istraživanja zabilježena je početkom srpnja, ali maksimumi populacije odraslih stadija su zabilježeni krajem srpnja zbog visokih temperatura iznad 30 °C i niske relativne vlažnosti zraka (44 – 58 %). Prosječne mjesečne temperature od srpnja do listopada u obje godine istraživanja kretale su se između 22 – 28 °C, a relativna vlažnost zraka 56 – 72 %. Odrasli stadiji treće (jesenske) generacije zabilježeni su u drugoj polovici rujna kada su srednje dnevne temperature iznosile oko 22 °C, dnevni temperaturni maksimumi bili su preko 28 °C, a relativna vlažnost zraka kretala se između 69 – 77 %. Razvoj preimaginalnih stadija treće generacije bio je sporiji zbog pada dnevnih temperatura (10 – 14 °C) i obilnijih kiša. Općenito, gustoća populacije svih razvojnih stadija pala je tijekom studenog. Ličinke koje su dosegle stadij „kukuljice“ ostale su na listovima do sljedeće godine. Od kraja srpnja do kraja studenog zabilježeno je preklapanje generacija u obje godine istraživanja.

4.1.2 Istraživanje prirodnih neprijatelja

U Tablici 4.1.2.1. prikazana je ostala entomofauna zabilježena u nasadu mandarina.

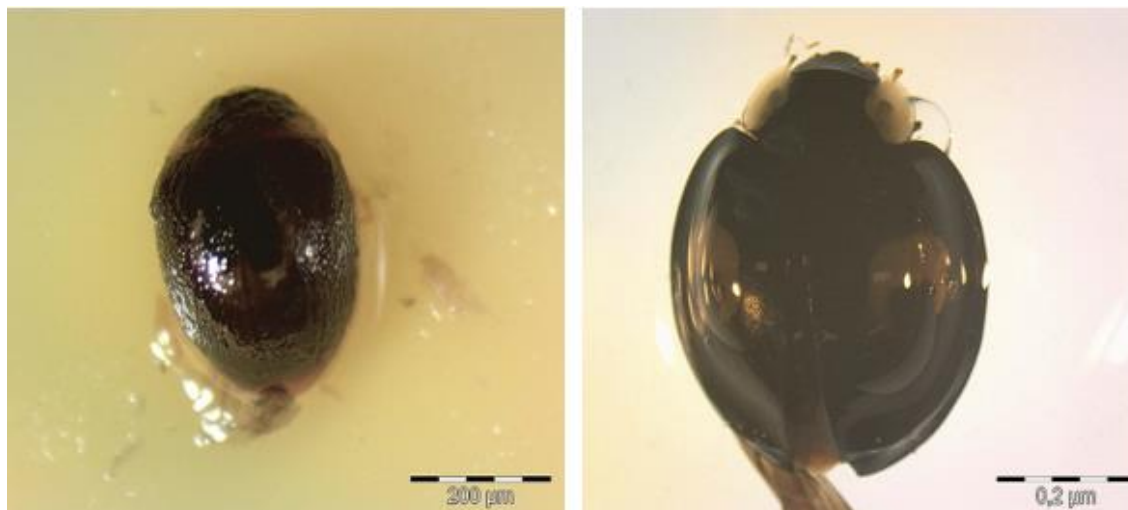
Tablica 4.1.2.1. Prikaz vrsta i redova prisutne entomofaune tijekom 2020. i 2021. godine u nasadu mandarina (Vitaljina)

DATUMI UZORKOVANJA	REZULTAT ANALIZE	NAPOMENA
7. 1. 2020.	red Psocoptera	Indiferentna entomofauna
10. 2. 2020.	red Psocoptera	Indiferentna entomofauna
20. 5. 2020.	red Psocoptera	Indiferentna entomofauna
27. 5. 2020.	Imago <i>Chilocorus renipustulatus</i> (Scriba, 1791) (Coleoptera: Coccinellidae)	Identificirao dr.sc. Siniša Jelovčan
10. 6. 2020.	Orius spp.	
20. 6. 2020.	<i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae: Chrysopinae; Chrysopini)	L3
5. 11. 2020.	red Psocoptera	indiferentna entomofauna
2. 12. 2020.	red Psocoptera	indiferentna entomofauna
19. 5. 2021.	Coleoptera	nemoguća determinacija
5. 7. 2021.	<i>Chrysoperla carnea</i> (Stephens, 1836) (Neuroptera: Chrysopidae: Chrysopinae; Chrysopini)	L3
17. 8. 2021.	ličinka <i>Clitostethus arcuatus</i> (Rossi, 1794) (Coleoptera: Coccinellidae)	predator <i>A. spiniferus</i>
11. 9. 2021.	Odrasli <i>Clitostethus arcuatus</i> (Rossi, 1794) (Coleoptera: Coccinellidae)	predator <i>A. spiniferus</i>
6. 10. 2021.	Acarina	nemoguća identifikacija
24. 10. 2021.	Acarina	nemoguća identifikacija
3. 11. 2021.	red Psocoptera	indiferentna entomofauna

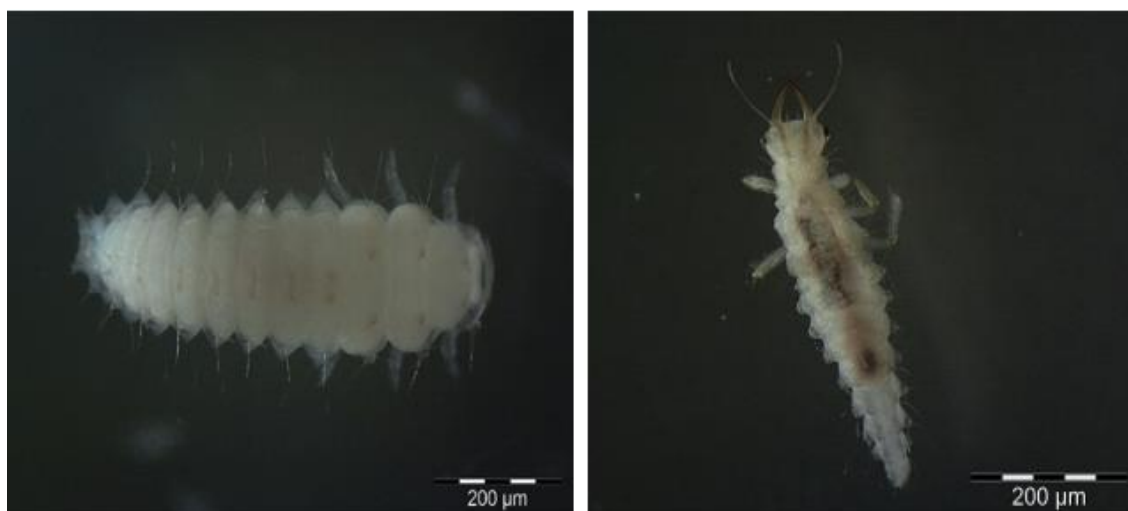
U sklopu dvogodišnjeg istraživanja ostale entomofaune na listovima mandarine u mjestu Vitaljina ukupno je skupljeno 15 uzoraka. Kod četiri uzorka nije bilo moguće identificirati red ili vrstu o kojoj se radi zbog oštećenja ili zbog nedostataka ključeva za morfološku identifikaciju. Najveći broj uzoraka odnosio se na red Psocoptera koji je indiferentna entomofauna u smislu utjecaja na populaciju *A. spiniferus*. U dva uzorka identificirana je vrsta bubamare *Clitostethus arcuatus* (Rossi, 1974), specijalizirani predator štitastih moljaca, a time i vrste *A. spiniferus*. Jedan skupljeni uzorak odnosi se na ličinku, dok se

drugi odnosio na odrasli stadij *C. arcuatus*. Osim vrste *C. arcuatus* u jednom uzorku određena je prisutnost bubamare *Chilocorus renipustulatus* Scriba, 1791.

Na slikama od 4.1.2.1. do 4.1.2.3. prikazani su kukci zabilježeni u nasadu u Vitaljini.



Slika 4.1.2.1. Odrasli stadij *C. arcuatus* (lijevo) i odrasli stadij *C. renipustulatus* (desno) (izvor: Šimala, M.)



Slika 4.1.2.2. Ličinka *C. arcuatus* (lijevo) i ličinka *C. carnea* (desno) (izvor: Šimala, M.)



Slika 4.1.2.3. Jedinka stjenice iz reda Heteroptera (izvor: Šimala, M.)

4.1.3 Istraživanje novih potencijalnih biljaka domaćina

U 2020. i 2021. godini na istraživanim biljkama nije zabilježeno odlaganje jaja, što implicira da se cjelokupni embrionalni i postembrionalni razvoj nije dogodio. Za biljke *A. sellowiana*, *A. deliciosa* 'Hayward' i *S. domestica* karakteristično je prisustvo dlačica na naličju tvrdog lišća. Na ovim biljkama nije bilo odlaganja jaja niti su se ličinke mogle pričvrstiti.

Na biljkama *A. elatior*, *A. unedo* i *P. tobira* 'nanum' nije utvrđena ovipozicija štetnika. Mogući razlog tomu su tvrđi mlađi listovi navedenih biljaka u odnosu na listove agruma. U rujnu je ponovljen postupak na biljkama *A. unedo* i *P. tobira* 'nanum', ali pregledom listova u rujnu i u listopadu 2021. nije zabilježena ovipozicija.

U Tablici 4.1.3.1 prikazane su zabilježene biljne vrste za koje literaturni podaci navode da su biljke domaćini *A. spiniferus*.

Tablica 4.1.3.1. Porodice i biljke domaćini zabilježeni obilaskom terena od 2018. do 2022. godine na krajnjem jugu Dubrovačko-neretvanske županije u sklopu PPN-a i u suradnji s Centrom za zaštitu bilja (HAPIH)

MJESTO OBILASKA	DATUM OBILASKA	PORODICA DOMAĆIN ŠTETNIKA A. SPINIFERUS	VRSTA DOMAĆIN ŠTETNIKA A. SPINIFERUS ZABILJEŽENA PRILIKOM OBILASKA TERENA
Vitaljina	24. 10. 2018.	Araliaceae	<i>Hedera helix</i> L.,
	21. 5. 2019.	Rosaceae	<i>Rosa canina</i> L.
	11. 6. 2019.		<i>Citrus reticulata</i> L.
	24. 7. 2019.	Rutaceae	<i>Citrus Unshiu</i> Marc.
	20. 5. 2020.		
Ljuta	25. 9. 2019.		<i>Citrus reticulata</i> L.
	20. 5. 2020.	Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck <i>Citrus aurantium</i> L.
Molunat	25. 9. 2019.	Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i> L.
			<i>Prunus avium</i> L.
		Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl <i>Rosa</i> sp. <i>Cydonia oblonga</i> Mill. <i>Prunus armeniaca</i> L.
		Punicaceae	<i>Punica granatum</i> L.
		Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i> L.
Dubrovnik	22. 4. 2021.	Araliaceae	<i>Hedera helix</i> L.,
			<i>Citrus reticulata</i> L.
		Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck <i>Citrus aurantium</i> L.
Slano	20. 7. 2021.	Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.
		Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck <i>Citrus limon</i> (L.) Burm. F.

Primijećena je visoka populacija štetnika na stablima *Citrus* spp. tijekom obilaženja terena u Moluntu (25. 9. 2019.) na privatnom posjedu. U neposrednoj blizini zaraze, na stablima *A. sellowiana* i *A. deliciosa*, nije zabilježen ni jedan razvojni stadij štetnika.

Obilaskom terena utvrđene su druge biljke domaćini, kao što su bršljan (*Hedera helix* L.), lovor (*Laurus nobilis* Linné) (Slika 4.1.4.2.), šipak (*Punica granatum* L.), divlja ruža (*Rosa canina* L.) i druge.

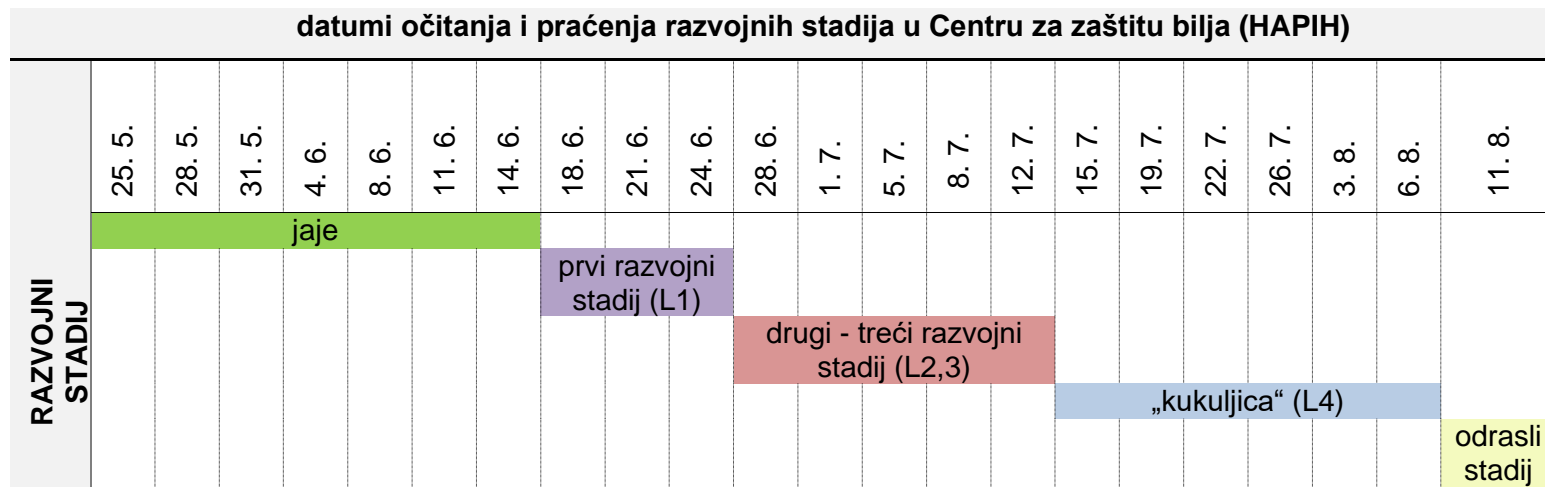


Slika 4.1.3.1. Stadij „kukuljice“ vrste *A. spiniferus* na biljci *Laurus nobilis*

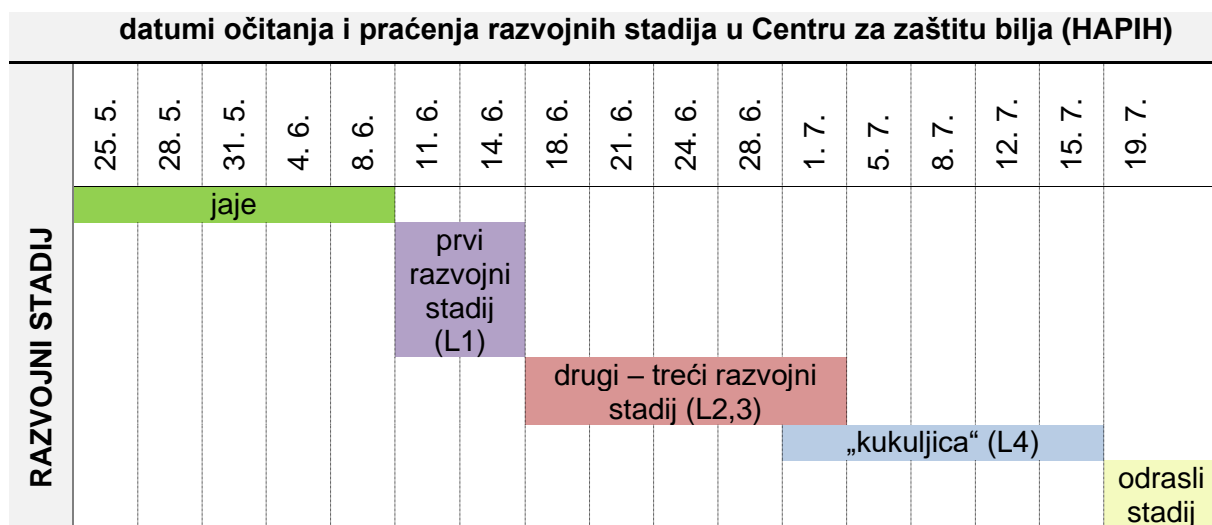
4.2 Rezultati istraživanja bioloških obilježja vrste *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima

4.2.1 Istraživanja životnog ciklusa

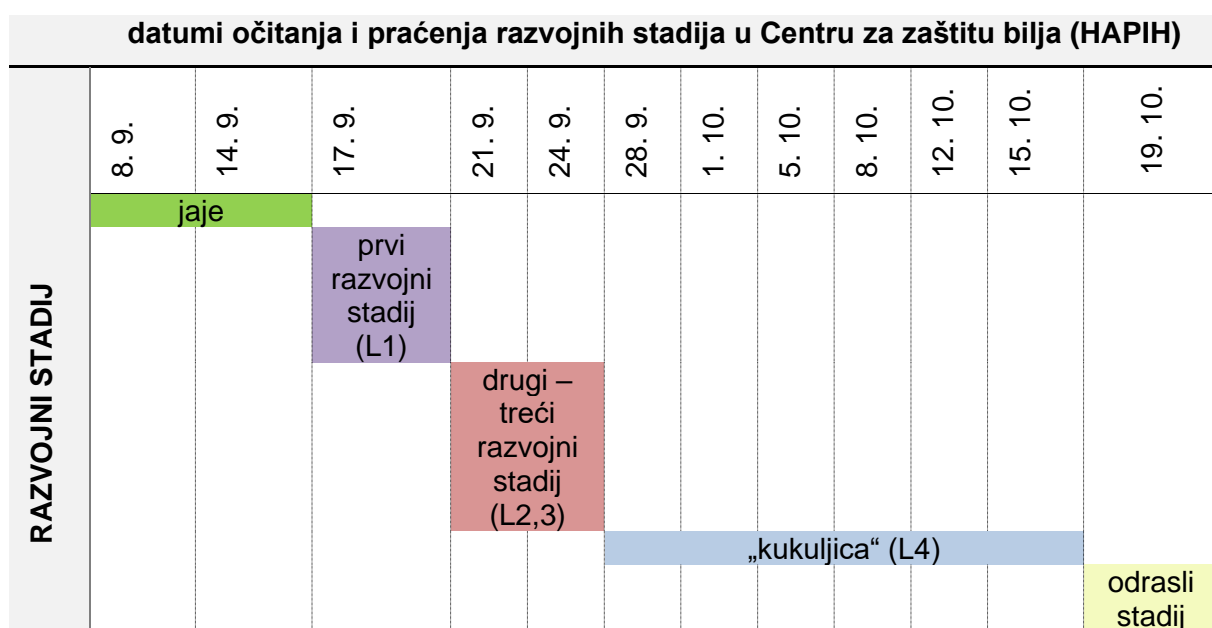
Životni ciklus vrste *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima dobiven praćenjem razvoja svih razvojnih stadija na četiri različite temperature i konstantnoj relativnoj vlazi zraka 80 % prikazan je grafikonima od 4.2.1.1. do 4.2.1.3. Na Grafikonu 4.2.1.1 prikazan je fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* na 20 °C, na Grafikonu 4.2.1.2. prikazan je fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* na 25 °C, dok je na Grafikonu 4.2.1.3. prikazan fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* na 30 °C. Na slikama od 4.2.1.1. do 4.2.1.3. prikazani su odrasli razvojni stadiji i egzuviji na testiranim temperaturama, dok je na Slici 4.2.1.4. prikazan izlazak odraslog razvojnog stadija iz „kukuljice“.



Grafikon 4.2.1.1. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u *walk-in* komorama na temperaturi od 20 °C i 80 % vlage



Grafikon 4.2.1.2. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u *walk in* komorama na temperaturi od 25 °C i 80 % vlage



Grafikon 4.2.1.3. Fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u *walk-in* komorama na temperaturi od 30 °C i 80 % vlage

Na temperaturi od 20 °C ukupno je obilježeno 48 listova s ovipozicijom i prebrojano je ukupno 2182 jaja. Praćenjem razvoja vrste *A. spiniferus* uočeno je da su se ličinke prvog razvojnog stadija pojavile 21 dan od odlaganja jaja, a ličinke drugog i trećeg stadija nakon 31 dan, odnosno 10 dana nakon pojave ličinki prvog stadija. Kukuljice su zabilježene 52 dana od odlaganja jaja, točnije 21. dan od pojave ličinke prethodnog stadija. Nakon punih 79 dana od odlaganja jaja (11. 8. 2021.) uočene su četiri odrasle jedinke (Slika 4.2.1.1., Grafikon 4.2.1.1.).

Na temperaturi od 25 °C ukupno je obilježeno 67 listova s ovipozicijom i prebrojano ukupno 1496 jaja. 15 dana od odlaganja jaja (25. 5. 2021.) utvrđene su ličinke prvog stadija, a samo sedam dana od pojave ličinki prvog stadija pojavile su i ličinke drugog i trećeg stadija, odnosno, 22 dana od odlaganja jaja (Grafikon 4.2.1.2.). Na datum 1. 7. 2021. zabilježeni su prvi pupariji na temperaturi od 25 °C, što je ukupno 39 dana od odlaganja jaja, odnosno 17 dana od prvih zabilježenih ličinki drugog i trećeg stadija. 56 dana od odlaganja jaja, točnije na datum 19. 7. 2021., zabilježeno je 46 odraslih jedinki koje su završile svoj razvoj (Slika 4.2.1.2.).

