



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО–МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ

Светлана Степановић

**Еколошка специјализација и генетичка диференцијација
врста рода *Ceutorhynchus* (Curculionidae) према
биљкама хранитељкама фамилије Brassicaceae**

Докторска дисертација

Крагујевац, 2016. година

I Аутор
Име и презиме: Светлана Степановић
Датум и место рођења: 20.06.1979.
Садашње запослење:
II Докторска дисертација
Наслов: <i>Еколошка специјализација и генетичка диференцијација врста рода Ceutorhynchus (Curculionidae) према биљкама хранитељкама фамилије Brassicaceae</i>
Број страница: 113
Број слика: слика-18 и табела-10
Број библиографских података: 133
Установа и место где је рад израђен: Институт за биологију и екологију, Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
Научна област (УДК): Екологија 574
Ментор: др Иво Тошевски, научни саветник Института за заштиту биља и животну средину у Београду, ужа научна област: Ентомологија
III Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 23.01.2014.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: -Одлука Стручног већа за Природно математичке науке Универзитета у Крагујевцу број IV-01-837/19 од 14. 09. 2016. године
Комисија за оцену подобности теме и кандидата: -Одлука ПМФ-а, Универзитета у Крагујевцу, број 890/XVI-1 од 07.11.2013. године
<ol style="list-style-type: none"> 1. др Жељко Томановић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, ужа научна област: Морфологија, систематика и филогенија животиња - ментор 2. др Иво Тошевски, виши научни сарадник, Институт за заштиту биља и животну средину у Београду, ужа научна област: Ентомологија 3. др Снежана Пешић, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине.
<p>Комисија за оцену докторске дисертације: -Одлука ПМФ-а, Универзитета у Крагујевцу, број 670/V-1 од 06.07.2016. године</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. др Жељко Томановић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, ужа научна област: Морфологија, систематика и филогенија животиња – председник Комисије 2. др Александар Остојић, ванредни професор ПМФ-а у Крагујевцу, ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине 3. др Ана Митровски Богдановић, доцент ПМФ-а у Крагујевцу, ужа научна област: Зоологија.
Датум одбране докторске дисертације:

Захвалница

Посебну захвалност дугујем свом ментору др Иви Тошевском за све што је учинио да овај научни рад угледа светлост дана. Својим неисцрпним знањем и искуством допринео је осмишљавању и извођењу ове докторске дисертације. Захвална сам му на свему што сам од њега научила, на огромној подршци и помоћи.

Велику захвалност дугујем проф. др Жељку Томановићу на великој помоћи, изузетном залагању, безрезервној подршци.

Захваљујем се проф. др Александру Остојићу на свим корисним саветима и исправкама приликом писања и учешћу у последњој фази крунисања овог рада.

Др Ани Митровски - Богдановић се захваљујем на другарству, колегијалности и бројним корисним саветима.

Најискреније се захваљујем колегама др Јелени Јовић и Андреи Косовац на огромном уложеном труду од самог почетка до краја израде докторске тезе.

Хвала мом духовном учитељу и невероватном борцу др Радмили Глишић без чије помоћи би овај пут био много компликованији и тежи.

Хвала свим мојим пријатељима који су ме бодрили и били уз мене све ове године.

Огромну захвалност дугујем сестри, мами и тати; родитељима што су ми усадили одговорност према свему што радим, због љубави и слободе да сама изаберем свој животни пут, а Соњи што ме је увек безгранично подржавала и била мој ослонац и глас разума.

На крају могу да кажем да је највеће богатство у животу имати љубав, ослонац и разумевање због чега неизмерну захвалност дугујем свом супругу Стефану.

Скраћенице и акроними

BOLD: Barcode of Life Data System, база података баркодинг секвенци

COI: cytochrome oxidase subunit 1, цитохром-оксидаза субјединице 1

COII: cytochrome oxidase subunit 2, цитохром-оксидаза субјединице 2

COI мтДНК: cytochrome oxidase subunit 1 mitochondrial deoxyribonucleic acid, цитохром-оксидаза субјединице 1 митохондријалне дезоксирибо-нуклеинске киселине

ДНК: дезоксирибо-нуклеинска киселина

EF-1 alfa: elongation factor 1 alpha, елонгациони фактор 1 алфа

ICZN: International Code of Zoological Nomenclature, интернационални код зоолошке номенклатуре

мтДНК: митохондријална дезоксирибо-нуклеинска киселина

NCBI: National Center for Biotechnology Information, национални центар за биотехнолошке информације

PCR: polymerase chain reaction, ланчана реакција полимеразе

PCR-RFLP: polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism, ланчана реакција полимеразе-рестрикциона реакција PCR продуката

рРНК: рибозомална рибонуклеинска киселина

TES: TRIS-EDTA-SDS

Листа табела

Табела 1. Прајмери за амплификацију цитохром оксидазе субјединице 1 гена (*COI*) и нуклеарног гена фактора елонгације (*EF-1 alfa*) код *Ceutorhynchus* врста.

Табела 2. Регистроване врсте из рода *Ceutorhynchus* у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae на територији Србије. Биљне врсте из којих су адулти добијени гајењем у лабораторијским условима су означене звездом (*).

Табела 3. Галиколне врсте из рода *Ceutorhynchus* и њихова асоцијација са биљкама из фамилије Brassicaceae на територији Србије.

Табела 4. Филогенетски блиске *Ceutorhynchus* врсте идентификоване на основу *COI* гена са високом *bootstrap* подршком анализирани Neighbor-Joining, максималне парсимоније и Bayesian inferences методом.

Табела 5. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1, базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus scrobicollis* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 11**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

Табела 6. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1, базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus assimilis* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 12**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

Табела 7. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1, базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus constrictus* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 10**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

Табела 8. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген), базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова код комплекса врста *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 11**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

Табела 9. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген), базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus pallidactylus* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 15**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

Табела 10. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген), базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus puncticollis* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 16**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

Листа слика

Слика 1. Мапа Србије са локалитетима (црвени кругови) на којима је сакупљен материјал за ову студију. Љубичастим круговима су обележени локалитети у Црној Гори.

Слика 2. А) Чашица за гајење ларви сурлаша из биљног материјала у лабораторијским условима са просејаном земљом за чаурење ларви и деловима биљке који садрже ларве L3 ступња. Б) Кокони врсте *Ceutorhynchus sulcicollis* (стрелице) формирану у земљи.

Слика 3. 1) Галозне форме индуковане од *Ceutorhynchus assimilis* на корену *Lepidium draba*; 2) Гала на корену *Alyssum saxatile* индукована од *Ceutorhynchus assimilis*; 3) Гале на корену *Alyssum alyssoides* индукована од *Ceutorhynchus subpilosus*; 4) Ларве *Ceutorhynchus erysimi* на бази розетних листова *Capsella bursa-pastoris*; 5) Ларве *Ceutorhynchus sulcicollis* у доњем делу стабљике *Synapis arvensis*; 6) Ларве *Ceutorhynchus pallidactylus* у стабљници *Brassica rapae*; 7) Гале у базалном делу листова *Arabis turrita* индуковане *Ceutorhynchus chalybaeus*.

Слика 4. 1) Ларва врсте *Ceutorhynchus scrobicollis* у корену *Alliaria petiolata*; 2) Ларва врсте *Ceutorhynchus alliariae* на бази стабљике *Alliaria petiolata*; 3) Ларва од *Ceutorhynchus roberti* у стабљници *Alliaria petiolata*.

Слика 5. Графички приказ митохондријалног гена који кодира цитохром оксидазу субјединице 1 (*COI*) са позицијом прајмера LCO1490 и HCO2198 који амплификују баркодинг регион овог гена.

Слика 6. Neighbor-Joining филогентско стабло на основу *COI* гена *Ceutorhynchus* врста (*p*-дистанце модел). Процент заједничког груписања према *bootstrap* тесту од 500 репликација је приказан поред чворишта грана. Вредности *bootstrap* теста испод 70% нису назначене на стаблу. Анализирано је 615 нуклеотидних позиција од укупно 83 секвенци. Филогентске групе са високом *bootstrap* подршком су означене звездом.

Слика 7. Морфолошка различитост између две филогенетски блиске *Ceutorhynchus* врсте *C. arator* (А) и *C. peyerimhoffi* (Б). Десно од адулта приказан је едеагус са вентралне стране.

Слика 8. Локалитети са којих су сакупљени адулти *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus* за популационо-генетичке анализе. Детаљи о броју примерака, локалитетима и датуму сакупљања материјала за анализе приказани су у **Прилогу 4**.

Слика 9. Фенотипска и генотипска асоцијација код врста *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus*. (А) Фенотип. (В) Median-joining network на основу цитохром оксидазе субјединице 1 гена (*COI*). (С) Median-joining network на основу фактора елонгације -1 α гена (*EF-1 α*). Величина кругова у хаплотипској мрежи је пропорционална фреквенцији фенотипова (А), односно фреквенцији регистрованих хаплотипова (В, С). Црвене тачке представљају векторе, а црне тачке хаплотипове који недостају. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију. Скраћенице “ery.” и “con.” представљају *C. erysimi* и *C. contractus*.

Слика 10. PCR-RFLP метод идентификације *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus*. (А–F) *SspI* RFLP профили *COI* бар кодинг региона (LCO1490/HCO2198) 101 примерка *C. erysimi* (33) и *C. contractus* (68) претходно одређених на основу фенотипа. Рестрикциони фрагменти су раздвојени на систему капиларне електрофорезе QIAxcel advanced (Qiagen). Референтни примерци за поређење су *C. erysimi* (3280) и *C. contractus* (3299) на почетку колона. М = QX ДНК представља маркер FX174/*HaeIII* (Qiagen). Величина фрагмената маркера (bp) су 1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118 и 72, а маркер за поравњање QX 15 bp/5 kb (15 и 5000) је обележен на профилима. Стрелица представља примерке код којих се нису подударали фенотип и *COI*-RFLP генотип. (G) *In silico* gel electrophoresis *COI* секвенце амплификована прајмерима LCO1490 и HCO2198 контролних примерака врсте *C. erysimi* (3280) и *C. contractus* (3299), виртуелно исечени рестрикционим ензимом *SspI*. Скраћенице “ery.” и “con.” представљају *C. erysimi* и *C. contractus*.

Слика 11. TCS мрежа регистрованих хаплотипова код врсте *Ceutorhynchus scrobicollis* на основу цитохром-оксидазе подјединице 1 гена (*COI* ген). Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију. Бројеви у заградама представљају мутације које спајају хаплотипске групе А, В и С.

Слика 12. TCS мрежа регистрованих хаплотипова код врсте *Ceutorhynchus assimilis* на основу цитохромоксидазе подјединице 1 гена (*COI*). Величина кругова у мрежи је пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Линија која спаја кругове и

тачке представља једну мутацију. Хаплотипови обележени као BioC (B) потичу из јужне Француске, хаплотип KM448930 (D) из Немачке док су хаплотипови обележени као A и C пореклом из Србије.

Слика 13. TCS мрежа регистрованих хаплотипова код врсте *Ceutorhynchus constrictus* на основу цитохромоксидазе подјединице 1 гена (*COI*). Величина кругова у мрежи је пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

Слика 14. TCS мрежа регистрованих хаплотипова из групе врста *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* регистрованих у Србији на основу цитохромоксидазе подјединице 1 гена (*COI*). Величина кругова у мрежи сје пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Секвенце обележене као KM451493 (= *C. floralis*) и KJ965453 (= *C. typhae*) пореклом из централне Европе идентичне су са 14 секвенци из Србије који припадају хаплотипу L077, док су секвенце KJ967378 (= *C. cakilis*) и KM449700 (= *C. floralis*) идентичне са 11 секвенци којој припада хаплотип L012. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију. Фенотип примерака које припадају генотипским групама A и B је приказан у нивоу хаплотипског груписања.

Слика 15. TCS мрежа регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus pallidactylus* регистрованих у Србији на основу цитохромоксидазе подјединице 1 гена (*COI*). Величина кругова у мрежи је пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Секвенце обележене као KM442474 пореклом су из централне Европе. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

Слика 16. TCS мрежа регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus puncticollis* регистрованих у Србији на основу цитохром оксидазе субјединице 1 гена (*COI*). Величина кругова у мрежи је пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Секвенце обележене као KJ966824 су пореклом из централне Европе (Heinola, Finland). Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

Слика 17. (A) *Ceutorhynchus roberti*, 3033, *Alliaria petiolata*, 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот; (B) *Ceutorhynchus sulcicollis*, L162, ex l., ex *Calepina irregularis*, 25.04.2011. Крагујевац, Драча.

Слика 18. TCS мрежа регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus roberti* (A) и *Ceutorhynchus sulcicollis* (B) на територији Србије на основу цитохром оксидазе субјединице 1 гена (*COI*). Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

Еколошка специјализација и генетичка диференцијација врста рода *Ceutorhynchus* (Curculionidae) према биљкама хранитељкама фамилије Brassicaceae

Извод

Биологија и екологија врста рода *Ceutorhynchus* није довољно позната иако су неке од врста значајне пољопривредне штеточине. У литератури се углавном наводе спискови биљних врста из фамилије Brassicaceae које су регистроване као биљке хранитељке. О филогенетским односима у оквиру рода има такође мало података. Неке врсте из рода *Ceutorhynchus* су познате као значајне штеточине на економски важним врстама Brassicaceae. Са друге стране, неке врсте су значајне као потенцијално корисни инсекти за биолошко сузбијање инвазивних врста фамилије Brassicaceae.

У складу са наведеним чињеницама, дисертација има научне циљеве да сагледа интеракције сурлаша из рода *Ceutorhynchus* са биљкама хранитељкама из фамилије Brassicaceae, да утврди значај еколошке специјализације као извора генетичке структурираности унутар и између популација сурлаша, да утврди генетичке варијабилности, дивергенције и таксономски статус врста рода *Ceutorhynchus*. у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae на основу популационо-генетичке карактеризације *COI* гена митохондријалне ДНК, као и да реконструише филогенетске односе са проценом временског оквира дивергенције између врста рода *Ceutorhynchus* које се развијају на/у биљкама из фамилије Brassicaceae.

У оквиру спроведених истраживања од 2010. до 2015. године, обрађене су врсте из рода *Ceutorhynchus* које су у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae. Већим делом, материјал је сакупљан на локалитетима у Србији и Црној Гори. За потребе поређења популација на ширем биогеографском подручју сакупљен је додатни материјал са територије источне Румуније, Француске, Швајцарске, Аустрије, Шведске и Русије. За потребе таксономске верификације и поређења врста из рода *Ceutorhynchus* коришћена је база података баркодинг секвенци. За молекуларне анализе и оцену дивергенције на интер- и интраспецијском нивоу коришћен је молекуларни маркер, ген који кодира цитохром оксидазу субјединица 1 митохондријалне ДНК (*COI* mt ДНК).

Истраживања су реализована на укупно 79 локалитета у Србије и два у Црној Гори. Током четворогодишњих истраживања сакупљен је материјал од преко 6500 сурлаша из рода *Ceutorhynchus* са укупно 55 биљних врста из фамилије Brassicaceae. На основу спроведених истраживања регистрована је укупно 41 врста из рода *Ceutorhynchus*.

Врсте рода *Ceutorhynchus* су углавном полифагне у односу на биљке домаћине из фамилије Brassicaceae. Ово је нарочито присутно код адулта који за допунску исхрану могу користити већи број алтернативних биљака из различитих родова ове фамилије. Врсте рода *Ceutorhynchus* имају знатно ужи еколошки круг домаћина које користе за развиће ларви, тако да се могу сматрати олигофагним у односу на биљке из фамилије Brassicaceae. Због олигофагности на нивоу фамилије Brassicaceae, њихову погодност као биолошких агената за контролу инвазивних биљних врста ове фамилије треба ригорозно проверити.

На основу филогенетске анализе врста *Ceutorhynchus* базиране на митохондријалном баркодинг маркеру *COI* гена, уочава се 10 филогентски блиских група врста са високом *bootstrap* подршком. Интерспецијска дивергенција код регистрованих врста је била висока (3.8-19.7%) са преко 290 варијабилних позиција (47.1%), на 616 анализираних базних парова. Популационо-генетичке анализе врста *Ceutorhynchus scrobicollis*, *C. assimilis*, *C. constrictus*, *C. pallidactylus*, *C. puncticollis*, *C. roberti*, *C. sulcicollis* и *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* комплекса, базиране на статистичкој парсимонији и Median-joining network анализи, показале су постојање високе интраспецијске дивергенције до 4.5% на митохондријалном баркодинг маркеру *COI* гена, комплексну генеологију са формирањем добро издиференцираних хаплотипских група, са могућим импликацијама на њихове биоколошке преференце и перформанце и могуће криптичне диференцијације. Популационо-генетичке анализе врста *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus* показале су постојање асиметричне интрогресије код морфолошки добро издиференцираних врста, са импликацијама за таксономску позицију ове две врсте. Дубока митохондријална дивергенција на интраспецијском нивоу врста, заједно са регистрованом интрогресијом код морфолошки добро издиференцираних врста указују на неопходност ревизије статуса врста рода *Ceutorhynchus* уз помоћ молекуларних метода и интегративне таксономије.

Ecological specialization and genetic differentiation in species of the genus *Ceutorhynchus* associated with host plants in the family Brassicaceae

Abstract

Biology and ecology of the species of the genus *Ceutorhynchus* are not known enough even though some of the species are important agricultural pests. The literature generally mentions lists of plant species of the family Brassicaceae which are registered as host plants. Furthermore, few data are available in the literature on the phylogenetic relationships within the genus. Some species of the genus *Ceutorhynchus* are known as important pests of economically important species Brassicaceae. On the other hand, some species are important as potentially useful insects for biological control of invasive species of the family Brassicaceae.

In accordance with the above mentioned facts, the dissertation has the scientific objectives to look at the interaction of the weevil from genus *Ceutorhynchus* with the host plants of the family Brassicaceae, to determine the significance of the ecological specialization as the origin of the genetic structuring within and among populations of the weevil, to determine the genetic variability, divergence and taxonomic status of the species of the genus *Ceutorhynchus* in association with plants of the family Brassicaceae on the basis of the population-genetic characterization of mitochondrial DNA *COI* gene, as well as to reconstruct the phylogenetic relationships with the assessment of the time frame of the divergence between species of the genus *Ceutorhynchus* that develop on/in plants of the family Brassicaceae.

Within the research carried out from 2010 to 2015, the species of the genus *Ceutorhynchus* that are in association with plants in the family Brassicaceae were processed. For the most part, the material was collected at the sites in Serbia and Montenegro. For the purpose of comparing populations in a wider bio-geographical area, additional material was collected from the territory of eastern Romania, France, Switzerland, Austria, Sweden and Russia. For the purpose of the taxonomic verification and comparison of species of the genus *Ceutorhynchus* the BOLD Barcode of Life Data System was used. For molecular analysis and evaluation of the divergence on inter- and intraspecific level a molecular marker was used, a gene that encodes the cytochrome oxidase subunit of 1 mitochondrial DNA (mtDNA *COI*).

Surveys were carried out on a total of 79 locations in Serbia and two in Montenegro. During the four-year research material was collected from over 6500 of the weevil genus *Ceutorhynchus* with a total of 55 plant species from the family Brassicaceae. Based on the conducted research a total of 41 species of the genus *Ceutorhynchus* was registered.

Species of the genus *Ceutorhynchus* are generally polyphagous in relation to the host plants of the family Brassicaceae. This is especially present in adults in which a number of alternative plants from different genera of this family can be used as dietary supplements. Species of the genus *Ceutorhynchus* have a significantly narrower ecological host range used for larval development, so they can be considered oligophagous in comparison with plants of the family Brassicaceae. Due to oligophagy at the level of the Brassicaceae family, their suitability as biological control agents for invasive plant species of this family should be rigorously checked.

Based on the phylogenetic analysis of the species *Ceutorhynchus* based on mitochondrial *COI* barcoding marker gene, there are 10 phylogenetically close groups of species with high bootstrap support. Interspecific divergence in the registered species was as high as (3.8-19.7%) with over 290 variable positions (47.1%), in 616 analyzed base pairs. Population-genetic analysis of the species *Ceutorhynchus scrobicollis*, *C. assimilis*, *C. constrictus*, *C. pallidactylus*, *C. puncticollis*, *C. roberti*, *C. sulcicollis* and *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* complex, based on a statistical parsimony and Median-joining network analysis, revealed the existence of high intraspecific divergence to 4.5% in the mitochondrial *COI* barcoding marker gene, a complex genealogy with the formation of well differentiated haplotype groups, with possible implications for their bioecological preferences and performances, and a possible cryptic differentiation. Population genetic analysis of the species *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* showed the existence of asymmetric introgression in morphologically well differentiated species, with implications for the taxonomic position of these two species. Deep mitochondrial divergence at the interspecies level, together with the registered introgression at morphologically well differentiated species, indicates the necessity of revising the status of the species of the genus *Ceutorhynchus* with the help of molecular methods and integrative taxonomy.

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА	8
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	9
3.1. Сакупљање материјала	9
3.2. Молекуларне методе.....	13
3.2.1. Екстракција ДНК из инсеката	13
3.2.2. Амплификација и пречишћавање ДНК.....	14
3.2.3. Секвенцирање PCR продуката	16
3.2.4. Виртуална рестрикциона анализа и „gel plotting” баркодинг региона мтCOI гена.....	16
3.2.5. PCR-RFLP анализа баркодинг региона мтCOI гена	16
3.3. Обрада података и филогенетске анализе.....	17
4. РЕЗУЛТАТИ	18
4.1. Диверзитет фауне сурлаша из рода <i>Ceutorhynchus</i> и њихова асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae.....	18
4.2. Таксономска верификација врста сурлаша из рода <i>Ceutorhynchus</i> у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae	22
4.3. Реконструкција филогенетских односа.....	23
5. ДИСКУСИЈА	40
6. ЗАКЉУЧЦИ.....	51
7. ЛИТЕРАТУРА	53
8. ПРИЛОЗИ	67

1. УВОД

Тврдокрилци (Coleoptera) представљају најбројнији ред у класи инсеката, са 300.000 до 600.000 познатих врста (Daly *et al.*, 1998). Код фамилије Curculionidae је диверзитет врста најизраженији, и она је уједно и једна од најбројнијих фамилија, са преко 60000 врста, што чини око 15.5 % од укупног броја тврдокрилаца (Thompson, 1992; Caldara & O'Brien, 1995; Kuschel, 1995; Alonso-Zarazaga & Layal, 1999; Oberprieler *et al.*, 2007; Ghahari *et al.*, 2010). Ова фамилија обухвата 80% од укупног броја сурлаша надфамилије Curculionoidea са 4600 родова (Ghahari *et al.*, 2010). До сада је у литератури наведено око 600 врста сурлаша за Србију и Црну Гору, и претпоставља се да је њихов број око 1.000 (Radović *et al.*, 1995).

Сурлаши су биљоједи, животним потребама повезани са скоро свим биљним таксонима на свету, при чему могу да користе све биљне делове (Holesova, 1992; Anderson, 1995). Могу се хранити голосеменицама, скривеносеменицама, папратима, маховинама, алгама, лишајевима и цијанобактеријама (Oberprieler *et al.*, 2007). Сродне групе сурлаша показују специјализације на исхрану и развиће на биљкама из једне или неколико сродних таксона (Marvaldi *et al.*, 2002). Евидентно су еволуцијски успели захваљујући специјализованој ендифитофагији (Oberprieler *et al.*, 2007).

Распрострањени су широм света, од арктичке зоне на северу до субантарктичких острва на југу, од плажа до планинских врхова, од пустиња до тропских кишних шума (Oberprieler *et al.*, 2007; Ghahari *et al.*, 2010).

Kuschel (1995) наводи надфамилију Curculionoidea као монофилетичку са укупно шест фамилија, Alonso-Zarazaga & Lyal (1999) укључују 21 фамилију, док Legalov (2006) наводи укупно 16 фамилија сурлаша у оквиру надфамилије Curculionoidea. Број подфамилија у оквиру фамилије Curculionidae је и даље предмет дискусије (Marvaldi *et al.*, 2002). Alonso-Zarazaga & Lyal (1999) препознају укупно 16 подфамилија: Vagoinae, Baridinae, Brachyceropseinae, Ceutorhynchinae, Conoderinae, Curculioninae, Cossoninae, Cryptorhynchinae, Cyclominae, Entiminae, Hyperinae, Lixinae, Mesoptiliinae, Molytinae, Oorbitidinae, Xiphaspidinae.

Подфамилија Ceutorhynchinae, сурлаши са дугом сурлом, обухвата око 1400 врста, 11 трибуса од којих Ceutorhynchini садржи око 860 познатих врста (Alonso-

Zarazaga & Lyal, 1999; Colonnelli, 2004; Korotyaev, 2008). Korotyaev (2008) поред наведених 11 трибуса предлаже најмање још три трибуса Tapinotini, Oxyonychini и Coeliadini. У Европи, подфамилија Ceutorhynchinae укључује три трибуса Orobolini, Coryssomerini и највећи Ceutorhynchini са 28 родова и око 150 врста (Dieckmann, 1972; Dieckmann, 1980; Colonnelli, 2004).

Врсте из подфамилије Ceutorhynchinae се препознају по робусном телу и по способности да поставе сурлу између кокси ногу. Дужина тела је од 1.3 до 7 mm (углавном 2-3 mm) (Korotyaev, 2006). Једна од главних спољашњих карактеристика је видљив дорзални врх мезепимере (Korotyaev, 2006). Морфологија, биологија, екологија и филогенија сурлаша ове подфамилије су недовољно проучене.

Асоцијације са биљкама на којима се хране и користе за развиће ларви су углавном познате из Палеарктика и Неарктика. Већина врста се развија на дикотилама, али развиће неких врста је везано и за монокотиле (Korotyaev, 2008). Више од једне трећине врста (375 врста) се наводе као монофагне и олигофагне на биљкама из фамилије Brassicaceae (Colonnelli, 2004; Korotyaev, 2006).

Врсте из подфамилије Ceutorhynchinae су распрострањене широм света осим Новог Зеланда, Океаније, Антарктика, Субантарктичких региона и дела Јужне Америке. Највећи број родова је познат из Палеарктичког региона (Korotyaev, 2006). Најразноврснији род унутар ове подфамилије је род *Ceutorhynchus* (Germar, 1824) чија се таксономска позиција дефинише унутар реда Coleoptera, надфамилије Curculionoidea, фамилије Curculionidae, подфамилије Ceutorhynchinae и трибуса Ceutorhynchini.

Colonnelli (2004) за Холарктик наводи око 380 врста из рода *Ceutorhynchus*. Исти аутор наводи мали број врста чија је дистрибуција ван Холарктика, односно у Централној и Јужној Африци. Међу врстама има ендемита чија је дистрибуција ограничена на планинске регије, као што су Алпи, Апенини и Пиринеји (Colonnelli, 2004; Colonnelli, 2006; Korotyaev, 2006). За фауну Србије наводи се укупно 28 врста из рода *Ceutorhynchus* (Pešić, 1998; Pešić, 2000; Pešić & Jelić, 2000; Pešić, 2003; Milovac *et al.*, 2010).