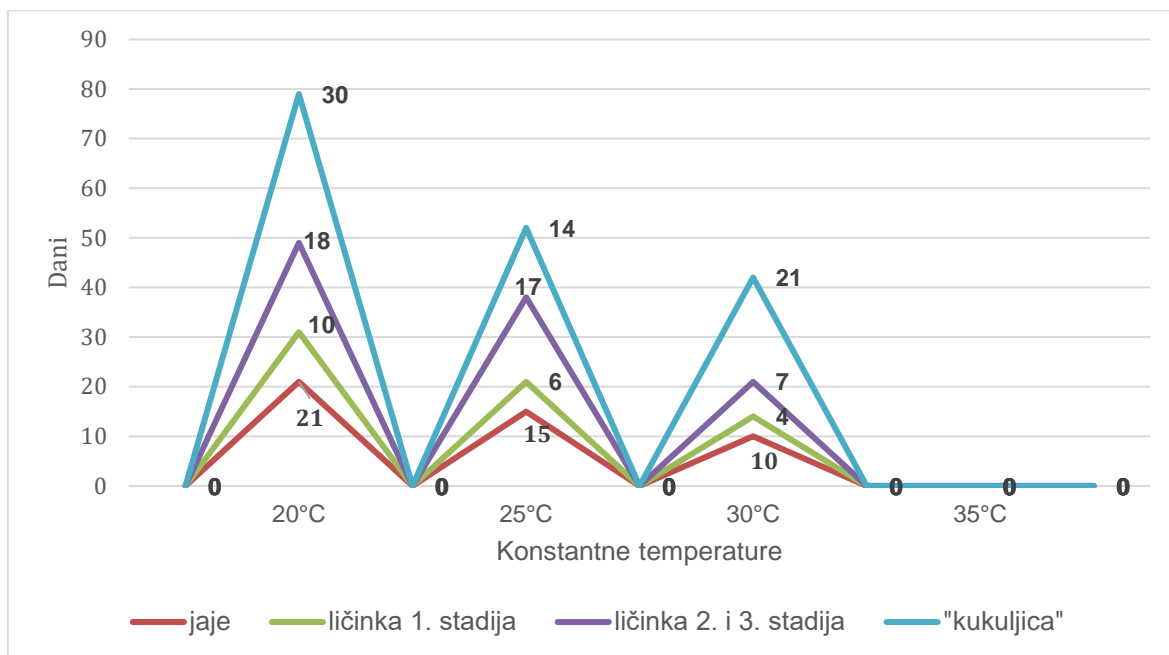
Istraživanje razvoja vrste *A. spiniferus* na temperaturama od 30 i 35 °C odgođeno je do početka rujna zbog nedovoljnog broja odraslih stadija u prirodnim uvjetima korištenih za umjetnu zarazu u kontroliranim uvjetima.

Na temperaturi od 30 °C ukupno je označeno 57 listova s 1550 odloženih jaja (8. 9. 2021.). Deset dana od odlaganja jaja utvrđene su ličinke prvog razvojnog stadija, a 14 dana od odlaganja jaja, točnije četiri dana od pojave prvog razvojnog stadija, zabilježene su ličinke drugog i trećeg stadija. Prve kukuljice uočene su samo sedam dana od prvih zabilježenih ličinki drugog i trećeg razvojnog stadija (28. 9. 2021.). 21 dan od prvih uočenih kukuljica i 42 dana od odloženih jaja završen je razvoj vrste *A. spiniferus* (19. 10. 2021., Grafikon 4.2.1.3.). Pri pregledu listova toga su dana uočene dvije jedinke odraslog stadija *A. spiniferus* (Slika 4.2.1.3.).

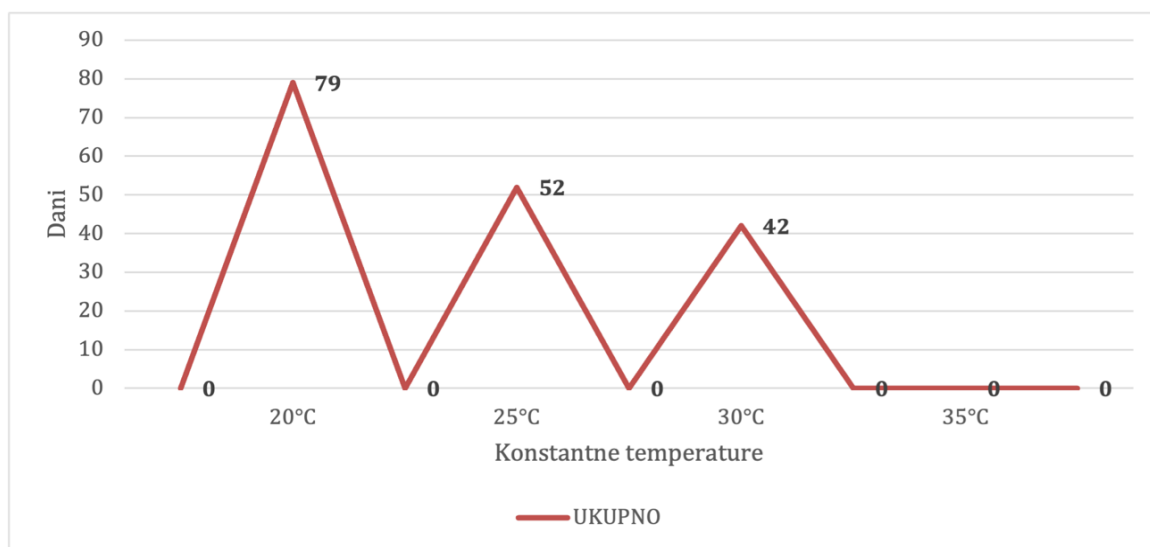
Na temperaturi od 35 °C ženke su odložile ukupno 1171 jaje na 31 listu. Životni ciklus na temperaturi od 35 °C nije završen zato što su se jaja počela sušiti. Istraživanje razvoja štetnika se i dalje provodilo, međutim, svakog dana utvrđen je sve manji broj jaja, a do daljnjeg razvoja ostalih razvojnih stadija nije došlo. Stoga je zaključeno kako *A. spiniferus* ne može završiti životni ciklus na temperaturi od 35 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 80 ± 10%.

Razdoblje razvoja izraženo u danima svakog pojedinog preimaginalnog razvojnog stadija vrste *A. spiniferus* prikazano je Grafikonom 4.2.1.4., dok je Grafikonom 4.2.1.5. prikazan

ukupni vremenski razvoj od jaja do odraslog razvojnog stadija vrste *A. spiniferus* na četiri različite temperature.



Grafikon 4.2.1.4. Razdoblje razvoja svih stadija *A. spiniferus* na četiri različite konstantne temperature



Grafikon 4.2.1.5. Ukupni razvoj vrste *A. spiniferus* na četiri različite konstantne temperature

Zaključno, najkraće razdoblje ukupnog razvoja *A. spiniferus* od jaja do odraslog razvojnog stadija je zabilježeno na temperaturi od 30 °C , dok je najduži razvoj zabilježen na temperaturi od 20 °C. Na temperaturi od 35 °C razvoj nije zabilježen (Grafikon 4.2.1.4.; Grafikon 4.2.1.5.).

4.2.2 Određivanje indeksa ovipozicije

Indeks ovipozicije, odnosno procjena utjecaja različitih temperatura i konstantne relativne vlažnosti zraka od 80 % na polaganje jaja u 24 h na četiri istraživane temperature, prikazana je Tablicom 4.2.3.1.

Tablica 4.2.3.1. Indeks ovipozicije na četiri različite temperature

TEMPERATURA i rH 80 %	BROJ ŽENKI	BROJ LISTOVA	BROJ JAJA	INDEKS OVIPOZICIJE
20 °C	300	45	285	0,95
25 °C	300	43	506	1,68
30 °C	300	39	480	1,60
35 °C	300	47	277	0,92

Ovi rezultati prikazuju da je najmanji broj jaja odložen na temperaturi od 35 °C, dok je najveći broj jaja odložen na temperaturama od 25 i 30 °C. Prema tome, dvije navedene temperature pokazale su se kao idealne temperature za razvoj i ovipoziciju vrste *A. spiniferus*, jer je broj odloženih jaja na navedenim temperaturama i do 60 % veći.

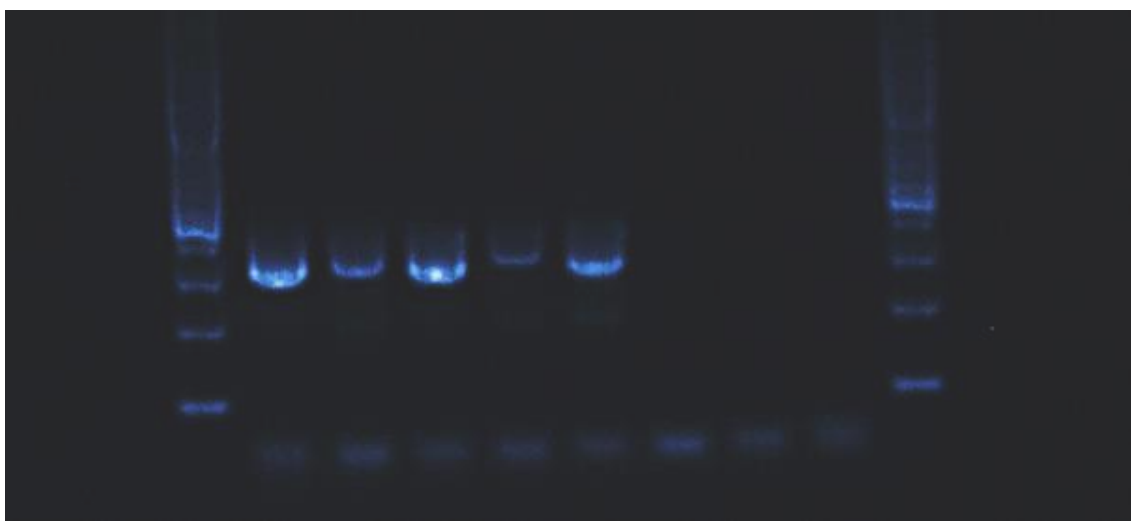
4.2.3 Određivanje seksualnog indeksa

Seksualni indeks vrste *A. spiniferus* određen je na temelju broja odraslih jedinki skupljenih u prirodnim uvjetima. Analizom 1200 odraslih jedinki utvrđeno je da ženke prevladavaju u ukupnoj populaciji.

Identifikacijom spolova ustanovljeno je 1.106 ženki i 94 mužjaka. Izračunati seksualni indeks (SI) štitastog moljca *A. spiniferus* nakon 24 sata od ulova u prirodnim uvjetima iznosi 0,07. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da ženke štitastog moljca *A. spiniferus* prevladavaju u ukupnoj populaciji što povećava njihov biotički potencijal i štetnost.

4.3 Identifikacija *Aleurocanthus spiniferus* PCR metodom i određivanje haplotipova

Korišteni PCR protokol za amplifikaciju mitohondrijske DNA citokrom C oksidaze podjedinice I (mtCOI) potvrdio je prisutnost vrste *A. spiniferus* u devet od deset prikupljenih uzoraka. Veličina produkta kretala se od 586 bp do 661 bp. Na obje slike (4.3.1. i 4.3.2.) u prvoj jažici nalazi se DNA ljestvica od 200bp dok je u posljednjoj jažici negativna kontrola. Na Slici 4.3.1. u jažicama nalaze se PCR produkti uzoraka 1, 2, 6, 7, 8 i 9, dok su na Slici 4.3.2. od druge jažice prikazani PCR produkti uzoraka 1, 2, 4, 6, 7, 8, 9 i 10.

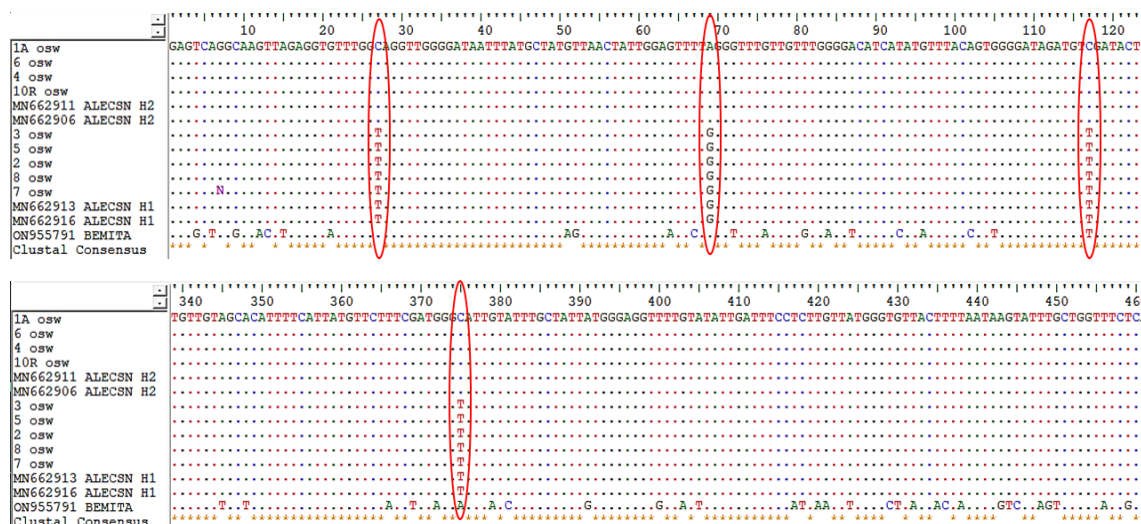


Slika 4.3.1. PCR produkti za gen za COI veličine otprilike 670 pb nakon elektroforeze (izvor: Novak, A.)



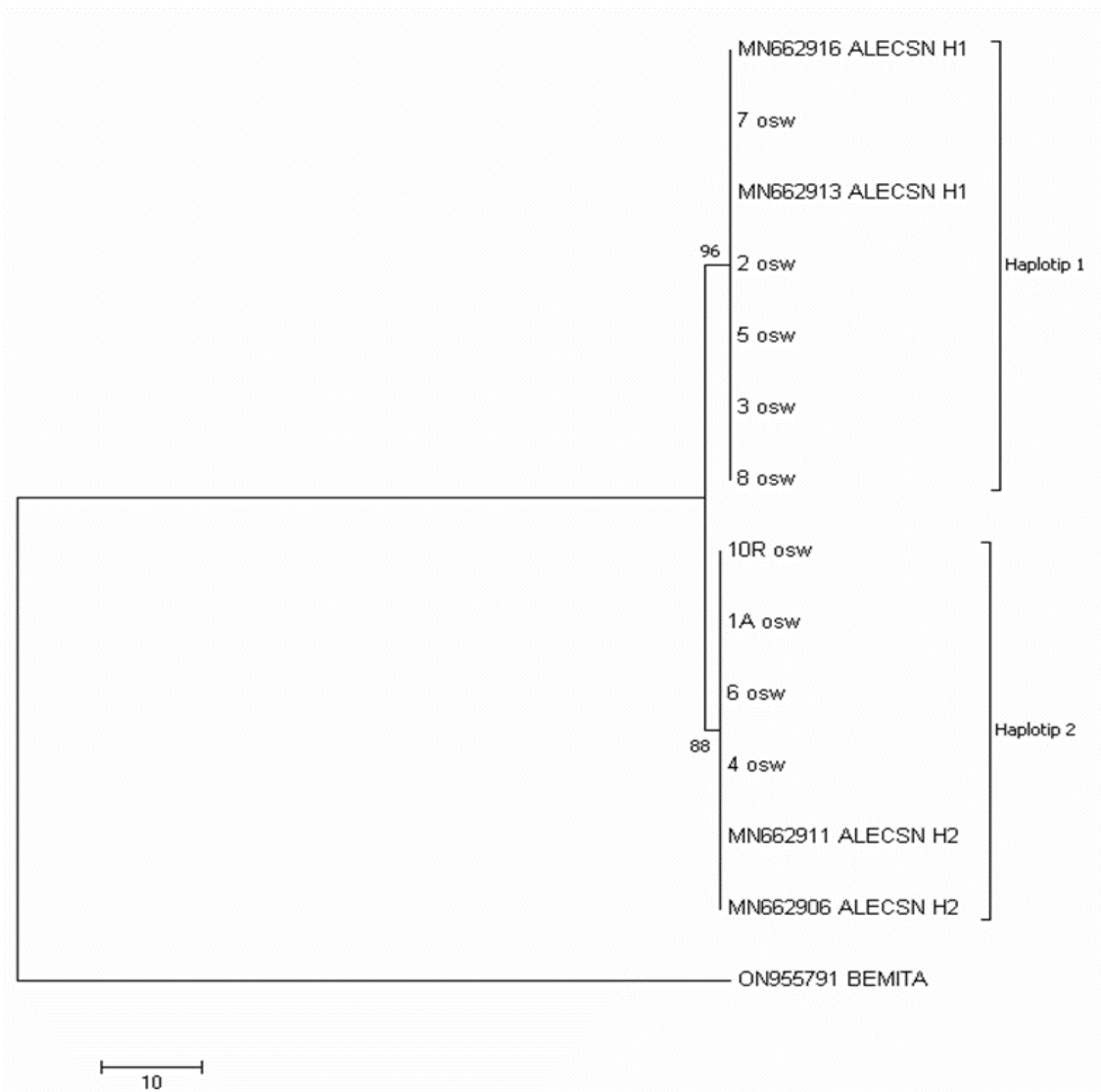
Slika 4.3.2. PCR produkti za gen za COI veličine otprilike 670 pb nakon elektroforeze (izvor: Novak, A.)

Na Slici 4.3.3. prikazano je višestruko poravnanje uzoraka *A. spiniferus* (jedan, šest, četiri, deset, tri, pet, dva, osam i sedam) i referentnih sekvenci za haplotip 2 (MN662911, MN662906) i haplotip 1 (MN662913, MN662916) u programu BioEdit. Referentna sekvenca vrste *B. tabaci* (ON955791) korištena je kao vanjska grupa. Crveno su označene razlike u sekvencama između haplotipa 1 i 2.



Slika 4.3.3. Prikaz višestrukog poravnanja uzoraka *Aleurocanthus spiniferus* (jedan, šest, četiri, deset, tri, pet, dva, osam i sedam), i referentnih sekvenci za haplotip 2 (MN662911, MN662906) i haplotip 1 (MN662913, MN662916) u programu BioEdit. Referentna sekvenca vrste *Bemisia tabaci* (ON955791) korištena je kao vanjska grupa. Crveno su označene razlike u sekvencama između haplotipa 1 i 2 (izvor: Novak, A.)

Na Slici 4.3.4. prikazano je ukorijenjeno filogenetsko stablo dobiveno analizom nukleotidnih sekvenci mitohondrijskog gena za podjedinicu I citokrom c oksidaze, uz korištenje metode *neighbour-joining* i modela *number of differences*. Brojevi u čvorištu grana predstavljaju vrijednosti dobivene statističkom metodom *bootstrap* uz 500 ponavljanja. Za ukorjenjivanje stabla korištena je sekvenca vrste *Bemisia tabaci* i referentne sekvence za haplotip 1 i haplotip 2. Pristupni brojevi za korištene sekvence vidljivi su na Slici 4.3.3.



Slika 4.3.4. Filogenetsko stablo dobiveno s prikazom haplotipova *A. spiniferus* potvrđenih u Republici Hrvatskoj (izvor: Novak, A.)

Sekvenciranjem i analizom sekvenci potvrđeni su haplotipovi H1 i H2. Haplotip H1 potvrđen je u pet uzoraka, a haplotip H2 potvrđen je u četiri uzorka (Tablica 4.3.1.).

Tablica 4.3.1. Haplotipovi vrste *Aleurocanthus spiniferus* potvrđeni u Republici Hrvatskoj

OZNAKA UZORKA	LOKACIJA	BILJNA VRSTA	VELIČINA PRODUKTA	HAPLOTIP	PRISTUPNI BROJEVI
2	Ivan Dolac, Hvar	<i>Bougainvillea spectabilis</i>	661 bp	H1	OR486036
3	Molunat	<i>Citrus aurantium</i>	658 bp	H1	OR493434
5	Ivan Dolac, Hvar	<i>Parthenocissus quinquefolia</i>	651 bp	H1	OR495607
7	Ivan Dolac, Hvar	<i>Citrus limon</i>	640 bp	H1	
8	Vitaljina 3	<i>Citrus reticulata</i>	656 bp	H1	
1	Vitaljina 3	<i>Citrus reticulata</i>	650 bp	H2	
4	Ljuta 2	<i>Citrus aurantium</i>	657 bp	H2	OR493470
6	Ljuta 1	<i>Citrus reticulata</i>	638 bp	H2	
10	Vitaljina 3	<i>Citrus reticulata</i>	586 bp	H2	OR499882

Iz Tablice 4.3.1. vidljivo je da u kopnenom dijelu obale Republike Hrvatske prevladava haplotip H2, dok je na otoku Hvaru (Ivan Dolac), koji je uz obalu, utvrđen samo haplotip H1.

5 RASPRAVA

5.1 Rasprava o biološkim obilježjima *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima

5.1.1 Životni ciklus vrste *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima

Istraživanje životnog ciklusa štetnih organizama u prirodnim uvjetima, uz genetske predispozicije, ponajviše ovisi o klimatskim prilikama. Temperatura, relativna vlažnost zraka i biljka domaćin najznačajniji su čimbenici koji određuju broj generacija i ukupni razvoj štetnog organizma (Basu, 1955; Gyeltshen i sur., 2017).

Ovim istraživanjem proučavan je biološki ciklus narančina trnovitog štitastog moljca *A. spiniferus* u specifičnim klimatskim uvjetima Dubrovačko-neretvanske županije.

Republika Hrvatska dijelom, uključujući i Dubrovačko-neretvansku županiju, prema Köppenovoj klasifikaciji ima mediteransku klimu s karakteristično suhim i vrućim ljetima (Boras, 2021). S obzirom na brzu reakciju mediteranskog bazena na klimatske promjene u temperaturi i vlažnosti zraka (Giorgi, 2006) i obilje biljaka domaćina uz obalu Republike Hrvatske stvoreni su uvjeti za uspostavu i širenje novih stranih vrsta. Intenzivna međunarodna trgovina, zajedno s mogućom ilegalnom trgovinom i činjenicom da su neki štetni organizmi već prisutni u mediteranskom bazenu, stvara opasnost od naseljavanja novih invazivnih štetnika u Republici Hrvatskoj u narednim godinama. Analizirajući klimatske projekcije za Republiku Hrvatsku, očigledno je da nas očekuje rast temperature zraka, što će rezultirati većim brojem vrućih dana u godini i višim temperaturnim sumama. Ovaj rast temperature zraka predstavlja rizik od introdukcije i prilagodbe novih gospodarskih štetnih organizama u ovom području.

Istraživanje životnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u mediteranskim zemljama do danas nije provedeno, što otežava usporedbu sa životnim ciklusom u Republici Hrvatskoj. Stoga je najviše pažnje posvećeno usporedbi istraživanja životnog ciklusa s ostalim vrstama iz porodice Aleyrodidae.

Analizom razvojnih stadija štetnika tijekom dvije godine istraživanja (2020., 2021.) na jugu Republike Hrvatske zabilježene su tri generacije godišnje (Grafikon 4.1.1.3. i 4.1.1.4). Kod treće generacije dolazi do prezimljenja. Kombinacijom kratkog dana i sniženja temperature dolazi do prestanka razvoja i prezimljenja štetnika u obliku „kukuljice“. Ovaj podatak objašnjava činjenicu da u sjevernijim dijelovima svijeta, poput Republike Hrvatske, vrsta *A. spiniferus* razvija samo tri generacije tijekom godine (Grafikon 4.1.1.1. i 4.1.1.2). U toplijim dijelovima svijeta (Mikronezija – Guam, Japan) *A. spiniferus* ima četiri do šest ili više

generacija godišnje, što navodi većina autora (EPPO/ CABI, 1997; Gyltshen i sur., 2017). Ukupni biološki razvoj od jaja do odraslog stadija u prirodnim uvjetima minimalno je varirao između istraživanih godina. U 2020. godini potpuni razvojni ciklus jedne generacije trajao je od 41 do 105 dana, a u 2021. trajao je od 49 do 93 dana. Ova razlika može se pripisati različitim klimatskim uvjetima koji su prevladavali u navedenim godinama. Klimatska analiza pokazuje da je 2020. godina bila toplija za 1,6 °C u usporedbi s 2021. godinom (Grafikon 3.2.1). Tijekom srpnja i kolovoza 2020. godine zabilježene su izraženije maksimalne temperature koje su imale usporavajući učinak na razvojni proces (Grafikon 3.2.1). Razlike u razvoju pojedinih razvojnih stadija tijekom obje istraživačke godine bile su minimalne, s razlikom od 8 do 12 dana. Ove male razlike ukazuju na to da nema značajnih razlika u razvoju pojedinih stadija kada se promatraju kroz generacije i godine istraživanja (Grafikon 4.1.1.5. – 4.1.1.7). Nagli pad temperature u studenom 2020. godine utjecao je na biološki razvoj štetnika (Grafikon 3.2.3.). Pretpostavka je da su obilne kiše i niske temperature, karakteristične za ovaj period godine, uzrokovale smrtnost preimaginalnih stadija. To je bilo posebno izraženo tijekom zimskih mjeseci kad su niske temperature ograničile opskrbu hranom, dovodeći do fizičkih promjena u tkivu biljke i stvarajući nepovoljne uvjete za preživljavanje navedenih razvojnih stadija.

Prvi pojavni stadij koji je promatran u istraživanjima provedenim tijekom 2020. i 2021. godine bio je odrasli stadij, koji je primijećen krajem travnja, kako je prikazano na grafikonima (4.1.1.3. i 4.1.1.3.). Međutim, zapažena je značajna razlika u vremenu pojave proljetnog vegetacijskog porasta između te dvije godine. Naime, u 2021. godini prvi proljetni vegetacijski porast dogodio se gotovo mjesec dana kasnije (svibanj) u usporedbi s 2020. godinom. Ovo kašnjenje bilo je rezultat hladnijih dana tijekom travnja što je prouzrokovalo odgodu cijele vegetacijske sezone (Grafikon 3.2.3. i 3.2.4.). Prvi odrasli stadiji u 2021. godini zabilježeni su na žutim ljepljivim pločama tijekom travnja, dok su u 2020. godini odrasli stadiji zabilježeni na proljetnom porastu. Nakon kišnih dana i porasta temperature u 2021. godini zabilježen je proljetni porast, ali i ovipozicija. Ovo dokazuje povezanost između razvoja biljke i dinamike populacije štetnika unutar nasada što potvrđuju Souza i sur. (2017) te Silva i sur. (2011). Životni vijek individualnog odraslog razvojnog stadija prve generacije u prirodnim uvjetima nije se mogao precizno utvrditi zbog aktivnih migracija, tj. letenja. Kasnije, kod druge i treće generacije, dolazi do istodobne pojave svih stadija i preklapanja generacija što dodatno otežava određivanje životnog vijeka odraslog stadija.

Nakon što su zabilježeni odrasli razvojni stadiji, zabilježena je istovremena ovipozicija na listovima što može sugerirati da pojava odraslih stadija nije zabilježena na vrijeme i vjerojatno se odnosi isključivo na prvu generaciju. Razdoblje odlaganja jaja u obje godine istraživanja poklapa se s preliminarnim istraživanjem Paladin Soče i sur. (2020b). Kod sve

tri generacije ženke su odlagale jaja na srednjem i bazalnom dijelu naličja nepotpuno razvijenog mladog lista zbog topljivih dušičnih spojeva koji će kasnije osiguravati hranu ostalim preimaginalnim stadijima (Šimala, 2008). Na vrhu lista ovipozicija je bila slabije izražena. Razlog tomu je negativni fototropizam kod ženki, što potvrđuje istraživanje Dietz i Zetek (1920). Na starijim listovima ženke su odlagale jaja na maloj udaljenosti od egzuvija. Na terenu je zabilježena ovipozicija ujutro prije podneva ili kasno poslijepodne. Razlog tomu je viša relativna vlaga zraka u to doba dana za vrijeme ljetnih dana koju su dokazali autori istraživanjem ostalih vrsta iz porodice Aleyrodidae (Dietz i Zetek, 1920; Kishida i sur., 2010; Bonato i sur., 2006). Tijekom oblačnog vremena relativna vlaga zraka je obično konstantna te se ovipozicija odvijala u bilo koje doba dana. Tijekom razvoja jaja su starenjem mijenjale boju od žute do potpuno smeđe, što se slaže s navodima autora Dietz i Zetek (1920), Gill (1990) i Gyeltshen i sur. (2017).

U ljetnim mjesecima, u obje godine istraživanja, niske relativne vlažnosti zraka (< 60 %) imale su značajan utjecaj na broj odloženih jaja. Ekstremne temperature od 30 – 35 °C, zajedno s niskom količinom padalina od lipnja do kolovoza (Grafikon 3.2.2.), utjecale su na smanjen broj odraslih stadija i na broj odloženih jaja. Ovi rezultati podupiru slične nalaze na drugim vrstama iz porodice Aleyrodidae poput *A. woglumi*, *P. myricae* i *D. citri* (Gerling, Horowitz i Baumgärtner, 1986; Uygun i sur., 1990; Žanić, 1999) kada iznad optimalnih temperaturnih raspona od 25 °C ili 34 °C i iznad relativne vlažnosti zraka od 60 % dolazi do smanjene ovipozicije. U obje godine istraživanja, koje uključuje tri generacije godišnje, razvoj jaja trajao je od 7 do 17 dana. Prethodna istraživanja razvoja jaja vrste *A. spiniferus* u Japanu ukazala su na duže trajanje razvoja u odnosu na vlastito dvogodišnje praćenje u vremenu od 11 do 22 dana, što se može pripisati različitim klimatskim uvjetima (Gyeltshen i sur., 2017).

Nakon završetka razvoja jaja uslijedila je pojava izlaska prvog razvojnog stadija iz jaja (Grafikon 4.1.1.1. i 4.1.1.2.). Mlade ličinke aktivno su se kretale po listu dok nisu našle odgovarajuće mjesto za hranjenje. Guste kolonije prvog razvojnog stadija zabilježene su ponajviše na mladim listovima. Istu tvrdnju navode i ostali autori (Mound i Halsey, 1978; EFSA, 2018). Tijekom daljnjeg praćenja razvojnih stadija vrste *A. spiniferus* primijećeno je da se razvoj prvog stadija (L1) nije značajno mijenjao tijekom dvogodišnjeg istraživanja, zadržavši se unutar raspona 7 – 20 dana. Navedeni vremenski okvir razvoja prvog razvojnog stadija pokazuje određenu varijabilnost koja ovisi o generaciji i dobu godine. Međutim, nakon provedenog istraživanja razdoblja razvoja ličinke prvog stadija pokazala su se duljima u usporedbi s podacima iz japanskih istraživanja. Razvoj prvog stadija (L1) trajao je od 7 do 11 dana (Gyeltshen i sur., 2017., cit. Kuwana i sur., 1927). S druge strane, u vlastitom istraživanju dokazan je duži vremenski raspon od 7 do 20 dana. Unatoč ovom

malom rasponu postavlja se pitanje je li razlika od 7 do 11 dana naspram 7 do 20 dana značajna. Također, s obzirom na to da je istraživanje u Japanu provedeno prije skoro 100 godina, postavlja se pitanje o uvjetima uzgoja biljaka domaćina, kvaliteti tla, dostupnosti hranjivih tvari i klimatskih uvjeta koji mogu imati ključnu ulogu u utjecaju na razvoj pojedinih stadija štetnika.

Prema Gyeltshen i sur., (2017) cit. Kuwana i sur., (1927) nakon prvog razvojnog stadija (L1) uslijedio je razvoj drugog razvojnog stadija u vremenu od pet do sedam dana. Međutim, u vlastitom istraživanju, ličinke drugog i trećeg razvojnog stadija praćene su kao cjelina jer nema uočljivih morfoloških razlika između navedenih stadija.

Istraživanje životnog ciklusa vrste *A. spiniferus* u klimatskim uvjetima Japana opisalo je trajanje trećeg razvojnog stadija (L3) od 7 do 130 dana (Gyeltshen i sur., 2017., cit. Kuwana i sur., 1927), što je četverostruko dulje od trajanja drugog i trećeg stadija zajedno u Republici Hrvatskoj tijekom dvogodišnjeg praćenja. Ove razlike u duljini razvoja mogu se pripisati značajnim klimatskim razlikama između ta dva područja. Prema Köppenovoj klasifikaciji klime Japan ima vlažnu suptropsku klimu (Cfa), dok se hrvatski obalni dio, koji uključuje sjevernu, srednju i južnu Dalmaciju, nalazi pod utjecajem sredozemne klime s vrućim ljetom (Csa) (Šegota i Filipčić, 2003). Navedeni različiti klimatski uvjeti vjerojatno igraju ključnu ulogu u varijacijama duljine razvoja trećeg razvojnog stadija *A. spiniferus*. Pretpostavka je da toplije i suptropske klime Japana, posebno u jugoistočnom dijelu, mogu pridonijeti ubrzanom razvoju štetnika u ranijim stadijima, dok kod razvoja trećeg stadija veća količina kiše uzrokuje dulje trajanje razvoja.

Nakon završetka razvoja trećeg razvojnog stadija (L3) dolazi do pojave ličinke četvrtog razvojnog stadija „kukuljice”. Vrijeme potrebno za razvoj četvrtog razvojnog stadija ili „kukuljice“ (L4) u Japanu varira od 7 do 34 dana, što je dulje za 7 – 16 dana u usporedbi s vremenom potrebnim u Republici Hrvatskoj tijekom 2020. i 2021. godine (Gyeltshen i sur., 2017; EFSA, 2018; Akrivou i sur., 2021; EPPO, 2022). Europsko izvješće o stanju klime ukazuje na izraženo dugotrajno zagrijavanje površinskih temperatura zraka, što se odnosi i na Republiku Hrvatsku. Od početka mjerenja, 2020. godina evidentirana je kao najtoplija godina, s prosječnom temperaturom višom od prosjeka za 1,6 °C. U 2021. godini bilježe se najtoplije jeseni i zime s temperaturama iznad prosjeka, osobito u jugoistočnoj Europi (ECMWF, 2022). Na temelju navedenih podataka može se pretpostaviti da je brži razvoj navedenog razvojnog stadija (L4) u Republici Hrvatskoj povezan s trendom zagrijavanja i klimatskim promjenama. Maksimumi stadija „kukuljice“ nisu bili jasno naznačeni zbog preklapanja generacija, što je vidljivo na Grafikonu 4.1.1.1. Duljina razvoja „kukuljice“ treće generacije u obje godine istraživanja nije utvrđena jer su ličinke navedenog stadija ostale

na listovima do proljeća sljedeće godine, što potvrđuje preliminarno istraživanje Paladin Soče i sur. (2020b).

Dvogodišnje istraživanje životnog ciklusa *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima poklapa se s istraživanjima životnog ciklusa vrste *A. woglumi* u Floridi (Nguyen i Hamon, 1993). Vrsta *A. woglumi* dijeli neke zajedničke biološke odlike s *A. spiniferus*. Istraživanja su pokazala da potpuni razvoj *A. woglumi* od jaja do odraslog stadija traje od 55 do 113 dana (Dietz i Zetek, 1920), a optimalni temperaturni raspon se kreće 20 – 34 °C i na relativnoj vlažnosti zraka 70 – 80 % (Gerling, Horowitz i Baumgärtner 1986; Murad i Ba-Angood, 2021). Tijekom siječnja i veljače u obje godine istraživanja zabilježene su temperature oko ništice, a Gyeltshen i sur. (2005) i Kenawy i sur. (2014) navode kako vrsta *A. spiniferus* ne može preživjeti ispod 0 °C. Isti minimalni temperaturni granični prag potvrđen je u literaturi i za sličnu vrstu *A. woglumi*. Tijekom ljeta (kraj lipnja – kraj kolovoza), u obje godine istraživanja, populacija *A. spiniferus* u nasadu mandarina bila je manja. Ovo razdoblje podudara se s vremenom niskih oborina u navedenom području (Grafikon 3.2.1. i 3.2.3.), kada su vrijednosti padalina bile ispod 50 mm mjesečno (Grafikon 3.2.2. i 3.2.4.). Najmanja zabilježena brojnost narančina trnovitog štitaštog moljca na mandarinama tijekom tog razdoblja djelomično je posljedica nedostatka novih izdanaka ljetnog porasta. Na temperaturama iznad 35 °C, uz nedostatak padalina zabilježen je prestanak razvoja. U dosadašnjim literaturnim navodima spominje se 43 °C na kojoj razvoj prestaje. Međutim, navedena temperatura odnosi se na istraživanje vrste *A. woglumi*, dok kritični temperaturni maksimum za razvoj *A. spiniferus* nije određen (Dowell i sur., 1981; Gyeltshen i Hodges., 2005; Kenawy i sur., 2014).

U literaturi se navodi i podatak da se *A. spiniferus* pojavljuje sjevernije u Aziji nego *A. woglumi* (provincije Jiangsu i Shandong u Kini, Japan, Korejski poluotok) (EFSA, 2018), što ukazuje na mogućnost da bi ove vrste mogle biti različite u svojim ekološkim tolerancijama.

U klimatskim uvjetima južne Dalmacije brzi razvojni ciklus vrste *A. spiniferus*, uz visoku produktivnost ženki, uvelike utječe na gustoću populacije ovog štetnika (Grafikon 4.1.1.8. i 4.1.1.9.). Rast populacije odraslih prati porast mladica, što vlasnicima nasada može ukazivati na potrebu primjene insekticida.

U prethodnim literaturnim istraživanjima gustoća populacije odraslih stadija *A. woglumi* prikazana je kroz maksimalni broj uhvaćenih odraslih stadija, dosežući od 450 jedinki po žutoj ljepljivoj ploči u srpnju, pa čak do 681 jedinke odraslog stadija u prosincu (Nguyen i sur., 1983). U Republici Hrvatskoj, prema istraživanju na žutoj ljepljivoj ploči postavljenoj u travnju 2021., ulovljeno je 810 jedinki odraslih stadija, što je više u odnosu na ulovljene jedinke *A. woglumi*, dok u srpnju i u prosincu odrasli stadiji *A. spiniferus* nisu uočeni. Visoka

gustoća populacije *A. woglumi* u srpnju može biti povezana s povoljnijim ljetnim uvjetima, uključujući više temperature i veću dostupnost hrane, brži razvoj i reprodukciju. S druge strane, povećanje broja uhvaćenih odraslih stadija *A. woglumi* u prosincu može biti posljedica prilagodljivosti ove vrste na umjerenije zimske uvjete. U budućnosti, evidentiranje odraslih stadija *A. spiniferus* tijekom prosinca može pružiti korisne naznake o adaptabilnosti vrste i njezinoj sposobnosti preživljavanja u zimskim mjesecima, sugerirajući mogući viši broj generacija tijekom godine, kako su naveli Murad i Ba-Angood (2021), Dowell i Fitzpatrick (1978) te Akrivou i sur. (2021).

Zaključno, praćenjem gustoće populacije štetnika (Grafikon 4.1.1.8. i 4.1.1.9.) i primjenom odgovarajućih mjera zaštite mogu se prevenirati ogromne štete koju ovaj štetnik uzrokuje. Prema Shreck i sur. (2006) poznavanje maksimuma zaraze štetnikom predstavlja važan alat za upravljanje poljoprivrednom proizvodnjom.

5.1.2 Prirodni neprijatelji

U vlastitom istraživanju analizirani su prirodni neprijatelji narančina trnovitog štitastog moljca agruma, *A. spiniferus*, s posebnim naglaskom na parazitoide i predatore.. Tijekom provedbe istraživanja parazitoidne osice nisu zabilježene, niti su zabilježene parazitirane kukuljice. Na temelju pregleda literature zaključak je da su parazitoidne osice, posebice *E. smithi*, ključni prirodni neprijatelji koji su se pokazali iznimno učinkovitima u suzbijanju ovog štetnika. Istraživanja (Quezada, 1974; Muniappan i sur., 1992; Van den Berg i Greenland, 1997; Evans, 2007b; Cioffi i sur., 2013; Nugnes i sur., 2020) naglašavaju prevlast parazitoidnih osica iz porodice Aphelinidae u suzbijanju *A. spiniferus*. Posebno se ističe *E. smithi* kao najisplativija i najučinkovitija parazitoidna osica, čije su prednosti brzo uspostavljanje populacije i smanjenje broja štetnika, kako navode istraživanja Muniappan i sur. (1992) te Muniappan i sur. (2006). Ovaj trend posebno je vidljiv u južnoj Africi, gdje je klasična biološka metoda suzbijanja putem parazitoidnih osica, uključujući *E. smithi*, pokazala svoju učinkovitost što potvrđuju Van den Berg i sur. (2000). Osim *E. smithi*, Nguyen i sur. (1983) navode istraživanje parazitacije s *A. hesperidum* na vrsti *A. woglumi*. Parazitoidne osice *A. hesperidum* su, prema Nguyen i sur. (1983), izrazito djelotvorne za vrijeme hladnijih dana i visoke relativne vlažnosti zraka.

U vlastitom istraživanju identificirana je prisutnost određenih predatorskih vrsta kao potencijalnih prirodnih neprijatelja *A. spiniferus*. Ličinke *C. carnea* i *C. arcuatus* i odrasli stadiji *C. carnea* pokazali su se kao značajni predatori, pri čemu je *C. carnea* također prepoznata kao korisna u suzbijanju drugih štetnika. Istraživanja koja potvrđuju ovu činjenicu proveli su brojni autori (Žanić, 1999; Maceljki, 2002; Sanchez i Chittaro, 2022i dr.). Iako je evidentirana prisutnost određenih predatora, njihov broj i učinkovitost u suzbijanju *A. spiniferus* zahtijeva daljnja istraživanja (Tablica 4.1.2.1). U pregledu listova na prisutnost ostale entomofaune uočena je prisutnost ličinki i odraslih stadija vrste *C. arcuatus* i odrasli stadij *C. renipustulatus* (Tablica 4.1.2.1). Vrsta *C. arcuatus* je sredozemna vrsta koja preferira toplije klime i koja je, usprkos svom prirodnom okolišu, zabilježena i u središnjoj Europi. Ova vrsta jedan je od predatora štitastih moljaca prema Bathon i Pietrzik (1986), Sanchez i Chittaro (2022) i Cioffi i sur. (2013). Međutim, važno je napomenuti da, iako je ova vrsta identificirana, njezin broj i doprinos suzbijanju *A. spiniferus* nije detaljno proučen. Ova vrsta, kao i njezina učinkovitost kao prirodnog neprijatelja, predstavlja važnu temu za buduća istraživanja i razumijevanje ekoloških interakcija između predatora i štetnika.

Također, u nasadu su zabilježene razne vrste paukova čije mreže su uhvatile odrasle razvojne stadije *A. spiniferus*. Na mladim izbojcima zaraženim lisnim ušima primijećene su

razne vrste božjih ovčica koje su se hranile lisnim ušima. Postoji potencijalna mogućnost da su se ove božje ovčice također hranile i jajima vrste *A. spiniferus*.

Međutim, ciljevi rada nisu uključivali istraživanje predatorskog učinka navedenih vrsta na populaciju *A. spiniferus*.

Općenito, broj prirodnih neprijatelja *A. spiniferus* koji je zabilježen na području južne Dalmacije vrlo je oskudan u odnosu na broj njegovih prirodnih neprijatelja u svijetu. Vrsta *A. spiniferus* još uvijek je novi štetnik koji predstavlja veliki fitosanitarni rizik, pogotovo za područje doline Neretve. Trenutačno je suzbijanje ove vrste štetnika pred izazovom jer su kemijska sredstva koja se koriste za suzbijanje samo djelomično učinkovita. Korištenje kemijskih sredstava za suzbijanje vrste *A. spiniferus* u nasadima agruma predstavlja izazov s obzirom na negativan utjecaj na prirodne neprijatelje. Direktno suzbijanje kemijskim sredstvima postaje izazovno u velikim nasadima zbog visoke disperzije štetnika i leta odraslih jedinki kako navode Uygun i sur. (2010) i Cioffi i sur. (2013). Efikasnost kemijskih sredstava kontaktnog djelovanja ograničena je činjenicom da ona djeluju samo kad dođu u izravan kontakt sa štetnikom, što je teško postići u velikim nasadima agruma (Cioffi et al., 2013). Zbog rasprostranjenosti štetnika i brojnih biljaka domaćina, primjena kemijskih sredstava protiv vrste *A. spiniferus* pokazala se djelomično učinkovitom (Gyeltshen and Hodges, 2005; Šimala i sur., 2013). Kako bi se pomoglo proizvođačima agruma u svijetu, preporučuje se primjena bioloških mjera u borbi protiv ovog štetnika. Način suzbijanja treba se temeljiti na praćenju leta odraslih razvojnih stadija i to pomoću žutih ljepljivih ploča. Međutim, žute ljepljive ploče se najviše koriste za signalizaciju i mehaničko smanjenje populacije u uvjetima slabog napada, i to samo za odrasle stadije, dok su preimaginalni stadiji zaštićeni od ovog načina suzbijanja. Praćenje leta odraslih razvojnih stadija pomoću žutih ljepljivih ploča važna je metoda za određivanje veličine populacije, početka, vrhunca i kraja leta, što može pomoći u planiranju efikasnijeg suzbijanja štetnika. U kombinaciji s drugim metodama suzbijanja, poput primjene insekticida, žute ljepljive ploče mogu biti korisne u smanjenju populacije *A. spiniferus*.