Биологија и екологија врста рода *Ceutorhynchus* није довољно позната иако су неке од врста значајне пољопривредне штеточине. У литератури се углавном наводе спискови биљних врста из фамилије Brassicaceae које су регистроване као биљке домаћини. О филогенетским односима у оквиру рода има мало података са изузетком неколико радова (Laffin *et al.*, 2005; Hinz *et al.*, 2008; Rauth *et al.*, 2011).

Неке врсте из рода *Ceutorhynchus* су познате као значајне штеточине на економски важним врстама Brassicaceae (Doddall *et al.*, 2011; Vaitelytė *et al.*, 2013). Са друге стране, неке врсте су значајне као потенцијално корисни инсекти за биолошко сузбијање инвазивних врста фамилије Brassicaceae (Fumanal *et al.*, 2004; Hinz *et al.*, 2008; Gerber *et al.*, 2009; Gerber *et al.*, 2012; Hinz & Diaconu, 2015).

Фамилију Brassicaceae - ред Brassicales (крсташице, породица купуса) чини око 330 родова и око 3700 врста дистрибуираних широм света (Al-Shehbaz *et al.*, 2006; Bailey *et al.*, 2006). Најчешће су то једногодишње, двогодишње или вишегодишње зељасте биљке, ређе полужбунови или жбунови. У флори СР Србије забележен је 51 род из фамилије крсташица (Jovanović-Dunjić *et al.*, 1972).

У европској постојбини, биљке из фамилије Brassicaceae нису познате као значајни корови, међутим неке врсте, као што су *Alliaria petiolata*, *Lepidium draba*, *Capsella bursa-pastoris*, *Thlaspi alliaceum* и *Isatis tinctoria* су у Северној Америци, после интродукције из Европе, стекле статус инвазивних корова. Неуспели покушаји сузбијања механичким и хемијским путем, наметнули су изналажење потенцијалних кандидата за биолошко сузбијање ових корова.

Најмање 69 фитофагних инсекатских врста и седам врста гљива је идентификовано на *Alliaria petiolata* у Европи (Hinz & Gerber, 1998). Од инсеката четири врсте сурлаша, све из рода *Ceutorhynchus*, су биле предмет студија у циљу њихове употребе у биолошкој контроли (Davis *et al.*, 2006). Када је у питању инвазивни коров *Lepidium draba* истраживања су показала да укупно седам врста сурлаша *C. assimilis*, *C. cardariae*, *C. turbatus*, *C. obstrictus*, *C. merkli*, *C. pallidactylus* и *C. americanus* користе ову биљку за своје развиће и могу утицати на бројност популације овог корова (Cripps *et al.*, 2006).

Интеракција између фитофагних инсеката и њихових биљака домаћина је комплексан процес који иде у правцу одређеног степена специјализације (Berlocher & Feder, 2002; Dres & Mallet, 2002), као директне последице адаптације инсеката и одговора биљке на присуство фитофага (Berlocher & Feder, 2002; Dres & Mallet, 2002). Морпер (1996) наводи да асоцијација између ендофагних инсеката и њихових биљака домаћина може довести до селекционог притиска који за последицу има диверзификацију и специјализацију који покрећу процес еколошке специјације. Присуство генетски диференцираних популација код фитофагних инсеката у оквиру једне врсте која је у асоцијацији са различитим биљкама је добро документована у

литератури (Feder *et al.*, 1988; Via, 1999; Via *et al.*, 2000; Hernandez-Vera *et al.*, 2010), а хибридизација између конгенеричних биљака, као што је то случај са блиским врстама у оквиру појединих родова фамилије Brassicaceae, може створити услове еколошке дивергенције (Berlocher & Feder 2002; Funk *et al.*, 2002) и појаве криптичне специјације. Адаптација, а касније преферентност према одређеној биљци за развиће потомства, може довести до делимичне или потпуне репродуктивне изолације појединих популација једне врсте и њене генетичке диференцијације у односу на популације које су у асоцијацији са другим биљкама. Развој нових метода у детекцији криптичних врста, које су пре свега базирани на молекуларним техникама, указује на знатно већи диверзитет, чак и код врста чије је таксономско место било јасно одређено (Hebert *et al.*, 2004).

Појам криптичних врста познат је више стотина година, али тек у последње две деценије њихова детекција достиже праву експанзију. Морфолошки карактери криптичних врста се подударају тако да их је традиционалним таксономским методама немогуће разликовати од номиналне врсте. Развој молекуларних метода током 90-их година XX века омогућио је анализу различитих генских маркера и карактеризацију генетичког полиморфизма, што је поред реконструкције филогенетских односа између врста довело до комплекснијег сагледавања диверзитета (Bickford *et al.*, 2007).

У популационо-генетичким испитивањима инсеката подједнако се користе и нуклеарни и митохондријални генски маркери. На митохондријалној дезоксирибонуклеинској киселини (мтДНК) најчешће се анализирају гени који кодирају цитохром б, цитохром оксидазу субјединице 1 и 2 (*COI*, *COII*) и *16S* рибозомалну рибонуклеинску киселину (рРНК). Анализа гена који кодира цитохром оксидазу 1 субјединица б (*COI*) сматра се веома информативном за детекцију генетичких варијација које могу дефинисати таксономски статус врсте (Hebert *et al.*, 2003). На основу досадашњих популационо-генетичких истраживања на различитим генима како митохондријалне тако и нуклеарне ДНК, постојање криптичних врста је регистровано код неколико врста сурлаша из подфамилија Cryptorhynchinae (Astrin & Stüben, 2008) и Curculioninae (Lagaretta-Monroy, 2007). Код трибуса Gonipterini, подфамилије Cyclominae описане су различите врсте из комплекса *Gonipterus scutellatus* (Marpondera *et al.*, 2012).

Због претпостављене високе специјализације према биљци домаћину бројне врсте из рода *Ceutorhynchus* представљају потенцијалне кандидате за биолошко сузбијање инвазивних корова из фамилије Brassicaceae, а нарочито врсте које индукују гале.

Биолошка контрола је регулисање густине популација штетног организма применом природних непријатеља датог организма (Harris, 1993). Приближно 400 врста инсеката, микроорганизама, нематода и вертебрата употребљено је за биолошко сузбијање више од 100 врста корова у целом свету (McEvoy, 1996). Биолошка контрола је значајана и са економског аспекта. Аустралија је кроз 29 програма биолошке контроле уштедела 95.3 милиона долара годишње (Page & Lacey, 2006).

Корови су биљке спонтане флоре или интродуковане биљне врсте, чија непожељност може бити физичке, хемијске или друге природе. Измештене из својих екосистема интродуковане биљке на новом станишту немају природне непријатеље. Слободно се шире захваљујући смањеном броју природних непријатеља (Rees *et al.*, 1995; McFadyen, 1998). У новом окружењу њихове популације ступају у компетицијске односе и могу потиснути аутохтону флору, чија је бројност већ регулисана присуством природних непријатеља и деловањем фактора средине. Интродукована биљка постаје инвазивни коров који може нарушити природни биодиверзитет екосистема (Harris, 1993; Cronk & Fuller, 1995).

Биолошка контрола је економски и еколошки прихватљива мера сузбијања агресивних, широко распрострањених корова у екосистемима (De Clerck-Floate & Bouchier, 2000). Постоје два основна приступа у биолошкој контроли корова: класични и инундатурни (Greathead, 1976). Механичка, физичка или хемијска контрола често не успева да смањи ширење и утицај инвазивних биљака. Биолошка контрола може бити моћна алтернатива у ширењу и утицају инвазивних биљака (McFadyen, 1998; Thomas & Willis, 1998; Hoddle, 2004). Већина биолошких агената су интродуковани како би сузбили корове у агрономији (Julien & Griffiths, 1999).

Класична биолошка контрола подразумева интродукцију нових фитофага који нису присутни у региону у коме се коров сузбија. Класични метод је спор јер су за стабилизацију популација интродукованих фитофага на новом станишту потребне године. Обично се остварује једнократним уношењем природног непријатеља који се даље сам размножава у том екосистему. Примењује се у екосистемима ливада, пашњака, шума и др. због дугог периода прилагођавања интродукованог биолошког

агента. Заснива се на два еколошка принципа: а) један организам се може користити у контроли другог б) неки биолошки агенти имају ограничен круг домаћина (Müller-Schärerh & Schaffner, 2008). Главни концепт на коме се заснива класична биолошка контрола корова представља популациона екологија (De Clerck-Floate & Bouchier, 2000).

Инундатурна биолошка контрола подразумева примену природних непријатеља корова који су већ присутни у угроженом региону. Овом методом се углавном третирају обрадиве површине и то обично почетком сезоне. Предност инундатурне биолошке контроле у односу на класичну је у томе што је смањен ризик непредвиђених ефеката на нециљне биљке.

Инсекти су најдоминантнији међу артроподама у програмима биолошке контроле. Доминантност инсеката као потенцијалних агената лежи у лакој манипулацији са њима, познатој систематици, животним циклусима и кругу домаћина, као и штетама које наносе биљкама. Први покушај примене у биолошком начину борбе датира још са почетка XIX века, када је из Јужне Америке у Индију унета штитаста ваш *Dactylopius ceylonicus* која живи на кактусима.

Циљ биолошке контроле је сузбијање корова испод економског и еколошког прага штетности, а с друге стране постићи дуготрајни еквилибријум између популација природних непријатеља и корова (McEvoy, 1996). Један од најзначајнијих биолошких феномена је одржавање стабилности, односно еквилибријума популација у природи.

Специјализовани фитофаги и њихови домаћини имају узајамно зависне густине популација и резултат је да ни једна страна у интеракцији не изумре. Тако редукција корова уједно и резултира смањењем бројности биолошког агента, па се на тај начин успоставља еквилибријум између степена штете коју наноси агент и регенерације корова (Morin, 2001). У успешним програмима биолошке контроле, овај еквилибријум је испод прага штетности који екосистем може толерисати (De Nill & Hokkanen, 1990).

Поред ефекта на циљне биљке (корове), код потенцијалног агента је неопходно утврдити његов утицај на нециљне биљке, односно сродне биљке аутохтоне флоре региона, ретке или угрожене врсте, украсне биљке и биљке које су од економског значаја (Sands & Van Driesche, 2000).

Програм биолошке контроле корова је састављен из неколико фаза: а) еколошка проучавања корова на новим и аутохтоним стаништима, б) проучавање природних непријатеља корова у земљи порекла, ц) оцена који од агената има потенцијала за

биолошко сузбијање корова и д) тестирање њихове специфичности према биљци домаћину.

Биолошки агенти имају своју историју коеволуције са биљком домаћином, комплексне интеракције са другим организмима из аутентичног екосистема који могу утицати на њихове перформансе после интродукције (De Nill & Hokkanen, 1990). Ефикасност биолошке контроле је заснована на способности биолошког агента да редукује популације корова дуж већег дела ареала, смањујући његово ширење. То, пре свега, зависи од биоеколошких карактеристика самог агента, селективног деловања биотичких и абиотичких фактора средине, као и нивоа штета које наноси биљци (Harris & Shorthouse, 1996). Један од главних редукционих ефеката, које потенцијални агент може да има на циљну биљку, јесте смањење репродукције корова (Norambuena & Piper, 2000). Агент се може сматрати прихватљивим ако се поред циљне биљке храни и развија само на биљкама које су блиско сродне са циљном биљком, то јест из истог рода или трибуса, а нису од економског или еколошког значаја за земљу у коју се агент интродукује (Sands & Van Driesche, 2000).

Галиформни инсекти су од великог значаја као потенцијални агенти за биолошко сузбијање корова, јер је већина уско специфична према биљци домаћину. Иако само 2% фитофагних инсеката индукује галиформни процес, од 64 биолошка агента колико је индуковано у Канаду до 1993, чак су 17 галиформне врсте (Harris & Shorthouse, 1996).

У програмима биолошке контроле инвазивних корова из фамилије Brassicaceae у Северној Америци, реализују се истраживања са неколико врста сурлаша као потенцијалним кандидатима, *Ceutorhynchus constrictus*, *C. alliariae*, *C. roberti*, *C. scrobicollis*, *C. assimilis*, *C. rusticus* и *C. marginellus*. Од суштинског значаја је познавање еколошке и популационе структуре популација потенцијалних кандидата у биолошкој контроли инвазивних организама. Резултати ових истраживања ће због тога довести до ширег сагледавања погодности врста из рода *Ceutorhynchus* за биолошку контролу инвазивних биљних врста у Северној Америци из фамилије Brassicaceae, а које аутентично потичу из Европе.

2. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

Сагледавање еколошке и популационо-генетичке структуре организама су од фундаменалног значаја за разумевање биолошких процеса који се одигравају унутар групе која је предмет истраживања. Ово је нарочито важно код организама који могу имати практичну примену у циљу решавања проблема насталих променама у различитим екосистемима под антропогеним утицајем. Када су у питању врсте из рода *Ceutorhynchus* ови проблеми су мултилатерални. Са једне стране, фрагментација земљишта под притиском екстензивне пољопривредне производње економски значајних култура из рода *Brassica* утиче на градацију појединих врста из рода *Ceutorhynchus*, чиме поједини сурлаши из овог рода представљају најзначајније штеточине на стратешки важним културама као што је, на пример, уљана репица (*Brassica rapa* var. *olea*). Са друге стране, селекција погодних врста из рода *Ceutorhynchus* или њихових популација, односно њихова таксономска верификација у програмима биолошког сузбијања инвазивних корова из фамилије Brassicaceae, директно је повезана са њиховим популационо-генетичким карактеристикама, које се могу препознати и сагледати искључиво применом молекуларних метода.

У складу са наведеним чињеницама, дисертација има следеће научне циљеве:

1. Сагледавање интеракција сурлаша из рода *Ceutorhynchus* са биљкама домаћинима из фамилије Brassicaceae и њихове специфичности, односно дефинисање фундаменталног круга домаћина;
2. Утврђивање значаја еколошке специјализације као извора генетичке структурираности унутар и између популација сурлаша;
3. Утврђивање генетичке варијабилности, дивергенције и таксономског статуса врста рода *Ceutorhynchus* у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae на основу популационо-генетичке карактеризације *COI* гена митохондријалне ДНК;
4. Реконструкција филогенетских односа са проценом временског оквира дивергенције између врста рода *Ceutorhynchus* које се развијају на/у биљкама из фамилије Brassicaceae.

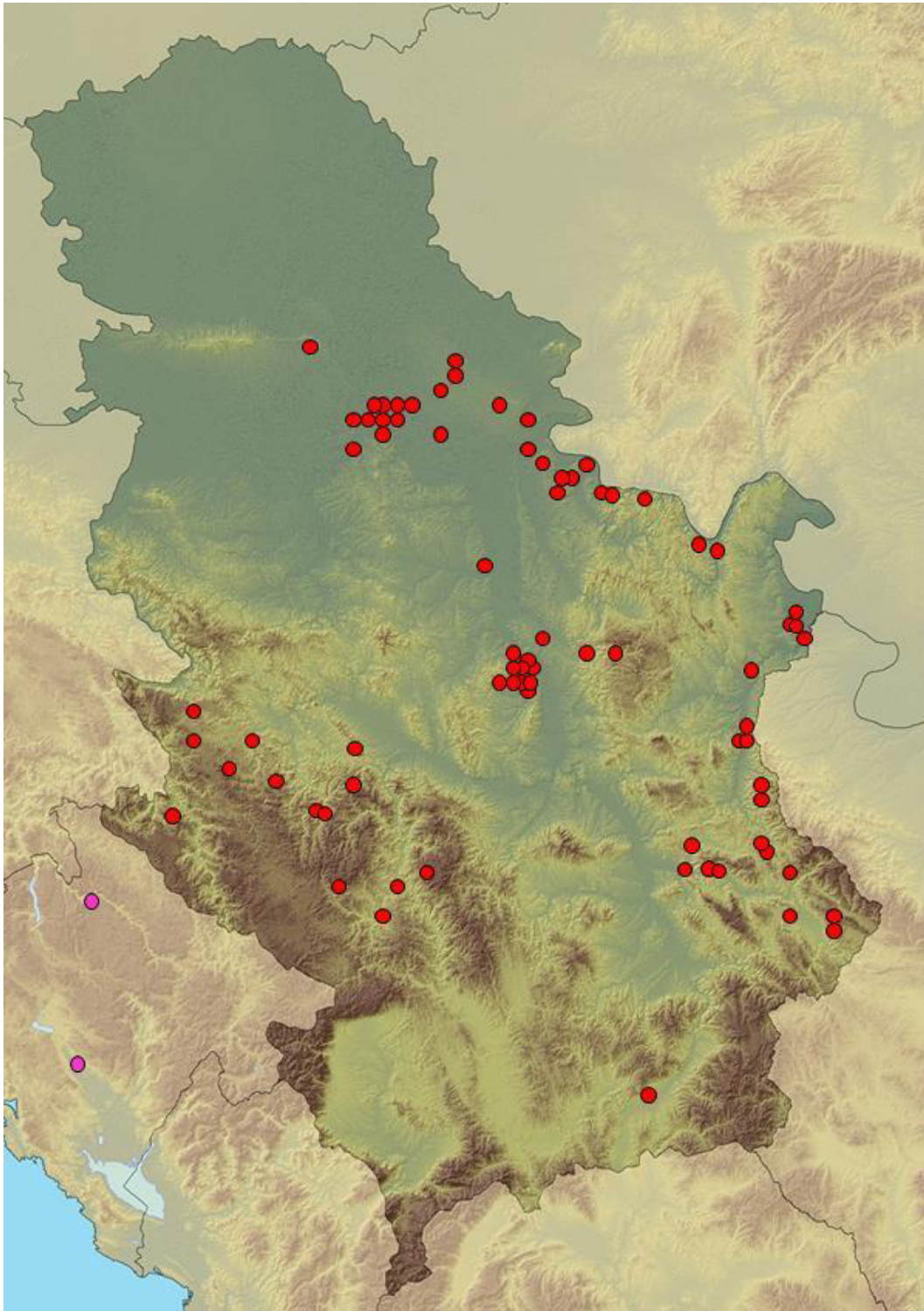
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. САКУПЉАЊЕ МАТЕРИЈАЛА

У оквиру спроведених истраживања од 2010. до 2015. године, обрађене су врсте из рода *Ceutorhynchus* које су у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae са 79 локалитета у Србији и два у Црној Гори. Већим делом, материјал је сакупљан на локалитетима у Србији и Црној Гори (Слика 1). За потребе поређења популација на ширем биогеографском подручју сакупљен је додатни материјал са територије источне Румуније, Француске, Швајцарске, Аустрије, Шведске и Русије. За потребе таксономске верификације и поређења врста из рода *Ceutorhynchus* коришћена је база података баркодинг секвенци које су доступне на порталу Public Data BOLD Systems v3 (<http://www.boldsystems.org>).

Методологија сакупљања сурлаша је прилагођена биологији врста и њиховим специфичним интеракцијама са биљком домаћином. Адулти *Ceutorhynchus* врста су сакупљени техником „кошења” кечером, ексхаустором и ручним сакупљањем крупнијих примерака.

Биљке нападнуте ларвама су сакупљене на терену, а затим пренешене у лабораторију и пребачене у пластичне чаше. На врху чаше се налазила газа која омогућава проветравање и спречава кондензацију док је дно чашице, у висини од око 2 cm, прекривено просејаном земљом. Биљке су припремљене тако што су нападнути делови подељени на еколошке нише. У зависности од величине нападнутог дела биљке, у сваку чашу је постављен одговарајући број делова или сакупљене L3 ларве. Земља и биљке су дневно прскане водом како би се омогућило нормално развиће ларви (Слика 2). Приликом сакупљања ларви ових сурлаша са различитих врста биљака фамилије Brassicaceae сакупљени су подаци о еколошким нишама где се ларве развијају (Слике 3 и 4).



Слика 1. Мапа Србије са локалитетима (црвени кругови) на којима је сакупљен материјал за ову студију. Љубичастим круговима су обележени локалитети у Црној Гори.



Слика 2. А) Чашаца за гајење ларви сурлаша из биљног материјала у лабораторијским условима са просејаном земљом за чаурење ларви и деловима биљке који садрже ларве L3 ступња. Б) Кокони врсте *Ceutorhynchus sulcicollis* (стрелице) формирану у земљи.



Слика 3. 1) Галозне форме индуковане од *Ceutorhynchus assimilis* на корену *Lepidium draba*; 2) Гала на корену *Alyssum saxatile* индукована од *Ceutorhynchus assimilis*; 3) Гале на корену *Alyssum alyssoides* индуковане од *Ceutorhynchus subpilosus*; 4) Ларве *Ceutorhynchus erysimi* на бази розетних листова *Capsella bursa-pastoris*; 5) Ларве *Ceutorhynchus sulcicollis* у доњем делу стабљике *Sinapis arvensis*; 6) Ларве *Ceutorhynchus pallidactylus* у стабљници *Brassica rapae*; 7) Гале у базалном делу листова *Arabis turrata* индуковане од *Ceutorhynchus chalybaeus*.



Слика 4. 1) Ларва врсте *Ceutorhynchus scrobicollis* у корену *Alliaria petiolata*; 2) Ларва врсте *Ceutorhynchus alliariae* на бази стабљике *Alliaria petiolata*; 3) Ларва врсте *Ceutorhynchus roberti* у стабљници *Alliaria petiolata*.

Прикупљене ларве млађег ларвеног ступња (L1-L2) су стављане у крио-тубице запремине 2 ml испуњене 96% етанолом за молекуларну детекцију врста. Биљни материјал са којих су сакупљене ларве је хербаризован и касније детерминисан коришћењем доступне литературе (Javorcka & Csapody, 1979; Којић, 1986; Tutin, *et al.*, 1993).

Инсекти су одгајани у лабораторијама Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу и Одсека за штеточине биља, Института за заштиту биља и животну средину у Београду.

Материјал за популационо-генетичка испитивања је базиран на репрезентативним примерцима из популације врста *Ceutorhynchus* који су сакупљени са појединачних биљних врста или са локација где су регистроване хомогене популације само једне биљне врсте из фамилије Brassicaceae. Ларве су прикупљене из различитих еколошких ниша биљака дисекцијом биљних органа, док су репрезентативни адулти одабрани из слободног лова и након гајења. Адулти и ларве за популационо-генетичке анализе чувани у 96% етанолу на 3-7°C до ДНК екстракције.

Приликом обраде материјала сагледани су морфолошки карактери који се наводе у литератури као значајни за таксономију ових сурлаша (Hoffmann, 1954;

Dieckmann, 1972; Freude *et al.*, 1983; Tempere *et al.*, 1989), пре свега карактеристике у грађи роstrума, торакса, елитри и едеагуса. Морфолошка и таксономска идентификација врста сакупљеног материјала је реализована у лабораторијама Одсека за штеточине биља, Института за заштиту биља и животну средину у Београду помоћу бинокуларних лупа Leica MS-5, Leica MS-7.5 и Leica MS-165. Фотографије *Ceutorhynchus* врста су добијене уз помоћ Leica MS-165.

3.2. МОЛЕКУЛАРНЕ МЕТОДЕ

За молекуларне анализе и оцену дивергенције на интер- и интраспецијском нивоу коришћен је молекуларни маркер, ген који кодира цитохром оксидазу субјединица 1 митохондријалне ДНК (*COI* мтДНК).

Ларве за анализе су добијене дисекцијом биљака, а адулти слободним ловом на терену и гајењем у лабораторијским условима. Примерци су стављани у стерилне пластичне тубице запремине 2 ml (Sarstad, Немачка) са херметичким поклопцем, у којима се као фиксатив налазио 96% етанол, а затим чувани у фрижидеру на 4°C. У лабораторијским условима, тубице са узорцима су пребачене у замрзивач и чуване на температури од -20°C до екстракције ДНК. Молекуларне анализе су урађене у Институту за заштиту биља и животну средину, Одсеку за штеточине биља и животну средину у Земуну, лабораторија за молекуларну дијагностику "Prof. dr Guido Nonveiller".

3.2.1. ЕКСТРАКЦИЈА ДНК ИЗ ИНСЕКТА

Сви примерци који су сакупљени за молекуларне анализе чувани су у 96% етанолу, на температури од -20°C до екстракције ДНК. Укупна ДНК сваког примерка екстрахована је помоћу TES (енг. TRIS-EDTA-SDS) метода (Mahuku, 2004). Примерци су пунктирани под контролом бинокулару у латералном делу трећег торакалног стернита. У случају када је екстракција рађена из ларве, сечицом медицинске игле број 2 је прављен рез по средини торакалних сегмената са вентралне стране. Затим су пунктирани узорци инкубирани на 40°C током ноћи, у раствору сачињеном од 400 µl TES пуфера за лизирање ћелија и 4 µl протеиназе К. Следећег дана екстрахована ДНК растворена је у 50 µl ТЕ пуфера, а затим чувана на -20°C. Примерци из којих је

извршена екстракција ДНК су после узастопних испирања водом и 96% етанолом, препаровани, обележени шифром екстракције и смештени у ентомолошке кутије.

Да би се спречила могућност контаминације узорака из спољашње средине или контаминација између узорака коришћена је негативна контрола после сета од 10 узорака. Негативну контролу је представљала тубица са свим реагенсима потребним за екстракцију без узорка.

Успешност екстракције ДНК узорка, као и одсуство контаминације у негативним контролама, утврђена је помоћу хоризонталне електрофорезе (Blue Marin - Serva, Немачка). Количина од 5 µl сваког узорка је пуштена кроз 1% агарозни гел обојен етидијум-бромидом, и затим визуализирана под UV транслуминатором. У процедуру амплификације ДНК су улазиле и негативне контроле заједно са узорцима да би се још једном искључила могућност контаминације.

3.2.2. АМПЛИФИКАЦИЈА И ПРЕЧИШЋАВАЊЕ ДНК

Сет прајмера који су коришћени за амплификацију гена цитохром оксидаза субјединица 1 (*COI*) митохондријалне ДНК приказан је у **Табели 1**. Прајмери LCO1490 и HCO2198 амплификују баркодинг регион *COI* гена дужине 709 базних парова (bp) (**Слика 5**). Поред наведеног пара прајмера, коришћене су комбинације прајмера у циљу побољшања амплификације *COI* региона (**Табела 1**). Прајмери LCO1490/PAT коришћени су за амплификацију продукта величине 1550 базних парова, а прајмери LCO1490/UEA8 за продукт дужине 1270 базних парова. За амплификацију нуклерног гена фактора елонгације (*EF-1 alfa*) код *Ceutorhynchus* врста коришћени су прајмери EF1-Vf и EF-Br (**Табела 1**).

COI мтДНК



Слика 5. Графички приказ митохондријалног гена који кодира цитохром оксидазу субјединице 1 (*COI*) са позицијом прајмера LCO1490 и HCO2198 који амплификују баркодинг регион овог гена.

PCR (ланчана реакција полимеразе, енг. polymerase chain reaction) амплификација је урађена у запремини од 20 μl која садржи 1 μl екстраховане ДНК, 11.8 μl H_2O , 2 μl пуфера А са 1xMg (High Yield Reaction Buffer A, Karabiosystems), 1.8 μl MgCl_2 (2.25 mM), 1.2 μl dNTP (0.6 mM), 1 μl LCO1490 (0.5 μM), 1 μl HCO2198; HCOd; PAT (0.5 μM) и 0.2 μl KAPATaq ДНК полимеразе (0.1 U/ μl) (Karabiosystems).

Табела 1. Прајмери за амплификацију цитохром оксидазе субјединице 1 гена (*COI*) и нуклерног гена фактора елонгације (*EF-1 alfa*) код *Ceutorhynchus* врста.

LCO1490	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'	Folmer <i>et al.</i> , 1994
HCO2198	5'-TAAACTTCAGGCTGACCAAAAAATCA-3'	Folmer <i>et al.</i> , 1994
HCOd	5'-TAAACTTCRGGVTGWCCAAARAATCA-3'	Chetverikov <i>et al.</i> , 2015
UEA8	5'-AAAAATGTTGAGGGAAAAATGTTA-3'	Lunt <i>et al.</i> , 1996 Zhang & Hewitt, 1997
PAT (TL2-N-3014)	5'-TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA-3'	Simon <i>et al.</i> , 1994
EF1-Bf	5'-AGAACGTGAACGTGGTATCA-3'	Hernández-Vera <i>et al.</i> , 2013
EF-Br	5'-CTTGGAGTCACCAGCTACATAACC-3'	

Амплификација за прајмере је урађена у Eppendorf Mastercycler[®] по следећем протоколу за LCO1490/HCO2198 или LCO1490/HCOd: иницијална денатурација 95°C/5 min; 35 циклуса: 1) денатурација 95°C/1 min, 2) елонгација 54°C/1 min, 3) екстензија 72°C/2 min; финална екстензија 72°C/10 min. За прајмере LCO1490/PAT или LCO1490/UEA8, протокол почиње иницијалном денатурацијом 95°C/5 min; затим следи 40 циклуса: 1) денатурације 95°C/1 min, 2) елонгације 48°C/1 min, 3) екстензије 72°C/3 min; и финалне екстензије 72°C/10 min. Код протокола за амплификацију *EF-1 α* гена температура елонгације је била 50°C, а укупан број циклуса 40. Да би се проверила успешност синтезе *COI* гена или *EF-1 α* гена, 5 μl PCR продукта сваког узорка је пуштено на 1% агарозном гелу обојеним етидијум-бромидом а визуализирано UV трансилуминатором.

3.2.3. СЕКВЕНЦИРАЊЕ PCR ПРОДУКАТА

PCR продукти намењени за секвенцирање *COI* или *EF-1 α* гена су пречишћени помоћу кита QIAquick® PCR Purification Kit (Qiagen, Немачка) пратећи упутство произвођача. Провера чистоће пречишћених узорака је извршена на 1% агарозном гелу. Њихова молекуларна тежина и количина ДНК одређена је визуелним поређењем са маркером ДНК 100 Bp Ladder (SERVA, Немачка).

Продукт *COI* сваког узорка је секвенциониран у једном смеру употребом LCO1490 прајмера или у оба смера код продукта нуклеарног гена за елонгацију 1-алфа. Реакције секвенционирања су урађене Macrogen Korea (Gasandong Geumcheon-gu Seoul, Korea) на уређају за секвенцирање ABI 3730 XL Automated Sequencers.

3.2.4. ВИРТУАЛНА РЕСТРИКЦИОНА АНАЛИЗА И „GEL PLOTTING” БАРКОДИНГ РЕГИОНА МТ*COI* ГЕНА

Квалитет добијених секвенци *COI* баркодинг региона је прегледан помоћу програма за едитовање FinchTV v.1.4.0 (<http://www.geospiza.com>), а затим поравњан помоћу ClustalW програма интегрисаног у MEGA5 софтверском пакету (Tamura *et al.*, 2011). *In silico* рестрикциона анализа је урађена помоћу различитих рестрикционих ензима у циљу идентификације ензима који идентификује нуклеотидне субституције које су специфичне за ниво детекције врсте. За препознавање погодног ензима коришћен је програм pDRAW32 (AcaClone Software, <http://www.acaclone.com>).

3.2.5. PCR-RFLP АНАЛИЗА БАРКОДИНГ РЕГИОНА МТ*COI* ГЕНА

Продукти амплификовани прајмерима LCO1490/HCO2198 дужине 709 bp подвргнути су дигестији са *SspI* ендонуклеазом (Fermentas, Vilnius, Lithuania). Рестрикциона анализа је урађена према упутству произвођача. Рестрикциони продукти су затим раздвојени путем капиларне електрофорезе QIAxcel Advanced System (Qiagen) коришћењем следећих параметара: ињектирање узорка на 5 kV, време ињектирања 8 секунди, сепарације 6 kV и време сепарације од 320 секунди. Као алајмент маркер за рестрикционе фрагменте је коришћен 15 bp/5 kb (Qiagen), а за поређење фрагмента маркер QX DNK FX174/HaeIII (Qiagen).

3.3. ОБРАДА ПОДАТАКА И ФИЛОГЕНЕТСКЕ АНАЛИЗЕ

За сагледавања квалитативних и квантитативних разлика између секвенци митохондриалног *COI* гена и нуклеарног *EF-1 α* гена коришћени су софтверски пакети инкорпорирани унутар MEGA5 програма (Tamura *et al.*, 2011). За реконструкцију филогенетских односа коришћен је Neighbor Joining метод (Saitou & Nei, 1987) и Bayesian-ова анализа уз помоћ програма MRBAYES 3.1 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; Ronquist & Huelsenbeck, 2003). Еволутивни модел нуклеотидне субституције је одређен помоћу програма jMODELTEST 2.1.1 (Darriba *et al.*, 2012). За приказивање хаплотипског диверзитета и односа између регистрованих хаплотипова на нивоу врста, или унутар сродних група врста, примењен је метод статистичке парсимоније (Templeton *et al.*, 1992), а за добијање хаплотипске мреже програм TCS 1.21 (Clement *et al.*, 2000).

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1. ДИВЕРЗИТЕТ ФАУНЕ СУРЛАША ИЗ РОДА *CEUTORHYNCHUS* И ЊИХОВА АСОЦИЈАЦИЈА СА БИЉКАМА ИЗ ФАМИЛИЈЕ BRASSICACEAE

Истраживања су реализована на укупно 79 локалитета у Србији и два у Црној Гори. Током четворогодишњих истраживања сакупљен је материјал од преко 6500 сурлаша из рода *Ceutorhynchus* са укупно 55 биљних врста из фамилије Brassicaceae.

На 79 локација регистрована је укупно 41 врста из рода *Ceutorhynchus* (Табела 2), од тога, таксономски статус није потврђен за шест врста. За укупно 22 врсте сурлаша је потврђена асоцијација са биљкама домаћинима на којима су ларве гајене до адулта.

Асоцијација *Ceutorhynchus* врста у односу на биљке домаћине потврдила је олигофагност ове групе сурлаша у оквиру фамилије Brassicaceae. Са друге стране, регистрован је високи степен полифагности када је у питању исхрана адулта. Код 22 врсте забележена је исхрана адулта на више од једне биљне врсте, а код 10 врста регистровано је развиће ларви на више од две врсте домаћина из различитих родова фамилије Brassicaceae (Табела 2). Изразита полифагност је регистрована код врсте *Ceutorhynchus sulcicollis* са реализованим или еколошким кругом домаћина од 14 врста, затим *C. pallidactylus* (5 врста), *C. contractus* (5 врста), *C. erysimi* (4), *C. roberti* (4) и *C. assimilis* (4). Адулти из *C. cakilis-floralis-typhae* комплекса су као чести били присутни на великом броју биљних врста фамилије Brassicaceae (Табела 2), док је присуство њихових ларви регистровано у плодовима *Capsella bursa-pastoris* и *Lepidium draba*.

Lepidium draba је биљка на којој је забележен навећи број *Ceutorhynchus* врста, укупно 12. Ту, такође, спада и *Alliaria petiolata* са 11 регистрованих врста. Следеће биљне врсте по бројности регистрованих сурлаша су биле *Thlaspi alliaceum* (6), *Calepina irregularis* (5), *Capsella bursa - pastoris* (4) и *Thlaspi arvense* (4).

На основу резултата асоцијација према биљкама домаћинима, *Ceutorhynchus* врсте су у ширем смислу полифагне у односу на биљне врсте из фамилије Brassicaceae, бар када је у питању исхрана адулта. Са друге стране, када је у питању њихова

преференца и перформанца за развиће ларве, број биљних врста на којима су регистроване ларве је знатно мањи. Поједине врсте показују изразиту полифагност на нивоу фамилије Brassicaceae и за своје развиће користе биљне врсте из различитих родова (Табела 2).

Табела 2. Регистроване врсте из рода *Ceutorhynchus* у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae на територији Србије. Биљне врсте из којих су адулти добијени гајењем у лабораторијским условима су означене звездом (*).

Број	Врста	Асоцијација са биљком
1	<i>C. aeneicollis</i> Germar, 1824	<i>Calepina irregularis</i> * (Asso) Thell.
2	<i>C. alliariae</i> H. Brisout, 1860	<i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara & Grande
3	<i>C. assimilis</i> (Paykull), 1800	<i>Lepidium draba</i> * L. <i>L. campestre</i> * (L.) W.T. Aiton <i>Alyssum saxatile</i> * (L.) Desv. <i>Calepina irregularis</i> * (Asso) Thell. <i>Rorippa austriaca</i> (Crantz) Besser
4	<i>C. barbareae</i> Suffrian, 1847	<i>Barbarea vulgaris</i> * R. Br. <i>Barbarea intermedia</i> * Boreau <i>Barbarea stricta</i> * Andrz.
5	<i>C. carinatus</i> Gyllenhal, 1837	<i>Thlaspi perfoliatum</i> * L. <i>Sisymbrium loeselii</i> L. <i>Lepidium draba</i> L. <i>Arabis sudetica</i> Tausch
6	<i>C. cakilis-floralis-typhae</i> група	<i>Calepina irregularis</i> (Asso) Thell. <i>Capsella bursa-pastoris</i> * (L.) Medik. <i>Thlaspi arvense</i> L. <i>Thlaspi alliaceum</i> L. <i>Thlaspi montanum</i> (L.) F. K. Mey. <i>Barbarea vulgaris</i> R. Br. <i>Lepidium draba</i> * L. <i>Alyssum saxatile</i> (L.) Desv. <i>Sisymbrium loeselii</i> L. <i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Brassica napus</i> L. <i>Rorippa austriaca</i> (Crantz) Besser <i>Rorippa sylvestris</i> (L.) Besser
7	<i>C. chalybaeus</i> Germar, 1824	<i>Alliaria petiolata</i> * (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Arabis turrata</i> * L.
8	<i>C. chlorophanus</i> Rouget, 1857	<i>Erysimum rhaeticum</i> * (Schleich. ex Hornem.) DC. <i>Erysimum odoratum</i> * Ehrh.
9	<i>C. coarctatus</i> Gyllenhal, 1837	<i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz
10	<i>C. cochleariae</i> (Gyllenhal), 1813	<i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara & Grande
11	<i>C. constrictus</i> (Marsham), 1802	<i>Alliaria petiolata</i> * (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Cardaminopsis arenosa</i> (L.) Hayek <i>Capsella bursa-pastoris</i> * (L.) Medik. <i>Thlaspi perfoliatum</i> L. <i>Thlaspi alliaceum</i> * L.
12	<i>C. contractus</i> (Marsham), 1802	<i>Alyssum montanum</i> L. <i>Alyssum saxatile</i> (L.) Desv. <i>Lepidium draba</i> * L. <i>Lepidium campestre</i> (L.) W.T. Aiton <i>Alliaria petiolata</i> * (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Rorippa austriaca</i> (Crantz) Besser

Табела 2. - наставак

		<i>Erysimum</i> sp. L. <i>Arabidopsis suecica</i> (Fries) <i>Alyssum murale</i> Waldst. & Kit. <i>Camelina microcarpa</i> * Andrz. ex DC. <i>Rorippa pyrenaica</i> (All.) Rchb.
13	<i>C. erysimi</i> (Fabricius), 1787	<i>Alliaria petiolata</i> * (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Capsella bursa-pastoris</i> * (L.) Medik. <i>Lepidium draba</i> * L. <i>Thlaspi alliaceum</i> L. <i>Camellina sativa</i> (L.) Crantz <i>Carmellina microcarpa</i> * Andrz. ex DC. <i>Sisymbrium loeselii</i> L.
14	<i>C. griseus</i> C. Brisout, 1869	<i>Arabidopsis thaliana</i> * (L.) Heynh.
15	<i>C. hirtulus</i> Germar, 1824	<i>Lepidium draba</i> L.
16	<i>C. ignitus</i> Germar, 1824	<i>Erysimum rhaeticum</i> (Schleich. ex Hornem.) DC.
17	<i>C. liliputanus</i> Schultze, 1898	<i>Alyssum montanum</i> * L.
18	<i>C. lukei</i> Tyl, 1914	<i>Alyssum saxatilae</i> (L.) Desv. <i>Alyssum murale</i> Waldst. & Kit.
19	<i>C. merkli</i> Korotyayev, 2000	<i>Calepina irregularis</i> (Asso) Thell.
20	<i>C. namus</i> Gyllenhal, 1837	<i>Erysimum</i> sp. L. <i>Lepidium draba</i> L.
21	<i>C. napi</i> Gyllenhal, 1837	<i>Arabis nemorensis</i> (H. Wolff ex Hoffm.) Rchb.
22	<i>C. obstructus</i> (Marshall), 1802	<i>Myagrum perfoliatum</i> * L. <i>Arabis nemorensis</i> * (H. Wolff ex Hoffm.) Rchb. <i>Lepidium draba</i> L. <i>Brassica napus</i> L. <i>Sisymbrium loeselii</i> L.
23	<i>C. parvulus</i> C. Brisout, 1869	<i>Sisymbrium orientale</i> L.
24	<i>C. pallidactylus</i> (Marshall), 1802	<i>Calepina irregularis</i> * (Asso) Thell. <i>Brassica oleracea</i> L. <i>Brassica napus</i> L. <i>Brassica nigra</i> * L. <i>Myagrum perfoliatum</i> * L. <i>Sisymbrium orientale</i> * L. <i>Alyssum saxatilae</i> (L.) Desv. <i>Erysimum saxatile</i> (All.) Kuntze <i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Sinapis arvensis</i> * L.
25	<i>C. peyerimhoffi</i> Hustache, 1916	<i>Isatis tinctoria</i> L.
26	<i>C. picitarsis</i> Gyllenhal, 1837	<i>Calepina irregularis</i> * (Asso) Thell. <i>Brassica napus</i> L.
27	<i>C. posthumus</i> Germar, 1824	<i>Arabidopsis thaliana</i> * (L.) Heynh. <i>Erophila verna</i> L.
28	<i>C. puncticollis</i> Boheman, 1845	<i>Erysimum crepidifolium</i> Rchb. <i>Erysimum rhaeticum</i> * (Schleich. ex Hornem.) DC. <i>Rorippa prostrata</i> (Bergeret) Schinz & Thell. <i>Lepidium draba</i> L.
29	<i>C. rapae</i> Gyllenhal, 1837	<i>Calepina irregularis</i> * (Asso) Thell. <i>Thlaspi arvense</i> L. <i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb ex Prantl
30	<i>C. roberti</i> Gyllenhal, 1837	<i>Thlaspi arvense</i> * L. <i>Thlaspi alliaceum</i> * L. <i>Cardamine hirsute</i> * <i>Alliaria petiolata</i> * (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.

Табела 2. - наставак

31	<i>C. scrobicollis</i> Neresheimer & Wagner, 1924	<i>Alliaria petiolata</i> * (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Thlaspi alliaceum</i> * L. <i>Lepidium draba</i> * L.
32	<i>C. striatellus</i> Schultze, 1900	<i>Isatis tinctoria</i> L. <i>Thlaspi praecox</i> Wulfen
33	<i>C. subpilosus</i> C. Brisout, 1869	<i>Alyssum alyssoides</i> * (L.) L. <i>Alyssum montanum</i> L.
34	<i>C. sulcicollis</i> (Paykull), 1800	<i>Calepina irregularis</i> * (Asso) Thell. <i>Myagrum perfoliatum</i> * L. <i>Alliaria petiolata</i> * (M. Bieb.) Cavara & Grande <i>Thlaspi alliaceum</i> * L. <i>Thlaspi arvense</i> * L. <i>Barbarea vulgaris</i> * R. Br. <i>Hesperis</i> sp. * L. <i>Hesperis silvestris</i> * Crantz. <i>Lepidium draba</i> * L. <i>Isatis tinctoria</i> * L. <i>Brassica nigra</i> * (L.) K.Koch <i>Lunaria rediviva</i> * L. <i>Erysimum</i> sp.* L. <i>Sisymbrium orientale</i> * L. <i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.
35	<i>C. turbatus</i> Schultze, 1903	<i>Lepidium draba</i> L.
36 [#]	<i>Ceutorhynchus</i> species 1	<i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz
37 [#]	<i>Ceutorhynchus</i> species 2	<i>Barbarea intermedia</i> * Boreau
38 [#]	<i>Ceutorhynchus</i> species 3	<i>Bunias erucago</i> * L. <i>Lepidium draba</i> L.
39 [#]	<i>Ceutorhynchus</i> species 4 (<i>C. cf. rhenanus</i>)	<i>Erysimum cheri</i> (L.) Crantz
40 [#]	<i>Ceutorhynchus</i> species 5	<i>Arabis turrata</i> L.
41 [#]	<i>Ceutorhynchus</i> species 6	<i>Lepidium draba</i> L.

[#] *Ceutorhynchus* врсте чији таксономски статус није верификован.

У односу на позицију ларве за развиће, највећи број *Ceutorhynchus* врста користи стабљику (17), круну корена са розетом (14), семене чауре (10), пазухе листова стабљике (5). Код укупно 8 врста, *Ceutorhynchus assimilis*, *C. griseus*, *C. posthumus*, *C. subpilosus*, *C. chalybaeus*, *C. chlorophanus*, *Ceutorhynchus* sp. 1, *Ceutorhynchus* sp. 2, забележено је развиће ларви у индукованим галама на различитим деловима биљке домаћина (Табела 3).

Табела 3. Галиколне врсте из рода *Ceutorhynchus* и њихова асоцијација са биљкама из фамилије Brassicaceae на територији Србије.

Број	Врста	Биљка домаћин	Позиција индукованих гала
1	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> <i>Lepidium campestre</i> <i>Alyssum saxatile</i>	корен
2	<i>C. griseus</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i>	стабљика
3	<i>C. posthumus</i>	<i>Erophila verna</i>	махуна
4	<i>C. subpilosus</i>	<i>Alyssum alyssoides</i> <i>Alyssum montanum</i>	корен
5	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Arabis turrata</i> <i>Alliaria petiolata</i>	стабљика, петељка листа петељка листа
6	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum odoratum</i>	корен
7	<i>Ceutorhynchus</i> sp. 1	<i>Camelina sativa</i>	врх стабљике
8	<i>Ceutorhynchus</i> sp. 2	<i>Barbarea intermedia</i>	петељка листа

4.2. ТАКСОНОМСКА ВЕРИФИКАЦИЈА ВРСТА СУРЛАША ИЗ РОДА *CEUTORHYNCHUS* У АСОЦИЈАЦИЈИ СА БИЉКАМА ИЗ ФАМИЛИЈЕ BRASSICACEAE

Таксономска верификација *Ceutorhynchus* врста реализована је на основу морфолошких карактеристика уз помоћ стандардних кључева за детерминацију врста, а затим потврђена молекуларним методама, односно секвенцирањем баркодинг региона митохондријалног гена цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген) и поређењем добијених секвенци са јавно доступним базама нуклеотидних секвенци. Таксономски статус ларви у биљкама домаћинима из фамилије Brassicaceae одређен је искључиво молекуларним методама.

Молекуларним методама идентификације је подвргнуто укупно 534 примерака сакупљених сурлаша, од чега 398 адулта и 136 ларви (**Прилог 1**). У циљу сагледавања интер- и интраспецијских популационо-генетичких односа на ширем географском простору, секвенцирано је додатних 122 примерака пореклом из Румуније, Мађарске, Аустрије, Швајцарске, Француске, Шведске и Русије (**Прилог 2**). За амплификацију *COI* гена коришћени су различити сетови и комбинације прајмера

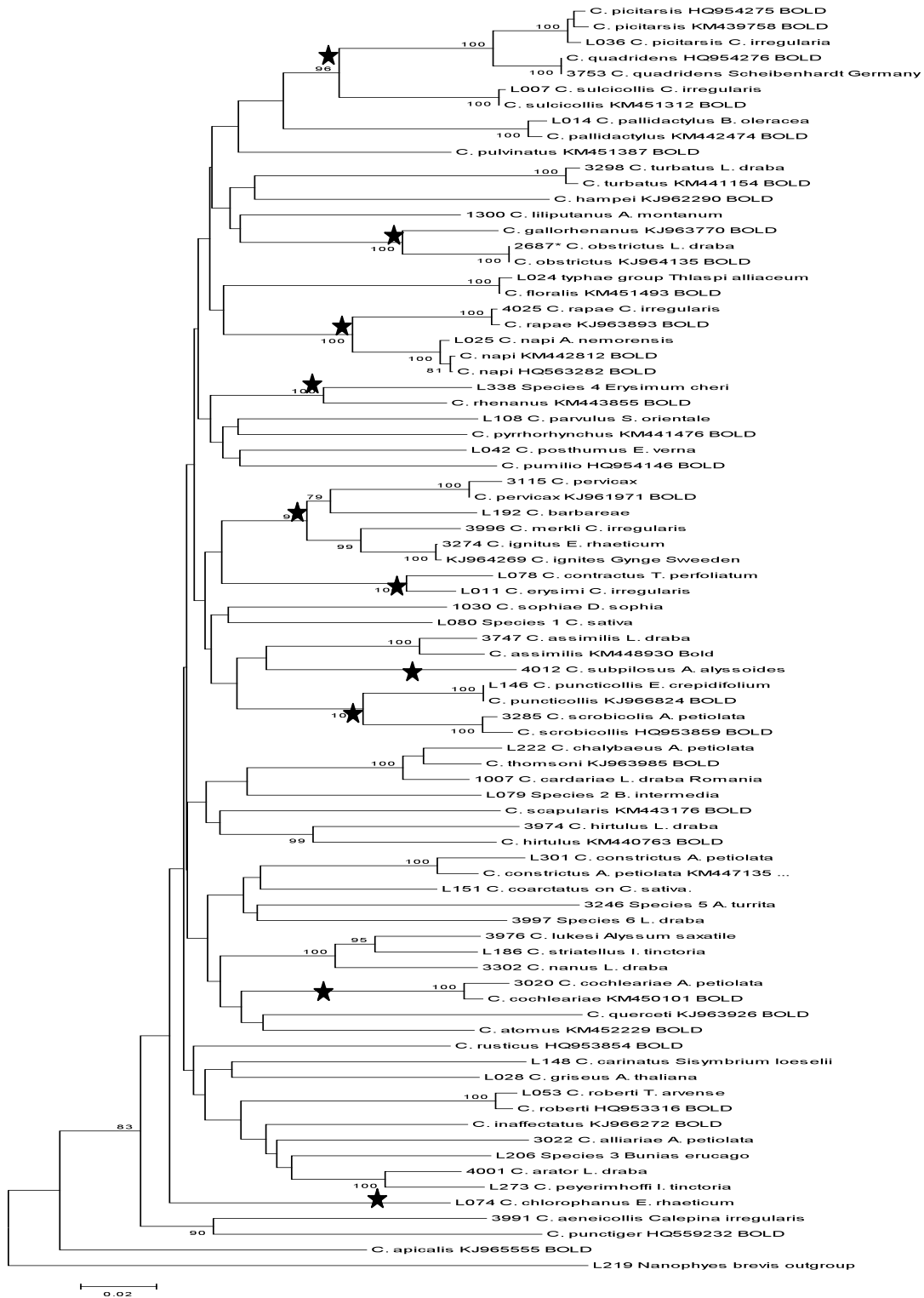
приказани у **Табели 1**. Највећи број врста је амплификован уз помоћ прајмер пара LCO1490/HCOd и LCO1490/PAT.

Морфолошке карактеристике *Ceutorhynchus* врста регистрованих током спроведених истраживања приказане су у **Прилогу 3**.

4.3. РЕКОНСТРУКЦИЈА ФИЛОГЕНЕТСКИХ ОДНОСА

У реконструкцију филогенетских односа између регистрованих *Ceutorhynchus* врста укључен је 261 секвенцирани примерак, од чега је у анализи прикључено 35 референтних секвенци доступних из база NCBI и BOLD, чиме је укупано анализирано 57 *Ceutorhynchus* врста (**Прилог 6**). Укупна дужина фрагмента *COI* гена износила је 616 bp, са 294 варијабилних позиција од чега су 265 биле парсимоно информативне. Модел нуклеотидне субституције GTR+G+I, одређен је на основу Bayesian Information Criterion (BIC) у jMODELTEST 2.1.1 (Darriba *et al.*, 2012).

Реконструкција филогенетских односа између регистрованих *Ceutorhynchus* врста помоћу Neighbor-Joining, максималне парсимоније и Bayesian inferences метода, показала је сличну топологију и потврдила очекивану монофилију (83% *bootstrap* подршка) на нивоу рода код анализираних врста. У анализу је била укључена укупно 81 репрезентативна секвенца регистрованих врста у Србији и референтне секвенце из BOLD базе (**Слика 6**). Средња вредност дивергенције између анализираних врста је износила 14.4% (некоригована), а максимална 19.7%. Значајна „*bootstrap*” подршка била је присутна само на терминалним гранама, што указује да је филогенетска реконструкција на основу *COI* гена инсуфицијентна, односно да постоји висока стопа дивергенције међу *Ceutorhynchus* врстама, чиме се потврђује значајност овог маркера само на интра- и интерспецијском нивоу.



Слика 6. Neighbor-Joining филогенетско стабло на основу *COI* гена *Ceutorhynchus* врста (*p*-дистанце модел). Процент заједничког груписања према *bootstrap* тесту од 500 репликација је приказан поред чворишта грана. Вредности *bootstrap* теста испод 70% нису назначене на стаблу. Анализирано је 615 нуклеотидних позиција од укупно 83 секвенци. Филогентске групе са високом *bootstrap* подршком су означене звездом.

У анализираном материјалу се јасно уочава 10 филогентски блиских група врста (Табела 4), које међутим, немају увек јасну корелацију у погледу њихових морфолошких, био-еколошких и генетских карактеристика. Пример јасно диференцираних морфолошких карактера на основу грађе роstrума, торакса, томената на елитрама и едеагуса, види се код врста *C. arator* и *C. peyerimhoffi* (*arator*-група), док је регистрована дивергенција на *COI* гену износила само 3.8% (Слика 7).