Kombinacija različitih metoda, uključujući upotrebu žutih ljepljivih ploča u praćenju populacije i primjenu insekticida, može pružiti učinkovitu strategiju suzbijanja štetnika. Osim toga, istraživanje endoparazitskih osica kao potencijalnih prirodnih neprijatelja također bi trebalo biti predmet budućih istraživanja. U svijetu prevladava trend biološkog suzbijanja vrste *A. spiniferus* endoparazitskim osicama, što dovodi do smanjenog broja štetnika, smanjene primjene kemijskih sredstava, diverzifikaciji faune i očuvanja okoliša.

5.1.3 Biljke domaćini

Biljke domaćini narančina trnovitog štitastog moljca su biljne vrste na kojima su zabilježene prazne, od odraslih stadija napuštene „kukuljice“ štetnika.

Vlastita istraživanja potencijalnih biljaka domaćina pokazala su da neke biljne vrste, poput *A. sellowiana*, *A. deliciosa* 'Hayward', *A. elatior*, *S. domestica*, *A. unedo* i *P. tobira* 'nanum', ne podržavaju biološki razvoj *A. spiniferus*. Pretpostavka je da prisutnost gustih dlaka na naličju listova, posebno kod vrsta *A. sellowiana* i *A. deliciosa*, sprječava hranjenje i polaganje jaja ove vrste. Slično tome, vrsta *S. domestica* ili oskоруša ima tanke, pustenaste dlake na naličju lista u početnim fazama listanja koje se kasnije zgusnu i otpadnu. Pretpostavlja se da ove karakteristike dodatno ometaju razvoj *A. spiniferus* jer jedinke nemaju dovoljno snažno rilo za probijanje tvrde kutikule lista biljke domaćina.

U provođenju istraživanja doktorske disertacije na testiranoj biljci *A. unedo* nije došlo do biološkog razvoja vrste *A. Spiniferus*, a u Italiji je vrsta *A. unedo* identificirana kao potencijalna biljka domaćin (Nugnes i sur., 2019). Ova odstupanja mogu se tumačiti na različite načine. Prva mogućnost leži u tvrdoj kutikuli lista biljke *A. unedo* koja može otežati ili onemogućiti prodiranje rila i razvoj ličinki *A. spiniferus*. Ova fizička barijera može djelovati kao obrambeni mehanizam biljke protiv štetnika. S druge strane, moguće je da su istraživači iz Italije primijetili samo odrasli stadij *A. spiniferus* na naličju lista *A. unedo*, bez tragova razvoja jaja ili ličinki.

Slična situacija primijećena je i kod biljke *P. tobira*. Na temelju provedenih vlastitih istraživanja primijećeno je odlaganje jaja štetnika *A. spiniferus* na listove *P. tobira* 'nanum'. Međutim, razvoj jaja nije zabilježen, što se može pripisati jačanju kutikule lista i razvoju dlačica na naličju. Vrsta *P. tobira* jedna je od najčešćih biljaka domaćina štitastih moljaca (Martin i Mould, 2007), a najčešći zabilježeni štitasti moljci su *A. aucubae* i *Aleuroclava hikosanensis* Takahashi, 1938 (Suh, 2010; Šimala i sur., 2015). Mogući uzroci zašto nije došlo do razvoja jaja uključuju fizičke karakteristike lista, kemijske sastojke ili biotske interakcije koje nisu bile prikladne za razvoj *A. spiniferus*.

Analiza već poznatih biljaka domaćina *A. spiniferus* vizualnim pregledima potvrdila je prisutnost ovog štetnika na različitim biljkama (Tablica 4.1.3.1), kao što su *Hedera helix* L., *Laurus nobilis* L., *Punica granatum* L., *Malus* spp. i *Prunus* spp, *Vitis vinifera* L., *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl, *Cydonia oblonga* Mill. Ove biljke domaćini već su dokumentirane u literaturi kao biljke domaćini *A. spiniferus* (EPPO/OEPP, 2002a; Evans, 2007a; Cioffi i sur., 2013; Nugnes i sur., 2019i dr.).

U 2022. godini (27. 6. 2022), slučajnim pregledom ukrasnog bilja na jednom privatnom posjedu u Orašcu, utvrđene su „kukuljice“ vrste *A. spiniferus* na biljci *Schefflera arboricola*

(Hayata). Ukrasna vrsta *S. arboricola* spada u porodicu Araliaceae koja je prema literaturnim podacima uključena u porodice biljaka domaćina. Vrsta *S. arboricola* do danas nije registrirana kao biljka domaćin *A. spiniferus*.

Nugnes i njegovi suradnici (2019) navode *A. spiniferus* na vrsti *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle, što je prvi slučaj zabilježenog napada ovog štetnika na ovu vrstu. Iako su patogeni i štetnici na *A. altissima* temeljito proučeni (Maschek i Halmschlager, 2018; Ding i sur., 2006), *A. spiniferus* dosad nije bio evidentiran kao štetnik na vrsti *A. altissima*. Otkriće *A. spiniferus* na biljci *A. altissima* ukazuje na izrazitu polifagnoz i širi raspon biljaka na kojima ovaj štetnik može načiniti štetu. Važno je istaknuti da je ovaj nalaz prvi put dokumentiran, naglašavajući potrebu za daljnjim istraživanjima o endosimbiontima štetnika koji su odgovorni za prilagodljivost ovog štetnika na biljku domaćina (Su i sur., 2014a; Su i sur., 2014b; Bubici i sur., 2020). Jedina vrsta štitastog moljca koja je prijavljena na vrsti *A. altissima* je *D. citri*, dok se vrsta iz iste porodice, *Ailanthus excelsa* (Roxb.) čini dobro poznatim domaćinom za najmanje četiri različita roda štitastih moljca, a *A. spiniferus* nije uključen u tu kategoriju (Nugnes i sur. 2019).

Raspravljajući o rasprostranjenosti *A. spiniferus* u različitim mediteranskim zemljama i širom svijeta, važno je naglasiti značaj raznolikosti biljnih vrsta na kojima ovaj štetnik može načiniti štetu. Prema dostupnoj literaturi (Cioffi i sur., 2013; Kapantaidaki i sur., 2019; Nugnes i sur., 2020; Radonjić i Hrnčić, 2021) potvrđeno je prisustvo *A. spiniferus* na više od 20 različitih biljnih vrsta u mediteranskim zemljama. U Italiji je vrsta zabilježena na 11 različitih biljnih porodica (Rutaceae, Vitaceae, Araliaceae, Ebenaceae, Leguminosae, Caesalpiniaceae, Malvaceae, Lauraceae, Moraceae, Punicaceae i Rosaceae). Biljke domaćini otkrivene su u urbanim područjima, parkovima, okućnicama i u prirodnim zaštićenim područjima. Ova činjenica naglašava širok spektar domaćina koje ovaj štetnik može kolonizirati u mediteranskom bazenu. Još je značajnije globalno istraživanje koje prema autorima (Evans, 2007a; EPPO, 2022a; Gillespie, 2012; Dubey i Ko, 2012; Martin, 1999 i dr.) ukazuje na još impresivniju raznolikost biljnih domaćina *A. spiniferus*. Prema dostupnim podacima ovaj štetnik je potvrđen na više od 112 različitih biljnih vrsta širom svijeta. Ova brojka jasno pokazuje prilagodljivost i širinu ekološkog spektra *A. spiniferus*, što ga čini ozbiljnim fitosanitarnim izazovom na globalnoj razini, pogotovo tamo gdje su pojedine biljke domaćini ekonomski značajne poljoprivredne kulture.

Prema istraživanjima brojnih autora i prema njihovim navodima (Mound i Halsey 1978; Cioffi i sur., 2013; Evans, 2007b; Gillespie i sur., 2012; Dubey i Ko, 2012 i dr.) o biljkama domaćinima *A. spiniferus* ključno je za razumijevanje interakcija između štetnika i njegovih biljaka domaćina. Prema njihovim navodima *A. spiniferus* napada različite biljne porodice, međutim, postoji sumnja u točnost entomološke identifikacije. Prema Kanmya i sur. (2011)

dosta dugo se vrsta *A. camelliae* poistovjećivala s vrstom *A. spiniferus*. Nedovoljna istraženost do 2011. godine postavlja važna pitanja o valjanosti ranijih nalaza različitih biljaka domaćina vrste *A. spiniferus*. Identifikacija štetnika na temelju njegovih biljaka domaćina nije pouzdana metoda i ne može imati ključnu ulogu u identifikaciji vrste, posebice kod polifagnih vrsta kukaca. Jedina relevantna znanstvena metoda identifikacije vrsta štitastih moljaca na kojoj se temelji taksonomija i dijagnostika ove porodice je determinacija na osnovi morfoloških karakteristika posljednjeg razvojnog stadija ličinke („kukuljica“), odnosno egzuvija.

5.2 Rasprava o biološkim obilježjima *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima

5.2.1 Životni ciklus u kontroliranim uvjetima

Metoda Argov i sur., korištena na početku, (1999) predviđjela je 60 % relativnu vlažnost zraka, no prva godina istraživanja pokazala je da su svi preimaginalni razvojni stadiji (jaja i ličinke) uginuli na svim temperaturama. Ova pojava vjerojatno je bila rezultat niske relativne vlažnosti zraka, što se podudaralo s literaturom koja je ukazivala na potrebu više relativne vlažnosti zraka za pravilan razvoj ovog štetnika (EPPO, 2022b; EFSA, 2018; Murad i Ba-Angood, 2021). Nakon prilagodbe relativne vlažnosti zraka na 80 % provedena istraživanja pokazala su značajne promjene u životnom ciklusu štetnika. Povećanje relativne vlažnosti zraka imalo je ključnu ulogu u poticanju razvoja štetnika, što je potvrđeno kao ključni parametar u kontroliranim uvjetima. Osim temperature i vlažnosti zraka, biljka domaćin također je imala značajan utjecaj na duljinu razvoja štetnika, što je u skladu s prethodnim studijama (Basu, 1955, cit. Šimala, 2008).

U provedenom istraživanju životnog ciklusa vrste *A. spiniferus* pri različitim konstantno održanim temperaturama zabilježene su značajne promjene u vremenu trajanja razvojnog ciklusa. Razdoblje razvoja izraženo u danima svakog pojedinog preimaginalnog razvojnog stadija vrste *A. spiniferus* prikazano je Grafikonom 4.2.1.4., dok je Grafikonom 4.2.1.5. prikazan ukupni vremenski razvoj od jaja do odraslog razvojnog stadija vrste *A. spiniferus* na četiri različite temperature. Uz relativnu vlažnost zraka temperatura je jedan od ključnih faktora koja utječe na ovu vrstu. Na temperaturi od 20 °C, zabilježen je najduži razvojni period od 79 dana (Grafikon 4.2.1.1.). Niske temperature mogle su biti razlog ovako dugotrajnom razvoju, uz pretpostavku da značajno usporavaju reproduktivni ciklus *A. spiniferus*.

Optimalna temperatura za razvoj vrste *A. spiniferus* iznosi 25 °C, što se poklapa s rezultatima drugih istraživanja (Dowell i Fitzpatrick, 1978; Akrivou i sur., 2021). Na ovoj temperaturi razvoj jedne generacije završava za 56 dana, što je brže u usporedbi s razvojem na 20 °C (Grafikon 4.1.1.2). Umjereno toplo okruženje pogoduje bržem razvoju ove vrste i manjem isušivanju jaja, što je važno za razumijevanje njezina biološkog ciklusa i upravljanje populacijama.

Pri temperaturi od 30 °C razvoj *A. spiniferus* značajno ubrzava i završava za 42 dana, 14 dana brže nego na 25 °C (Grafikon 4.1.1.3). Na ekstremnoj temperaturi od 35 °C razvoj jaja je zaustavljen, a razvojni ciklus nije dovršen. Crna, odumrla jaja zabilježena su već 14. dan nakon polaganja, što upućuje na činjenicu da je temperatura od 35 °C bila letalna za razvoj *A. spiniferus*. Dobiveni se rezultat istraživanja ne slaže s podacima iz recentne literature u

kojoj se navodi temperatura od 43 °C pri kojoj razvoj *A. spiniferus* prestaje (EPPO, 2022a; EFSA, 2018; Akrivou i sur., 2021; Jansen i Porcelli, 2018, Šimala i sur, 2013). Navedena temperatura odnosi se na vrstu *A. woglumi* što potvrđuje Cherry (1979) i Akrivou i sur., (2021). Uprkos opsežnom pregledu literature, nije pronađen egzaktni podatak o latentnoj temperaturi vrste *A. spiniferus*, međutim kako navodi kako navodi EFSA (2020) *A. spiniferus* pokazuje veću otpornost na niže temperature u usporedbi s *A. woglumi*. Na temelju ovih saznanja, pretpostavlja se da bi *A. spiniferus* mogao imati niži prag tolerancije na visoke temperature, odnosno na temperature niže od 43 °C, dok *A. woglumi* uspjeva na nižim nadmorskim visinama, odnosno pri višim temperaturama.

Povezanost između temperature i trajanja pojedinih razvojnih faza ima značajan utjecaj na životni ciklus vrste. Zabilježeno je da se razvoj jaja produžuje na nižim temperaturama – potrebno je 20 dana za razvoj na temperaturi od 20 °C, dok se na temperaturi od 25 °C razvoj skraćuje na 15 dana, a na 30 °C na samo 10 dana. Ovi podaci sugeriraju da više temperature ubrzavaju razvoj jaja, što je u skladu s općenitom biološkom karakteristikom štetnika. Najduži razvoj prvog razvojnog stadija (L1) zabilježen je na najnižoj temperaturi od 20 °C i trajao je 17 dana. S druge strane, na temperaturi od 30 °C razvoj prvog stadija trajao je samo četiri dana. Razlika u trajanju prvog razvojnog stadija (L1) na temperaturama od 30 °C i 25 °C samo su tri dana, dok je razlika u trajanju prvog razvojnog stadija na temperaturama od 25 °C i 20 °C iznosila deset dana. Razvoj „kukuljice“ pruža uvid u temperaturnu sklonost i utjecaj temperature na razvoj vrste *A. spiniferus*. Primijećeno je da do bržeg razvoja „kukuljice“ dolazi na temperaturi od 25 °C i razvojni ciklus završava za 17 dana. S druge strane, na temperaturi od 30 °C razvoj kukuljice traje 21 dan (Grafikoni 4.2.1.1. – 4.2.1.3.). Ovi rezultati ukazuju na to da više temperature pogoduju sporijem razvoju kukuljice, što je u skladu s nalazima istraživanja Akrivou i suradnika (2021) za vrstu *A. woglumi*. Zanimljivo je primijetiti da se ovi podaci poklapaju s brojem odraslih stadija koji su izletjeli iz kukuljica. Na temperaturi od 25 °C zabilježeno je 46 odraslih stadija, dok su na temperaturi od 30 °C zabilježena samo dva odrasla stadija. Ova korelacija dodatno potvrđuje da umjerene temperature ne samo da skraćuju razvojni ciklus kukuljice, već i potiču veći broj uspješnih izlazaka iz kukuljica.

Uspoređujući razvojne cikluse štitastih moljaca, jasno je da temperatura igra ključnu ulogu u određivanju trajanja ovih ciklusa. Primjerice, za vrstu *T. vaporariorum*, potpuni razvojni ciklus traje od 25 do 30 dana na temperaturi od 21 °C, dok vrsta *B. tabaci* pokazuje najkraći razvoj na konstantnoj temperaturi od 26,7 °C, a vrijeme razvoja varira ovisno o biljci domaćinu (npr. 18,6 dana na slatkom krumpiru i 20,6 dana na krastavcu (Šimala, 2008)). Vrsta *P. myricae*, pod uvjetom da su temperatura 25 – 26 °C i relativna vlažnosti zraka 60 ± 5 %, ima razvojni ciklus od 24,4 dana prema Franco i sur. (1996), Soto i sur. (2002), Rose

i sur. (1981) i Uygun i sur. (1990). Za vrstu *D. citri*, pod uvjetom duljeg svjetlosnog dana (L16:D8) i temperature od 25 °C, razvoj, prema istraživanjima Lloréns i Capilla (1994) i Žanić (1999), traje 54 dana.

Za vrstu *A. spiniferus* dosad nisu istraženi temperaturni zahtjevi razvoja vrste te se često u literaturi navode podaci za *A. woglumi*, što može dovesti do netočnih zaključaka i nerazumijevanja bioloških karakteristika *A. spiniferus*. Na temperaturi od 32,2 °C vrsta *A. woglumi* potpuni razvojni ciklus završi za 60 dana, na temperaturi od 26,7 °C za 75 dana, a na temperaturi od 21,1 °C za 120 dana (French i sur., 1997). Iz dobivenih podataka može se zaključiti da na istim konstantnim temperaturama vrsta *A. spiniferus* pokazuje kraći razvojni ciklus u usporedbi s vrstom *A. woglumi*. Ova razlika u trajanju razvojnog ciklusa sugerira da vrsta *A. spiniferus* može biti sposobna za brže razmnožavanje i širenje u uvjetima koji odgovaraju tim određenim temperaturama, ali i nižim temperaturama (EFSA, 2018; Kanmya i sur., 2011). Međutim, kako bi se donijeli precizniji zaključci o temperaturnim zahtjevima i razvoju vrste, potrebno je provesti detaljnije istraživanje koje će proučiti njihove specifične reakcije na različite temperature.

Maksimalna temperatura za razvoj vrste *A. spiniferus* relativno je slična maksimalnoj temperaturi za preživljavanje kako navodi Akrivou i sur. (2021). Iz dobivenih vlastitih rezultata može se pretpostaviti da se za vrstu *A. spiniferus* predviđa maksimalna temperatura za razvoj od 35 °C. Međutim, kako bi se točno odredila maksimalna temperaturna vrijednost za razvoj ove vrste, potrebno je provesti daljnja istraživanja testirajući štetnika na temperature u rasponu od 30 do 35 °C. Ova istraživanja omogućit će relevantno određivanje temperaturnog maksimuma za razvoj vrste *A. spiniferus* i pružiti važne podatke o temperaturnim zahtjevima i prilagodbama ovog štetnika.

5.2.2 Indeks ovipozicije

Određivanje indeksa ovipozicije na različitim temperaturama pružilo je važne uvide u reproduktivno ponašanje *Aleurocanthus spiniferus*. Rezultati pokazuju značajne razlike u broju položenih jaja na različitim temperaturama, što ima ključnu ulogu u populacijskoj dinamici ovog štetnika.

Najmanje jaja ženke su odložile na temperaturama od 20 i 35 °C. Ovi rezultati sugeriraju da su ove temperature manje pogodne za reprodukciju ženki *A. spiniferus* i podudaraju se i s rezultatima istraživanja životnog ciklusa vrste u prirodi. Navedene temperature mogu dovesti do smanjenja reproduktivne aktivnosti štetnika. Najveći broj jaja odložen je na temperaturama od 25 i 30 °C, što ukazuje na optimalne uvjete za reproduktivnu aktivnost ženki. Ovi rezultati u skladu su s pretpostavkama da su temperature od 25 i 30 °C najpogodnije za razvoj *A. spiniferus*.

Na odlaganje jaja može utjecati i opće stanje biljke, gustoća populacije i drugi čimbenici (Reader, 1981).

Tijekom istraživanja zabilježeno je da *A. spiniferus* odlaže jaja na mlađim listovima, što navode i ostali autori (EPPO, 2022a, EFSA, 2018; Jansen i Porcelli, 2018). Prednost odlaganja jaja na mladim listovima za štetnika ima višestruku korist: plodnost ženke povećava se zbog poboljšane kvalitete hrane, dok su stari listovi manje povoljni za ishranu zbog čvrste kutikule te su prekriveni svlakovima prethodnih stadija i generacija. Rezultati navedenog istraživanja podudaraju se s rezultatima istraživanja Moran i Buchan (1975) koji su utvrdili dvostruko veći broj položenih jaja na mekim listovima u usporedbi s tvrdim listovima. Kao treća prednost odlaganja jaja na mladim listovima navodi se činjenica da mladi list ima veću vjerojatnost preživljavanja tijekom godine nego stariji list, što je važno za nepokretne stadije štetnika (Reader, 1981).

5.2.3 Seksualni indeks

Broj ženki bio je veći u odnosu na mužjake, stoga se postavlja pitanje o ujednačenosti pojave i prisutnosti mužjaka i ženke u nasadu. Također, navedeni rezultati istraživanja pokazuju da ženke štitastog moljca *A. spiniferus* prevladavaju u ukupnoj populaciji, a dominacija ženki mogući je pokazatelj povećanja broja *A. spiniferus*. Rezultat sugerira da se vrsta, osim spolno, razmnožava i partenogenetski i da reprodukcija ne ovisi isključivo o pojavi mužjaka što povećava biotički potencijal vrste. Odnos mužjaka i ženke dobar je pokazatelj visine buduće populacije i štetnosti. Međutim, prema Azab i sur. (1971), u obzir treba uzeti i godišnja doba jer, primjerice, omjer spolova vrste *B. tabaci* varira s obzirom na ranije navedeno. Istraživanja Manzano i Lenteren (2009) za vrstu *T. vaporariorum* zabilježila su veći broj mužjaka u ukupnoj populaciji u donosu na ženke te se njihov rezultat značajno razlikovao od „normalnog“ omjera spolova 1:1 koji su prethodno opisali Van Lenteren i Noldus (1990). Mogući uzroci ovakvih odstupanja mogli bi uključivati promjene u okolišnim uvjetima, biljkama domaćinima, klimatskim uvjetima ili geografskoj rasprostranjenosti. Kod vrste *A. spiniferus* potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdila točnost iznesenih rezultata omjera spolova i njihova prisutnost u nasadu tijekom cijele godine.