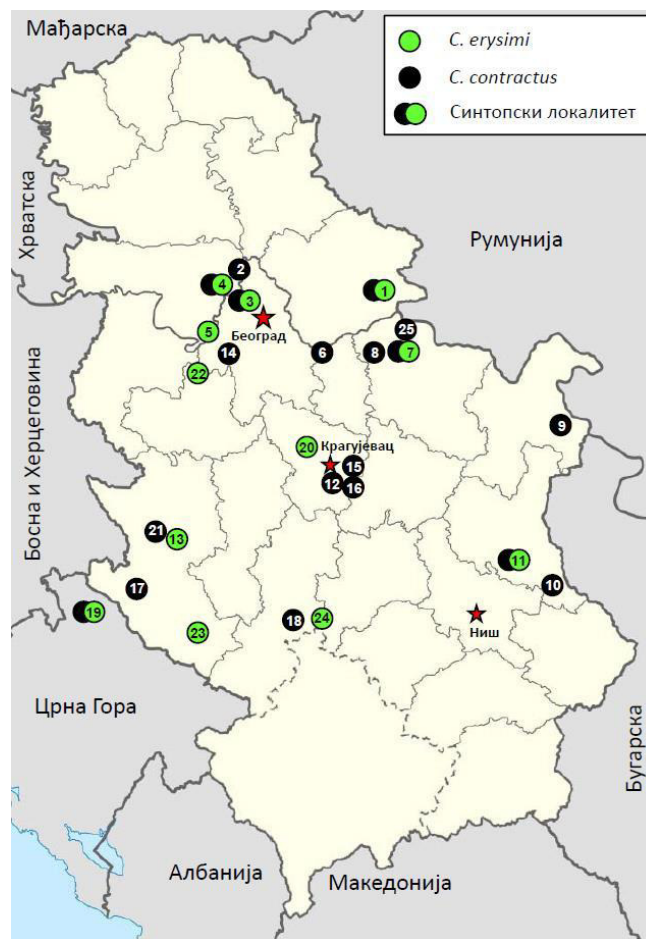


Слика 7. Морфолошка различитост између две филогенетски блиске *Ceutorhynchus* врсте *C. arator* (А) и *C. peyerimhoffi* (Б). Десно од адулта приказан је едеагус са вентралне стране.

Табела 4. Филогенетски блиске *Ceutorhynchus* врсте идентификоване на основу *COI* гена са високом *bootstrap* подршком анализиране Neighbor-Joining (NJ), максималне парсимоније (MP) и Bayesian inferences методом (BAYES).

Филогенетска група	Врсте	bootstrap подршка у % (NJ/MP/BAYES)
1 <i>picitarsis</i> -група	<i>C. picitarsis</i> <i>C. quadridens</i> <i>C. sulcicollis</i>	97/84/0.99
2 <i>obstrictus</i> -група	<i>C. obstrictus</i> <i>C. gallorhenanus</i>	100/100/1
3 <i>napi</i> -група	<i>C. napi</i> <i>C. rapae</i>	100/99/1
4 <i>rhenanus</i> -група	<i>C. rhenanus</i> <i>L338 species 4</i>	100/98/1
5 <i>ignitus</i> -група	<i>C. ignitus</i> <i>C. barbareae</i> <i>C. merkli</i> <i>C. pervicax</i>	99/92/1
6 <i>erysimi</i> -група	<i>C. erysimi</i> <i>C. contractus</i>	100/100/1
7 <i>puncticollis</i> -група	<i>C. puncticollis</i> <i>C. scrobicollis</i>	100/99/1
8 <i>chalybaeus</i> -група	<i>C. chalybaeus</i> <i>C. cardariae</i> <i>C. thomsoni</i> <i>C. wellschi</i>	100/99/1
9 <i>striatellus</i> -група	<i>C. striatellus</i> <i>C. nanus</i> <i>C. lukei</i>	100/94/1
10 <i>arator</i> -група	<i>C. arator</i> <i>C. peyerimhoffi</i>	100/95/1

Значајна морфолошка диференцијација је присутна унутар групе *C. erysimi-contractus*, са *bootstrap* подршком од 100% и генетском дивергенцијом од 3.8% на *COI* гену. У овом случају ради се о честим врстама, фенотипски јасно издиференцираним и широко распрострањеним у западном Палеарктику и северној Африци. Унутар ове групе, идентификовано је значајно одступање између фенотипа примерака и њиховог генотипа. Почетна анализа је обухватала укупно 56 примерака са 25 локалитета из Србије и једног у Црној Гори (Слика 8), од чега је 31 примерак *C. contractus* са типичним фенотипом и 25 примерака *C. erysimi* (Прилог 4). Анализа *COI* гена указала је на стабилну дивергенцију на овом гену са укупно 6 регистрованих хаплотипова за врсту *C. contractus* и 14 хаплотипова код врсте *C. erysimi*.



Слика 8. Локалитети са којих су сакупљени адулти *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus* за популационо-генетичке анализе. Детаљи о броју примерака, локалитетима и датуму сакупљања материјала за анализе приказани су у Прилогу 4.

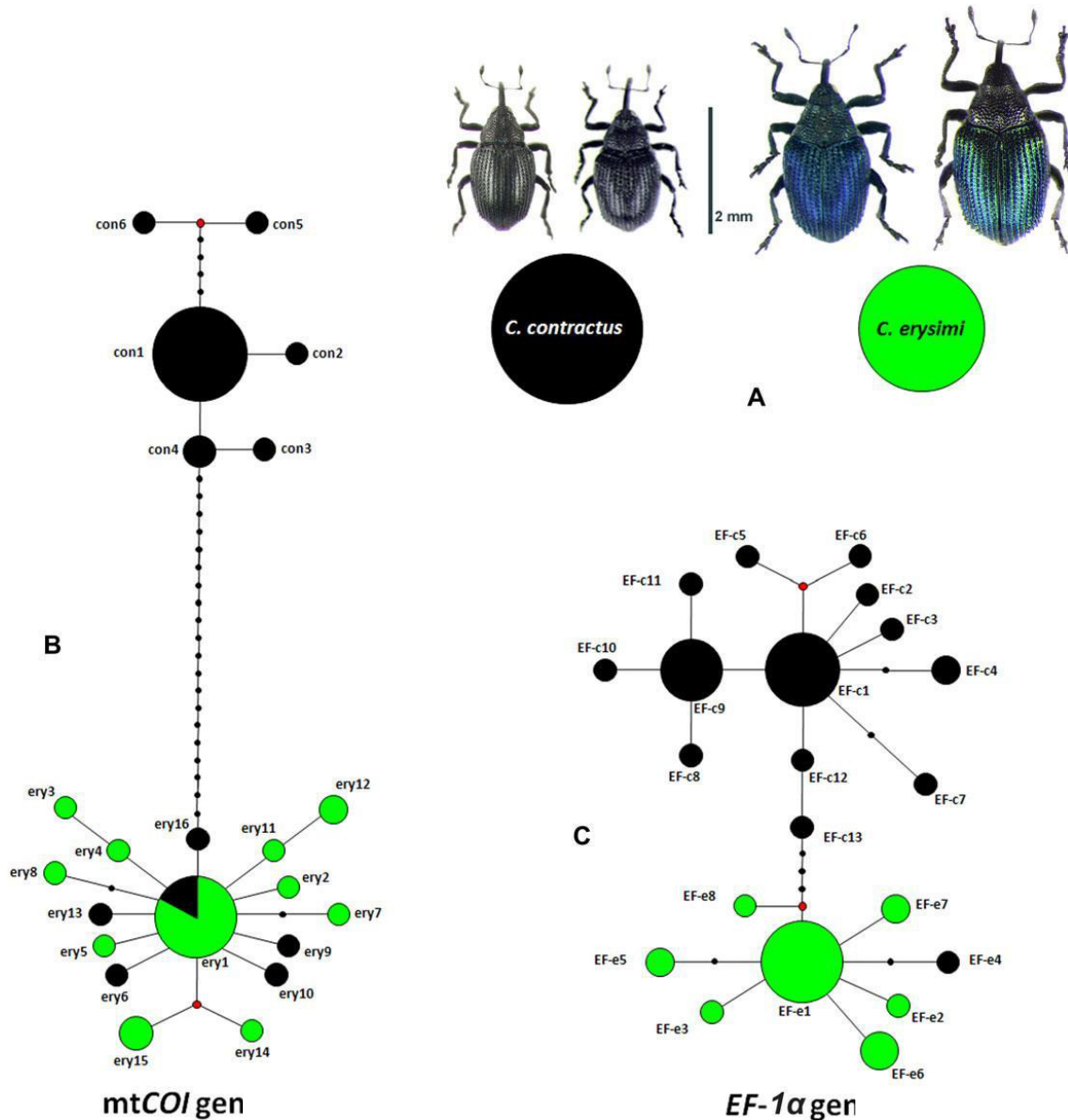
Генеологија *COI* гена сачињена по методу Median-joining networks (Bandelt *et al.*, 1999) и методом статистичке парсимоније (Templeton *et al.*, 1992) у софтверском пакету TCS в. 1.21 (Clement *et al.*, 2000) потврдила је неподударност фенотипских и генотипских карактеристика анализираних примерака. Резултати су показали да се код укупно шест примерака са фенотипским карактеристикама *C. contractus* налази митохондријални генотип који се групише са хаплотиповима врсте *C. erysimi* (Слика 9).

У циљу ширег сагледавања популационо-генетичке структурираности ове две врсте, развијен је молекуларни протокол за митохондријалну идентификацију генотипова код примерака различитог фенотипа. Укупно 101 адулт (Прилог 5) је тестиран дизајнираним PCR-RFLP протоколом, од чега 33 фенотипа *C. erysimi* и 68 адулата са фенотипом који је био типичан за *C. contractus*. Ампликони *COI* гена добијени PCR реакцијом уз помоћ LCO1490/HCO2198 прајмера (продукт од укупно 709 bp) подвргнути су дигестији са рестрикцијом ендонуклеазом *SspI* да би се добила информација о рестрикцијним профилима.

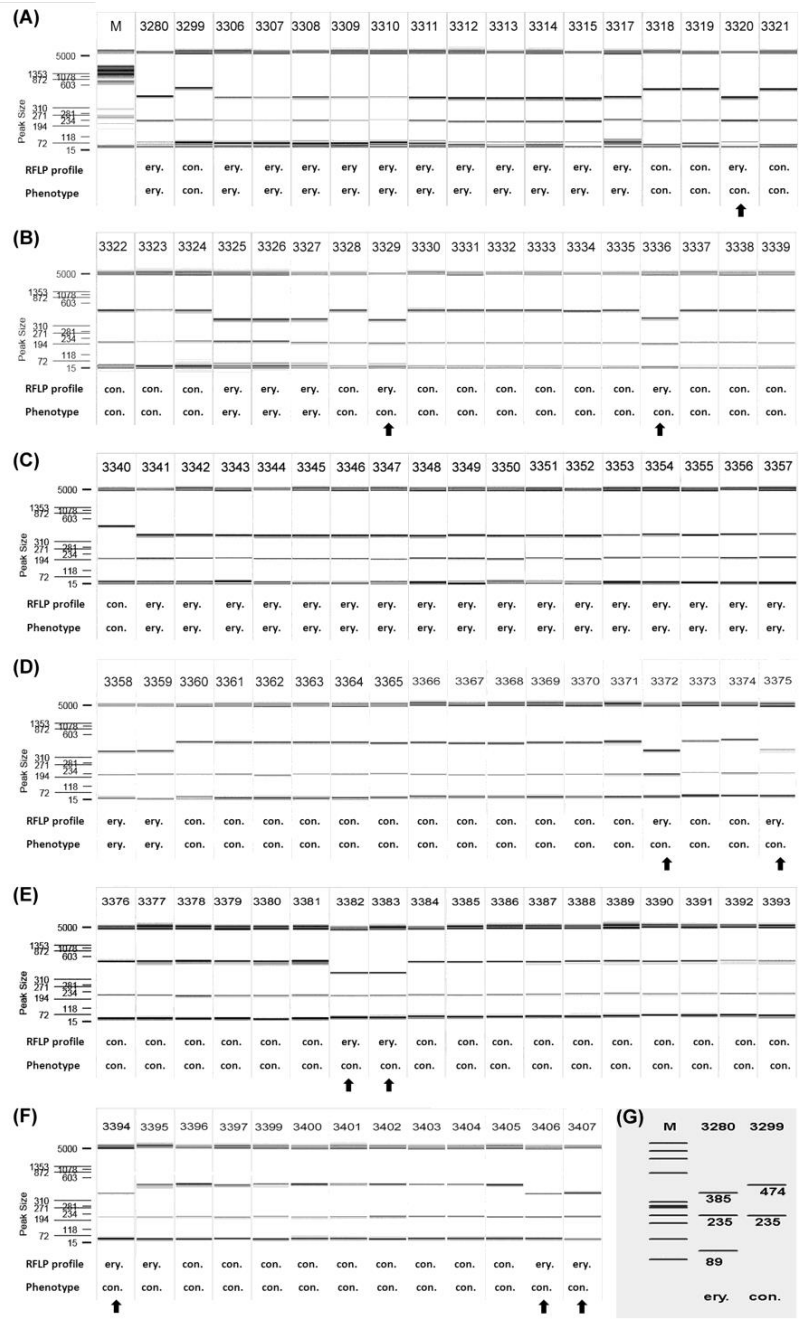
Рестрикцијни профили које даје *SspI* претходно су проверени виртуелном дигестијом уз помоћ софтвера pDRAW32 код свих регистрованих хаплотипова *C. contractus* и *C. erysimi*. Генотипови у асоцијацији са врстом *C. contractus* секу се *SspI* ендонуклеазом на једној позицији ампликона (чиме се добију укупно два фрагмента дужине 474 и 235 bp), док генотип *C. erysimi* сече ампликон *COI* гена на две позиције, при чему се добијају три фрагмента дужине 385, 235 и 89 bp. Након што су рестрикцијни производи 101 анализираних адулта визуализовани преко система капиларне електрофорезе QIAxcel advanced (Qiagen), утврђено је релативно често присуство генотипа *C. erysimi* у популацијама *C. contractus*. Код укупно десет примерака је утврђено непоклапање фенотипа са генетским садржајем на митохондријалном *COI* гену (Слика 10).

Анализа нуклеарног гена *EF-1a* свих регистрованих хаплотипова који су забележени на митохондријалном *COI* гену код врсте *C. erysimi* и *C. contractus*, указала је на знатно мању дивергенцију између ове две врсте, али и јасно раздвајање генотипова који су припадали свакој врсти понаособ. Укупно је секвенциран 21 примерак, који су показали максималну дивергенцију између секвенци од 1.6% (средња вредност 1.3%). Median-joining network анализа (Слика 9,С) је потврдила јасно груписање на две хаплотипске групе, које одговарају фенотиповима адулта, осим у једном случају (хаплотип EFe4, екстракциона ДНК L333) код кога је регистровано

одсуство подударности фенотипа и генотипа и по митохондријалном *COI* гену и по нуклеарном *EF-1a* гену (Прилог 4).



Слика 9. Фенотипска и генотипска асоцијација код врста *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus*. (A) Фенотип. (B) Median-joining network на основу цитохром оксидазе субјединице 1 гена (*COI*). (C) Median-joining network на основу фактора елонгације $-1a$ гена (*EF-1a*). Величина кругова у хаплотипској мрежи је пропорционална фреквенцији фенотипова (A), односно фреквенцији регистрованих хаплотипова (B, C). Црвене тачке представљају векторе, а црне тачке хаплотипове који недостају. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију. Скраћенице “ery.” и “con.” представљају *C. erysimi* и *C. contractus*.



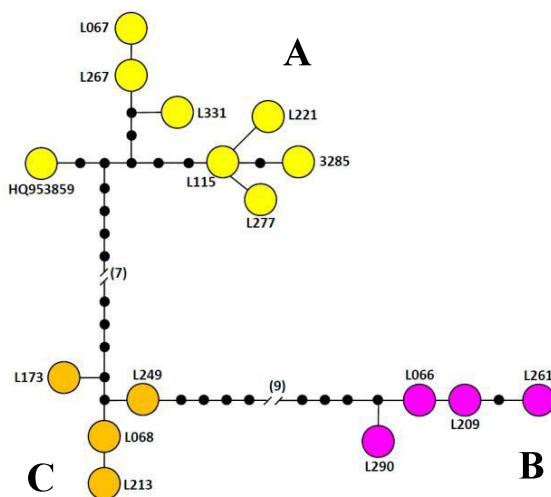
Слика 10. PCR-RFLP метод идентификације *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus*. (A–F) *SspI* RFLP профили *COI* бар кодинг региона (LCO1490/HCO2198) 101 примерка *C. erysimi* (33) и *C. contractus* (68) претходно одређених на основу фенотипа. Рестрикциони фрагменти су раздвојени на систему капиларне електрофорезе QIAxcel advanced (Qiagen). Референтни примерци за поређење су *C. erysimi* (3280) и *C. contractus* (3299) на почетку колона. М = QX ДНК представља маркер FX174/*HaeIII* (Qiagen). Величина фрагмената маркера (bp) су 1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118 и 72, а маркер за поравњање QX 15 bp/5 kb (15 и 5000) је обележен на профилима. Стрелица представља примерке код којих се нису подударали фенотип и *COI*-RFLP генотип. (G) *In silico* gel electrophoresis *COI* секвенце амплификована прајмерима LCO1490 и HCO2198 контролних примерака врсте *C. erysimi* (3280) и *C. contractus* (3299), виртуелно исечени рестрикционим ензимом *SspI*. Скраћенице “ery.” и “con.” представљају *C. erysimi* и *C. contractus*.

Код неколико *Ceutorhynchus* врста је уочена висока дивергенција на интраспецијском нивоу. То је посебно наглашено код врсте *Ceutorhynchus scrobicollis* где је анализом секвенцираних примерака са укупно 12 локалитета (**Прилог 1**) идентификовано укупно 15 хаплотипова који су се груписали у три издвојене групе (**Слика 11**). Средња вредност дивергенције базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова на *COI* гену износила је 1.7%, дивергенција унутар хаплотипских група од 0.4-0.6%, док је средња дивергенција између групе *scrobicollis* А и *scrobicollis* В износила 1.4%, а група секвенци *scrobicollis* С дивергирала је у просеку за 3.2% (2.9-3.8%) од група А и В (**Табела 5**).

Табела 5. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1, базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus scrobicollis* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 11**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

хаплотипска група	d_1 (SE)	d_2 (SE)	P (SE)		
			1	2	3
1. <i>scrobicollis</i> В		0.004 (0.002)	-	(0.004)	(0.006)
2. <i>scrobicollis</i> А	0.017 (0.003)	0.006 (0.002)	0.014	-	(0.006)
3. <i>scrobicollis</i> С		0.004 (0.002)	0.032	0.032	-

d_1 , дивергенција између свих секвенци; d_2 , дивергенција секвенци унутар групе; P , *p*-дистанца секвенци између група; SE, стандардна грешка.



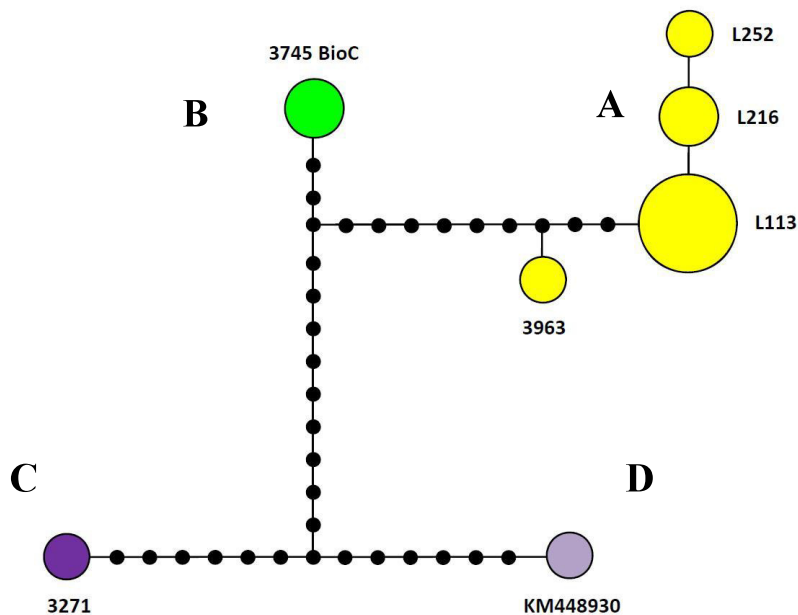
Слика 11. TCS мрежа регистрованих хаплотипова код врсте *Ceutorhynchus scrobicollis* на основу цитохром-оксидазе подјединице 1 гена (*COI* ген). Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију. Бројеви у заградама представљају мутације које спајају хаплотипске групе А, В и С.

Слична ситуација је регистрована код галиколне врсте *Ceutorhynchus assimilis* чије се ларве развијају на корену *Lepidium draba*. Секвенцирани материјал ове врсте са територије Србије је углавном био пореклом са *L. draba* и *L. campestre* (18 примерака, укупно 3 хаплотипа). Један примерак је одгајен из гале на корену *Alyssum saxatile* из околине Књажеваца (узорак 3271). Анализи су прикључене секвенце примерка сакупљеног са *Crambe tatarica* (Румунија, Валеа Лупулуи), 3 примерка популације *C. assimilis* из јужне Француске (В, BioC) која је обележена као специфичан биотип погодан за биолошку контролу *L. draba* (Von Virag *et al.*, 2016) и референтна секвенца врсте *C. assimilis* (KM448930, Hoellenbrand, Germany). Хаплотипска мрежа на основу статистичке парсимоније такође указује на постојање значајне дивергенције која смешта хаплотипове у четири групе (Слика 12). Код ових примерака генетска дивергенција може бити последица географског порекла анализираних јединки, на пример, група *assimilis* А и В, између којих је средња дивергенција 2% и показују специфичне биоeколошке особености у погледу еколошког круга домаћина (Von Virag *et al.*, 2016). Са друге стране, један од регистрованих хаплотипова у Србији, група С (примерак 3271), одгајен из гале на корену *Alyssum saxatile*, показује неуобичајену високу стопу дивергенције у односу на остале примерке из Србије (*assimilis* А) од 4.0% (3.2-4.0) (Табела 6).

Табела 6. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1, базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus assimilis* груписаних у хаплотипску мрежу (Слика 12) на основу статистичке парсимоније (TCS).

хаплотипске групе	d_1 (SE)	d_2 (SE)	P (SE)			
			1	2	3	4
<i>C. assimilis</i>						
1. <i>assimilis</i> А		0.002 (0.001)	-	(0.005)	(0.008)	(0.008)
2. <i>assimilis</i> В	0.011 (0.002)	0 (0)	0.020	-	(0.007)	(0.007)
3. <i>assimilis</i> С		n/c	0.040	0.032	-	(0.006)
4. <i>assimilis</i> D		n/c	0.040	0.032	0.021	-

d_1 , дивергенција између свих секвенци; d_2 , дивергенција секвенци унутар групе; P , *p*-дистанца секвенци између група; SE, стандардна грешка.



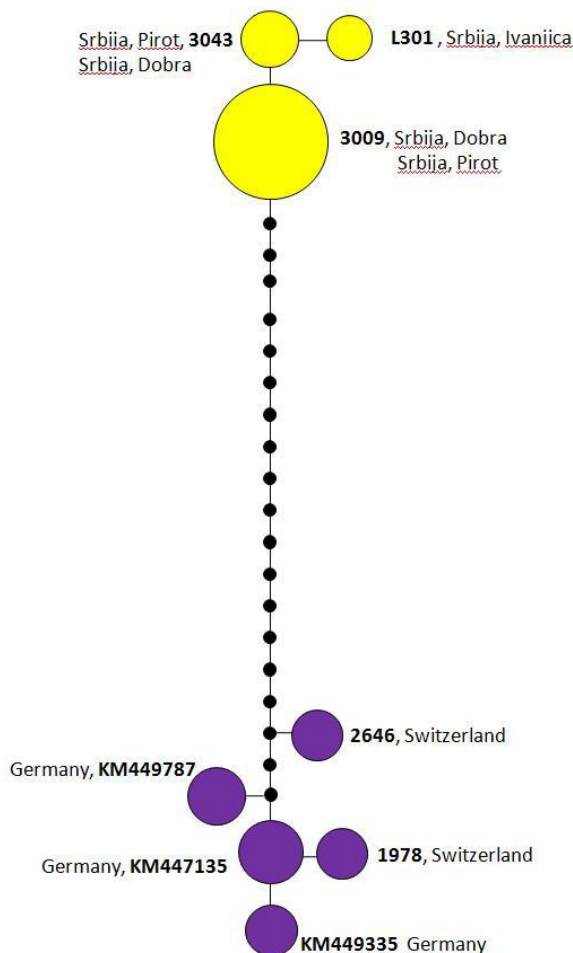
Слика 12. TCS мрежа регистрованих хаплотипова код врсте *Ceutorhynchus assimilis* на основу цитохромоксидазе подјединице 1 гена (*COI*). Величина кругова у мрежи су пропорционални фреквенцији регистрованих хаплотипова. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију. Хаплотипови обележени као BioC (B) потичу из јужне Француске, хаплотип KM448930 (D) из Немачке док су хаплотипови обележени као A и C пореклом из Србије.

Код врсте *Ceutorhynchus constrictus* чије се ларве развијају на плодовима *Aliaria petiolata*, такође је регистрована дубока дивергенција код обрађених популација из Србије, *constrictus* A (Добра, Ђердапска клисура и Станчење, Пирот) и примерака из централне Европе, *constrictus* B (западни део Немачке и Швајцарска) (Слика 13). Средња вредност дивергенције две хаплотипске групе је износила је 1.5%, са слабо израженом дивергенцијом унутар хаплотипских група, док је дивергенција између група износила 3.1% (2.9-3.4%) (Табела 7).

Табела 7. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1, базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus constrictus* груписаних у хаплотипску мрежу (Слика 13) на основу статистичке парсимоније (TCS).

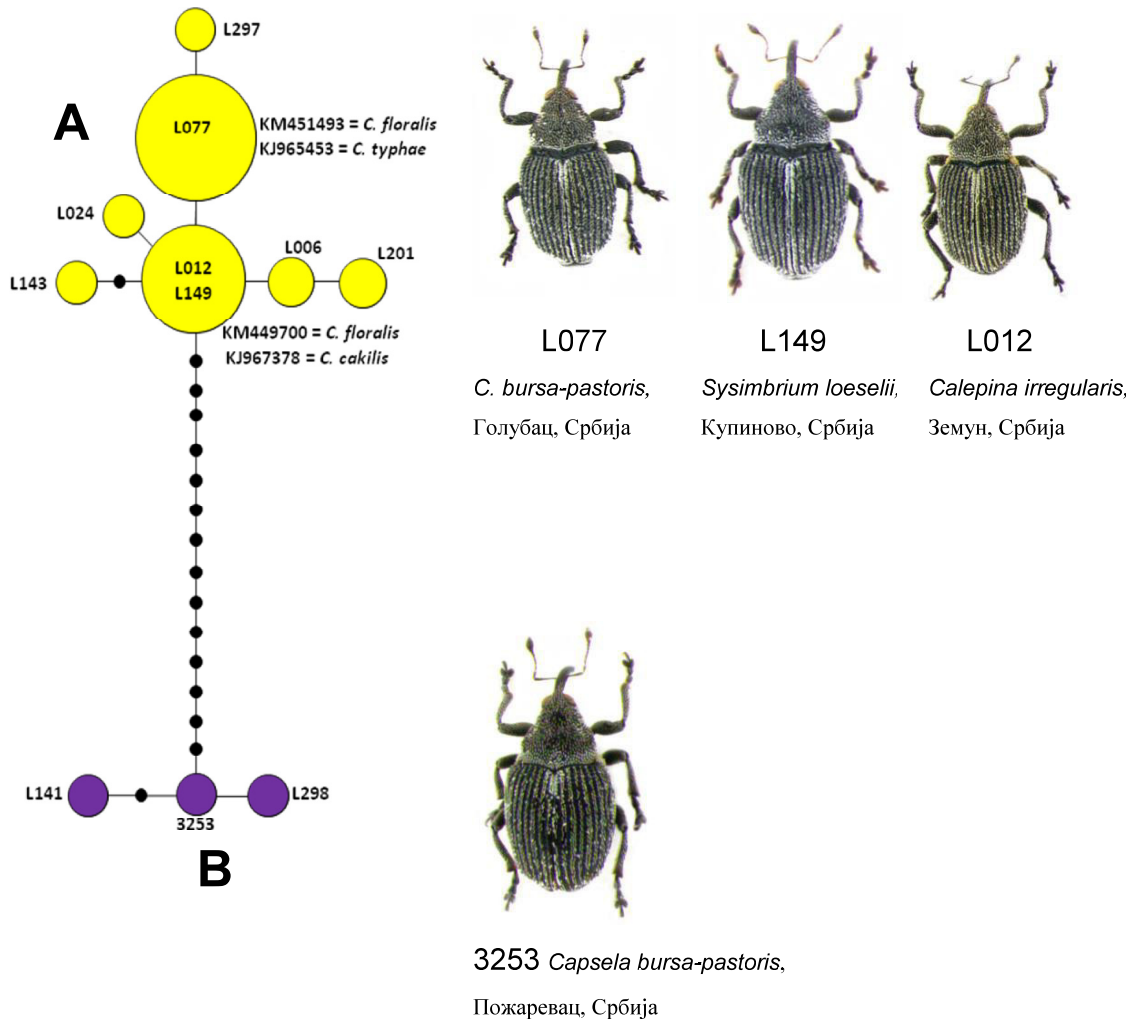
хаплотипске групе	d_1 (SE)	d_2 (SE)	P (SE)	
			1	2
<i>C. constrictus</i>				
1. <i>constrictus</i> A (Србија)	0.015 (0.003)	0.001 (0.001)	-	(0.006)
2. <i>constrictus</i> B (Централна Европа)		0.005 (0.001)	0.031	-

d_1 , дивергенција између свих секвенци; d_2 , дивергенција секвенци унутар групе; P , *p*-дистанца секвенци између група; SE, стандардна грешка.



Слика 13. TCS мрежа регистрованих хаплотипова код врсте *Ceutorhynchus constrictus* на основу цитохромоксидазе подјединице 1 гена (*COI*). Величина кругова у мрежи је пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

Таксономска позиција *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* комплекса није у потпуности јасна. Из дела материјала који је обрађен са територије Србије секвенцирано је укупно 30 примерака са 18 локалитета и 13 биљака домаћина (**Прилог 1**). Анализама су придодата два примерка из Француске (3968, 3969, *Bartolea incana*, Rhone) и секвенце врста овог комплекса из BOLD базе KM451493 (= *C. floralis*), KJ965453 (= *C. typhae*), KM449700 (= *C. floralis*) и KJ967378 (= *C. cakilis*). Секвенцирање *COI* гена резултирало је идентификацијом укупно 10 хаплотипова који су се груписали у две одвојене групе, А и В (**Слика 14**).



Слика 14. TCS мрежа регистрованих хаплотипова из групе врста *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* регистрованих у Србији на основу цитохром оксидазе подјединице I гена (*COI*). Величина кругова у мрежи је пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Секвенце обележене као KM451493 (= *C. floralis*) и KJ965453 (= *C. typhae*) пореклом из централне Европе идентичне су са 14 секвенци из Србије који припадају хаплотипу L077, док су секвенце KJ967378 (= *C. cakilis*) и KM449700 (= *C. floralis*) идентичне са 11 секвенци којима припада хаплотип L012. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију. Фенотип примерака које припадају генотипским групама А и В је приказан у нивоу хаплотипског груписања.

Средња стопа дивергенције између ове две групе је износила 0.6%, средња дивергенција хаплотипова унутар групе А 0.3%, а групе В 0.2%, док је *p*-дистанца између група износила 2.7% (**Табела 8**). Секвенце KM451493 (= *C. floralis*) и KJ965453 (= *C. typhae*) пореклом из централне Европе идентичне су са 14 секвенци из Србије које припадају хаплотипу L077, док су секвенце KJ967378 (= *C. cakilis*) и KM449700 (= *C. floralis*), примерци сакупљени са *Bartolea incana* из Француске (локалитет Rhone), биле идентичне са 11 секвенци којима припада хаплотип L012.

Табела 8. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген), базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова код комплекса врста *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* груписаних у хаплотипску мрежу (**Слика 14**) на основу статистичке парсимоније (TCS).

хаплотипске групе	d_1 (SE)	d_2 (SE)	P (SE)	
			1	2
<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> комплекса				
1. Група А		0.003 (0.002)	-	(0.006)
	0.006 (0.001)			
2. Група В		0.002 (0.001)	0.027	-

d_1 , дивергенција између свих секвенци; d_2 , дивергенција секвенци унутар групе; P , *p*-дистанца секвенци између група; SE, стандардна грешка.

Код две јасно дивергентне хаплотипске групе са дивергенцијом од 2.7% нису забележени стабилни морфолошки карактери који би јасно разликовали ове две групе. Насупрот томе, у морфолошком смислу, код примерака једне и друге групе опсервирана је одређена стопа фенотипске варијабилности која се пре свега огледала кроз величину примерака, густине и боје томента, која је варирала од светло сиве до светло окер боје (**Слика 14**). Поређењем са преко 30 секвенци доступних у BOLD бази, хаплотипови групе В који су регистровани у Србији нису присутни у централној Европи. Са друге стране, доступне секвенце врста *C. typhae-floralis-cakilis* комплекса из централне Европе и секвенцирани примерци са југа Француске били су идентични хаплотиповима који су најчешћи у Србији (L012 и L077).

Генеологија хаплотипова који су регистровани код 19 секвенцираних примерака врсте *C. pallidactylus*, сакупљених на 11 локалитета са 12 биљних врста (**Прилог 1**), показала је груписање у две хаплотипске групе А и В (**Слика 15**). Анализи је придодата и референтна секвенца *C. pallidactylus* из BOLD базе KM442474 пореклом из централне Европе (Bornheim-Nemmerich, Germany). Средња стопа дивергенције између ове две групе је износила 1%, а средња дивергенција хаплотипова унутар групе А 0.3%, а групе В 0.5%, док је *p*-дистанца између група износила 1.8% (**Табела 9**). Максимална регистрована дивергенција између две групе је износила 3.3%.

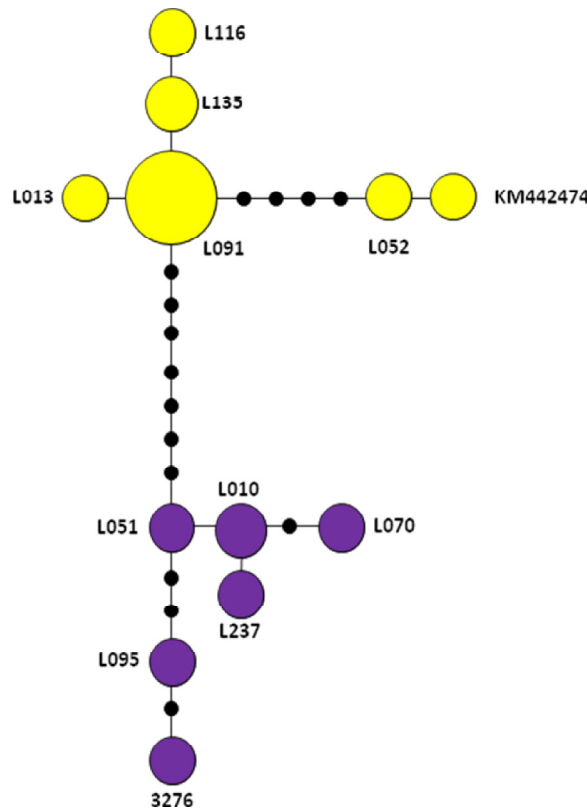
Код хаплотипских група *C. pallidactylus*, која је иначе позната као изразито полифагна врста, не постоји образац груписања који би био у корелацији са биљкама домаћинима. Хаплотипови групе А су регистровани на *Brassica oleracea*, *B. nigra*, *B. napus*, *Calepina irregularis*, *Myagrum perfoliatum*, *Erysimum saxatile* и *Sisymbrium orientalis*, док је група В регистрована на *Myagrum perfoliatum*, *Calepina irregularis*, *Sinapis arvensis*, *Brassica napus*, *Alyssum saxatile* и *Alliaria petiolata*. Хаплотипови различитих група били су присутни у најмање два случаја у синтопији, на локалитету

Земун и локалитету Књажевац. Додатне анализе са 20 секвенци ове врсте централно Европске дистрибуције показале су њихову припадност и идентичност са хаплотипском групом А која је регистрована у Србији, док је хаплотипска група Б аутентично везана за примерке са подручја Србије.

Табела 9. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген), базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus pallidactylus* груписаних у хаплотипску мрежу (Слика 14) на основу статистичке парсимоније (TCS).

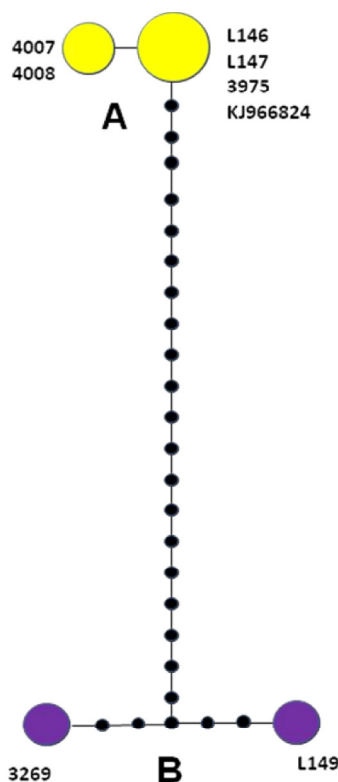
хаплотипске групе <i>C. pallidactylus</i>	d_1 (SE)	d_2 (SE)	P (SE)	
			1	2
1. Група А	0.010 (0.002)	0.003 (0.001)	-	(0.005)
2. Група В		0.005 (0.002)	0.018	-

d_1 , дивергенција између свих секвенци; d_2 , дивергенција секвенци унутар групе; P , *p*-дистанца секвенци између група; SE, стандардна грешка.



Слика 15. TCS мрежа регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus pallidactylus* регистрованих у Србији на основу цитохромоксидазе подјединице 1 гена (*COI*). Величине кругова у мрежи су пропорционалне фреквенцији регистрованих хаплотипова. Секвенце обележене као KM442474 пореклом су из централне Европе. Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

Још један случај високе интраспецијске дивергенције митохондријалних хаплотипова *COI* гена је регистрован код врсте *Ceutorhynchus puncticollis*. Ова врста је на територији Србије најчешће у асоцијацији са *Lepidium draba* и врстама из рода *Erysimum*. Ларве се развијају на бази стабљике и круни корена. Од укупно седам секвенцираних примерака ове врсте, јасно су се издвојиле две хаплотипске групе, обележене као група А и В. Средња стопа дивергенције између ове две групе је износила 1.8 %, а средња дивергенција хаплотипова унутар групе А од 0.2%, а за групу В од 1%, док је *p*-дистанца између група износила 3.9% (Табела 10). Секвенца KJ966824 која је референтна за ову врсту из централне Европе (Heinola, Finland), идентична је са три секвенце из Србије које припадају хаплотипу L147 (Слика 16). Секвенце L194 (ex *Rorippa prostrata*) и 3269 (ex *Erysimum rhaeticum*) показују поред значајне дивергенције, у односу на хаплотипску групу А од 3.8-4.2 % и значајну дивергенцију између себе од 1%.



Слика 16. TCS мрежа регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus puncticollis* регистрованих у Србији на основу цитохром оксидазе субјединице I гена (*COI*). Величина кругова у мрежи је пропорционална фреквенцији регистрованих хаплотипова. Секвенце обележене као KJ966824 пореклом из централне Европе (Heinola, Finland). Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

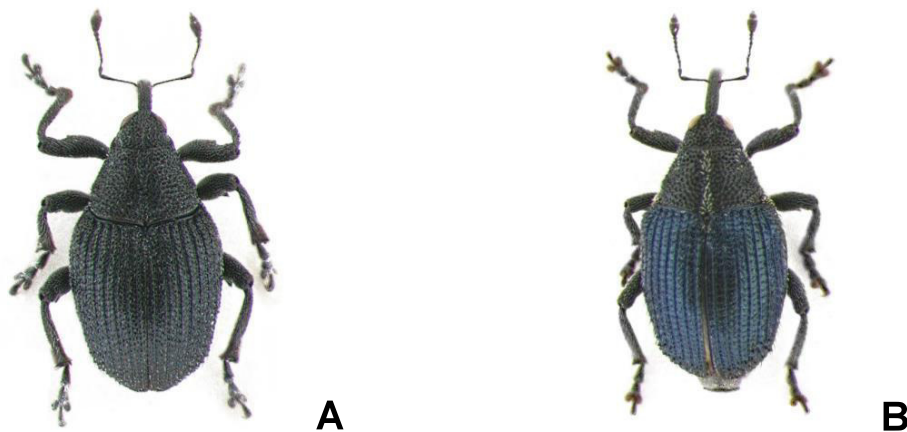
Табела 10. Средње вредности дивергенције митохондријске цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген), базиране на „pairwise“ анализи (*p*-дистанца метод) између регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus puncticollis* груписаних у хаплотипску мрежу (Слика 16) на основу статистичке парсимоније (TCS).

хаплотипске групе	d_1 (SE)	d_2 (SE)	P (SE)	
			1	2
<i>C. puncticollis</i>				
1. Група А	0.018 (0.003)	0.002 (0.001)	-	(0.007)
2. Група В		0.010 (0.004)	0.039	-

d_1 , дивергенција између свих секвенци; d_2 , дивергенција секвенци унутар групе; P , *p*-дистанца секвенци између група; SE, стандардна грешка.

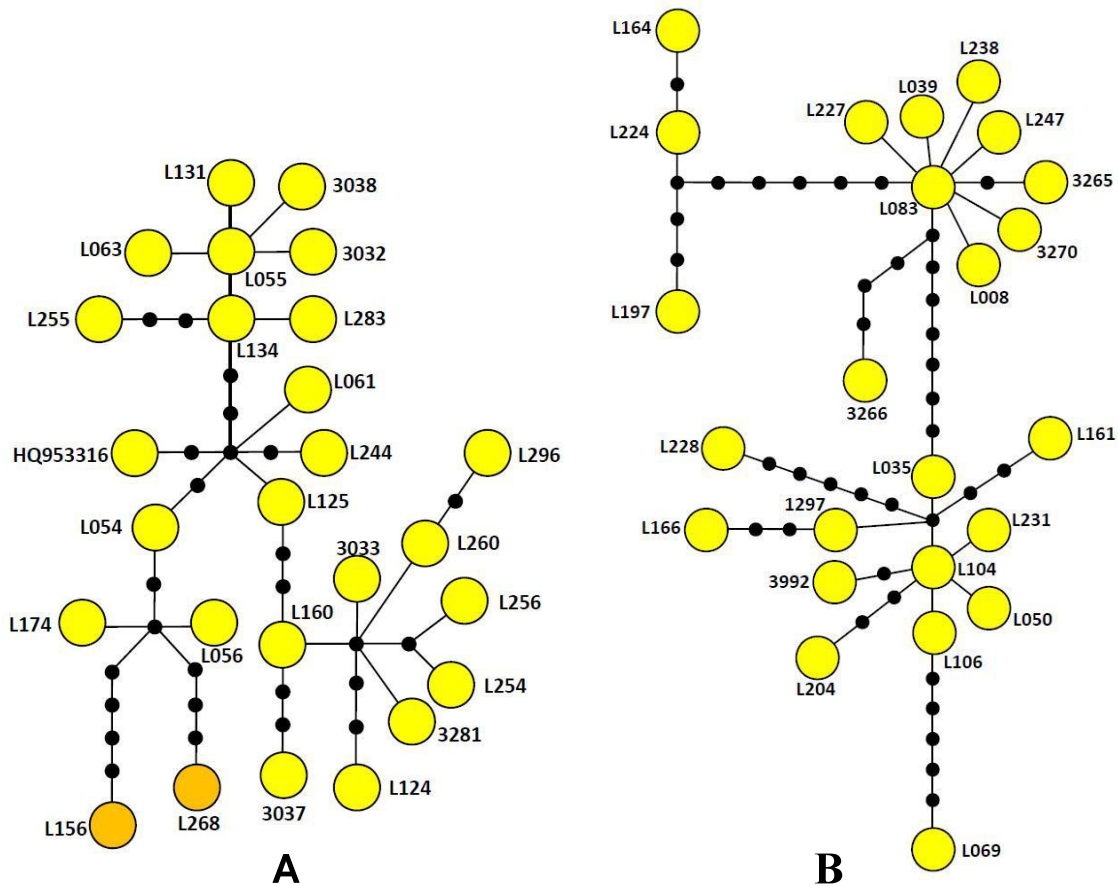
Код две врсте, *Ceutorhynchus roberti* и *C. sulcicollis*, регистрован је изузетно богат хаплотипски диверзитет. Обе врсте имају стабилне морфолошке карактере (Слика 17), веома су честе и јављају се у бројним популацијама.

Током спроведених истраживања ларве *C. roberti* су регистроване на четири биљне врсте (*Thlaspi arvense*, *Thlaspi alliaceum*, *Cardamine hirsuta*, *Alliaria petiolata*) док је исхрана адулта забележена још и на *Capsella bursa-pastoris*. Укупно је регистровано 26 хаплотипова (Слика 18А) код 38 секвенцираних примерака (Прилог 1), са средњом стопом дивергенције од 1% и максималном регистрованом хаплотипском дивергенцијом од 2.6%, између хаплотипа L156 (ex *Thlaspi alliaceum*, Крагујевац) и L254 (ex *Thlaspi arvense*, Сабанта, Крагујевац).



Слика 17. (А) *Ceutorhynchus roberti*, 3033, *Alliaria petiolata*, 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот; (В) *Ceutorhynchus sulcicollis*, L162, ex l., ex *Calepina irregularis*, 25.04.2011. Крагујевац, Драча.

Хаплотипски диверзитет је још израженији код врсте *Ceutorhynchus sulcicollis*, где је код 42 секвенцирана примерака регистровано укупно 24 хаплотипа, са изузетно високом средњом стопом интраспецијске дивергенције од 1.4% и максималном *p*-дистанцом од 3.3% (хаплотип L069, ex *Alliaria petiolata*, Неготин и L164, ex *Hesperis* sp., Драча, Крагујевац). У хаплотипској мрежи (Слика 18В) јасно се уочава присуство неколико међусобно дивергентних хаплотипова (L164, L069, 3266, L228), али и уско повезаних хаплотипских групација, што сугерише на динамичну диференцијацију популација која у себи може садржати елементе криптичне специјације. *Ceutorhynchus sulcicollis* је изразити полифаг чије су ларве регистроване на 14 биљних врста (Табела 2).



Слика 18. TCS мрежа регистрованих хаплотипова врсте *Ceutorhynchus roberti* (А) и *Ceutorhynchus sulcicollis* (В) на територији Србије на основу цитохром оксидазе субјединице I гена (*COI*). Линија која спаја кругове и тачке представља једну мутацију.

5. ДИСКУСИЈА

Захваљујући развоју молекуларних метода омогућена је прецизна и брза идентификација организама који су укључени у еволуцијске, еколошке или фаунистичке студије. Последњих десетак година, баркодинг концепт живих организама (Hebert *et al.*, 2003; Pons *et al.*, 2006) је омогућио да се процедура идентификације врста поједностави и приближи истраживачима као рутинска метода у истраживачким студијама. Ово је знатно убрзало идентификацију врста које су предмет истраживања са једне стране, и проверљиву прецизност таксономске позиције организма који је у фокусу истраживача, са друге стране. Примена молекуларних метода је довела до лаке и брзе потврде интеракција које организми имају са својим окружењем, као и сагледавање детаља њихове биологије. Када су у питању инсекти, чији су преадултни стадијуми непознати или слабо истражени, молекуларне методе представљају алат који је практично постао метод избора у поузданом сагледавању односа које инсекти имају са осталим организмима током свог развића (Gaskin *et al.*, 2011; Kajtoch *et al.*, 2015).

Сурлаши из рода *Ceutorhynchus* су већ одавно у фокусу истраживања као изузетно дивергентна група инсеката са неуобичајено израженом радијацијом од преко 380 познатих врста (Colonnelli, 2004), а тиме и бројним нерешеним таксономским статусом одређених врста, са неретко неуређеном номенклатуром. То је разумљива последица типолошког концепта врста где су морфолошки карактери били у основи дефинисања и дијагнозе таксона, али и чињенице да је поуздана идентификација врста била заснована на ауторитету и мишљењу појединих експерата који су покривали одређену област. Детерминација заснована на типолошком концепту нужно је повезана са кредибилитетом и искуством таксонома, али са собом носи недостатке који су у савременој науци неприхватљиви, пре свега због субјективности самог таксонома-специјалисте и практичне немогућности проверљивости, поновљивости и поредивости детерминације од стране истраживача који су крајњи корисници.

Овакве ситуације су постале драматично честе у примењеним истраживањима због значаја биолошког концепта врста (Maug, 1942), односно криптичне специјације (Bickford *et al.*, 2007) где је по дефиницији тешко, или чак немогуће, разликовати врсте на основу фенотипских карактера. Са друге стране, чињенице указују да је типолошки

концепт врсте дубоко инкорпориран унутар свих биолошких дисциплина и да је као наслеђе старо преко 250 година, једина осовина око које се врши инвентаризација и проучавање диверзитета живог света целе планете. Међутим, оно што посебно забрињава је очигледан пад у броју традиционалних таксонома способних да задовоље многоструко увећане потребе за том врстом експертизе. Поред пада броја класичних таксонома (Taylor & Harris, 2012), присутан је рапидни пораст нових информација које суштински превазилазе типолошки концепт врсте као једине осовине око које се спроводе истраживања биодиверзитета, одржавања, заштите инвентаризације, који су тренутно водећи концепти савремене биологије.

Због горе наведеног, баркодинг иницијатива представља изузетно користан алат за брзу и прецизну идентификацију и инвентаризацију врста (Miller, 2007), али само ако је она наслоњена на наслеђе традиционалне таксономије (Goldstein & DeSalle, 2011), што је у основи критицизма који се упућује у правцу овог концепта, и то пре свега, са становишта епистемиолошке вредности (DeSalle *et al.*, 2005; Brower, 2006; Meier *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2008). Међутим, нема сумње да ће типолошки концепт, са целокупном акумулацијом коју носи, бити од фундаменталног значаја за повезивање традиционалне таксономије и нових приступа, као што је на пример баркодинг иницијатива.

Примарна детерминација било којег организма се и даље заснива на традиционалној таксономији са свим својим нагомиланим проблемима, посебно када је у питању номенклатура. Поред очигледне предности коју са собом доноси баркодинг и молекуларна дијагноза организма, примарна детерминација врсте је и даље зависна од традиционалног типолошког концепта врсте. Због тога, традиционалну таксономију и ДНК баркодинг метод не би требало посматрати као два антагонистичка концепта, него као комплементарне приступе у решавању проблема у екологији, филогенији, таксономији и номенклатури живих организма (Packer *et al.*, 2009; Taylor & Harris, 2012).

Када су у питању сурлаши из рода *Ceutorhynchus* суочени смо са изузетно дивергентном групом инсеката који су распрострањени широм Холарктика, од чега само неколико врста имају централну или јужноафричку дистрибуцију. Скоро све познате врсте су у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae, а само неколико врста користи као биљке домаћине врсте из фамилије Resedaceae (Colonnelli, 2006; Korotyaev, 2008). Неке од врста, као на пример *Ceutorhynchus obstrictus*, *C. pallidactylus*,

C. rapae и *C. napi* су познате као значајне економске штеточине на култивисаним круциферама, нарочито на *Brassica napus* (уљана репица) и различитим комерцијалним варијететима *Brassica rapa* (Doddall *et al.*, 2011; Vaitelytė *et al.*, 2013). Са друге стране, један значајан број врста се сматра потенцијално корисним инсектима због њихове могуће апликације као агената за биолошко сузбијање инвазивних корова из фамилије Brassicaceae (Fumanal *et al.*, 2004; Hinz *et al.*, 2008; Gerber *et al.*, 2009; Gerber *et al.*, 2012b; Hinz & Diaconu, 2015).

Сурлаши из рода *Ceutorhynchus* су слабо проучени, чак и када су у питању економски значајне врсте. Генерално, њихова биномија се у већини случајева своди на податке који су везани за време појављивања и списка биљака са којих су адулти сакупљени (Colonnelli, 2004). У ретким случајевима присутне су студије које дају ближе информације од значаја за поједине врсте, односно о њиховој биологији и екологији. Ипак, највећи број радова се односе на таксономско фаунистичке студије.

Филогенетски односи између врста рода *Ceutorhynchus* су скоро у потпуности неистражени са изузетком неколико радова (Laffin *et al.*, 2005; Hinz *et al.*, 2008; Rauth *et al.*, 2011). Ово је вероватно последица честих нерешених проблема на нивоу таксономије и номенклатуре код врста овог бројног рода. Са друге стране, управо проблеми на нивоу таксономије и номенклатуре представљају главно ограничење у проучавању ових сурлаша. Korotyaev (2008) наводи да је свеобухватна класификација рода *Ceutorhynchus* веома проблематична и предлаже као ефикаснији приступ увођење подродова за јасно дефинисане групе врста. Међутим, како су биологија и филогенија овог рода недовољно проучени, молекуларни приступ проучавања се намеће као метод избора како би се избегле недоумице око таксономске позиције врста које су предмет изучавања. Ово је нарочито важно код примењених истраживања, на пример у биолошкој контроли, где је поуздана идентификација врста императив.