5.3 Identifikacija *Aleurocanthus spiniferus* PCR metodom i određivanje haplotipova

Mitohondrijsko COI sekvenciranje otkrilo je prisutnost dva haplotipa u uzorku *A. spiniferus*. Dobiveni haplotipovi pripadaju različitoj mitohondrijskoj haplogrupi koje su potvrđene u Italiji, Crnoj Gori i Grčkoj (Uesugi i sur., 2016; Kapantaidaki i sur., 2017; Nugnes i sur., 2020).

Ovim istraživanjem otkrivena su samo dva haplotipa (H1 i H2) na istim biljkama domaćinima, ali na različitim mjestima uzorkovanja. Oba haplotipa pripadaju i različitim haplogrupama. Haplotip H1 isti je kao haplotip H1 koji navodi Nugnes i sur. (2019), a koji se razlikuje od haplotipa iz Grčke, gdje su zabilježena četiri različita haplotipa (Kapantaidaki i sur., 2017). Haplotip H4 i haplotip H3 koje navode Kapantaidaki i sur. (2017) nisu pronađeni u populaciji u Republici Hrvatskoj ni u populaciji u Italiji. Nugnes i sur. (2019) navode moguće uzroke tomu – haplotip H4 ima smanjenu difuziju jer je prisutan samo u Grčkoj, a haplotip H3 nije pronađen zbog moguće loše difuzije ili prevladavanja drugih haplotipova.

Utvrđeni haplotip H2 nedavno je potvrđen u uzorcima u Italiji i u Crnoj Gori (Nugnes i sur., 2019).

Identificirani haplotipovi, povezani s različitim biljnim domaćinima i geografskim područjima na otoku Krku, Grčka, ukazuju na raznolikost genetske strukture populacija. Važno je naglasiti da je otkrivanje novih haplotipova, poput H3 i H4, od posebnog značaja jer ukazuje na moguću lokalnu evolucijsku raznolikost ili prisutnost specifičnih područnih varijacija (Kapantaidaki i sur., 2017). Analiza genetske sličnosti među populacijama može ukazati na pitanja vezana za migraciju, razmjenu gena i moguću evoluciju štetnih organizama. Detaljna analiza ovih rezultata može pružiti uvid u dinamiku širenja i prilagodbe populacija na različite uvjete okoline i domaćine. Nadalje, otkrivanje sličnih haplotipova u udaljenim regijama, kao što je identičan haplotip H2 između Italije i Kine, sugerira moguće komercijalne i trgovinske putove putem kojih se organizmi šire.

Prema tome, rezultati pokazuju da na obalnom području Republike Hrvatske, tj. u južnome dijelu Dalmacije, prevladava haplotip H2, dok je na otoku Hvaru utvrđen samo haplotip H1. Iz dobivenih rezultata moguće je pretpostaviti da su postojala dva načina introdukcije vrste *A. spiniferus* u Republiku Hrvatsku. Jedan od načina ulaz je štetnika iz Crne Gore gdje je potvrđen haplotip H2, a pretpostavlja se da je introducirano transportom i zračnim strujanjem, a drugi je način putem sadnog materijala na ukrasnom bilju i sadnicama naranče koji je vjerojatno stigao iz Italije u kojem dominira haplotip H1 (Kapantaidaki i sur., 2017; Nugnes i sur., 2020).

Do 2011. smatralo se da su vrste *A. spiniferus* i *A. camelliae* iste vrste. Međutim, istraživanje Kanmya i sur. (2011) potvrđuje postojanje dviju različitih vrsta. Genetskom analizom mtCOI sekvenci potvrdila se značajna genetska diferencijacija između *A. camelliae* i *A. Spiniferus*, što potvrđuje i visoka vrijednost *bootstrapa* (0,99650). Genetskom analizom u Republici Hrvatskoj potvrđeno je kako prevladava vrsta *A. Spiniferus*, što potvrđuje i banka gena.

Ovim istraživanjem dobilo se uvid u moguće puteve introdukcije štetnika u različitim područjima Sredozemlja, s obzirom na to da su dosadašnja istraživanja potvrdila široku rasprostranjenost haplotipa H1 u zemljama Europske unije u kojima je provedena genetska analiza narančina trnovitog štitastog moljca (Grčka, Italija, Albanija, Crna Gora).

Genetička varijabilnost populacije narančina trnovitog štitastog moljca u EPPO području ograničena je na četiri haplotipa, dok su u Republici Hrvatskoj i u Italiji utvrđena samo dva. Stoga su potrebna daljnja istraživanja kako bi se razumjeli putevi širenja narančina trnovitog štitastog moljca *A. spiniferus*.

S obzirom na rasprostranjenost karantenskog štetnog kukca potrebno je posebno istaknuti opasnost od unosa novih vrsta na područje mediteranskog bazena, Europske unije i time i Hrvatske. Zbog svoje minijaturne veličine vrste iz reda Hemiptera, kao što je *A. spiniferus*, mogu proći nezamijećene tijekom uobičajenih pregleda biljnog materijala, a u uvjetima odgovarajuće klime i prisutnih biljaka domaćina može doći do prostornog širenja vrste. Unatoč postojećim propisima koji ograničavaju uvoz sadnog materijala agruma, otvoreno europsko tržište i slobodan protok roba među zemljama članicama Europske unije predstavljaju izazov u sprečavanju širenja novih karantenskih vrsta.

Nadalje, nedovoljna svijest među populacijom koja nije izravno uključena u sustav biljnog zdravlja dodatno doprinosi riziku od ilegalne trgovine sadnicama koja može služiti kao ulazna točka za nove štetne organizme poput *A. spiniferus*.

S obzirom na navedene izazove nužno je osnažiti regulativni okvir i nadograditi edukacijske napore kako bi se sprječilo unos novih vrsta na teritorij Europske unije i Republike Hrvatske. Osim usklađivanja zakonskih propisa važno je informirati širu javnost o potencijalnim opasnostima ovakvih organizama i potaknuti suradnju između različitih sektora, uključujući vlasti, trgovce biljnim materijalom i lokalne zajednice, kako bi se zajednički djelovalo u zaštiti biljaka od štetnih organizama.

6 ZAKLJUČCI

Prvi cilj ovog istraživanja bio je istražiti životni ciklus i izraditi fenogram razvoja vrste *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima i kontroliranim uvjetima.

- Postavljena je prva hipoteza kako je razvoj vrste *A. spiniferus* u prirodnim uvjetima duži te se razlikuje u odnosu na razvoj vrste *A. spiniferus* u kontroliranim uvjetima.

Istraživanjem razvojnog ciklusa narančina trnovitog štitastog moljca *A. spiniferus* u južnom dijelu Dalmacije (Republika Hrvatska) utvrđeno je da je cjelokupni razvoj vrste u prirodnim uvjetima duži u odnosu na razvoj štetnika u kontroliranim uvjetima. U klimatskim prilikama Republike Hrvatske štetnik se na agrumima javlja tijekom travnja, a razvoj štetnika povezan je s porastom mladica agruma. U ljetnim mjesecima, napose u srpnju, razvoj štetnika značajno se usporava zbog izrazito sušnih uvjeta i visoke temperature. U rujnu je zabilježen maksimum populacije. U studenom razvoj vrste prestaje zbog nižih temperatura i štetnik prezimljuje u obliku „kukuljice“. Štetnik ostvaruje tri generacije godišnje. Tijekom druge i treće generacije dolazi do preklapanja generacija uz istovremenu pojavu svih razvojnih stadija štetnika. U prirodnim uvjetima razvoj vrste od stadija jaja do pojave odraslih stadija traje od 41 do 105 dana, dok je u kontroliranim uvjetima najduži razvoj zabilježen na temperaturi od 20 °C i trajao je 79 dana. Najkraći razvoj zabilježen je na temperaturi od 30 °C kada je potpuni razvoj završen nakon 42 dana. Ovime se prva postavljena hipoteza **prihvaća**.

Drugi cilj ovog istraživanja je bio utvrditi nove biljke domaćine vrste *A. spiniferus*.

- Postavljena je druga hipoteza kako će na istraživanim biljkama domaćinima doći do cjelokupnog embrionalnog i postembrionalnog razvoja vrste *A. spiniferus*.

Na testiranim potencijalnim biljkama domaćinima *A. sellowiana*, *A. deliciosa* 'Hayward', *A. elatior*, *S. domestica*, *A. unedo* i *P. tobira* 'nanum' nije zabilježeno odlaganje jaja štetnika niti je zabilježena prisutnost drugih razvojnih stadija vrste *A. spiniferus*, odnosno, nije došlo do embrionalnog i postembrionalnog razvoja vrste *A. spiniferus*, te se druga postavljena hipoteza **ne prihvaća**.

Vizualnim pregledima poznatih biljaka domaćina vrste *A. spiniferus* vrsta je zabilježena na 22 biljne vrste iz šest različitih porodica. Najčešća učestalost pojave zabilježena je na vrstama *Hedera helix* L., *Vitis vinifera* L., *Parthenocissus quinquefolia* (L.) Planch., *Rosa* sp., *Punica granatum* L., *Laurus nobilis* L., *Pyrus communis* L. i *Cydonia oblonga* Mill.

Treći cilj bio je utvrditi haplotipove *A. spiniferus* na temelju analize mitohondrijske DNA citokrom C oksidaze podjedinice I.

- Postavljena je treća hipoteza da populacija vrste *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj pripada samo jednoj haplogrupi i jednom haplotipu.

Istraživanjem je utvrđena prisutnost dva haplotipa, H1 i H2, u populaciji narančina štitastog moljca *A. spiniferus* u Republici Hrvatskoj. Dva haplotipa pripadaju dvjema različitim haplogrupama. Haplotip H1 vjerojatno je podrijetlom iz Italije, dok se haplotip H2 može povezati s unosom iz Crne Gore. Navedeni rezultat ukazuje na mogućnost dva načina introdukcije ove invazivne vrste u Republiku Hrvatsku. Dosadašnja istraživanja ukazuju na široku rasprostranjenost haplotipa H1 u zemljama Europske unije gdje su provedene genetske analize štetnika. Iako je genetička varijabilnost populacije narančina trnovitog štitastog moljca u EPPO području ograničena na samo četiri haplotipa, potrebna su daljnja istraživanja kako bi se bolje razumjeli putevi širenja vrste *A. spiniferus*. U skladu s nevedenim treća hipoteza se **ne prihvaća**.

Iz svega navedenog proizlazi da *A. spiniferus* zbog svojih bioloških značajki opravdano zaslužuje karantenski status i predstavlja značajan fitosanitarni rizik i ozbiljnu prijetnju u uzgoju agruma, što ga čini posebice zanimljivim i istraživanja vrijednim štetnim organizmom. Istraživanja tog štetnika o kojem ima vrlo malo podataka u literaturi nužna su za razvijanje strategija njegova suzbijanja kako bi se očuvala proizvodnja poljoprivrednih kultura i očuvao okoliš. Važno je naglasiti potrebu za razvojem održivih metoda suzbijanja koje minimiziraju štetu kako na agrumima tako i u okolišu i ljudskom zdravlju. Sustavnim istraživanjem biljaka domaćina, praćenjem populacije štetnika i istraživanjem učinkovitosti prirodnih neprijatelja mogu se razviti učinkoviti programi za suzbijanje ovog štetnika u poljoprivrednoj proizvodnji. Važno je educirati javnost i sve sudionike poljoprivredne proizvodnje o sprječavanju širenja tog karantenskog štetnika, jer je edukacija najvažniji resurs uspjeha i preživljavanja.

7 LITERATURA

1. **Aboussaid H., El-Aouame L., El-Messoussi S., Oufdou K. (2010).** Biological Activity of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) Strains on Larvae and Adults of *Ceratitis Capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). JEP 1: 337–345.
doi: [10.4236/jep.2010.14040](https://doi.org/10.4236/jep.2010.14040)
2. **Akrivou, A., Georgopoulou, I., Papachristos, D. P., Milonas, P. G., Kriticos, D. J. (2021).** Potential global distribution of *Aleurocanthus woglumi* considering climate change and irrigation. PLOS ONE 16 (12): 1-18.
doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261626>
3. **Almeida, L. F. V., Peronti, A. L. B. G., Martinelli, N. M., Wolff, V. R. S. (2018).** A Survey of Scale Insects (Hemiptera: Coccoidea) in Citrus Orchards in São Paulo, Brazil. Florida Entomologist 101 (3): 353-363. doi: [10.1653/024.101.0324](https://doi.org/10.1653/024.101.0324)
4. **Al-Zyoud, F. (2008).** Biology and predation potential of the Indian ladybug *Serangium montazerii* on *Bemisia tabaci*. Jordan Journal of Agricultural Sciences 4 (1): 26-40. Dostupno na: <https://journals.ju.edu.jo/JJAS/article/view/1021> [Pristupljeno:17. 7. 2023.]
5. **Andrianto, E., Kasai, A. (2022).** Wolbachia in black spiny whiteflies and their new parasitoid wasp in Japan: evidence of the distinct infection status on *Aleurocanthus camelliae* cryptic species complex. Insects 13, 788: 1-16.
doi: <https://doi.org/10.3390/insects13090788>
6. **Ansi, A. A., Alkhalaf, A. A., Fadl, H., Rasool, I., Al Dhafer, H. (2020):** An annotated checklist of Coccinelidae (Insecta, Coleoptera) with eight new records from the Kingdom of Sudi Arabia. ZooKeys 1006: 35-89.
doi: <https://doi.org/10.3897/zookeys.1006.59123>
7. **Appelhans, M. S., Bayly, M. J., Heslewood, M. M., Groppo, M., Verboom, G. A., Forster, P. I., Kallunki, J. A. and Duretto, M. F. (2021).** A new subfamily classification of the *Citrus* family (Rutaceae) based on six nuclear and plastid markers. TAXON, 70: 1035-1061. doi: <https://doi.org/10.1002/tax.12543>
8. **Argov, Y., Rössler, Y., Voet, H., Rosen, D. (2000).** Introducing *Encarsia lahorensis* against *Dialeurodes citri* in Israel: a case of successful biological control. BioControl 45: 1-10. doi: <https://doi.org/10.1023/A:1009924218437>
9. **Argov, Y., Rössler, Y., Voet, H., Rosen, D. (1999).** The biology and phenology of the citrus whitefly, *Dialeurodes citri*, on citrus in the Coastal Plain of Israel. Entomologia Experimentalis et Applicata 93: 21-27. doi: [10.1046/j.1570-7458.1999.00558.x](https://doi.org/10.1046/j.1570-7458.1999.00558.x)

10. **Argov, Y., Uygun, N., Porcelli, F., Baspinar, H. (2010).** Aleyrodidae (Rhynchota, Homoptera). Integrated Pest Management in Mediterranean Citrus 3: 1-14.
11. **Azab, A. K., Megahed, M. M., El-Mirsawi, D. H. (1971).** On the biology of *Bemisia tabaci* (Genn.) Soc. Entomol. D'Egypte Bull. 55: 305–315.
12. **Ba-Angood, S. A. S. (1977).** Field trials for the Control of *Aleurocanthus woglumi* in Yemen. PANS 23: 149-152. doi: <https://doi.org/10.1080/09670877709412420>
13. **Back, E. A., Pemberton, C. E. (1915).** Life history of the Mediterranean fruit fly from the standpoint of parasite introduction. Journal of Agricultural Research 3: 363-374.
14. **Bakarić P. (1978).** Mjere u sprječavanju pojave i širenja voćne muhe. Stanica za južne kulture, Dubrovnik. PPK Zagreb. Neretvanska, Opuzen
15. **Bakarić, P. (1983).** Uzgoj mandarine Unshiu. Stanica za Južne kulture, Dubrovnik.
16. **Bar-Joseph, M., Marcus, R., Lee, R. F. (1989).** The *continuous challenge of citrus tristeza virus control*. Annual Review of Phytopathology 27: 291-316
17. **Basu, A. N. (1955).** *Bemisia tabaci* (Gennadius) crop pest and principal whitefly vector of plant viruses. Westview Press, Boulder, United States.
18. **Bathon, H, Pietrzik, J. (1986).** Zur Nahrungsaufnahme des Bogen-Marienkäfers, *Clitostethus arcuatus* (Rossi), (Col. Coccinellidae), einem Vertilger der Kohlmottenlaus, *Aleurodes proletella* Linné (Hom., Aleyrodidae). Journal of Applied Entomology 102: 321–326. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1986.tb00930.x>
19. **Bink-Moenen, R. M. (1992).** Whitefly from Mediterranean oaks (Homoptera: Aleyrodidae). Systematic Entomology 17: 21-40. doi: [10.1111/j.1365-3113.1992.tb00318.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.1992.tb00318.x)
20. **Biranvand, A., Hesami, S., Gheibi, M., Fekrat, L., Nedved, O., Shakarami, J. (2018):** Contribution to the knowledge of Coccinellidae (Coleoptera) of Iran. Oriental Insects 53(2): 1-20. doi: [10.1080/00305316.2018.1482804](https://doi.org/10.1080/00305316.2018.1482804)
21. **Biško, A., Poljak, M., Benčić, Đ., Brus, K., Ivić, D. & Čoga, L. (2021)** Citrus fruit cultivation in the Republic of Croatia. Albanian Journal of Agricultural Sciences, 20 (3): 11-19.
22. **Bjeliš, M. (2006).** Suzbijanje sredozemne voćne muhe - *Ceratitis capitata* Wied primjenom SIT (Sterile Insect Technique) tehnike u dolini Neretve. Zbornik predavanj in referatov 8. slovenskega posvetovanja o varstvu rastlin, Radenci, 6. – 7. Marec, str. 193-198
23. **Blackman, R. L., Eastop V. F. (2000).** Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide. John Wiley Sons, London, 476pp
24. **Bonato, O., Lurette, A., Vidal, C., Fargues, J. (2006).** Modelling temperature-dependent bionomics of *Bemisia tabaci* (Q-biotype). Physiol Entomol. 32: 50-55. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2006.00540.x>

25. **Boisclair, J., Brueren, G. J., Van Lentereen, J. C. (1990).** Can *Bemisia tabaci* be controlled with *Encarsia formosa*? SROP/WPRS Bull 5; 32-35
26. **Boras, M. (2021).** Temperaturna obilježja i toplinsko opterećenje Dubrovnika. Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, diplomski rad (preuzeto s: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:188652>;22. 8. 2022.)
27. **Boykin, L. M., De Barro, P. J. (2014).** A practical guide to identifying members of the *Bemisia* species complex: and other morphologically identical species. *Frontiers in ecology and evolution* 2: 1-5. doi: <https://doi.org/10.3389/fevo.2014.00045>
28. **Brink, T., Hewitt, P. H. (1992).** The relationship between the white powdery scale, *Cribrolecanium andersoni* (Hemiptera: Coccidae), and sooty mould and the effect on photosynthetic rates of citrus. *Fruits*, 47(3): 413-417.
29. **Brown, W. M., George, M., Wilson, A. C. (1979).** The rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 76: 1967 – 1971. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.76.4.1967>
30. **Byrne, D. N., Bellows, Jr., T. S., Parrella, M. P. (1990).** Whiteflies in Agricultural Systems. U: *Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management* (ur. Gerling, D). Intercept Ltd. Andover, UK: 227-261.
31. **Bubici, G., Prigigallo, M. I., Garganese, F., Nugnes, F., Jansen, M., Porcelli, F. (2020).** First Report of *Aleurocanthus spiniferus* on *Ailanthus altissima*: Profiling of the Insect Microbiome and MicroRNAs. *Insects* 11(161): 1-22. doi: <https://doi.org/10.3390/insects11030161>
32. **Butler, G. D., Henneberry, T. J., Hutchison, W. D. (1986).** Biology, sampling and population dynamics of *Bemisia tabaci*. U: *Bemisia tabaci* an update 1986-1992 on the cotton whitefly with an annotated bibliography (Ur. Cock M.J.W), International institute of biological control, UK, 1-17.
33. **Caltagirone, L. E. and Douth, R. L. (1989)** The history of the vedalia beetle importation to California and its impact on the development of biological control. *Ann. Rev. Entomol.*, 34: 1-16.
34. **Carver, M. (1991).** Secretory spines in immatures of *Aleurocanthus Quaintance* and Baker (Hemiptera: Aleyrodidae). *J.Aust.ent. SOC.*, 30: 265-266. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.1991.tb00432.x>
35. **Catara, A. F., Bar-Joseph, M., Licciardello, G. (2021).** Exotic and Emergent Citrus Viruses Relevant to the Mediterranean Region. *Agriculture* 11 (9) 839: 1-27. doi: <https://doi.org/10.3390/agriculture11090839>

36. **Castle, S. J., Prabhakar N. (2011):** Field evaluation of two systemic neonicotinoid insecticides against pink hibiscus mealybug (*Maconellicoccus hirsutus* (Green)) on mulberry trees, *Journal of pest science*, 84: 363-371
37. **Chermiti, B., Dali, M., Messelmani, H., Onillon, J. C. (1992)** Control of the woolly whitefly, *Aleurothrixus floccosus* (Hom., Aleurodidae) by the parasitoid, *Cales noacki* (Hymenopt., Aphelinidae). *Proc. Int. Soc. Citriculture* 3: 1251-1255
38. **Cherry, R., Pastor, Jr. S. (1980).** Variations in population levels of citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* (Hom.: Aleyrodidae) and parasites during an eradication program in Florida. *Entomophaga* 25(4): 365-368.
doi: <https://doi.org/10.1007/BF02374698>
39. **Cherry, R. H. (1979).** Lethal temperatures of citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* [Hom.: Aleyrodidae] and its parasite, *Amitus hesperidum* [Hym.: Platygasteridae]. *Entomophaga* 24: 35-39. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02377507>
40. **Cioffi, M., Cornara, D., Corrado, I., Jansen, M. G. M., Porcelli, F. (2013).** The status of *Aleurocanthus spiniferus* from its unwanted introduction in Italy to date. *Bulletin of Insectology* 66(2): 273-281.
41. **Cocuzza M. G. E., Jovičić I., Frisenna, F., Tumminelli, R., Siscaro, G. (2023)** Discovery of *Serangium montazerii* Fürsch (Coleoptera, Coccinellidae) as a predator of *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Hemiptera, Aleyrodidae) in Italy. *EPPO Bulletin* 00: 1-11. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/epp.12924> [Pristupljeno: 27. 7. 2023]
42. **Colombo A. (2015).** Agrumi uzgoj - ukrasne i plodovite sorte, tehnike uzgoja u tlu i u posudi. Leo Commerce.
43. **Copeland, R. S., Wharton, R. A., Luke, Q., De Mayer, M. (2002).** Indigenous hosts of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Kenya. *Ann. Entomol. Soc. Am*; 95: 672-694. doi: [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0672:IHOCCD\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0672:IHOCCD]2.0.CO;2)
44. **Černi, S., Krajačić, M., Hartl, D., Gatin, Ž., Škorić, D. (2009).** Presence of *Citrus tristeza virus* in Croatia. *Options Méditerranéennes*, B n° 65 - *Citrus Tristeza Virus* and *Toxoptera citricidus*: a serious threat to the Mediterranean citrus industry. 89-92 (Preuzeto s: <http://sebina.iamb.it/sebina/repository/catalogazione/immagini/pdf/OM%20B65%20p.%2089-92.pdf>; 16. 7. 2022.)
45. **Díaz-Aranda, L.M., Monserrat, V.J. (1995):** Aphidophagous predator diagnosis: key to genera of European chrysopid larvae (Neur.; Chrysopidae). *Entomophaga*, 40 (2): 169-181. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02373066>

46. **Dietz, H. F., Zetek, J. (1920).** The black fly of the citrus and other subtropical plants. Bulletin 885. United States Department of agriculture agriculture, Washington
47. **Ding, J., Wu, Y., Zheng, H., Fu, W., Reardon, R., Liu, M. (2006).** Assessing potential biological control of the invasive plant, tree-of-heaven, *Ailanthus altissima*. *Biocontrol Sci. Techn*16(6): 547-566.
doi: <https://doi.org/10.1080/09583150500531909>
48. **Dowell, R. V. (1983).** Nitrogen levels in citrus leaves infested with immature citrus blackfly. *Entomologia experimentalis et Applicata* 34: 201-203.
49. **Dowell, R. V., Cherry, R. H., Fitzpatrick, G. E., Reinert, J. A., Knapp, J. L. (1981).** Biology, Plant - insect relations, and control of the Citrus Blackfly. Agricultural Experiment Stations. Institute of food and agricultural sciences, University of Florida, Gainesville; Bulletin 818: 1-49.
50. **Dowell, R. V., Cherry, R. H. (1981).** Detection of and sampling procedures for the citrus blackfly in urban southern Florida. *Research on Population Ecology* 23: 19-26.
doi: <https://doi.org/10.1007/BF02514090>
51. **Dowell, R. V., Fitzpatrick, G. E. (1978).** Effects of temperature on the growth and survivorship of the citrus blackfly (Homoptera: Aleyrodidae). *Canadian Entomologist*, 110(12): 1347-1350.
52. **Dubey, A. K., Ko, C. C. (2012).** Sexual dimorphism among species of *Aleurocanthus* Quaintance & Baker (Hemiptera: Aleyrodidae) in Taiwan, with one new species and an identification key. *Zootaxa* 3177: 1–23. doi: [10.11646/zootaxa.3177.1.1](https://doi.org/10.11646/zootaxa.3177.1.1)
53. **Durbešić, P., Stanić-Koštroman, S., Šerić Jelaska, L., Bruvo Mađarić, B. (2018).** *Entomologija – znanost o kukcima (osnovne spoznaje i primjena)*. Sveučilište u Mostaru, Mostar
54. **Ebeling, W. (1959).** *Subtropical Fruit Pests*. University of California, Division of Agricultural Sciences, Riverside, California
55. **EFSA - Panel on Plant Health (2018).** Pest categorization of *Aleurocanthus spp.*; *EFSA Journal* 16(10): 1-31; doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5436>
56. **El Kenawy, A., Baetan, R., Corrado, I., Cornara, D., Oltean, I., Porcelli, F. (2014).** *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Orange Spiny Whitefly, OSW) (Hemiptera, Aleyrodidae) invaded south of Italy. *Lucrări Științifice* 57(2): 25-28.
doi: [10.15835/buasvmcn-agr:11148](https://doi.org/10.15835/buasvmcn-agr:11148)
57. **English, L. L., Turnipseed, G. F. (1940).** Control of the Major Pests of the Satsuma Orange in South Alabama. Bulletin 248, Agricultural experiment station of the Alabama Polytechnic Institute.
58. **EPPO/ OEPP Bulletin (2021).** PM 6/3 (5) Biological control agents safely used in the EPPO region. *EPPO Bulletin*, 51, 452-454.

- doi: <https://doi.org/10.1111/epp.12801>
59. **EPPO/OEPP Bulletin (2022a)**. PM 7/007 (2) *Aleurocanthus citriperdus*, *Aleurocanthus spiniferus* and *Aleurocanthus woglumi*, 52(2): 346-361. Dostupno na: <https://gd.eppo.int/taxon/ALECSN> [Pristupljeno: 14. 2. 2023.]
 60. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (2010)**. Situation of *Aleurocanthus spiniferus* in Puglia region (IT). EPPO Reporting Service, 9, (2010/147): 2-3. Dostupno na: <https://gd.eppo.int/reporting/article-602> [Pristupljeno: 16. 9. 2022.]
 61. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (2018)**. *Aleurocanthus spiniferus* found in Croatia, EPPO Reporting Service, 10, (2018/192). Dostupno na: <https://gd.eppo.int/reporting/article-6386> [Pristupljeno: 4. 9. 2022.]
 62. **EPPO/OEPP Bulletin (2022b)**. First report of *Aleurocanthus spiniferus* in the Czech Republic. EPPO Reporting Service, 5, (2022/102). Dostupno na: <https://gd.eppo.int/reporting/article-7333> [Pristupljeno: 21. 4. 2023]
 63. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (2022c)**. First report of *Aleurocanthus spiniferus* in Belgium. EPPO Reporting Service, 5, (2022/101). Dostupno na: <https://gd.eppo.int/reporting/article-7332> [Pristupljeno: 21. 4. 2023.]
 64. **European and Mediterranean Plant Protection Organization (1997)**. *Aleurocanthus spiniferus*. In Quarantine Pests for Europe. 2nd edn, CAB International, Wallingford: 21-24.
 65. **Evans, G.A. (2007a)**. Host Plant List of the Whiteflies (Aleyrodidae) of the World. Dostupno na: http://entomofaune.qc.ca/entomofaune/aleurodes/references/Evans_2007_Hosts_whiteflies.pdf [Pristupljeno: 24. 4. 2022.]
 66. **Evans, G.A. (2007b)**. The Whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the world and their host plants and natural enemies. USDA/Animal Plant Health Inspection Service (APHIS).1-708. Dostupno na: https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/whitefly/PDF_PwP%20ETC/worldwhitefly-catalog-Evans.pdf [Pristupljeno: 1. 10. 2021.]
 67. **Fasulo, T. R., Weems, H. V. (1999)**. *Dialeurodes citri*. University of Florida, Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry.
 68. **Fotukiaii, S. M., Sahragard, A., Halajisani, M.F. (2013)**. Comparing demographic parameters of *Serangium montazerii* (Coleoptera: Coccinellidae) on citrus whitefly, *Dialeurodes citri* (Hemiptera: Aleyrodidae) fed on two host plants. Journal of Crop Protection 2, 51-61 (preuzeto s: <https://jcp.modares.ac.ir/article-3-4819-en.html>; 11. 8. 2023.)

69. **Franco, J. C., Cavaco, M., Carvalho, J. P., Fernandes, J. E. (1996).** Sobre a presença de *Parabemisia myricae* (Kuwana) (Homoptera; Aleyrodidae) em Portugal Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas, 22(3): 521-536.
70. **French, J. V.; Moreno, D. S.; Summy, K. R.; Sparks Jr, A. N. and Lummus, P. F. (1997).** Citrus blackfly. Texas A & M Kingsville , pp 4
71. **García Morales, M., Denno, B. D., Miller, D. R., Miller, G. L., Ben-Dov, Y., Hardy, N. B. (2016).** ScaleNet: a literature-based model of scale insect biology and systematics. Database. doi: <https://doi.org/10.1093/database/bav118>
72. **Gerling, D. Horowitz, A., Baumgärtner J (1986).** Autecology of *Bemisia tabaci*. Agriculture Ecosystems and Environment 17: 5-19. doi: [https://doi.org/10.1016/0167-8809\(86\)90022-8](https://doi.org/10.1016/0167-8809(86)90022-8)
73. **Gill, R. J. (1990).** The morphology of whiteflies. U: Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management (ur. Gerling, D.). Intercept Ltd.Andover, UK: 13-46
74. **Gillespie, P. (2012).** A review of the whitefly genus *Aleurocanthus* Quaintance & Baker (Hemiptera: Aleyrodidae) in Australia. Zootaxa 3252: 1-42. doi: [10.11646/ZOOTAXA.3252.1.1](https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.3252.1.1)
75. **Giorgi, F. (2006).** Climate change hot spots. Geophysical Research Letters, Dostupno na: <https://doi.org/10.1029/2006GL025734> [Pristupljeno: 25. 3. 2023.]
76. **Gong-Yin, Y., Qiang, X., Mao, C., Xue-xin, C., Zhi-Jun, Y., Stanley, D. W. Cui, H. (2014).** Tea: Biological control of insect and mite pests in China. Biological Control 68: 73-91. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.06.013>
77. **Gotlin Čuljak, T., Grubišić, D., Mešić, A., Juran, I. (2012).** List of aphids (Homoptera: aphidoidea) and their host plants in Croatia. Natura Croatica 21(1) :191-221. (preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/123974>; 20. 5. 2023.)
78. **Gotlin Čuljak, T., Juran, I. (2016).** Poljoprivredna entomologija – Sistematika kukaca. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet
79. **Griffiths, J., Thompson, W.L. (1957).** Insects and mites found on Florida citrus. Bulletin 591, University of Florida, Agricultural Experiment Stations, Gainesville, Florida, 1-94
80. **Gullan, P. J. (1999).** Why the taxon Homoptera does not exist. *Entomologica*, Bari, 33; 101-104. doi: <https://doi.org/10.15162/0425-1016/816>
81. **Gullan, P.J., Cook, L.G. (2007).** Phylogeny and higher classification of the scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea). Zootaxa 1668: 413-425. Magnolia press. Dostupno na: <https://www.mapress.com/zootaxa/2007f/zt01668p425.pdf> [Pristupljeno: 17. 9. 2022.]

82. **Gullan, P.nJ., Martin, J.nH. (2003).** Sternorrhyncha (Jumping Plant-Lice, Whiteflies, Aphids, and Scale Insects) 957-967 U: Resh, V., H., Cardé, R., H. Encyclopedia of insects. Academic Press, USA.
83. **Gullan, P.nJ., Martin, J.nH. (2009).** Jumping Plant lice, whiteflies, aphids, and scale insects U: Encyclopedia of Insects (Second Edition), Pages 957-967.
doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00253-8>
84. **Gyeltshen, J., Hodges, A., Hodges, G. S. (2005).** Orange Spiny Whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, str.1-4
85. **Gyeltshen, J., Hodges, A., Hodges, G. S. (2017).** Orange Spiny Whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). Department of Entomology and Nematology, UF/IFAS Extension, Gainesville (USA), str. 1-4.
86. **Hall, T. A. (1999).** BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41: 95-98
87. **Hart, W. G., Gausman, H. W., Rodrigez, R. R. (1976).** Citrus blackfly (Hemiptera: Aleyrodidae), feeding injury and its influence on the spectral properties of citrus foliage, J. Rio Grande Valley Hort. Soc., 30: 37-43.
88. **Hebert, P. D. N., Ratnasingham S., deWaard J. R. (2003b).** Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. Proceedings of the Royal Society of London, Series B. Biological sciences 270: 96-99.
89. **Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., deWaard, J. R. (2003a).** Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London, Series B. Biological sciences 270: 313-322.
90. **Hodges, G. S., Evans, G. A. (2005).** An Identification Guide to the Whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of the Southeastern United States. Florida Entomologist 88 (4), 518-534 (preuzeto s: <https://journals.flvc.org/flaent/article/view/75475>; 23. 7. 2022.)
91. **Hodgson, R., W., Frost, H., B. (1968).** The citrus industry - anatomy, physiology, genetics and reproduction. Volume II. University of California
92. **Iaccarino, F. M., Jesu, R., Giacometti, R. (2011).** *Paraleyrodes minei* Iaccarino 1990 (Homoptera: Aleyrodidae), new species for Italy, on *Citrus aurantium* L., 1758. Journal of Entomological and Acarological Research, Ser. II, 43(1): 1-6.
doi: <https://doi.org/10.4081/jear.2011.1>

93. **Iqbal, Z., Nasir, M. F., Bodlah, I. (2018):** Review of *Clitostethus* Weise, *Parastethorus* Pang and Mao and *Stethorus* Weise (Coleoptera: Coccinellidae) from Pakistan. *Oriental Insects* 53(3): 340-355. doi: [10.1080/00305316.2018.1492987](https://doi.org/10.1080/00305316.2018.1492987)
94. **Ismail, M., Zhang, J. (2004).** Post-harvest citrus diseases and their control. *Outlooks on Pest Management*, 15: 29-35.
95. **Jansen, M. (2011).** The whiteflies of the Netherlands, include two species new to the Dutch fauna (Hemiptera: Aleyrodidae). *Nederlandse Faunistische Mededelingen* 36: 69-98 (preuzeto s: <https://repository.naturalis.nl/pub/512717> 21.2.2023 ; 11. 3. 2022.)
96. **Jansen, M., Porcelli, F. (2018).** *Aleurocanthus camelliae* (Hemiptera: Aleyrodidae), is a species possibly new for the European fauna of a genus in great need of revision. *Tijdschrift voor Entomologie* 161(2): 63-78. doi: <https://doi.org/10.1163/22119434-00002075>
97. **Kaleb, M. (2014).** Razvoj uzgoja mandarina i ostalih agruma u dolini Neretve. *Agronomski glasnik br. 4-5*: 219-238. (preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/207384>; 31. 5. 2023.).
98. **Kanmiya, K., Ueda, S., Kasai, A., Yamashita, K., Sato, Y., Yoshiyasu, Y. (2011).** Proposal of new specific status for tea-infesting populations of the nominal citrus spiny whitefly *Aleurocanthus spiniferus* (Homoptera: Aleyrodidae). *Zootaxa* 2797: 25-44. doi: <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2797.1.3>
99. **Kapantaidaki, D. E., Antonatos, S., Kontodimas, D., Milonas, P., Papachristos, D.P. (2019).** Presence of the invasive whitefly *Aleurocanthus spiniferus* (Hemiptera: Aleyrodidae) in Greece, *Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin*, 49(1): 127-131. doi: <https://doi.org/10.1111/epp.12533>
100. **Kato, T. (1970).** Life cycles and overwintering stages of the spiny blackfly *Alurocanthus spiniferus* Quaintance. *Jap. J.appl. Ent. Zool.* 14: 12-18.
101. **Katsouannos, P. (1991).** First record of *Aleurothrixus floccosus* (Mask.) (Homoptera: Aleyrodidae) in Greece and some observations on its Phenology. *Entomologia Hellenica*, 9: 69-72. doi: <https://doi.org/10.12681/eh.13993>
102. **Kersing, U., Korkmaz, S., Cinar, A., Ertugrul, B., Onelge, N., Garnsey, S. (1997).** *Citrus Chlorotic Dwarf*, a new transmitted whitefly-transmitted disease in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Conference of International Organization of Citrus Virologists, Thirteenth IOCV Conference*, 220-225. doi: <https://doi.org/10.5070/C557z9324g>
103. **Kishida, A., Kasai, A., Yoshiyasu, Y. (2010).** Oviposition and Host-Feeding Behaviors of *Encarsia smithi* on a Tea-Infesting Population of the Citrus Spiny Whitefly *Aleurocanthus spiniferus*. *Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.* 54: 189-195

104. **Kodama, G. (1931).** Studies on *Aleurocanthus spiniferus* Quaint. U: *Wolbachia* in Black Spiny Whiteflies and Their New Parasitoid Wasp in Japan: Evidence of the Distinct Infection Status on *Aleurocanthus camelliae* Cryptic Species Complex (Ur. Andriato E., Kasai A.). *Insects* 2022, 13 (9): 1-16
105. **Korkmaz, S., Garnsey, S. M. (2000).** Major virus diseases: Chorotic dwarf U: Compendium of citrus diseases (ur.Timmer,P., Garnsey, S.M., Graham, T.) 55-56. 2nd. Edition. Pub. APS Press, str. 55-56
106. **Kovačević Ž. (1961).** Primjenjena entomologija – poljoprivredni štetnici. Školska knjiga, Zagreb
107. **Krpina, I. i sur., (2004).** Voćarstvo. Nakladni zavod Globus. 1-447
108. **Kypriotis, A., Katerinis, S., Andreadis, S.S. Navrozidis, E. (2017).** Presence, description, and developmental characteristics of the newly emerging quarantine pest *Aleurocanthus spiniferus* in Corfu. U: Abstract book of the 17th Panhellenic Entomological Congress, Athens, Greece, str. 74. (Preuzeto s: https://www.zin.ru/animalia/coleoptera/pdf/panhellenic_entomological_congress_2017_abstract_book.pdf; 14. 6. 2023.)
109. **Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J., Higgins, D. G. (2007).** Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947-8. doi: [10.1093/bioinformatics/btm404](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404)
110. **Lemos, L. (2008).** De Ação do fungo entomopatogênico *Aschersonia aleyrodís* e de derivados de nim no manejo de *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hemiptera: Aleyrodidae) em citros. 63f. Dissertation (Mestrado em Agroecologia). Centro de Ciências Agrárias, São Luis, Maranhão
111. **Lima, B. M. F. V., de Almeida, J. E. M., Moreira, J. O. T. dos Santos, L. C., Bittencourt, M. A. L. (2017).** Entomopathogenic fungi associated with citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi* Ashby) in Southern Bahia. *Arq. Inst. Biol.*, 84: 1-4. doi: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000102015>
112. **Liquido N. J., Barr P. G., Cunningham R. T. (1998).** An Encyclopedic bibliography of the Host Plants of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitís capitata* (Wiedemann), U: Fruit Fly Expert Identification System and Biosystematic Information Database (ur.Thompson F.C.), Agriculture Research Service. ARS – 144
113. **Lloréns, J. M., Capilla, M. A. (1994).** Evolución de la mosca blanca de los cítricos (*Dialeurodes citri* Ashmead), en la provincia de Alicante. *Bol. San. Veg. Plagas*, 20: 79-88.
114. **Lunt, D. H., Zhang, D. X., Szymura, J. M., Hewitt, G. M. (1996).** The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for

- phylogenetic studies. *Insect molecular biology* 5(3): 153-165. doi: [10.1111/j.1365-2583.1996.tb00049.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.1996.tb00049.x)
115. **Maceljiski, M. (2002).** Poljoprivredna entomologija, II. dopunjeno izdanje. Zrinski,Čakovec
116. **Malumphy, C., Radonjić, S., Hrnčić, S., Raičević, M. (2015).** New data on the whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae) of Montenegro, including three species new to the country. *Acta entomologica serbica*, 20: 29-41. doi: <https://doi.org/10.5281/zenodo.44654>
117. **Mansaray, A., Sundufu, A. J. (2009).** Oviposition, development and survivorship of the sweet potatoesweet potato whitefly *Bemisia tabaci* on soybean, glycine max, and the garden bean *Phaseolus vulgaris*. *Insect Sci*: 9(1): 1-6. doi: [10.1673/031.009.0101](https://doi.org/10.1673/031.009.0101)
118. **Manzano, M. R., Van Lenteren, J. C. (2009).** Life history parameters of *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hemiptera: Aleyrodidae) at different environmental conditions on two bean cultivars. *Neotrop. entomol.* 38(4); 452-458. doi: [10.1590/s1519-566x2009000400002](https://doi.org/10.1590/s1519-566x2009000400002)
119. **Maria I. (2010).** Biology studies and improvement of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) mass trapping control technique. Univ. LLEIDA. Universitat de Lleida
120. **Marić M., Paladin I. (2017).** Podizanje kvalitete matičnih nasada agruma u Republici Hrvatskoj. *Pomologia croatica* 21(1-2); 71-89. (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/187781>; 19. 2. 2021.)
121. **Marlett, J. A., Vollendorf, N.W. (1994).** The dietary fiber content and composition of different forms of fruits, *Journal - Association of Official Analytical Chemists* 77: 39-44 doi: [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90045-0](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90045-0)
122. **Martin, J. H., (1999).** The whitefly fauna of Australia (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). A taxonomic account and identification guide. Technical Paper 38, CSIRO Australia. str. 197. Dostupno na: <https://publications.csiro.au/publications/publication/PIlegacy:3409/R111/RT25> [Pristupljeno: 4. 5. 2022.]
123. **Martin, J. H., Mifsud, D., Rapisarda, C., (2000).** The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin. *Bulletin of Entomological Research* 90(5): 407-448. doi: [10.1017/s0007485300000547](https://doi.org/10.1017/s0007485300000547)
124. **Martin, J. H. (1987).** An identification guide to common pest species of the world (Homoptera: Aleyrodidae). *Tropical pest management*, 33(4): 298-322. doi: [10.1080/09670878709371174](https://doi.org/10.1080/09670878709371174)
125. **Martin, J. H. (2004).** Whiteflies of Belize (Hemiptera: Aleyrodidae) - Part 1 — introduction and account of the subfamily Aleurodicinae Quaintance &