Спроведена истраживања над сурлашима рода *Ceutorhynchus* у Србији су у основи имали за циљ да се применом баркодинг метода изврши прецизна детерминација врста и сагледају биолошки и еколошки аспекти, пре свега асоцијације које ови сурлаши имају у односу на потенцијалне биљке домаћине. Концепт ових истраживања је био да се употребом молекуларних метода детерминишу ларве *Ceutorhynchus* врста које су регистроване у различитим врстама из фамилије Brassicaceae и да се тако добијени резултати упореде са молекуларним налазом код уловљених адулта (метод молекуларне подударности). Овакав приступ у основи треба

да укаже на подударност дијагноза постављених на основу морфолошких и мелекуларних карактера одраслих јединки и регистрованих ларви код којих је таксономски статус детерминисан само на основу молекуларних метода. На овај начин успоставља се директна веза између субјекта (врста) који је предмет истраживања и окружења у коме се он развија, при чему су добијени подаци о потенцијалним биљкама и нишама на којима се ларве развијају високо релевантни. Због тога, ова истраживања у својој основи нису била фаунистичка, иако имају значајан допринос и у том правцу са 41 регистрованом врстом из рода *Ceutorhynchus*, већ су она пре свега био-еколошка по свом карактеру, са посебним освртом на филогенетске и популационо-генетичке аспекте регистрованих врста са могућим таксономским импликацијама.

Када су у питању таксономске импликације, вероватно су најиндикативнији примери врста *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus*. Обе врсте се морфолошки лако разликују, имају широко распрострањење у западном Палеарктику, а у литератури се наводе као полифагне и веома честе (Hoffmann, 1954; Dieckmann, 1972). *Ceutorhynchus erysimi* је најчешће везан развићем ларви за *Capsella bursa-pastoris* (Colonnelli, 2004). Овим истраживањима је *C. bursa-pastoris* потврђена као честа биљка за развиће ларви ове врсте, али су као биљке домаћини доказане још и *Alliaria petiolata*, *Lepidium draba* и *Carmellina microcarpa* (Табела 2). За врсту *C. contractus* се наводи шири круг домаћина где се поред Brassicaceae, наводе и биљне врсте фамилије Resedaceae и Carapagaceae (Hoffmann, 1954; Colonnelli, 2004). У овим истраживањима, развиће ларви *C. contractus* је регистровано на *Thlaspi alliaceum*, *Capsella bursa-pastoris*, *Lepidium draba*, *Alliaria petiolata* и *Camelina microcarpa*.

Популационо-генетичка истраживања на митохондријалном *COI* гену код ове две фенотипски јасно издиференциране врсте, показала су необичну дивергентност у генетском садржају и код једне и код друге врсте. Иако су истраживања покрила релативно мало географско подручје, регистровано је укупно 22 хаплотипова на *COI* гену, од чега шест хаплотипова за врсту *C. contractus* код укупно 31 секвенцираних примерака са 19 локалитета, односно скоро три пута више или 16 хаплотипова за врсту *C. erysimi* код 25 анализираних примерака, са 12 локалитета.

Хаплотипска мрежа сачињена од свих 22 хаплотипова показала је непоклапање фенотипских карактера анализираних примерака *C. erysimi* и њиховог генотипског садржаја. Додатне анализе конзервативнијег нуклеарног гена *EF-1 α* су на велико изненађење, показале такође изузетно висок диверзитет хаплотипова на овом гену,

укупно 21, али у овом случају са очигледном инверзијом, 13 хаплотипова код врсте *C. contractus*, односно 8 код *C. erysimi* (Слика 8). На *EF-1a* гену је такође регистровано непоклапање фенотипског и генотипског садржаја код једног примерка *C. erysimi*.

Популационо-генетичка истраживања две врсте са јасно дефинисаним фенотипом, као што је то случај између *C. contractus* и *C. erysimi*, и неслагање фенотипа са генотипом анализираних примерака, представља једну недоследност која има практичних импликација за дијагнозу ових врста, али и са потенцијано ширим импликацијама за таксономију целог рода. Иако је у овом случају регистрована неподударност митохондријалног садржаја, уочена код примерака који су по фенотипу *C. contractus*, односно када је у питању нуклеарни садржај код једног примерка фенотипа *C. erysimi*, обимнија анализа примерака са више локалитета показала да је ово непоклапање фенотипа и митохондријалног генотипа код *C. contractus* честа појава.

На основу PCR-RFLP генотипизације већег броја узорака, непоклапање је регистровано у 10% анализираних примерака са фенотипом *C. contractus*. Овај образац асиметричне интрогресије је релативно честа појава између локалних и интродукованих популација (Currat *et al.*, 2008) или у случају наглих експанзија ареала популација врста (Excoffier *et al.*, 2009), односно ако не постоје разлике у понашању и парењу две блиске и симпатричне врсте (Patton & Smith, 1993; Gomes *et al.*, 2009). У случају откривене интрогресије између *C. contractus* и *C. erysimi*, недоследност у митохондријалном садржају сугерише на епизодичне хибридизације између ове две врсте, при чему потомство настало на овај начин диференцирају фенотипске карактеристике због узастопног понављања парења са једном од родитељских линија. Према овом сценарију, акумулација митохондријалних генотипова *C. erysimi* унутар популација *C. contractus* и асиметрична интрогресија може бити последица скорашње или историјске хибридизације.

Непоклапање фенотипског и генотипског садржаја у случају врста *C. contractus* и *C. erysimi*, отвара питање прецизности баркодинга као методе за брзу и тачну идентификацију организама. Са друге стране, поставља се питање приоритета фактора на основу којег се поставља прецизна таксономска дијагноза. У овом случају, за примерке који испољавају фенотип типичан за *C. contractus*, али поседују митохондријални генотип од *C. erysimi*, није могуће детерминисати њихову таксономску позицију. Ако се примени традиционални приступ, ови примерци би према типолошком концепту врсте били детерминисани као *C. contractus sensu stricto*.

Међутим, то не би био случај ако би се применио баркодинг приступ или ако би детерминација била заснована на анализи ларве, што је један од најзначајних аргумената поборника баркодинг иницијативе (Köhler, 2007; Wong & Hanner, 2008). У знатно ширем контексту, отвара се још значајније питање таксономске позиције врсте *C. contractus*, јер у случају да не постоји подударност фенотипа у односу на генотип код типског примерка, односно примерка који је носилац имена врсте (eng. name-bearing type), неопходно је извршити ревизију статуса *C. contractus* према правилима Интернационалног кода зоолошке номенклатуре (ICZN).

Иако се ситуација са *C. contractus* и *C. erysimi* може сматрати изолованим случајем, резултати који су произишли из ових истраживања отварају важна питања која су у фокусу „необјављеног рата“ између заступника традиционалног и баркодинг приступа у таксономији (Brower, 2006; Miller, 2007; Song *et al.*, 2008; Voero, 2010; Goldstein & DeSalle, 2011; Voero & Bernardi, 2014). У сваком случају, овде се не поставља питање који је приступ бољи или који приступ више одговара захтевима савремене науке, јер су резултати истраживања на примеру *C. contractus* и *C. erysimi* јасно показали да оба приступа, и традиционални и баркодинг, нису задовољавајући. Са друге стране, популационо-генетичке анализа код сурлаша из рода *Ceutorhynchus* иде у прилог томе да ситуација са *C. contractus* и *C. erysimi* није изолован случај, већ напротив, да постоје бројне нејасноће у погледу популационе генетике на интра- и интерспецијском нивоу, које се затим рефлектују на таксономски статус врста овог рода. Истраживања спроведена на врстама рода *Ceutorhynchus* у Србији управо потврђују горе наведену претпоставку. Због тога, да би се стабилизовао статус врста са документованом интрогресијом, морају се применити додатни методи, пре свега већи број генетичких маркера који би допринели бољој резолуцији за дефинисање границе врста.

Резултати популационо-генетичких истраживања су у квалитативном погледу отворила бројна питања о таксономији ове групе која до сада нису била позната. То се јасно види на примерима дубоке дивергенције на митохондријалном маркеру *COI* гену који је коришћен у овим истраживањима. Дубока дивергенција на интраспецијском нивоу до 3.8% је регистрована код врсте *C. scrobicollis*, код *C. assimilis* (4%), *C. constrictus* (3.4%), *C. pallidactyllus* (3.3%), *C. puncticollis* (3.9%), *C. roberti* (2.6%) и *C. sulcicollis* (3.3%). Када су у питању митохондријални маркери, неколико аутора је саопштило да акумулација нуклеотидних разлика између врста од 2% (DeSalle *et al.*,

1987; Brower, 1994) одговара еволутивном времену од милион година, а да се дивергенције на овом нивоу доводи у везу са криптичном специјацијом, односно криптичним врстама.

Оваква ситуација намеће потребу да се прецизно дефинише таксономски статус популација које су потенцијално предмет специфичних апликативних истраживања. У случају врсте *C. scrobicollis* регистроване су три одвојене хаплотипске групе са значајном дивергенцијом на *COI* гену. Акумулиране разлике у митохондријалном геному могу се испољити као метаболичке функционалне особености између различитих хаплотипова или хаплотипских група (Kurbalija-Novičić *et al.*, 2015), што може утицати на био-еколошке специфичности, како на популационом тако и на индивидуалном нивоу. Због тога, познавање популационо-генетичких особености врста је од фундаменталног значаја код апликативних истраживања, нарочито оних који су у вези са биолошком контролом инвазивних корова, у овом случају из фамилије Brassicaceae.

Истраживања погодности *Ceutorhynchus scrobicollis* као биолошког агента за сузбијање *Alliaria periolata*, инвазивне биљне врсте у северној Америци, трају више од 15 година (Gerber *et al.*, 2007; Gerber *et al.*, 2009). Женке полажу јаја од половине септембра, ларве се развијају у круни корена током зиме, док се први адулти јављају средином маја месеца. Популационо-генетичка истраживања спроведена на популацијама *C. scrobicollis* из Немачке, Румуније и Грузије показала су значајну генетичку дивергентност између географски удаљених популација (Rauth *et al.*, 2011) при чему су јасно издиференциране две хаплотипске групе, једна из централе Европе и друга из Грузије. У материјалу *C. scrobicollis* из Србије идентификоване су три веома дивергентне хаплотипске групе (Слика 11), што јасно указује на комплексност генетичког садржаја ове врсте на просторима Балкана. Статус хаплотипских група *C. scrobicollis* у Србији је неопходно детаљно проучити, нарочито са становишта фундаменталног круга домаћина, јер је ова врста позната као монофаг на *A. periolata*. Популациона генетика инкорпорирана у истраживања кандидата за биолошку контролу могу значајно побољшати сигурност и успешност њихове примене у биолошкој контроли корова (Rauth *et al.*, 2011).

Спроведена истраживања су недвосмислено показала да постоји шири еколошки круг домаћина код појединих *Ceutorhynchus* врста, чак и код врста за које се сматра да су високо специфичне према својим домаћинима, као што су то на пример *C.*

scrobicollis или *C. alliariae* у асоцијацији са *Alliaria petiolata*. Са друге стране, физиолошки круг биљака које могу подржати развиће ларви ових врста до адулта је знатно шири (Gerber *et al.*, 2009). То је вероватно један од разлога због чега ниједна од тестираних *Ceutorhynchus* врста у програмима билошке контроле инвазивних Brassicaceae није показала потребан ниво специфичности и тиме добила статус безбедног агента у класичној биолошкој контроли корова. Разлоге за полифагност која је присутна код многих врста из рода *Ceutorhynchus* треба тражити управо у генетичкој хетерогености самих врста на интрапопулационом нивоу, чиме је значај молекуларне екологије за разумевање комплексних интеракција које ови сурлаши имају са преферентним, односно алтеративним биљкама домаћинима, од пресудног значаја.

Треба посебно нагласити да је шири еколошки круг домаћина забележен и код галиколних врста из рода *Ceutorhynchus*. Због коеволутивне интеракције између галиколних инсеката и њивових биљака домаћина ови инсекти се по правилу сматрају монофагним (Harris & Shorthouse, 1996). Дobar пример за то је врста *Ceutorhynchus chalybaeus* која је у Србији регистрована као честа на *Arabis turitta*, односно као знатно ређа на *Alliaria petiolata*. У централној Европи, ова врста је у честој асоцијацији са *Thlaspi arvense*, ретко са *Alliaria petiolata*, док је на северу Европе позната само са *Alliaria petiolata*. Са друге стране *Thlaspi arvense* није забележена као биљка домаћин за овог сурлаша у Србији. Иако је тешко објаснити овакву врсту асоцијација код врсте која не показује генетичку диференцијацију у односу на различите биљке домаћине и има стабилан генетски садржај на ширем географском подручју, чини се да су еколошки разлози, односно фактори фрагментације и сукцесије станишта, главни покретач брзе адаптације и прелазак ове врсте са једног на другог домаћина. Треба имати на уму да је *Thlaspi arvense* типична на отвореним стаништима (ливаде), *Alliaria petiolata* насељава засењена станишта (шуме или ивице шума), док је *Arabis turitta* честа на стрмим каменитим литицама клисура. Индукција гале као одговор биљке на цецидогени стимуланс женке приликом овипозиције је од суштинског значаја за нормалан развој ларви галиколних инсеката (Mani, 1964). У случају *C. chalybaeus* то се не рефлектује кроз алтернативни избор новог домаћина који је у филогенетском смислу најближи аутентичној биљци (на пример друге врсте из рода *Thlaspi*), већ према биљним врстама које ће на цецидогени стимуланс реаговати индукцијом гала. Филогенетска и хабитуална удаљеност биљака које подржавају развиће ларви *C. chalybaeus* указује на високи адаптивни капацитет и изразиту полифагност ове врсте,

иако је то у супротности са осталим галиколним инсектима који су по правилу високо специфични и монофагни.

Популационо-генетичка структура великог броја врста указује да је таксономија и систематика целог рода *Ceutorhynchus* у таквој мери проблематична да се она не може стабилизovati без обраде типског материјала који дефинишу врсте овог рода. Пример врста *C. assimilis* и комплекса *C. cakilis-floralis-typhae* само потврђују неопходност ревизије уз помоћ молекуларних метода.

Када је у питању *C. assimilis*, бројни су примери у литератури где се ова врста наводи као штеточина семена уљане репице (Ferguson *et al.*, 2000; Bartlet *et al.*, 1997), затим као врста која индукује гале на корену економски значајних круцифера и, на крају, као високо специфична врста погодна за биолошку контролу *Lepidium draba* (Fumanal *et al.*, 2004). У овом случају виде се, пре свега, последице номенклатурне збрке која је присутна у литератури. Томе доприносе и морфолошке разлике које су између различитих врста често суптилне. *Ceutorhynchus assimilis* група, како је дефинисана од стране Korotyaev (1980), сачињена је од 26 конгенеричних врста са дистрибуцијом у Палеарктику и јужној Африци (Colonnelli 2004, 2006). Недавно објављена еколошка студија која се односи на популације *C. assimilis* са југа Француске, за коју се сматра да је специјализована за своје развиће на *Lepidium draba* и популације из источне Европе, за које се сматра да су генералисти у односу на биљке домаћине, указала је на извештајан степен еколошке диференцијације (Von Virag *et al.*, 2016). Са друге стране, на популационо-генетичком нивоу, јасно се уочавају разлике између популација из јужне Француске у односу на популације ове врсте из осталих делова Европе и Србије (Слика 12). Овакав ниво хаплотипског раслојавања само потврђује комплексност на интрапопулационом нивоу код врсте, односно неопходност ревизије целе *C. assimilis* групе.

Дивергенција на интраспецијском нивоу код врста које формирају јасне хаплотипске групе, а које су праћене без значајних морфолошких диференцијација, износила је код врста рода *Ceutorhynchus* између 2.5-4.5%. Међутим, у ретким случајевима, дивергенција до 4% на митохондријалном маркеру може бити праћена значајном морфолошком диференцијацијом, што се види на примеру врста *C. erysimi* и *C. contractus* (Слика 9), или између *C. arator* и *C. peyerimhoffi* (Слика 7). Код ендоефагних инсеката, асоцијација са њиховим биљкама домаћинима може довести до селекционог притиска који води према диверзификацији популације, затим

специјализацији и, на крају, еколошкој специјацији (Morregh, 1996). Овакав утицај на популације хербиворних инсеката је познат и добро документован (Feder *et al.*, 1988; Via, 1999; Via *et al.*, 2000), а хибридизација између конгенеричних биљних врста, што је чест случај код Brassicaceae (Marhold & Lihová, 2006), може створити услове где део популације користи алтернативног домаћина и што може резултирати еколошком дивергенцијом (Berlocher & Feder, 2002; Funk *et al.*, 2002). Овај процес сам по себи иде у правцу даље диверзификације популација према биљкама домаћинима, при чему треба имати у виду да ови процеси на темпоралној скали и у историјском контексту могу бити и рекурентни.

Дивергенција на митохондријалном маркеру од 2.5-4.5%, сугерише да је до акумулације генетских разлика унутар хаплотипских група на интрапопулационом нивоу пре свега скорашњи догађај и да је до тих промена дошло током Плеистоцена. Величина дивергенције код интраспецијских хаплотипских група од 4.5%, ако се прихвати да ниво мутација од 2% одговара временском периоду од милион година (Brower, 1994), коинцидира са почетком Плеистоцена и сукцесивним понављањем дужих периода глацијације и краћих периода интерглацијације. Због дужине трајања глацијације, ови периоди су могли довести до генетске диференцијације у епизодама када су популације биле изоловане у рефугијумима. Скорашња истраживања указују на постојање глацијалних рефугијума у централној Европи (Stewart & Lister, 2001; Schmitt, 2007; Provan & Bennett, 2008), позиционирани ван познатих рефугијума у области Медитерана, пре свега Иберијског, Апенинског, Балканског и Црноморског рефугијума (Petit *et al.*, 2003).

Регистрована интраспецијска дивергенција и хетерогеност дистрибуције хаплотипова код неких врста *Ceutorhynchus* може се објаснити управо сукцесивним експанзијама популација врста из главних глацијалних рефугијума, где су акумулирале међусобне генетске разлике и њихово мешање са популацијама из других рефугијума током периода интерглацијације. Понављање глацијалних контракција и фрагментација популација, праћена експанзијом и мешањем са суседним популацијама током интерглацијације је у складу са налазима о интензивној промени дистрибуције неких врста инсеката током Квартара на основу поређења фосила (Coore, 1994; Abellan *et al.*, 2011).

Балканско полуострво је позиционирано на раскршћу три велика континента, а Србија која заузима централно место, обилује различитим климатским подручјима и

комплексном географијом, због чега је проткана флористичким и фаунистичким ендемизмом (Kryštufek & Reed, 2004). Уједно, то је једно од најзначајнијих рефугијалних подручја европског континента. Због тога је територија Балканског полуострва, у ширем смислу, означена као европско жариште биодиверзитета (Kulkarni *et al.*, 2016). Када су у питању популационо-генетичке студије живог света, рефугијална историја подручја Србије носи са собом поред богатства у диверзитету и једну сложену генетичку структурираност врста, што је од изузетног значаја за шире сагледавање еколошких, еволутивних и специјацијских процеса унутар рода *Ceutorhynchus*.

6. ЗАКЉУЧЦИ

На основу спроведених истраживања и добијених резултата изведени су следећи закључци:

1. Регистрована је укупно 41 врста из рода *Ceutorhynchus* сакупљених са укупно 55 биљних врста из фамилије Brassicaceae.

2. Адулти врста рода *Ceutorhynchus* су углавном полифагне у односу на биљке домаћине из фамилије Brassicaceae и показују знатно шири еколошки круг домаћина. Ово је нарочито присутно код адулта који за допунску исхрану могу користити већи број алтернативних биљака из различитих родова ове фамилије.

3. Ларве врста рода *Ceutorhynchus* имају знатно ужи еколошки круг домаћина које користе за развиће ларви, тако да се могу сматрати олигофагним у односу на биљке из фамилије Brassicaceae.

4. Због олигофагности на нивоу фамилије Brassicaceae, њихову погодност као биолошких агената за контролу инвазивних биљних врста ове фамилије треба ригорозно проверити.

5. На основу филогенетске анализе врста *Ceutorhynchus* базиране на митохондријалном баркодинг маркеру *COI* гена, уочава се 10 филогентски блиских група врста са високом *bootstrap* подршком. Интерспецијска дивергенција код регистрованих врста је била висока (3.8-19.7%) са преко 290 варијабилних позиција (47.1%), на 616 анализираних базних парова.

6. Популационо-генетичке анализе врста *Ceutorhynchus scrobicollis*, *C. assimilis*, *C. constrictus*, *C. pallidactylus*, *C. puncticollis*, *C. roberti*, *C. sulcicollis* и *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* комплекса, базиране на статистичкој парсимонији и Median-joining network анализи, показале су постојање високе интраспецијске дивергенције до

4.5% на митохондријалном баркодинг маркеру *COI* гена, комплексну генеологију са формирањем добро издиференцираних хаплотипских група, са могућим импликацијама на њихове биоеколошке преференце и перформанце и могуће криптичне диференцијације.

7. Популационо-генетичке анализе врста *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus* показале су постојање асиметричне интрогресије код морфолошки добро издиференцираних врста, са импликацијама за таксономску позицију ове две врсте.

8. Дубока митохондријална дивергенција на интраспецијском нивоу врста, заједно са регистрованом интрогресијом код морфолошки добро издиференцираних врста, указују на неопходност ревизије статуса врста рода *Ceutorhynchus* уз помоћ молекуларних метода и интегративне таксономије.

7. ЛИТЕРАТУРА

- Abellan, P., Benetti, C.J., Angus, R.B., Ribera, I. 2011. A review of Quaternary range shifts in European aquatic Coleoptera. *Global Ecology and Biogeography*, 20: 87–100.
- Alonso-Zarazaga, M.A., Lyal, C.H.C. 1999. A world catalogue of families and genera of Curculionoidea (Insecta: Coleoptera) (Excepting Scolytidae and Platypodidae). *Entomopraxis*; Barcelona.
- Al-Shehbaz, I.A., Beilstein, M.A., Kellogg, E.A. 2006. Systematics and phylogeny of the Brassicaceae (Cruciferae) an overview. *Plant Systematics and Evolution*, 259: 89–120.
- Anderson, R.S. 1995. An evolutionary perspective on diversity in Curculionoidea. *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 14: 103–118.
- Astrin, J.J., Stüben, P.E. 2008. Phylogeny in cryptic weevils: molecules, morphology and new genera of Western Palaearctic Cryptorhynchinae (Coleoptera: Curculionidae). in: *Invertebrate Systematics*, 22 (5): 503–522.
- Bailey, C.D., Koch, M.A., Mayer, M., Mummenhoff, K., O’Kane Jr, S.L., Warwick, S.I., Windham, M.D., Al-Shehbaz, I.A. 2006. Toward a global phylogeny of the Brassicaceae. *Molecular Biology and Evolution*, 23 (11): 2142–2160.
- Bandelt, H-J., Forster, P., Röhl, A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16:37-48.
- Bartlet, E., Blight, M.M., Lane, P., Williams, I.H. 1997. The responses of the cabbage seed weevil *Ceutorhynchus assimilis* to volatile compounds from oilseed rape in a linear track olfactometer. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85(3): 257-262.
- Berlocher, S.H., Feder, J.L. 2002. Sympatric speciation in phytophagous insects: moving beyond controversy? *Annual Review of Entomology*, 47: 773–815.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sohdi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends Ecology & Evolution*, 22 (3): 148–155.

- Boero, F. 2010. The study of species in the era of biodiversity: a tale of stupidity. *Diversity*, 2: 115–126.
- Boero, F., Bernardi, G. 2014. Phenotypic vs genotypic approaches to biodiversity, from conflict to alliance. *Marine Genomics*, 17: 63–64.
- Brower A.V. 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 6491–6495.
- Brower, A.V. 2006. Problems with DNA barcodes for species delimitation: ‘ten species’ of *Astraptes fulgerator* reassessed (Lepidoptera: Hesperiiidae). *Systematics and Biodiversity*, 4: 127–132.
- Caldara, R., O'Brien, C.W. 1995. Curculionidae: Aquatic weevils of China (Coleoptera). - In Jäch, M.A. & Ji, L. (eds). *Water Beetles of China*. Wien I: 389–408.
- Chetverikov, P.E., Cvrković, T., Makunin, A., Sukhareva, S., Vidović, B., Petanović, R. 2015. Basal divergence of Eriophyoidea (Acariformes, Eupodina) inferred from combined partial COI and 28S gene sequences and CLSM genital anatomy. *Experimental and Applied Acarology*, 67 (2): 219–245.
- Clement, M., Posada, D., Crandall, K.A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9: 1657–1659.
- Colonnelli, E. 2006. The genus *Ceutorhynchus* Germar in tropical Africa (Coleoptera Curculionidae). *Atti della Accademia roveretana degli Agiati. B, Classe di scienze matematiche, fisiche e naturali*. Rovereto (TN). *Accademia roveretana degli Agiati*, 8: 47–74.
- Colonnelli, E. 2004. Catalogue of Ceutorhynchinae of the world, with a key to genera (Insecta: Coleoptera: Curculionidae). *Argania editio*, Barcelona, Spain.
- Coope, G.R. 1994. The response of insect faunas to glacial-interglacial climatic fluctuations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 344: 19–26.

- Cripps, M.G., Hinz, H.L., Mc Kenney, J.L., Harmon, B.L, Merickel, F.W., Schwarzlaender, M. 2006. Comparative survey of the phytophagous arthropod faunas associated with *Lepidium draba* in Europe and the western United States, and the potential for biological weed control. *Biocontrol Science and Technology*, 16(10): 1007–1030.
- Cronk, Q.C.B., Fuller, J.L. 1995. Plant invaders – the threat to natural ecosystems. London, UK: Chapman and Hall.
- Currat, M., Ruedi, M., Petit, R.J., Excoffier, L. 2008. The hidden side of invasions: Massive introgression by local genes. *Evolution*, 62: 1908–1920.
- Daly, H.V., Doyen, J.T., Purcell, A.H.III. 1998. Introduction to Insect Biology and Diversity, 2nd ed. Oxford University Press. 680.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R., Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9: 772.
- Davis, A.S., Landis, D.A., Nuzzo, V., Blossey, B., Gerber, E., Hinz, H.L. 2006. Demographic models inform selection of biocontrol agents for garlic mustard (*Alliaria petiolata*). *Ecological Applications*, 16(6): 2399–2410. Ecological Society of America.
- De Clerck-Floate, R., Bouchier, R.S. 2000. Ecological principles of biological control: from population theory to weed biocontrol practice, 517–520. *Proceedings, X International Symposium on Biological Control of Weeds*, 4-14 July 1999, Bozeman, MT, USA. Neal Spencer (ed.).
- De Nill, G.B., Hokkanen, H.M.T. 1990. Homeostasis and success in biological control of weeds—a question of balance. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 33:1–10.
- DeSalle, R., Freedman, T., Prager, E.M., Wilson, A.C. 1987. Tempo and mode of sequence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila*. *J. Mol. Evol.* 26 (1-2):157–64.
- DeSalle, R., Egan, M.G., Siddall, M. 2005. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360: 1905–1916.
- Dieckmann, L. 1972. Beiträge zur Insektenfauna der DDR. Coleoptera: Curculionidae: Ceutorhynchinae. *Beiträge zur Entomologie*, 22: 47–108.