- Baker. Zootaxa 681, Magnolia Press, Auckland, New Zealand, str 119. (Preuzeto s: <https://www.biotaxa.org/Zootaxa/article/view/zootaxa.681.1.1> 25. 4. 2022.)
126. **Martin, J. H. (2005)**. Whiteflies of Belize (Hemiptera: Aleyrodidae), Part 2- a review of the subfamily Aleyrodinae Westwood. Zootaxa 1098, Magnolia Press, Auckland, New Zealand, str.100.
Dostupno na: <https://www.biotaxa.org/Zootaxa/article/view/zootaxa.1098.1.1>
[Pristupljeno: 25. 4. 2022.]
127. **Martin, J. H., Lau, C. S. K (2011)**. The Hemiptera - Sternorrhyncha (Insecta) of Hong Kong, China - an annotated inventory citing voucher specimens and published records. Zootaxa 2847: 1-22.
Dostupno na: <https://www.biotaxa.org/Zootaxa/article/view/zootaxa.2847.1.1>
[Pristupljeno: 26. 4. 2022.]
128. **Martin, J. H., Mound, L. A. (2007)**. An annotated checklist of the world's whiteflies (Insecta: Hemiptera; Aleyrodidae). Zootaxa 1942, Magnolia Press, 1-84. doi: [10.11646/zootaxa.1492.1.1](https://doi.org/10.11646/zootaxa.1492.1.1)
129. **Maschek, O., Halmschlager, E. (2018)**. Effects of *Verticillium nonalfalfae* on *Ailanthus altissima* and associated indigenous and invasive tree species in eastern Austria. Eur.J. Forest Res. 137: 197-209. doi: <https://doi.org/10.1007/s10342-018-1099-y>
130. **Masten Milek, T., Markotić, V., Šimala, M., i Pintar, M. (2017)**. "Siva štitasta uš agruma (*Coccus pseudomagnoliarum* (Kuwana, 1914)) – gospodarski važan štetnik agruma", Glasilo biljne zaštite, 17(6): 548-556 (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/192835>; 29. 6. 2023.)
131. **Masten, T., Šimala, M., Budinščak, Ž. (2004)**. Rezultati trogodišnjeg monitoringa (2001-2003) duhanovog štitastog moljca *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae) u Hrvatskoj. Poljoprivreda 10(1): 43-48.
132. **Matošević, D., Pajač Živković I. (2013)**. Strane fitofagne vrste kukaca i grinja na drvenastom bilju u Hrvatskoj. Šumarski list, 3-4: 191-205. (preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/150203>; 7. 3. 2023.).
133. **Medeiros, F. R., Lemos, R. N. S. D., Ottati, A. L. T., Araújo, J. R. G., Machado, K. K. G. and Rodrigues, A. A. C. (2009)**. Dinâmica populacional da mosca negra dos citros *Aleurocanthus woglumi* ashby (Hemiptera: aleyrodidae) em Citrus spp. no município de São Luís – MA. Revista Brasileira de Fruticultura 31: 1016-1021. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000400014>
134. **Meier, U. (2001)**. Growth Stages of Mono and Dicotyledonous Plants. BBCH Monograph, Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Bonn, str. 158

135. **Metwally, S. M., El-Heneidy A. H., Shenishen, Z., Boraie, H. A., Mesbah, A. H. (1999):** *Clitostethus arcuatus* (Rossi) (Coleoptera: Coccinellidae), a predator species, of the citrus whitefly, *Dialeurodes citri* (Ashm.) (Homoptera: Aleyrodidae) in Egypt. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 9(2), 61-66 (Preuzeto s: https://www.researchgate.net/publication/235665500_Clitostethus_arcuatus_Rossi_Coleoptera_Coccinellidae_a_predator_species_of_the_citrus_whitefly_Dialeurodes_citri_Ashm_Homoptera_Aleyrodidae_in_Egypt; 14. 5. 2023.)
136. **Meyerdirk, D. E., Hart, W. G., Burnside, J. A. (1979a).** Evaluation of a trap for the citrus blackfly, *Aleurocanthus woglumi* (Homoptera: Aleyrodidae). Canadian Entomologist 111: 1127-1129.
(Preuzeto s: https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2015/09/13_EWG_ISPM6_2015_Sept_EFSA_PERSEUS_Appendix_C_to_the_Final_report.pdf; 24. 6. 2023.)
137. **Meyerdirk, D. E., Hart, W. G., Burnside, J. A., (1979b).** Flight behavior of the citrus blackfly. Journal of Economic Entomology 72: 395-398. (Preuzeto s: https://www.ippc.int/static/media/files/publication/en/2015/09/13_EWG_ISPM6_2015_Sept_EFSA_PERSEUS_Appendix_C_to_the_Final_report.pdf; 24. 6. 2023.)
138. **Mifsud, D. (1995).** Whiteflies of Maltese islands (Homoptera: Aleyrodidae). The Central Mediterranean Naturalist, 2(3): 61-78.
139. **Mifsud, D., Cocquemot, C., Mü hlethaler, R., Wilson, M., and Streito, J. C. (2010).** Other Hemiptera sternorrhyncha (Aleyrodidae, Phylloxeroidea, and Psylloidea) and Hemiptera auchenorrhyncha. BioRisk 4(1): 511–552 (Preuzeto s: <https://www.um.edu.mt/library/oar/handle/123456789/13139>; 14. 6. 2022.)
140. **Mikloš, I. (1978).** Jasenov štitasti moljac (*Siphoninus Phillyreae* Haliday). Šumarski list, Glasilo Saveza inženjera i tehničara šumarstva i drvne industrije Hrvatske 102 (4-5): 49-154
141. **Ministarstvo poljoprivrede – FIS (2023).** Popis registriranih sredstava za zaštitu bilja. Dostupno na: <https://fis.mps.hr/trazilicaszb/> [Pristupljeno 2. 10. 2023.]
142. **Mokraine, S., Cavallo, G., Tortorici, F., Romero, E., Fereres, A., Djelouah, K., Verrastro, V., Cornara, D. (2020).** Behavioral effects induced by organic insecticides can be exploited for sustainable control of the Orange Spiny Whitefly *Aleurocanthus spiniferus*. Sci Rep 10(1): 15746. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72972-x>
143. **Montserrat, V. J. M., Díaz-Aranda, L. M. (2012).** Los estadios larvarios de los *Crisopidos ibericos* (Insecta, Neuroptera, Chrysopidae), nuevos elementos sobre la morfología larvaria aplicables a la sistemática de la familia. Graellsia, 68(1): 31-158. doi: <https://doi.org/10.3989/graellsia.2012.v68.055>

144. **Moran, V. C., Buchan, P. R. (1975).** Oviposition by the citrus psylla, *Trioza erytreae* (Homoptera: Psyllidae Psyllidae) in relation to leaf hardness. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 18: 96-104. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1975.tb00390.x>
145. **Moreno, P., Ambrós S., Albiach-Martí M. R., Guerri J., Peña L., (2008).** Citrus tristeza virus: a pathogen that changed the course of the citrus industry. *Molecular plant pathology* 9(2): 251-268. doi: [10.1111/j.1364-3703.2007.00455.x](https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00455.x)
146. **Mound, L. A., Halsey, S. H. (1978).** Whitefly of the world. A systematic catalog of the Aleyrodidae (Homoptera) with host plant and natural enemy data. British Museum (Natural History) 1978 and John Wiley and Sons Chichester-New York-Brisbane-Toronto, str. 340.
147. **Mueller, R. L. (2006).** Evolutionary rates, divergence dates, and the performance of mitochondrial genes in Bayesian phylogenetic analysis. *Systematic Biology* 55: 289-300. doi: <https://doi.org/10.1080/10635150500541672>
148. **Muniappan, R., Marutani, M., Esguerra, N. (1992).** Establishment of *Encarsia smithi* (Silvestri) (Hymenoptera: Aphelinidae) on Pohnpei for control of the Orange Spiny Whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Homoptera: Aleyrodidae). *Proceedings, Hawaiian Entomological Society* 31: 243-245
149. **Muniappan, R., Porea, M., F. Sengebau, F., Reddy, G. V. P. (2006).** Orange spiny whitefly, *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Homoptera: Aleyrodidae), and its parasitoids in the Republic of Palau. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.* 38: 21-25. (Preuzeto s: <https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/items/159af3f7-0c8b-42d4-befb-f2baf65d3667>;10. 10. 2022.)
150. **Murad, H. A. Ba-Angood, S. A. (2021).** Biological studies of the citrus blackfly *Aleurocanthus woglumi* (Hemiptera: Aleyrodidae) infesting Citrus aurantifolia in Lahej Governorate, Republic of Yemen. *Egypt. J. Plant Prot. Res. Inst.*4(3): 488-498. Dostupno na: <http://www.ejppri.eg.net/pdf/v4n3/16.pdf>;18. 4. 2023.)
151. **Murray, S. L. (1991).** Methods for collecting, preserving, and studying insects and allied forms. The Australian Entomology Society. Miscellaneous Publication 3. Fifth Edition, Canberra
152. **Nguyen, R., Brazzel, R., Poucher, C. (1983).** Population Density of the Citrus Blackfly, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera: Aleyrodidae), and Its Parasites in Urban Florida in 1979 –1981. *Environmental Entomology* 12(3): 878-884. doi: <https://doi.org/10.1093/ee/12.3.878>
153. **Nguyen, R., Sailer, R. I., Hamon, A. B. (1993).** Catalog of Aleyrodidae on Citrus and their Natural Enemies (Homoptera - Aleyrodidae). Florida Department of Agriculture & Consumer Services, Division of Plant Industry. Occasional papers of

- the Florida State Collection of Arthropods. Contribution No. 730, Bureau of Entomology.
154. **Nicolosi, E. (2007).** Origin and taxonomy. In: Iqrar Ahmad Kham (ed.): Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology, CAB International, str. 384
 155. **Novak, P. (1931).** Štetni insekti u Dalmaciji. „Novo Doba” – Split, str. 19
 156. **Nugnes, F., Laudonia, S., Jesu, G., Jansen, M. G. M, Bernardo, U., Porcelli, F. (2020).** *Aleurocanthus spiniferus* (Hemiptera: Aleyrodidae) in some European countries: Diffusion, Hosts, Molecular Characterization, and Natural Enemies. *Insects* 11(1): 42: 1-14. doi: <https://doi.org/10.3390/insects11010042>
 157. **EPPO/OEPP Bulletin (2002a).** Diagnostic protocols for regulated pests *Aleurocanthus spiniferus*. PM7/7 (1). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 32: 255-259
 158. **EPPO/OEPP Bulletin (2002b).** Diagnostic protocols for regulated pests *Aleurocanthus woglumi*. PM 7/8 (1). Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 32: 261-265
 159. **Ortiz, J. M. (2007).** “Botany: taxonomy, morphology, and physiology of fruits, leaves and flowers”. U: Dugo G., Di Giacomo A. “*Citrus - the genus of citrus*”. Medicinal and Aromatic Plants - Industrial Profiles. str. 642.
 160. **Oštrec, Lj., Gotlin Čuljak, T. (2005).** Opća entomologija, Zrinski, Čakovec
 161. **Ouvrard, D., Martin, J. H. (2021).** The Whiteflies: Taxonomic checklist of the world’s whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). Dostupno na: <http://www.hemiptera-databases.com/whiteflies> [30. 9. 2021.]
 162. **Paladin Soče I., Ivić D., Marić M. (2020a).** The prospects of development of citrus production in the Neretva Valley in the context of contemporary tendencies. *Pomologia Croatica* 23(3-4): 103-120
(Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/clanak/353990>;22. 3. 2021.)
 163. **Paladin Soče, I., Mračić-Rajić, I., Juran, I., Šimala, M., Gotlin Čuljak, T., Skendrović Babojelić, M. (2022).** Influence of the quarantine pest *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae) on pomological and physicochemical properties of *Citrus Unshiu*. *Applied Ecology and Environmental Research* 20(6): 5183-5196. doi: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/2006_51835196
 164. **Paladin Soče, I., Šimala, M., Gotlin Čuljak, T. (2020b).** Trnoviti štitasti moljac agruma *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) u Dubrovačko-neretvanskoj županiji. *Glasiilo biljne zaštite* 20(4), 441-448. (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/clanak/349560%3F>;21. 4. 2022.)
 165. **Paulson, G., S., Beardsley J., W. (1986).** Development, Oviposition, and Longevity of *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera: Aleyrodidae). *Proceedings, Hawaiian Entomological Society*, 26: 97-99. (Preuzeto s:

- <https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/items/07150fd8-e984-4dfc-a8b8-ba01f59f560b>; 13. 4. 2021.)
166. **Paulson, G. S., Beardsley, J. W. (1985).** Whitefly (Hemiptera, Aleyrodidae) egg pedicel insertion into host plant stomata. *Annals of the Entomological Society of America* 78(4): 505-508. doi: [10.1093/aesa/78.4.506](https://doi.org/10.1093/aesa/78.4.506)
167. **Peterson, G. D. (1955).** Biological control of the spiny whitefly in Guam. *J. Econ. Entomol.* 48: 681-683
168. **Porcelli, F. (2008).** The first record of *Aleurocanthus spiniferus* (Homoptera: Aleyrodidae) was in Apulia, Southern Italy. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 38: 516-518. Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2338.2008.01273.x>
169. **Quaintance, A. L. (1903).** New oriental Aleyrodidae. *The Canadian Entomologist*, 35: 61-64
170. **Quaintance, A. L., Baker, A. C. (1914).** Classification of the Aleyrodidae Part II. Technical Series, Agriculture Bureau of Entomology US 27: 95-109
171. **Quezada, J. R. (1974).** Biological control of *Aleurocanthus woglumi* (Homoptera: Aleyrodidae) in El Salvador. *Entomophaga* 19: 243-254.
doi: <https://doi.org/10.1007/BF02371049>
172. **Radonjić, S., Hrnčić, S. (2003).** *Aleurothrixus floccosus* Mask. (Homoptera, Aleyrodidae), a new pest in Montenegro. *Agroknowledge*, 4(2): 149-158.
173. **Radonjić, S., Hrnčić, S. (2020).** Overview of the Arthropod Pests of Citrus Plants in Montenegro. *Acta Zoologica Bulgarica*, 72(4): 635-648. (preuzeto s: http://www.acta-zoologica-bulgarica.eu/00SIO_4_02; 23. 5. 2023.).
174. **Radonjić, S., Hrnčić, S. (2021).** Spreading of *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Hemiptera: Aleyrodidae) in the coastal area of Montenegro. *Acta Horticulturae* 1308: 311-318. Doi: [10.17660/ActaHortic.2021.1308.44](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1308.44)
175. **Radonjić, S., Hrnčić, S., Malumphy, C. (2014).** First record of *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Montenegro. *Redia*, XCVII, 141-145. (preuzeto s: <https://core.ac.uk/download/pdf/230660249.pdf>; 1. 10. 2021.)
176. **Rapisarda, C., Siscaro, G., Leocata, S., Asero, C. (1990).** Una nuova mosca bianca negli agrumeti Italiani. *Terra et vita*, 31(41): 30-31. (Preuzeto s: https://www.studiotecnicoasa.it/sites/default/files/1990-Una_nuova_mosca_bianca.pdf; 22. 3. 2022.)
177. **Reader, P. M. (1981).** The Ecology of the Viburnum Whitefly, *Aleurotrachelus jelinekii* (Frauenf.). Department of Zoology and Applied Entomology, Imperial College at Silwood Park, Berkshire, University of London
178. **Rebour, H. (1971).** Gli agrumi, Bologna. V. Izadnje, str. 337.

179. **Resh, V. H., Cardé, R. H. (2003).** Encyclopedia of insects. Academic Press. San Diego, California USA,
180. **Reuther, W., Calavan, E. C., Carman, G. E. (1989).** The Citrus Industry, Volume 5, University of California, Division of Agriculture and Natural Resources
181. **Rocha Peña, M. A., Lee, R. F., Lastra, R., Niblett, C. L., Ochoa Corona, F. M., Garnsey, S. M., Yokomi, R. K. (1995).** *Citrus tristeza virus* and its aphid vector *Toxoptera citricida*: threats to citrus production in the Caribbean and Central and North America. Plant Disease 79: 437-445
182. **Roistacher, C. N. (2004).** Diagnosis and management of virus and like virus-like diseases of citrus U: Diseases of Fruits and Vegetables: Volume I Diagnosis and Management (ur. Naqvi, S.A.M.H.), Kluwer Academic, London, str. 109-190. (preuzeto s: https://link.springer.com/chapter/10.1007/1-4020-2606-4_2?noAccess=true; 21. 5. 2023.)
183. **Rose, M., DeBach, P., Woolley, J. (1981).** Potential new citrus pest: Japanese bayberry whitefly. California Agriculture 35: 22-24.
184. **Saitou, N. i Nei, M. (1987).** The Neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution 4: 406-425. doi:[10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454)
185. **Sanchez, A., Chittaro, Y. (2022).** Annotated checklist of the Coccinellidae (Coleoptera, Coccinelloidea) of Switzerland. Alpine Entomology 6: 111-127 doi: <https://doi.org/10.3897/alpento.6.89476>
186. **Sauls, J. (1998).** Home fruit production – Mandarins. Texas Citrus and Subtropical Fruits, Texas A&M University. Dostupno na: <https://aggiehort.tamu.edu/citrus/mandarins.htm> [Pristupljeno 20. 5. 2023.]
187. **Schmidt, L. (1974).** Radne metode za prepariranje i čuvanje ličinaka insekata i pripremu mikroskopskih preparata. Zagreb
188. **Sciarretta, A., Tabilio, M.R., Lampazzi, E., Ceccaroli, C., Colacci, M., Trematerra, P. (2018).** Analysis of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata* (Wiedemann)] spatio-temporal distribution to sex and female mating status for precision IPM. PLoS One 13(4): 1-23. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195097>
189. **Sevim, E., Çelebi, Ö., Sevim, Ali. (2012).** Determination of the bacterial flora as a microbial control agent of *Toxoptera aurantii* (Homoptera: Aphididae)" Biologia, 67(2): 397-404. doi: <https://doi.org/10.2478/s11756-012-0022-0>
190. **Shreck, A., Getz, C. & Feenstra, G. (2006).** Social sustainability, farm labor, and organic agriculture: Findings from an exploratory analysis. Agric. Hum. Values 23: 439-449 doi: <https://doi.org/10.1007/s10460-006-9016-2>

191. **Siciliano P., He X., Woodcock C., Pickett J., Field L., Birkett M., Kalinova B., Gomulski L., Scolari F., Gasperi G. (2014).** Identification of pheromone components and their binding affinity to the odorant binding protein CcapOBP83a-2 of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 48: 51-62. doi: [10.1016/j.ibmb.2014.02.005](https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2014.02.005)
192. **Silva, A. G., Junior, A. L. B., Farias, P. R. S., and Barbosa, J. C. (2011).** Infestação da mosca negra dos citros (*Aleurocanthus woglumi*) Ashby) em pomares de citros, em sistemas de plantio convencional e agroflorestal. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33: 53-60. doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000038>
193. **Silvestri F. (1927).** Contribuzione alla conoscenza degli Aleurodidae (Insecta:Hemiptera) viventi su citrus in estremo oriente e dei loro parassiti. *Bolletino del Laboratorio di Zoologia Generale e Agraria della Scuola Superiore d'Agricoltura, Portici* 21: 1-60
194. **Smith, D. (1978).** Biological control of scale insects on citrus in Southeastern Queensland. I control of red scale *Aonidiella aurantii* (Maskell). *Australian Journal of Entomology* 17(4): 367-371. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1440-6055.1978.tb01507.x>
195. **Smith, D., Pena, J. E. (2002).** Tropical Citrus Pests, U: Tropical Fruit Pests and pollinators: Biology, Economic Importance, Natural Enemies and Control, (ur.. Pena, J.E., Sharp, J.L., Wysoki, M.). CABI Publishing, Wallingford, Oxon, str. 430. Dostupno na: <http://sherekashmir.informaticspublishing.com/378/1/9780851994345.pdf> [Pristupljeno: 11. 4.2022.]
196. **Soto, A., Ohlenschläeger, F., Garcia-Mari, F. (2002).** Distribution and Sampling of the whiteflies *Aleurothrixus floccosus*, *Dialeurodes citri*, and *Parabemisia myricae* (Homoptera: Aleyrodidae) in Citrus in Spain. *J. Econ. Entomol.* 95(1): 167-173. doi: [10.1603/0022-0493-95.1.167](https://doi.org/10.1603/0022-0493-95.1.167)
197. **Streito, J. C., Germain, J. F. (2020).** Ordre des Hemiptera (Hémiptères). In: Aberlenc H.-P. (Coordinateur), *Les Insectes du Monde. Biodiversité. Classification. Clés de détermination des familles.* Versailles, Montpellier & Plaisan, Quae & Museo éditions, Tome 1, 1192; Tome 2, 656.
198. **Su, Q., Xie, W., Wang, S., Wu, Q., Ghanim, M., Zhang, Y. (2014a).** Location of symbionts in the whitefly *Bemisia tabaci* affects their densities during host development and environmental stress. *PLoS One* 9(3): 1-11. doi: [10.1371/journal.pone.0091802](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091802)
199. **Su, Q., Xie, W., Wang, S., Wu, Q., Liu, B., Fang, Y., Xu, B., Zhang, Y. (2014b).** The endosymbiont *Hamiltonella* increases the growth rate of its host *Bemisia tabaci*