- Dieckmann L. 1980. Beiträge zur Insektenfauna der DDR: Coleoptera – Curculionidae (Brachycerinae, Otorhynchina, Brachyderinae). *Beiträge zur Entomologie*, 30: 145–310.
- Dosdall, L.M, Cárcamo, H., Olfert, O., Meers, S., Hartley, S., Gavloski, J.E. 2011. Insect invasions of agroecosystems in the western Canadian prairies: case histories, patterns, and implications for ecosystem function. *Biological Invasions*, 13(5):1135–1149.
- Dres, M., Mallet J. 2002. Host importance in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation. *The Philosophical Transactions of the Royal Society*, B. 357: 471–492.
- Excoffier, L., Foll, M., Petit, R.J. 2009. Genetic consequences of range expansions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40: 481–501.
- Feder J.L., Chilcote C.A., Bush, G.L. 1988. Genetic differentiation between sympatric host races of *Rhagoletis pomonella*. *Nature*. 336: 61–64.
- Ferguson, A.W., Klukowski, Z., Walczak, B., Perry, J.N., Mugglestone, M.A., Clark, S. J., Williams, I.H. 2000. The spatio temporal distribution of adult *Ceutorhynchus assimilis* in a crop of winter oilseed rape in relation to the distribution of their larvae and that of the parasitoid *Trichomalus perfectus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 95(2): 161-171.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan vertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294–299.
- Freude, H., Harde, K.W., Lohse, G.A. 1983. Die Käfer Mitteleuropas. Band 11: Ryncophora. Goecke & Evers Verlag, Krefeld, Germany. 342.
- Fumanal, B., Martin, J.F., Sobhian, R., Blanchet, A., Bon, M.C. 2004. Host range of *Ceutorhynchus assimilis* (Coleoptera: Curculionidae), a candidate for biological control of *Lepidium draba* (Brassicaceae) in the USA. *Biological Control*, 30 (3): 598–607.
- Funk, D.J., Filchak, K.E., Feder, J.L. 2002. Herbivorous insects: model systems for the comparative study of speciation ecology. *Genetica*, 116: 251–267.

- Gaskin, J.F., Bon, M.C., Cock, M.J., Cristofaro, M., De Biase, A., De Clerck-Floate, R., Ellison, C.A., Hinz, H.L., Hufbauer, R.A., Julien, M.H., Sforza, R., 2011. Applying molecular-based approaches to classical biological control of weeds. *Biological Control*, 58: 1-21.
- Gerber, E., Cortat, G., Hinz, H.L., Blossey, B., Katovich, E., Skinner, L. 2009. Biology and host specificity of *Ceutorhynchus scrobicollis* (Curculionidae: Coleoptera), a root-crown mining weevil proposed as biological control agent against *Alliaria petiolata* in North America. *Biocontrol Science and Technology*, 19 (2): 117–138.
- Gerber, E., Hinz, H.L., Blossey, B. 2007. Impact of the belowground herbivore and potential biological control agent, *Ceutorhynchus scrobicollis*, on *Alliaria petiolata* performance. *Biological Control*, 42 (3): 355-364.
- Gerber, E., Hinz, H. and Fife, D. 2012a. Biological control agents of garlic mustard, *Alliaria petiolata*. Unpublished Annual Report 2011, CABI Europe – Switzerland, Delémont, Switzerland, 15.
- Gerber, E., Hinz, H.L., Blossey, B., Bacher, S. 2012b. Two shoot-miners, *Ceutorhynchus alliariae* and *Ceutorhynchus roberti*, sharing the same fundamental niche on garlic mustard. *Environmental Entomology*, 41: 1086–1096.
- Ghahari, H., Genrikhovich Arzanov, Y., Aleksandrovich Legalov, A., Tabari M., Ostovan, H. 2010. Weevils (Coleoptera: Curculionidae) from Iranian rice fields and surrounding grasslands. *Mun. Ent. Zool.*, 5 (1).
- Goldstein, P.Z., DeSalle, R. 2011. Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: determination, discovery, and description. *Bioessays*, 33: 135–147.
- Gomes, B., Sousa, C., Novo, M., Freitas, F., Alves, R., Côrte-Real, A., Salgueiro, P., Donnelly, M., Almeida, A., Pinto, J. 2009. Asymmetric introgression between sympatric molestus and pipiens forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in the Comporta region, Portugal. *BMC Evolutionary Biology*, 9: 1–15.
- Greathead, D.J. 1976. A review of biological control in western and southern Europe. Technical Communications No. 7, CIBC. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Slough, England, 83.

- Harris, P. 1993. Effects, constraints, and the future of weed biocontrol. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 46: 289–303.
- Harris, P., Shorthouse, J.D. 1996. Effectiveness of gall inducers in weed biological control. *The Canadian Entomologist*, 128 (6): 1021-1055.
- Hebert P.D.N., Ratnasingham S., deWaard J.R. 2003. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Science*, 270: 96–99.
- Hebert, P.D., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H., Hallwachs, W. 2004. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(41): 14812–14817.
- Hernández-Vera, G., Mitrović M., Jović J., Tosevski I., Caldara R., Gassmann A., Emerson B.C. 2010. Host-associated genetic differentiation in a seed parasitic weevil *Rhinusa antirrhini* (Coleoptera: Curculionidae) revealed by mitochondrial and nuclear sequence data. *Molecular Ecology*, 19, 2286–2300.
- Hernández-Vera, G., Caldara, R., Toševski, I., Emerson, B. C. (2013). Molecular phylogenetic analysis of archival tissue reveals the origin of a disjunct southern African–Palaeartic weevil radiation. *J. Biogeogr.*, 40: 1348–1359.
- Hinz, H.L., Diaconu, A. 2015. Biology and field host range of *Ceutorhynchus cardariae*, a potential biological control agent for *Lepidium draba*. *Journal of Applied Entomology*, 139: 168–178.
- Hinz, H.L., Gerber, E. 1998. Investigations on potential biological control agents of garlic mustard, *Alliaria petiolata* (Bieb.) Cavara & Grande. Annual Report for 1998. CABI Bioscience, Delemont, Switzerland.
- Hinz, H.L., Schwarzländer, M., Gaskin, J. 2008. Does phylogeny explain the host-choice behaviour of potential biological control agents for Brassicaceae weeds. *Proceedings of the XII International Symposium on Biological Control of Weeds*. International Wallingford, UK. 410–417.
- Hoddle, M.S. 2004. Restoring Balance: Using Exotic Species to Control Invasive Exotic Species. *Conservation Biology*, 18: 38–49.

- Hoffmann, A. 1954. Faune de France-Coleopteres Curculionides. 59. Editions Paul Lechevalier, Paris.
- Holecova, M. 1992. Niche breath of phytophagous Coleoptera (Curculionidae) in leaf bearing crowns of trees in forest and non-forest ecosystems. *Prace slov. entomol. spol.*, Bratislava 9: 31–44.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17: 754–755.
- Javorka, S., Csapody, V. 1979. Ikonographie der Flora des Südöstlichen Mitteleuropa. Frankfurt a/M, itd: Gustav Fischer Verlag.
- Jovanović-Dunjić, R., Diklić, N., Nikolić, V. 1972. Brassicaceae Burn. U Flora Srbije, vol. 3, Josifović, M. (Ed.), Srpska akademija nauka i umetnosti, Belgrade, 177.
- Julien, M.H., Griffiths, M.W. (eds.) 1999. Biological Control of Weeds. A World Catalogue of Agents and their Target Weeds, 4th ed. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.
- Kajtoch Ł., Kubisz D., Heise W., Mazur M.A., Babik W. 2015. Plant – herbivorous beetle networks: Molecular characterization of trophic ecology within a threatened steppic environment. *Molecular Ecology*, 24: 4023–4038.
- Kojić, M. 1986. Mala korovska flora - priručnik za određivanje korovskih i ruderalnih biljaka. Beograd: Naučna knjiga.
- Korotyaev, B.A. 1980. Materialy k poznanyu Ceutorhynchinae (Coleoptera, Curculionidae) Mongolii i SSSR. *Nasekomiie Mongolii*, 7: 107-282.
- Korotyaev, B.A. 2006. A review of the weevil genus *Rhinoncomimus* Wagner (Coleoptera: Curculionidae: Ceutorhynchinae). *Entomologische Abhandlungen*, 63: (1-2. 99-122).
- Korotyaev, B.A. 2008. Geographical distribution of the weevil subfamily Ceutorhynchinae (Coleoptera, Curculionidae) *Entomological Review*, 88 (8): 928-947.
- Köhler, F. 2007. From DNA taxonomy to barcoding—how a vague idea evolved into a biosystematic tool. *Zoosystematics and Evolution*, 83:44–51.
- Kryštufek, B, Reed, J.M. 2004. Patterns and process in Balkan biodiversity – an overview. In: Griffiths HI, Kryštufek B, Reed JM, eds. Balkan biodiversity. Dordrecht: *Kluwer Academic Publisher*, 1–8.

- Kurbalija-Novičić, Z., Immonen, E., Jelić, M., Anđelković, M., Stamenković Radak, M., Arnqvist, G. 2015. Within population genetic effects of mtDNA on metabolic rate in *Drosophila subobscura*. *Journal of evolutionary biology*, 28 (2): 338-346.
- Kulkarni, C., Peteet, D., Boger, R., Heusser, L. 2016. Exploring the role of humans and climate over the Balkan landscape: 500 years of vegetational history of Serbia. *Quaternary Science Reviews*, 144: 83-94.
- Kuschel, G. 1995. A phylogenetic classification of Curculionoidea to families and subfamilies. *Memoirs of the Entomological Society of Washington*, 14: 5-33.
- Laffin, R.D., Dossdall, L.M., Sperling, F.A.H. 2005. Population structure and phylogenetic relationships of *Ceutorhynchus neglectus* (Coleoptera: Curculionidae). *The Canadian Entomologist*, 137: 672–684.
- Legalov, A.A. 2006. Phylogenetic reconstruction of weevils superfamily Curculionoidea (Coleoptera) using the SYNAP method. *Biology Bulletin*, 33 (2): 127-134.
- Legarreta–Monroy, L. 2007. Genetic relationships, host – association and phylogeography of *Rhinusa* weevils (Coleoptera: Curculionidae). PhD thesis submitted at the University at East Anglia, Norwich, U.K.
- 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 Mol. Biol.*, 5: 153–165.
- Mahuku, G.S. 2004. A simple extraction method suitable for PCR-based analysis of plant, fungal, and bacterial DNA. *Plant Molecular Biology Reporter*, 22: 71-81.
- Manni, M.S. (1964) Ecology of Plant Galls, *Monographiae biologicae*, Vol. XII. Dr. W. Junk Publishers, The Hague.
- Mapondera, T.S., Burgess, T., Matsuki, M., Oberprieler, R.G. 2012. Identification and molecular phylogenetics of the cryptic species of the *Gonipterus scutellatus* complex (Coleoptera: Curculionidae: Gonipterini). *Australian Journal of Entomology*, 51 (3): 175–188.
- Marhold, K., Lihová, J. 2006. Polyploidy, hybridization and reticulate evolution: lessons from the Brassicaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 259 (2-4): 143-174.

- Marvaldi, A.E., Sequeira, A.S., O'Brien, C.W., Farrell, B.D. 2002. Molecular and morphological phylogenetics of weevils (Coleoptera, Curculionoidea). Do niche shifts accompany diversification? *Syst. Biol.* 51 (5): 761–785.
- Mayr, E. 1942. Systematics and the Origin of Species. *Columbia University Press, New York.*
- McEvoy, P.B. 1996. Host specificity and biological pest control. *BioScience*, 46: 401–405.
- Meier, R., Shiyang, K., Vaidya, G., Ng, P.K. 2006. DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Systematic Biology*, 55: 715–728.
- McFadyen, R.E.C. 1998. Biological control of weeds. *Annu. Rev. Entomol.*, 43:369–93.
- Miller, S.E. 2007. DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104: 4775–4776.
- Milovac, Ž., Pešić, S., Kereši, T., Marinković, R. 2010. Weevils (Coleoptera: Curculionoidea): Important members of rapeseed entomofauna in vicinity of Novi Sad. *Kragujevac Journal of Science*, 32: 141-148.
- Mopper, S. 1996. Adaptive genetic structure in phytophagous insect populations. *Trends in Ecology and Evolution*, 11: 235–238.
- Morin, L. 2001. Classical biological control of weeds-update and global issues. *Proceedings of the Third International Weed Science Congress*; 2000 June 6-11; Foz do Iguassu, Brazil number 238, pp. 1, CD.ROM. Available from: International weed Science Society, Oxford, MS, USA.
- Müller-Schärerh, H., Schaffner, U. 2008. Classical biological control: exploiting enemy escape to manage plant invasions. *Biological Invasions*, 10: 859–874.
- Norambuena, H., Piper, G.L. 2000. Impact of *Apion ulicis* Forster on *Ulex europaeus* L. seed dispersal. *Biological Control*, 17: 267–271.
- Oberprieler, R.G., Marvaldi, A.E., Anderson, R.S. 2007. Weevils, weevils, weevils everywhere. In: Zhang Z-Q, Shear, WA. (eds.). Linnaeus Tercentenary: Progress in Invertebrate Taxonomy. *Zootaxa*, 166: 491–520.
- Packer, L., Gibbs, J., Sheffield, C., Hanner, R. 2009. DNA barcoding and the mediocrity of morphology. *Molecular Ecology Resources*, 9 (1): 42-50.

- Page, A.R., Lacey, K.L. 2006. Economic impact assessment of Australian weed biological control. Technical Series No.10, CRC for Australian Weed Management, Adelaide. Palaeartic weevil radiation. *Journal of Biogeography*, 40: 1348–1359.
- Patton, J.L., Smith, M.F. 1993. Molecular evidence for mating asymmetry and female choice in a pocket gopher (*Thomomys*) hybrid zone. *Molecular Ecology*, 2: 3–8.
- Petit, R.J., Aguinagalde, I., de Beaulieu, J.L., Bittkau, C., Brewer, S., Cheddadi, R., Ennos, R., Fineschi, S., Grivet, D., Lascoux, M., Mohanty, A. 2003. Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science*, 300 (5625): 1563-1565.
- Pešić, S. 1998. The fauna of weevils (Coleoptera: Attelabidae, Apionidae, Curculionidae, Rhynchophoridae) in Kragujevac Basin (Serbia). *Taxonomy, ecology and distribution of Curculionoidea XX I.C.E. (1996, Firenze, Italy), Mus. Reg. Sci. nat. Torino*, 163-182.
- Pešić, S. 2000. Weevils (Coleoptera: Curculionoidea) of the lakes of Kragujevac (first communication). *Acta Entomologica Serbica* 5(1/2): 13-28.
- Pešić, S., Jelić, M. 2000. Biodiversity of weevils (Curculionoidea) on meadows of Mt. Goč. *Kragujevac Journal of Science*, 22: 73-85.
- Pešić, S. 2003. Balkan weevils (Curculionoidea) in the Natural History Museum London: world part. *Kragujevac Journal of Science*, 25:139-162.
- Pons, J., Barraclough, T.G., Gomez-Zurita, J., Cardoso, A., Duran, D.P., Hazell, S., Kamoun, S., Sumlin, W.D, Vogler, A.P. 2006. Sequence based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology*, 55, 595–609.
- Provan, J., Bennett, K.D. 2008. Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia. *Trends in Ecology & Evolution*, 23: 564–571.
- Radović, I., Mesaroš, G., Pavićević, D., Mihajlović, Lj., Protić, Lj., Četković, A. 1995. Diverzitet etomofaune (Insecta) Jugoslavije, sa pregledom vrsta od međunarodnog značaja. U: Stevanović V. i Vasić V. (ur.) Biodiverzitet Jugoslavije – sa pregledom vrsta od međunarodnog značaja, Beograd: Biološki fakutet. 371–424.
- Rauth, S.J., Hinz, H.L., Gerber, E. and Hufbauer, R.A. 2011. The benefits of pre-release population genetics: A case study using *Ceutorhynchus scrobicollis*, a candidate agent of garlic mustard, *Alliaria petiolata*. *Biological Control*, 56: 67–75.

- Rees, N.E., Quimby, P.C., Coulson, J.R. 1995. Biological weed control technology. Chapter 19. In: Hall FR, Barry JW (eds.), Biorational Pest Control Agents: Formulations and Delivery. *American Chemical Society*, Washington, D.C. 252–296.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572–1574.
- Saitou, N., Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406–425
- Sands, D.P.A., Van Driesche, R.G. 2000. Evaluating the host range of agents for biological control of arthropods: rationale, methodology, and interpretation, pp. 69-83. In Van Driesche, R. G., T. Heard, A. McClay, R. Reardon. Proceedings of Session: Host Specificity Testing of Exotic Arthropod Biological Control Agents - the Biological Basis for Improvements in Safety. US Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team, Report FHTET-99-1, August, 2000. Morgantown, West Virginia.
- Schmitt, T. 2007. Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. *Frontiers in Zoology*, 4: 1–13.
- Simon, C., Frati, F., Beckenbach, A., Crespi, B., Liu, H., Flook, P., 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 87: 651–702.
- Song, H., Buhay, J.E., Whiting, M.F., Crandall, K.A. 2008. Many species in one: DNA barcoding overestimates the number of species when nuclear mitochondrial pseudogenes are coamplified. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105: 13486–13491.
- Stewart, J.R., Lister, A.M. 2001. Cryptic northern refugia and the origins of the modern biota. *Trends in Ecology & Evolution*, 16: 608–613

- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
- Taylor, H.R., Harris, W.E. 2012. An emergent science on the brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 12: 377–388.
- Tempere, G., Pericart, J., Borovec, R. 1989. Faune de France, 74: Coléoptères, Curculionidae, Quatrième partie, Compléments. *Fédération Française des Sociétés de Sciences naturelles Paris*. 534.
- Templeton, A.R., Crandall, K.A., Sing, C.F. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA-sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, 132: 619–633.
- Thomas, M.B., Willis, A.J. 1998. Biocontrol: risky but necessary? *Trends in Ecology & Evolution*, 13: 325–329.
- Thompson, R.T. 1992. Observations on the morphology and classification of weevils (Coleoptera: Curculionoidea) with a key to the major groups. *Journal of natural History*, 26: 835-891.
- Tutin, T.G., Burges, N.A., Chater, A.O., Edmondson, J.R., Heywood, V.H., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, S.M., Webb, D.A. (едс.) 1993. Flora Europea, Cambridge: Cambridge University press, 1.
- Vaitelytė B., Brazauskienė I., Petraitienė E., 2013. Species diversity of weevils (*Ceutorhynchus* spp.), migration activity and damage in winter and spring oilseed rape. *Zemdirbyste – Agriculture*, 100 (3): 293–302.
- Via, S. 1999. Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. Gene flow restriction and habitat choice. *Evolution*, 53: 1446-1457.
- Via, S., Bouck, A.C., Skilman, S. 2000. Reproductive isolation between divergent races of pea aphids on two hosts. II. Selection against migrants and hybrids in the parental environments. *Evolution*, 54: 1626-163.

- Von Virag, A., Bon, M.C., Cloșca, C., Diaconu, A., Haye, T., Weiss, R. M., Müller-Schärer, H., Hinz, H.L. 2016. Phenology and temperature-dependent development of *Ceutorhynchus assimilis*, a potential biological control agent for *Lepidium draba*. *Journal of Applied Entomology*.
- Wong, E.H.K., Hanner, R.H. 2008. DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Research International*, 41: 828–837.
- Zhang, D.X., Hewitt, F.M. 1997. Insect mitochondrial control region: a review of its structure, evolution and usefulness in evolutionary studies. *Biochem. Syst. Ecol.*, 25: 99-120.

Интернет извори:

<http://www.acaclone.com>

<http://www.boldsystems.org>

<http://www.geospiza.com>

8. ПРИЛОЗИ

Прилог 1. Листа примерака за морфолошке и молекуларне анализе врста рода *Ceutorhynchus* сложени према броју ДНК екстракције, имена врста, порекла, типа узорка и прајмер пара који се служио за амплификацију митохондријалне цитохром-оксидазе субјединице I (*COI* ген)

¹⁾ Lp=ларва; Ap=адулт; Ex= одгајени адулт у лабораторијским условима.

* примерци коришћени за поређење

ДНК број	Врста	Опис узорка	Тип узорка	Прајмер пар
3991	<i>C. aenicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 15.06.2011. Земун- кавез	Ap	LCO1490/PAT
3022	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3023	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3024	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3260	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 2.04.2014. Мосна, Доњи Милановац, Ђердап	Ap	LCO1490/PAT
3926	<i>C. arator</i>	<i>Lepidium draba</i> , 27.04.2014. Сушара, Делиблатски песак	Ap	LCO1490/PAT
3964*	<i>C. arator</i>	<i>Crambe tatarica</i> , 7.06.2015. Venatori (IS), N 47 15' 56'', E 27 31' 13, 124 m., Romania	Ap	LCO1490/PAT
4001*	<i>C. arator</i>	<i>Crambe tatarica</i> , 7.06.2015. Venatori (IS), N 47 15' 56'', E 27 31' 13, 124 m., Romania	Ap	LCO1490/HCOd
4002*	<i>C. arator</i>	<i>Crambe tatarica</i> , 7.06.2015. Venatori (IS), N 47 15' 56'', E 27 31' 13, 124 m., Romania	Ap	LCO1490/HCOd
4003*	<i>C. arator</i>	<i>Crambe tatarica</i> , 7.06.2015. на биљци, Romania, Venatori (IS), N 47 15' 56'', E 27 31' 13, 124 m.	Ap	LCO1490/HCOd
L113	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 12.05.2011. гале на корену, Батајница	Ex	LCO1490/PAT
L129	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 01.05.2011. гале на корену, Земун	Ex	LCO1490/PAT
L130	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 01.05.2011. гале на корену, Земун	Ex	LCO1490/PAT
L215	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 18.04.2013. гале на корену, Шумарице, Крагујевац	Lp	LCO1490/PAT
L216	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 19.04.2013. гале на корену, Шумарице, Крагујевац	Lp	LCO1490/PAT
L217	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 19.04.2013. гале на корену, Шумарице, Крагујевац	Ex	LCO1490/PAT
L220	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 20.04.2013. гале на корену, Свилајнац, GPS 008	Lp	LCO1490/PAT
L229	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 20.04.2013. гале на корену, Смедерево, GPS 012	Lp	LCO1490/PAT
L236	<i>C. assimilis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 21.04.2013. у корену, Обреновац, GPS 31	Lp	LCO1490/PAT
L252	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 26.04.2013. гале на корену, Крагујевац, Белошевац	Lp	LCO1490/PAT
L264	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 26.04.2013. гале на корену, Превешт	Lp	LCO1490/HCOd
L274	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 28.04.2013. гале на корену, Рашка GPS 52	Lp	LCO1490/HCOd
L275	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 28.04.2013. гале на корену, Рашка GPS 52	Ex	LCO1490/PAT
L285	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium campestre</i> , 03.05.2013. гале на корену, Златибор GPS56	Lp	LCO1490/PAT
L286	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium campestre</i> , 03.05.2013. гале на корену, Златибор GPS56	Lp	LCO1490/PAT
L310	<i>C. assimilis</i>	<i>Rorippa austriaca</i> , 11.05. 2013. Конарево, GPS 72	Ap	LCO1490/PAT
L313	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 14.05.2013. гале на корену, Грошница	Lp	LCO1490/PAT
L315	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium campestre</i> 14.05.2013. гале на корену, Грошница	Lp	LCO1490/PAT

Prilog 1/2

3271	<i>C. assimilis</i>	<i>Alyssum saxatile</i> , 14.04.2014. гале на корену, Кањон, Књажевац	Lp	LCO1490/HCOd
3963*	<i>C. assimilis</i>	<i>Crambe tatarica</i> , 6.06.2015. Romania, Alecu, Valea Lupului (IS), N 47 10' 33", E 27 28' 59", 48 m	Ap	LCO1490/HCOd
3745*	<i>C. assimilis</i> <i>Biol.Cont.</i>	<i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014 – reference larvae Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/HCOd
3746*	<i>C. assimilis</i> <i>Biol.Cont.</i>	<i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014 – reference larvae Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/HCOd
3747*	<i>C. assimilis</i> <i>Biol.Cont.</i>	<i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014 – reference larvae Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/HCOd
L043	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 1.05.2011. ларва у гали петельке листа, Совинац, Неготин	Lp	LCO1490/HCOd
L045	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 1.05.2011. база стабљике, Совинац, Неготин	Lp	LCO1490/HCOd
L046	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 1.05.2011. база стабљике, Совинац, Неготин	Ap	LCO1490/HCOd
L047	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 1.05.2011. база стабљике, Совинац, Неготин	Ap	LCO1490/HCOd
L058	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea intermedia</i> , 18.04.2011. L2-L3 ларве, централни део стабљике, Брусник, GPS 345	Lp	LCO1490/HCOd
L059	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea intermedia</i> , 18.04.2011. L2-L3 ларве, централни део стабљике, Брусник, GPS 345	Lp	LCO1490/HCOd
L088	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 1.05.2011. централни део стабљике, Совинац, Неготин	Lp	LCO1490/HCOd
L168	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea stricta</i> , 07.05.2011. лисна петелька, Крагујевац, Ацине ливаде	Ex	LCO1490/PAT
L171	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea stricta</i> , 14.05.2011. лисна петелька, Тара, Калуђерске баре	Ex	LCO1490/PAT
L176	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 22.05.2011. стабљика, Копаоник	Ex	LCO1490/HCOd
L182	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea stricta</i> , 14.05.2011. Крагујевац, Ацине ливаде	Lp	LCO1490/PAT
L192	<i>C. barbareae</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 01.06.2011. Гоч	Lp	LCO1490/PAT
L006	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 26.03.2011. Земун двориште	Ap	LCO1490/PAT
L012	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 26.03.2011. Земун двориште	Ap	LCO1490/PAT
L017	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 30.03.2011. Земун	Ap	LCO1490/PAT
L018	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 30.03.2011. Земун	Ap	LCO1490/PAT
L020	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 30.03.2011. Добановци	Ap	LCO1490/PAT
L024	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 4.04.2011. на цветовима, Добановци	Ap	LCO1490/PAT
L048	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 1.05.2011. база стабљике, Совинац, Неготин	Ap	LCO1490/HCOd
L049	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 1.05.2011. база стабљике, Совинац, Неготин	Ap	LCO1490/PAT
L077	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 17.04.2011. на биљци, Голубац	Ap	LCO1490/PAT
L100	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Lepidium draba</i> , 30.04.2011. Берање, Пожаревац	Ap	LCO1490/HCOd
L121	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Alyssum saxatile</i> , 21.05.2011. на стабљници, Књажевац, кањон 2	Ap	LCO1490/PAT
L141	<i>C. typhae-floralis-cakilis</i> <i>complex</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 16.05.2011. Купиново, Планиште, Срем	Ap	LCO1490/PAT