- during periods of nutritional stress. PLoS ONE 9(2): 1-6 doi: [10.1371/journal.pone.0089002](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089002)
200. **Suh, S. J. (2010)**. New Records of Aleuroclava (Hemiptera: Aleyrodidae) from Korea. Kor. J. Appl. Entomol. 49 (1): 1-4. Doi: [10.5656/KSAE.2010.49.1.001](https://doi.org/10.5656/KSAE.2010.49.1.001)
201. **Šimala, M. (2008)**. Fauna štitaštih moljaca (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae) u Republici Hrvatskoj s posebnim osvrtom na vrstu *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889). Doktorska disertacija. Poljoprivredni fakultet u Osijeku.
202. **Šimala, M., Masten Milek, T., Pintar, M. (2013)**. Narančin trnoviti štitašti moljac *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera, Aleyrodidae, Aleyrodinae). Hrvatski centar za poljoprivredu hranu i selo. Zagreb preuzeto s: <https://www.hapih.hr/wp-content/uploads/2021/07/narancin-trnoviti-stitasti-moljac.pdf>; 23. 5. 2020.)
203. **Šimala, M., Masten Milek, T., Pintar, M. (2014)**. *Aleuroclava aucubae* (Kuwana, 1911) (Hemiptera: Aleyrodoidea: Aleyrodidae) nova vrsta štitaštog moljca u Republici Hrvatskoj. Glasilo biljne zaštite vol. 14(4): 287-291. (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/169279>; 24. 5. 2021.)
204. **Šimala, M., Masten Milek, T., Pintar, M. (2015)**. The whitefly species (Hemiptera: Aleyrodidae) with dark puparium and pupal case recorded in Croatia. Nat. Croat., 24 (1); 111-125. (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/140221>; 3. 11. 2022.)
205. **Šimala, M., Masten Milek, T., Pintar, M. (2021)**. Aleurodicinae – manje poznata potporodica štitaštih moljaca (Sternorrhyncha: Hemiptera: Aleyrodidae). Glasilo biljne zaštite, 21(4): 443-455. (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/377130>; 22. 1. 2023.)
206. **Šimala, M., Pintar, M. (2020)**. Karantenski štetni organizam *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) u Hrvatskoj. Hrvatska agencija za poljoprivredu i hranu, Ministarstvo poljoprivrede; 1-23 (Preuzeto s: <https://www.hapih.hr/wp-content/uploads/2021/07/MPS-HAPIH-Brosura-Aleurocanthus-spiniferus-1.pdf> 19. 7. 2022)
207. **Šimala, M., Pintar, M., Kajić, Z., Masten Milek, T. (2019a)**. Prvi nalaz narančinog trnovitog štitaštog moljca u proizvodnom nasadu agruma u RH. Zbornik sažetaka 63. seminara biljne zaštite, Opatija, 5.- 8. veljače 2019., 64-65
208. **Šimala, M., Pintar, M., Masten Milek, T., Markotić, V. (2016)**. Prvi nalaz štitaštog moljca *Parabemisia myricae* (Kuwana 1927) (Hemiptera: Aleyrodidae) u Hrvatskoj. Glasilo biljne zaštite 16(3): 307-317. (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/169633>; 21. 4. 2021.)
209. **Šimala, M., Pintar, M., Masten Milek, T., Markotić, V., Arnaut, P., Kajić, Z., Marušić, S., Kotlar, A., Paladin Soče, I. (2020)**. Fauna štitaštih moljaca (Hemiptera:

- Aleyrodidae) u nasadima agruma. *Fragm. Phytom.*, 34(5): 1-14. (preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/350507>; 26. 3. 2023.)
210. Šimala, M., Pintar, M., Masten Milek, T., Markotić, V., Kajić, Z., Kotlar, A., Paladin, I. (2019b). Narančin trnoviti štitasti moljac – opasan invazivni štetnik. *Glasilo biljne zaštite* 6(19): 640-648 (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/344433>; 22. 5. 2021.)
211. Šimala, M., Žanić, K., Masten, T., Bjeliš, M. (2002). Rezultati monitoringa duhanovog štitastog moljca *Bemisia tabaci* (Gennadius) u 2001. godini u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite* 5(1): 256-262.
212. Šimala, M., Masten Milek, T., Ivezić, M. (2008). Fauna štitastih moljaca (Hemiptera: Aleyrodidae) na bršljanu (*Hedera helix* L.) u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite*, 8(6): 413-420.
213. Tabain, F. (1975). Uzgoj agruma, Zagreb.
214. Takahashi R. (1938). Notes on the Aleyrodidae of Japan (Homoptera) VI. *Kontyû* 12: 70–74.
215. Takahashi, R. (1940). A new species of Aleyrodidae from Jugoslavia Yugoslavia. *Arb. morphol. taxon. Ent. Berlin-Dahlem Band* 7(2): 148-149.
216. Takahashi, R. (1952). Aleuro Tuberculatus and *Parabemisia* of Japan (Aleyrodidae, Homoptera) *Miscellaneous Reports of the Research Institute for Natural Resources, Tokyo*, 25: 17-24.
217. Tello Mercado, V., Solimano Fernandez, E., Giliomee, J. H. (2014). Life table parameters of the woolly whitefly *Aleurothrixus floccosus* (Hemiptera: Aleyrodidae) and its parasitoid *Cales noacki* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Eur. J. Entomol.* 111(2): 251-256.
218. Tello, V., Peralta, O., Rioja, T. (2019). Voltinism of *Aleurothrixus floccosus* Maskel (Hemiptera: Aleyrodidae) in an oasis agroecosystem in the Atacama Desert, Tarapacá Region, Chile. *Idesia* 37(1): 5-7. doi: [10.4067/S0718-34292018005002703](https://doi.org/10.4067/S0718-34292018005002703)
219. Thomas M. C., Heppner J. B., Woodruff R. E., Weems H. V., Steck G. J., Fasulo T. R. (2001). Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Insecta: Diptera, Tephritidae). University of Florida, IFAS Extension: 1-15 (Preuzeto s: <https://journals.flvc.org/edis/article/view/112397/107589>; 23. 3. 2023.)
220. Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D. G. (1997). The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res* 24: 4876-4882. doi: [10.1093/nar/25.24.4876](https://doi.org/10.1093/nar/25.24.4876)
221. Uesugi, R., Sato, Y. (2011). Differentiation of the tea-infesting population of citrus spiny whitefly *Aleurocanthus spiniferus* (Homoptera: Aleyrodidae) from the citrus-

- infesting population in Japan of based on differences in the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I gene. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology 55: 155–161. doi: <https://doi.org/10.1303/jjaez.2011.155>
222. **Uesugi, R., Sato, Y., Han, B. Y., Huang, Z. D., Yara, K, Furuhashi, K. (2016).** Molecular evidence for multiple phylogenetic groups within two species of invasive spiny whiteflies and their parasitoids wasp. Bulletin of Entomological Research 106: 328-340. Doi: [10.1017/S0007485315001030](https://doi.org/10.1017/S0007485315001030)
223. **Ulusoy, M. R., Uygun, N., Kersting, U., Karaca, I., Satar S. (1996).** Present status of citrus whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae) in Turkey and their control. Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz - Journal of Plant Diseases and Protection. 103(4): 397- 402.
224. **Ulusoy, M. R., Vatanserver, G., Erkiř, L., Uygun, N. (2003).** Studies on *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (Homoptera, Aleyrodidae) and its parasitoid, *Cales noacki* Howard (Hymenoptera, Aphelinidae) in the East Mediterranean Region of Turkey. Anz. Schädlingkunde/J. Pest Science 76: 163–169. Doi: [10.1007/s10340-003-0014-5](https://doi.org/10.1007/s10340-003-0014-5)
225. **Uredba (EU) 2016/2031** Europskog parlamenta i Vijeća od 26. listopada 2016. o zaštitnim mjerama protiv organizama štetnih za bilje i o izmjeni uredaba (EU) br. 228/2013, (EU) br. 652/2014 i (EU) br. 1143/2014 Europskog parlamenta i Vijeća te stavljanju izvan snage direktiva Vijeća 69/464/EEZ, 74/647/EEZ, 93/85/EEZ, 98/57/EZ, 2000/29/EZ, 2006/91/EZ i 2007/33/EZ. (preuzeto s: <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/hr/TXT/?uri=CELEX%3A32016R2031>; 28. 2. 2022.)
226. **Uygun N., Ulusoy R., Karaca I., Kersting U. (1996).** Approaches Approaches on biological control of *Dialeurodes citri* (Ashmead) in Turkey. XX Int. Congress of Entomology, Firenze 29. August, 1996: 51-61
227. **Uygun, A. N., Porcelli, F., Baspinar, H. (2010).** Aleyrodidae (Rhynchota, Homoptera). Integrated Pest Management in Mediterranean Citrus, str.1-14.
228. **Uygun, N., Ohnesorge, B., Ulusoy, R. (1990).** Two species of whiteflies on citrus in Eastern Mediterranean: *Parabemisia myricae* (Kuwana) and *Dialeurodes citri* (Ashmead)- Morphology, biology, host plants and control in Southern Turkey. J. Appl. Ent. 110: 471- 482. doi: [10.1111/j.1439-0418.1990.tb00147.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1990.tb00147.x)
229. **Vacante V. (2012).** Integrated Control of Citrus Pests in the Mediterranean Region. Bentham Books.
230. **Van den Berg, M. A., Greenland, J. (1997).** Classical biological control of *Aleurocanthus spiniferus* (Hemiptera: Aleyrodidae), on citrus in Southern Africa. Entomophaga 42(4): 459-465.

231. **Van Den Berg, M. A., Hoppner G., Greenland J. (2000).** An Economic Study of the Biological Control of the Spiny Blackfly, *Aleurocanthus spiniferus* (Hemiptera: Aleyrodidae), in a Citrus Orchard in Swaziland. *Biocontrol Science and Technology* 10: 27-32. doi: <https://doi.org/10.1080/09583150029350>
232. **Van Lenteren, J. C., Noldus, L. P. J. J (1990).** Whitefly - Plant Relationships: Behavioural and Ecological Aspect. U: Gerling, D.: Whiteflies: their Bionomics, Pest Status and Management. Intercept Ltd.Andover, UK, str. 47-90
233. **Vargas, R. I., Peck, S. L., McQuate, G. T., Jackson, C. G., Stark, J. D., Armstrong, J. W.(2001).** Potential for areawide integrated management of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) with a braconid parasitoid and a novel bait spray. *J. Econ. Entomol.*; 94: 817–825. doi: <https://doi.org/10.1603/0022-0493-94.4.817>
234. **Volk G., Samarina L., Kulyan R., Gorshkov V., Malyarovskaya V., Ryndin A., Polek M. L., Krueger R., Stover E. (2017).** Citrus genebank collections: international collaboration opportunities between the US and Russia. *Genetic Resources and Crop Evolution* 65: 433-447. Doi: [10.1007/s10722-017-0543-z](https://doi.org/10.1007/s10722-017-0543-z)
235. **Walker, G. P. (1987).** Probing and oviposition behavior of the Bayberry whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on young and mature lemon leaves. *Annals of the Entomological Society of America* 80(4): 524-529. Doi: [10.1093/aesa/80.4.524](https://doi.org/10.1093/aesa/80.4.524)
236. **Wang J-R, Dai A-Q, Wang H, Wang H-D, Du Y-Z, Zhou G-X, Deng J-Y, Xu Z-H (2019).** Whitefly (Hemiptera: Aleyrodidae) Species Infesting *Myrica rubra* in China. *Journal of Entomological Science* 54: 223-237. doi: <https://doi.org/10.18474/JES18-81>
237. **Wang, Y., Gao, N., Shi, L., Qin, Z., He, P., Hu, D., Tan, X., Chen, Z. (2015).** Evaluation of the attractive effect of colored sticky traps for *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance) and its monitoring method in tea gardens in China. *Journal of Entomological and Acarological Research*, 47(3): 86-90. doi: <https://doi.org/10.4081/jeaar.2015.4603>
238. **Watts, W. S., Alam, M. (1973).** Spray trials against the citrus blackfly (*Aleurocanthus woglumi*) on lines in Oman. *Miscellaneous Report, Overseas Development Administration, Foreign and Commonwealth Office* 8, str.1-7
239. **Watson, G. W., Chandler, L. R. (1999).** Identification of Mealybugs is important in the Caribbean Region with notes on preparation of whitefly pupae for identification. *Commonwealth Science Council and CAB International.*
240. **Webber, H. J., Batchelor L. D. (1948).** The citrus industry - history, botany, and breeding. Volume I. University of California.

241. **Yiğit A. (1992).** *Serangium parcesetosum* Sicard (Col., Coccinellidae): New record as a Citrus whitefly predatory lady beetle in Turkey. *Türk. entomol. derg.*, 16(3): 163-167.
242. **Yiğit, A., Canhilal, R. (2005).** Establishment and dispersal of *Serangium parcesetosum* Sicard (Coleoptera, Coccinellidae), a predatory beetle of citrus whitefly, *Dialeurodes citri* Ashm. (Homoptera, Aleyrodidae) in the East Mediterranean region of Turkey. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 112(3): 268-275.
243. **Yokomi, R. K. (2009).** The brown citrus aphid, *Toxoptera citricida* U: *Citrus tristeza virus* and *Toxoptera citricidus*: a serious threat to the Mediterranean citrus industry (ur. D'Onghia, A.M., Djelouah, K., Roistacher, C.N.). Bari: CIHEAM, 2009, 35-46. (preuzeto s: <https://om.ciheam.org/om/pdf/b65/b65.pdf>, 23.5.2023.)
244. **Yothers, W. W. (1913).** Spraying for whiteflies in Florida. U.S. Department of Agriculture, Circular 168, 1-8.
245. **Zahradnik, J. (1963).** Notes faunistiques sur les aleurodes en Yougoslavie (Homoptera, Aleyrodinea). *Acta Faunistica Entomologica Musei Nationalis Pragae*, 9 (82): 231-236
246. **Žanić K., Kačić S., Katalinić M. (2000).** Štetne vrste familije Aleyrodidae (Homoptera) na agrumima. *Agric. Conspec. Sci.* 65(1): 51-59. (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/19272>; 10. 11. 2022.)
247. **Žanić, K. (1999).** Štitasti moljac agruma *Dialeurodes citri* (Ashmead, 1885) (Homoptera: Aleyrodidae) u mediteranskom dijelu Hrvatske. Doktorska disertacija. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
248. **Žanić, K., Kačić, S., Katalinić, M. (2001a).** Duhanov štitasti moljac *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae) u Hrvatskoj. *Entomol. Croat*, 5(1-2): 51-63 (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/file/411128>; 13. 6. 2022.)
249. **Žanić, K., Kačić, S., Katalinić, M. (2001b).** Duhanov štitasti moljac - *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Glasilo biljne zaštite* 6(1): 313-318.
250. **Žanić, K., Škaljec, M., Vitanović, E., Katalinić, M. (2012).** Vunasti štitasti moljac, *Aleurothrixus floccosus* (Maskell), - noviji štetnik agruma u Hrvatskoj. *Glasilo biljne zaštite* 12(5): 399-404 (Preuzeto s: <https://hrcak.srce.hr/168865>; 14. 11. 2022.)
251. **Zhang, Y. H., Liu, C. H., Wang, Q., Wang, Y. L., Zhou, C. Y., Zhou Y. (2019).** Identification of *Dialeurodes citri* as a Vector of *Citrus yellow vein clearing virus* in China. *Plant disease* 103: 65-68. doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0911-RE>
252. **Zhi-Teng, C., Li-Xia, M., Ji-Rui, W., Yu-Zhou. D. (2016).** Complete Mitochondrial Genome of the Citrus Spiny Whitefly *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance)

(Hemiptera: Aleyrodidae): Implications for the Phylogeny of Whiteflies.s. PLoS ONE
11(8): 1-18. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161385>

8 ŽIVOTOPIS

Ivana Paladin Soče rođena je 12. lipnja 1991. godine u Sinju, Hrvatska. Osnovnu školu završava u istom gradu, a maturirala je u općoj gimnaziji „Dinko Šimunović“ 2010. godine. 2010. godine na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje preddiplomski studij, smjer Zaštita bilja, koji završava 2013. godine, braneći završni rad pod naslovom „Praćenje populacije sivog grozdovog moljca (*Lobesia botrana*) na agronomskom pokusnom polju Jazbina“.

Upisuje diplomski studij Fitomedicina na Agronomskom fakultetu i stječe titulu mag. ing. agr. s pohvalom cum laude 2015. godine. Iste te godine upisuje drugi diplomski studij na Hortikulturi, usmjerenje Vinogradarstvo i vinarstvo, koji završava 2016. godine s pohvalom cum laude i obranom diplomskog rada pod naslovom „Usporedba aromatskog profila klonskih kandidata najvažnijih bijelih autohtonih sorata vinove loze u Dalmaciji“.

Krajem 2016. godine zapošljava se putem mjere stručnog osposobljavanja u Zavodu za mediteranske kulture Sveučilišta u Dubrovniku, na kojem je od 2018. godine i stalno zaposlena. Početkom 2019. godine upisuje poslijediplomski doktorski studij Poljoprivredne znanosti na Agronomskom fakultetu u Zagrebu. Tema njezina doktorskog rada, naziva „Životni ciklus i molekularna karakterizacija novog karantenskog štetnika agruma trnovitog štitastog moljca *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae) u Republici Hrvatskoj“, prihvaćena je odlukom Fakultetskog vijeća (10. lipnja 2020.) i Senata Sveučilišta u Zagrebu (6. listopada 2020.).

Tijekom svog angažmana u Zavodu za mediteranske kulture Ivana je sudjelovala u provedbi dva znanstvenostručna projekta Ministarstva poljoprivrede: „Nacionalni program očuvanja i održive uporabe biljnih genetskih izvora za hranu i poljoprivredu u Republici Hrvatskoj“ i „Osnivanje bezvirusnog matičnog nasada agruma viših kategorija“. Također, bila je uključena u provedbu stručnog projekta „Krajobrazni elaborat groblja Dubac“. Trenutačno sudjeluje u znanstvenom projektu „Program potpore za istraživanja utjecaja različitih tehnologija i agrotehničkih mjera na održavanje matičnih nasada visokih kategorija, Ministarstvo poljoprivrede, 2022. – 2024.“ i u projektu Dubrovačko-neretvanske županije „Korelacija uzgojnih uvjeta i kakvoće uroda ranih sorata mandarina Zorica rana, Iwasaki i Ichumare u Dolini Neretve“. Od polovice 2023. godine nalazi se na mjestu rukovoditelja odjela u područnoj službi Zavoda za mediteranske kulture Sveučilišta u Dubrovniku.

Ivana Paladin Soče autor je ili koautor sedam znanstvenih i stručnih radova te je koautor planskog dokumenta za unaprjeđenje sektora maslinarstva Dubrovačko-neretvanske županije pod nazivom „Studija postojećeg stanja sektora maslinarstva i uljarstva

Dubrovačko-neretvanske županije s planskim mjerama unaprjeđenja". Također, sudjelovala je kao koautor na sedam kongresnih priopćenja.

Popis objavljenih radova:

Znanstveni radovi A1:

Paladin Soče I., Mračić Rajič I., Juran I., Šimala M., Gotlin Čuljak T., Skendrović Babojelić M. (2022). Influence of the quarantine pest *Aleurocantus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae) on pomological and physicochemical properties of citrus Unshiu. Applied ecology and environmental research, 20(6): 5183 – 5196. doi:10.15666/aeer/2006_51835196

Znanstveni radovi A2:

Šimala M., Pintar M., Masten Milek T., Markotić V., Arnaut P., Kajić Z., Marušić S., Kotlar A., Paladin Soče I. (2020): Fauna štitaštih moljaca (Hemiptera: Aleyrodidae) u nasadima agruma. Fragmenta Phytomedica, 34(5): 1-14.

Paladin Soče I., Šimala M., Gotlin Čuljak T. (2020). Trnoviti štitašti moljac agruma *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) u Dubrovačko-neretvanskoj županiji. Glasilo biljne zaštite, 20(4): 441-448.

Paladin Soče I., Ivić D., Marić M. (2020). The prospects of development of the citrus production in the Neretva valley in the context of contemporary tendencies. Pomologia Croatica, 23(3-4): 103-120 doi:10.33128/pc.23.3-4.3

Šimala, M., Pintar, M., Masten Milek, T., Markotić, V., Kajić, Z., Kotlar, A., Paladin, I. (2019): Narančin trnoviti štitašti moljac- opasan invazivni štetnik. Glasilo biljne zaštite 6: 640-648

Marić M., Paladin, I. (2017). Podizanje kvalitete matičnih nasada agruma u Republici Hrvatskoj. Pomologia Croatica, 21(1-2), 71-90.

Paladin Soče, I. (2020). Utjecaj vremena uzimanja reznica i različite koncentracije fitohormona IBA na ožiljavanje feijoe *Feijoa sellowiana* (O. Berg.) O. Berg. Pomologia Croatica : glasilo Hrvatskog agronomskog društva, 24(1-4): 39-50

Kongresna priopćenja:

Marić M., Paladin Soče I., Žeravica D. I., Vitasović Kosić I. (2023). New alien species in the flora of Croatia - *Diospyros virginiana*. Zbornik sažetaka 5. hrvatskog simpozija o invazivnim vrstama. Zagreb: Hrvatsko ekološko društvo

Paladin Soče, I., Šimala M. (2023). Current status of the quarantine pest *Aleurocanthus spiniferus* (Quaintance, 1903) (Hemiptera: Aleyrodidae) in Croatia. *Book of Abstracts; 58th Croatian & 18th International Symposium on Agriculture; Cerović-Stanko, K.; Širić, I. (ur.)*.

Žeravica D. I., Paladin Soče I., Mračić Raič I., Marić M. (2023). Trends in Agricultural production in the Dubrovnik-Neretva County in the Pandemic years 2019-2021. *Book of Abstracts; 58th Croatian & 18th International Symposium on Agriculture; Cerović-Stanko, K.; Širić, I. (ur.)*.

Marić M., Soče Paladin I., Žeravica D. I., Mračić I., Radunić M. (2022). Pomological characteristics of the indigenous accession of oranges from the region of South Croatia. *Reframing Citriculture: Better Connections for future, Mersin, Citrus Congress; Yilmaz, Bilge (ur.)*.