Prilog 1/3

L143	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 16.05.2011. Купиново, Планиште, Срем	Ар	LCO1490/PAT
L149	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 16.05.2011. Купиново	Ар	LCO1490/PAT
L150	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 16.05.2011. Купиново	Ар	LCO1490/PAT
L184	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Thlaspi montanum</i> , 15.05.2011. на стабљици, Златибор, Рудине	Ар	LCO1490/PAT
L201	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 18.04.2011. на биљци, Крагујевац, Драча	Ар	LCO1490/HCOd
L202	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 18.04.2011. на биљци, Крагујевац, Драча	Ар	LCO1490/HCOd
L239	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 21.04.2013. на биљци, Обреновац	Ар	LCO1490/PAT
L241	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 21.04.2013. на биљци, Обреновац	Ар	LCO1490/PAT
L278	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 29.04.2013. на биљци, Витково	Ар	LCO1490/PAT
L280	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Brassica napus</i> , 29.04.2013. на биљци, Витково	Ар	LCO1490/PAT
L297	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 03.05.2013. Сјеница	Ар	LCO1490/PAT
L298	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 03.05.2013. Сјеница, GPS 62	Ар	LCO1490/PAT
L305	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 11.05.2013. Копаоник, GPS 69	Ар	LCO1490/PAT
L323	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Rorippa austriaca</i> , 28.05. 2013. на биљци, Крагујевац, Шумарице, GPS 81	Ар	LCO1490/PAT
3028	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Rorippa sylvestris</i> , 18.05.2013. на биљци, Јасеновик, Сићевачка клисура	Ар	LCO1490/PAT
3029	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Rorippa sylvestris</i> , 18.05.2013. на биљци, Јасеновик, Сићевачка клисура	Ар	LCO1490/ HCO2198
3030	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Rorippa sylvestris</i> , 18.05.2013. на биљци, Јасеновик, Сићевачка клисура	Ар	LCO1490/ HCO2198
3042	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот	Ар	LCO1490/ HCO2198
3253	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> . на биљци, Пожеревац, Моравачке шљункаре	Ар	LCO1490/ HCO2198
3968	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Berteroa incana</i> , 11.06.2014. на биљци, France, Rhona	Ар	LCO1490/ HCO2198
3969	<i>C. typhae-floralis-cakilis complex</i>	<i>Berteroa incana</i> , 11.06.2014. на биљци, France, Rhona	Ар	LCO1490/ HCO2198
L148	<i>C. carinatus</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 14.05.2011. на стабљици, Купиново, Чардак, GPS 350	Ар	LCO1490/PAT
1027*	<i>C. carinatus</i>	<i>Thlaspi perfoliatum</i> , 30.04.2010. гала на стабљици, Romania, Iasi	Lp	LCO1490/PAT

Prilog 1/4

3304	<i>C. carinatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак	Ар	LCO1490/PAT
3925*	<i>C. carinatus</i>	<i>Crambe tatarica</i> , 7.06.2015. на биљци, Venatori (IS), N 47 15' 56", E 27 31' 13, 124 m.	Ар	LCO1490/PAT
3962	<i>C. carinatus</i>	<i>Arabis sudetica</i> , 5.05.2015, Алексинац, Краљево, Терасе	Ар	LCO1490/PAT
L222	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 20.04. 2013, на биљци, Деспотовац GPS 009	Ар	LCO1490/ HCO2198
3008	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ар	LCO1490/ HCO2198
3011	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ар	LCO1490/ HCO2198
3016	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ар	LCO1490/ HCO2198
3017	<i>C. chalybaeus</i>	ex <i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ар	LCO1490/ HCO2198
3018	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура, GPS 555	Ар	LCO1490/ HCO2198
3248	<i>C. chalybaeus</i>	ex <i>Arabis turrata</i> , 2.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац	Ар	LCO1490/ HCO2198
3249	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Arabis turrata</i> , 2.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац	Ар	LCO1490/ HCO2198
3251	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Arabis turrata</i> , 2.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац	Ар	LCO1490/ HCO2198
3957	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 27.04.2013. на биљци, Брњица, GPS 555	Ар	LCO1490/ HCO2198
3262	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Arrabis turrata</i> , 2.04.2014. гала на стабљици, Ридан, Голубац	Ех	LCO1490/ HCO2198
3966	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 6.04.2011. на биљци, Крагујевац, Шумарице, туба 242	Ар	LCO1490/ HCO2198
3970	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Arabis turrata</i> , 25.04.2014. гала на лисној петелјци, Голубац	ЕХ	LCO1490/ HCO2198
1054*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 19.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului - II, , Romania, Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1055*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 19.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului - II, , Romania, Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1065*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 19.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului - II, , Romania, Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1283*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 19.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului - II, , Romania, Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1286*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 9.05.2010. ex l., Romania, Timisesti (NT), Romania	Лр	LCO1490/ HCO2198
1288*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 9.05.2010. ex l., Romania, Timisesti (NT), Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1682*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 2.05.2011. ex l., Romania, Talmaciu (IS), Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1685*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 2.05.2011. ex l., Romania, Talmaciu (IS), Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1690*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 2.05.2011. ex l., Romania, Talmaciu (IS), Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1715*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 2.05.2011. ex l., Romania, Talmaciu (IS), Igt. D. Alecu	Лр	LCO1490/ HCO2198
1775*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 28.04.2011. ex l., Romania, Valea Lupului (IS)	Лр	LCO1490/ HCO2198
1787*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 28.04.2011. ex l., Romania, Valea Lupului (IS)	Лр	LCO1490/ HCO2198
3120*	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 23-31.05.2013. ex l., Romania, Iasi, Valea Lupuloli, larvae Igt Alecu.	Лр	LCO1490/ HCO2198
1007*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 28.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului (IS)	Лр	LCO1490/ HCO2198
1008*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 28.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului (IS)	Ар	LCO1490/ HCO2198
1060*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 30.04.2010. ex l., Romania, Moimești, Popricani, Iasi, GPS 298, N47 16.414 E27 29.839, 93 m.	Лр	LCO1490/ HCO2198
1717*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 2.05.2011. ex l., Romania, Talmaciu (IS)	Лр	LCO1490/ HCO2198
1742*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 2.05.2011. ex l., Romania, Talmaciu (IS)	Лр	LCO1490/ HCO2198
1851*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 14.05. 2011. ex l., Romania, Timisesti	Лр	LCO1490/ HCO2198
1753*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 14.05. 2011. ex l., Romania, Timisesti	Лр	LCO1490/ HCO2198

Prilog 1/5

3137*	<i>C. cardariae</i>	<i>Lepidium draba</i> , 6.04.2013. на биљци, Russia, Stavropol egr., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe lope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyayev	Ap	LCO1490/HCO2198
4039	<i>C. wellschmiedi</i>	ex <i>Crambe tataria</i> , 11.04.2016, Ottenthal, Austria (типски локалитет)	Ap	LCO1490/HCO2198
4040	<i>C. wellschmiedi</i>	ex <i>Crambe tataria</i> , 11.04.2016, Ottenthal, Austria (типски локалитет)	Ap	LCO1490/HCO2198
4041	<i>C. wellschmiedi</i>	ex <i>Crambe tataria</i> , 11.04.2016, Ottenthal, Austria (типски локалитет)	Ap	LCO1490/HCO2198
4042	<i>C. wellschmiedi</i>	Ex <i>Crambe tataria</i> , 11.04.2016, Ottenthal, Austria (типски локалитет)	Ap	LCO1490/HCO2198
L074	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum rhaeticum</i> , 17.04. 2011, централни део корена, Голубац Ридан, L2 ларва	Lp	LCO1490/HCOd
L075	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum rhaeticum</i> , 17.04. 2011, централни део корена, Голубац Ридан, L2 ларва	Lp	LCO1490/HCOd
L076	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum rhaeticum</i> , 17.04. 2011, централни део корена, Голубац Ридан, L2 ларва	Lp	LCO1490/HCOd
1315	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum odoratum</i> , 12.06.2010. гала на корену, Бељаница	Lp	LCO1490/HCOd
1316	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum odoratum</i> , 12.06.2010. гала на корену, Бељаница	Lp	LCO1490/HCOd
3006	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum sylvestre</i> , 27.04.2013. корен, Голубац, Ридан	Ex	LCO1490/HCOd
3990	<i>C. chlorophanus</i>	<i>Erysimum rheticum</i> , 6.05.2014. на биљци, Станичење, Пирот	Ex	LCO1490/HCOd
L151	<i>C. coarctatus</i>	<i>Camelina sativa</i> , 14.05.2011. на биљци, Банатско Ново Село, Банат	Ap	LCO1490/PAT
L152	<i>C. coarctatus</i>	<i>Camelina sativa</i> , 14.05.2011. на биљци, Банатско Ново Село, Банат	Ap	LCO1490/PAT
3998	<i>C. coarctatus</i>	<i>Camelina sativa</i> , 14.05.2011. на биљци, Банатско Ново Село, Банат, туба 106	Ap	LCO1490/PAT
3020	<i>C. cochleariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 27.04.2013. на биљци, Добра, Ђердапска клисура GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
L301	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 03.05. 2013. на биљци, Ивањица GPS 63	Ap	LCO1490/PAT
3009	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 27.04.2013. на биљци, Добра, Ђердапска клисура GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3010	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра. Ђердапска клисура GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3013	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра. Ђердапска клисура GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3019	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра. Ђердапска клисура GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3021	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 27.04.2013. Добра, Ђердапска клисура GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
3027	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 21.04.2013. Брњица, Добра, Ђердапска клисура	Ap	LCO1490/PAT
3034	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 29.04.2013. Станичење, Пирот	Ap	LCO1490/PAT
3039	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 29.04.2013. Станичење, Пирот	Ap	LCO1490/PAT
3040	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 29.04.2013. Станичење, Пирот	Ap	LCO1490/PAT
3041	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 29.04.2013. Станичење, Пирот	Ap	LCO1490/PAT
3043	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 29.04.2013. Станичење, Пирот	Ap	LCO1490/PAT
3044	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 29.04.2013. Станичење, Пирот	Ap	LCO1490/PAT
3045	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , на биљци, 29.04.2013. Станичење, Пирот	Ap	LCO1490/PAT
3293	<i>C. constrictus</i>	<i>Cardaminopsis arenosa</i> , 21.04.2014. на биљци, Добра	Ap	LCO1490/PAT
3294	<i>C. constrictus</i>	<i>Cardaminopsis arenosa</i> , 21.04.2014. на биљци, Добра	Ap	LCO1490/PAT
3958	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 27.04.2013. на биљци, Брњица, GPS 555	Ap	LCO1490/PAT
L001	<i>C. contractus</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 17.03.2011. Земун двориште	Ap	LCO1490/PAT
L078	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi perfoliatum</i> , 18.04.2011. централни део стабљике, Неготин, L2 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L087	<i>C. contractus</i>	<i>Alysum montanum</i> , 22.04.2011. на биљци, Делиблатски Песак, Сушара	Ap	LCO1490/HCOd
L090	<i>C. contractus</i>	<i>Alyssum montanum</i> , 1.05.2011. на биљци, Кална, Источна Србија	Ap	LCO1490/PAT

L094	<i>C. contractus</i>	<i>Alyssum saxatile</i> , 1.05.2011. на биљци, Књажевац, Источна Србија,	Ар	LCO1490/PAT
L099	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 30.04.2011. на биљци, Берање, Пожаревац	Ар	LCO1490/PAT
L117	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium campestre</i> , 21.05.2011. на стабљици, Књажевац, клисура	Ар	LCO1490/PAT
L189	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 27.05.2011. на биљци, Рибничко језеро	Ар	LCO1490/PAT
L234	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 21.04.2013. на стабљици, Обреновац	Ар	LCO1490/PAT
L269	<i>C. contractus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 28.04.2013. на биљци, Гледидџке планине, Крагујевац GPS 49	Ар	LCO1490/PAT
L287	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 03.05.2013. лисне петелјке розете, Златибор GPS 57	Лр	LCO1490/PAT
L312	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 14.05.2013. на биљци, Грошница	Ар	LCO1490/PAT
L314	<i>C. contractus</i>	<i>Rorippa austriaca</i> , 14.05.2013. на биљци, Грошница	Ар	LCO1490/PAT
L329	<i>C. contractus</i>	<i>Erysimum</i> sp., 28.04.2013. на биљци, Рашка	Ар	LCO1490/PAT
1019	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 12.05.2010. на биљци, Добановци	Ар	LCO1490/PAT
1021	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 12.05.2010. на биљци, Добановци	Ар	LCO1490/PAT
1305	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 16.04. 2010. на биљци, Сланкамен	Ар	LCO1490/PAT
3254	<i>C. contractus</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , на биљци, Пожаревац, Шљункара	Ар	LCO1490/PAT
3255	<i>C. contractus</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 2.04.2014. на биљци, Врчин	Ар	LCO1490/PAT
3272	<i>C. contractus</i>	<i>Arabidopsis suecica</i> , на биљци, Љубиње, Средњево	Ар	LCO1490/PAT
3275	<i>C. contractus</i>	<i>Alyssum murale</i> , 21.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац	Ар	LCO1490/PAT
3277	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium campestre</i> , 13.04.2014. на биљци, Братинац, Тамнич	Ар	LCO1490/PAT
3278	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 11.04.2014. на биљци, Клокочевац-Равни	Ар	LCO1490/PAT
3289	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 21.04.2014. на биљци, Љубиње, Средњево	Ар	LCO1490/PAT
3295	<i>C. contractus</i>	<i>Camelina microcarpa</i> , 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски Песак	Ар	LCO1490/PAT
3296	<i>C. contractus</i>	<i>Rorippa pyreneica</i> , 22.04.2014. на биљци, Дидићи, Неготин	Ар	LCO1490/PAT
3297	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium campestre</i> , 23.04.2014. на биљци, Петрово село	Ар	LCO1490/PAT
3299	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 17.04.2014. на биљци, Земун поље	Ар	LCO1490/PAT
3999	<i>C. contractus</i>	<i>Camellina sativa</i> , 14.05.2011. на биљци, Банатско Ново Село, туба 106	Ар	LCO1490/PAT
4013	<i>C. contractus</i>	<i>Alyssum saxatile</i> , 1.05.2011. на биљци, Књажевац, клисура, GPS 349	Ар	LCO1490/PAT
3256	<i>C. contractus</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 2.04.2014. на биљци, Врчин	Ар	LCO1490/PAT
3257	<i>C. contractus</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 2.04.2014. на биљци, Врчин	Ар	LCO1490/PAT
3258	<i>C. contractus</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 2.04.2014. на биљци, Врчин	Ар	LCO1490/PAT
3025	<i>C. erysimi</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 14.05.2013. на биљци, Земун, Шљункара, Дунав	Ар	LCO1490/HCO2198
3287	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 26.04.2014. на биљци, Земун Поље	Ар	LCO1490/HCO2198
L011	<i>C. erysimi</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 26.03.2011. на розети, Земун двориште	Ар	LCO1490/PAT
L082	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 10.04.2011. круна корена и розета, грегарне ларве, Земун	Лр	LCO1490/HCOd
L107	<i>C. erysimi</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 5.05.2011. на биљци, Добановци	Ар	LCO1490/PAT
L111	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 8.05.2011. круна корена, Земун	Ех	LCO1490/PAT
L145	<i>C. erysimi</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 16.05.2011. Купиново, Пландиште, Срем	Ар	LCO1490/PAT
L158	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 25.04.2011. розета, Крагујевац, Драча	Ех	LCO1490/PAT
L159	<i>C. erysimi</i>	<i>Cardamine hirsuta</i> , 25.04.2011. розета, Крагујевац, Драча	Ех	LCO1490/PAT
L185	<i>C. erysimi</i>	<i>Thlaspi montanum</i> , 15.05.2011. на стабљици, Златибор, Рудине	Лр	LCO1490/PAT
L203	<i>C. erysimi</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 18.04.2011. на биљци, Крагујевац, Драча	Ар	LCO1490/PAT
L240	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 21.04.2013. розета, Обреновац	Лр	LCO1490/PAT
L262	<i>C. erysimi</i>	<i>Lepidium draba</i> , 26.04.2013. на биљци, Превешт, Gps 46	Ар	LCO1490/PAT
L282	<i>C. erysimi</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 29.04.2013. на биљци, Витково	Ар	LCO1490/PAT
L294	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 03.05.2013. розета, Сјеница, GPS 61	Ех	LCO1490/PAT

Prilog 1/7

L295	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 03.05.2013. розета, Сјеница, GPS 61	Lp	LCO1490/PAT
L299	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 03.05.2013. розета, Сјеница, GPS 62	Lp	LCO1490/PAT
L303	<i>C. erysimi</i>	<i>Lepidium draba</i> , 10.05.2013. на биљци, Пријеполје, GPS 67	Ap	LCO1490/PAT
L304	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 11.05.2013. розета, Копаоник, GPS 69	Lp	LCO1490/PAT
L332	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 14.06.2013. на биљци, Дурмитор, GPS 90	Ap	LCO1490/PAT
L333	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 14.06.2013. на биљци, Дурмитор, GPS 91	Ap	LCO1490/PAT
1018	<i>C. erysimi</i>	<i>Lepidium draba</i> , 12.05.2010. на биљци, Добановци	Ap	LCO1490/PAT
1304	<i>C. erysimi</i>	<i>Lepidium draba</i> , 17.04.2009. на биљци, Суводол, Књажевац	Ap	LCO1490/PAT
3252	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> . на биљци, Пожаревац, Шљункара	Ap	LCO1490/PAT
3261	<i>C. erysimi</i>	<i>Carmellina microcarpa</i> , база лисне петелјке, Љубиње, Средњево	Lp	LCO1490/PAT
3263	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 15.03.2014. база лисне петелјке, Земун	Lp	LCO1490/PAT
3279	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 11.04.2014. на биљци, Средњево, Љубиње	Ap	LCO1490/PAT
3280	<i>C. erysimi</i>	<i>Carmellina microcarpa</i> , 11.04.2014. круна корена, Средњево	Ex	LCO1490/PAT
3282	<i>C. erysimi</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 11.04.2014. листови розета, Средњево, Љубиње	Lp	LCO1490/PAT
3290	<i>C. erysimi</i>	<i>Lepidium draba</i> , 21.04.2014. на биљци, Средњево, Љубиње	Ap	LCO1490/PAT
3300	<i>C. erysimi</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак	Ap	LCO1490/PAT
4000	<i>C. erysimi</i>	<i>Camellina sativa</i> , 14.05.2011. на биљци, Банатско Ново Село, Моје место, туба 106	Ap	LCO1490/PAT
3268	<i>C. erysimi</i>	<i>Camelina microcarpa</i> , 2.04.2014. база изданка, Сланкамен	Lp	LCO1490/PAT
L144	<i>C. erysimi</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 16.05.2011. Купиново, Пландиште, Срем	Ap	LCO1490/PAT
3305	<i>C. eryssimi</i>	<i>Carelina microcarpa</i> , 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак	Ap	LCO1490/PAT
L028	<i>C. griseus</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i> , 4.04.2011. гале на стабљици, Добановци,	Lp	LCO1490/PAT
L103	<i>C. griseus</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i> , 6.08.2011. гала на стабљици, Добановци	Ex	LCO1490/PAT
L246	<i>C. griseus</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i> , 21.04.2013. гале на стабљици, Паштрић, GPS 36	Lp	LCO1490/PAT
3965*	<i>C. griseus</i>	<i>Crambe tatarica</i> , 7.06.2015. на биљци, Venatori (IS), N 47 15' 56'', E 27 31' 13, 124 m, Romania	Ap	LCO1490/PAT
3974	<i>C. hirtulus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 9.05.2015. на биљци, Делиблатски Песак, Сушара, туба 1446	Ap	LCO1490/HCOd
3274	<i>C. ignitus</i>	<i>Erysimum rhaeticum</i> , 21.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац	Ap	LCO1490/HCOd
1300	<i>C. liliputanus</i>	<i>Alyssum montanum</i> , 21.08.2010. на биљци, Мокра Гора	Ap	LCO1490/HCOd
3976	<i>C. lukesi</i>	<i>Alyssum saxatile</i> , 1.05.2011. на биљци, Књажевац, Источна Србија, GPS 349, туба 60	Ap	LCO1490/HCOd
3273	<i>C. lukesi</i>	<i>Alyssum murale</i> , 21.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац	Ap	LCO1490/HCOd
3996	<i>C. merkli</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 26.04.2015. на биљци, Сићево, Ниш	Ap	LCO1490/HCOd
L336	<i>C. nanus</i>	<i>Erysimum</i> sp., 14.06.2013. на биљци, Дурмитор, GPS92	Ap	LCO1490/PAT
3971	<i>C. nanus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 6.07.2011. на биљци, GPS 365, Аксарина, Turkey, (туба 909)	Ap	LCO1490/PAT
3973	<i>C. nanus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 1.05.2015. на биљци, Сушара, Банат, туба 1423	Ap	LCO1490/PAT
4009	<i>C. nanus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 9.05.2015. на биљци, Делиблатски Песак, Сушара, туба 1446	Ap	LCO1490/PAT
3302	<i>C. nanus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 27.04.2014. на биљци, Делиблатски Песак, Сушара	Ap	LCO1490/PAT

Prilog 1/8

L025	<i>C. napi</i>	<i>Arabis nemorensis</i> , 4.04.2011. на биљци Добановци	Ар	LC01490/ HCO2198
L026	<i>C. napi</i>	<i>Arabis nemorensis</i> , 4.04.2011. на биљци Добановци	Ар	LC01490/ HCO2198
3283	<i>C. napi</i>	<i>Sisymbrium orientale</i> , 11.04.2014. круна корена, В. Градиште, Пожежена	Лр	LC01490/HCOd
4004	<i>C. napi</i>	<i>Arabis nemorensis</i> , 4.04.2011. Добановци	Ар	LC01490/HCOd
4005	<i>C. napi</i>	<i>Arabis nemorensis</i> , 4.04.2011. Добановци	Ар	LC01490/HCOd
4006	<i>C. napi</i>	<i>Arabis nemorensis</i> , 4.04.2011. Добановци	Ар	LC01490/HCOd
L019	<i>C. obstrictus</i>	<i>Myagrurn perfoliatum</i> , 30.03.2011. Добановци	Ар	LC01490/PAT
L032	<i>C. obstrictus</i>	<i>Arabis nemorensis</i> , 7.04.2011. стабло, Добановци	Ар	LC01490/PAT
L071	<i>C. obstrictus</i>	<i>Brasica napus</i> , 17.04.2011. на биљци, Средљево	Ар	LC01490/PAT
L072	<i>C. obstrictus</i>	<i>Brasica napus</i> , 17.04.2011. на биљци, Средљево	Ар	LC01490/HCOd
L073	<i>C. obstrictus</i>	<i>Brasica napus</i> , 17.04.2011. на биљци, Средљево	Ар	LC01490/HCOd
L084	<i>C. obstrictus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 22.04.2011. на биљци, Али-Бунар	Ар	LC01490/PAT
L085	<i>C. obstrictus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 22.04.2011. на биљци, Али Бунар	Ар	LC01490/PAT
L086	<i>C. obstrictus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 22.04.2011. на биљци, Али Бунар	Ар	LC01490/HCOd
L105	<i>C. obstrictus</i>	<i>Myagrurn perfoliatum</i> , 5.05.2011. на биљци, Добановци	Ар	LC01490/PAT
L109	<i>C. obstrictus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 6.05.2011. на биљци, Добановци	Ар	LC01490/PAT
L218	<i>C. obstrictus</i>	<i>Brassica napus</i> , 20.04. 2013. на биљци, Свилајнац, GPS 008	Ар	LC01490/PAT
2687*	<i>C. obstrictus</i>	<i>Lepidium draba</i> , на биљци, Delemont, Switzerland	Лр	LC01490/PAT
3291	<i>C. obstrictus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 21.04.2014. на биљци, Љубинье, Средњево	Ар	LC01490/PAT
3301	<i>C. obstrictus</i>	<i>Sisymbrium loeselii</i> , 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак	Ар	LC01490/PAT
3784*	<i>C. obstrictus</i>	<i>Berteroa incana</i> , 11.06.2014. France, Rhona	Ар	LC01490/PAT
3961*	<i>C. obstrictus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 16.06.2014. Sweden, Ljungsbro, GPS 599	Ар	LC01490/PAT
L010	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 26.03.2011. розета, Земун, двориште	Ар	LC01490/ HCO2198
L013	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 26.03.2011. розета, Земун, двориште	Ар	LC01490/ HCO2198
L014	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Brassica oleracea</i> , 28.03.2011. биљка у цвету, Земун, двориште	Ар	LC01490/PAT
L016	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Brassica oleracea</i> , 28.03.2011. биљка у цвету, Земун, двориште	Ар	LC01490/ HCO2198
L051	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Myagrurn perfoliatum</i> , 20.04.2011. круна розете, базални део стабљике, централни део стабљике, Батајница	Лр	LC01490/HCOd
L052	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Myagrurn perfoliatum</i> , 20.04.2011. круна розете, базални део стабљике, централни део стабљике, Батајница	Лр	LC01490/HCOd
L070	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Brasica napus</i> , 17.04.2011. на биљци, Средњево	Ар	LC01490/HCOd
L091	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Sisymbrium orientale</i> , 2.05.2011. Бованско језеро, Алексицац	Ар	LC01490/HCOd
L095	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alyssum saxatile</i> , 1.05.2011. Књажевац, Источна Србија, GPS 349.	Ар	LC01490/HCOd
L110	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Sisymbrium orientale</i> , 6.05.2011. петелјке листова, Земун	Лр	LC01490/PAT
L116	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Myagrurn perfoliatum</i> , 16.05.2011. стабљика, Добановци	Ех	LC01490/PAT
L119	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Erysimum saxatile</i> , 21.05.2011. на стабљичи, Књажевац, кањон 2	Ар	LC01490/PAT
L120	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Erysimum saxatile</i> , 21.05.2011. на стабљичи, Књажевац, кањон 2	Ар	LC01490/PAT
L135	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Myagrurn perfoliatum</i> , 25.05.2011. стабљика, Добановци	Ех	LC01490/PAT
L232	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Brassica nigra</i> , 21.04.2013. стабљика, Ада Циганлија, Београд, GPS 29	Лр	LC01490/PAT
L237	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 21.04.2013. корен, Обреновац, GPS 31	Ех	LC01490/PAT
L251	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 26.04.2013. на биљци, Крагујевац Белошевац	Ар	LC01490/PAT
L281	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Brassica napus</i> , 29.04.2013. стабљика, Витково	Лр	LC01490/PAT
3035	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот	Ар	LC01490/PAT
3264	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Sinapis arvensis</i> , 15.03.2014. база лисне петелјке, Земун	Ех	LC01490/PAT
3276	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Sinapis arvensis</i> , 15.03.2014. база лисне петелјке, Земун	Ех	LC01490/PAT
L092	<i>C. parvulus</i>	<i>Sisymbrium orientale</i> , 2.05.2011. Бованско језеро, Алексицац	Ар	LC01490/HCOd
L108	<i>C. parvulus</i>	<i>Sisymbrium orientale</i> , 7.05.2011. на биљци, Земун	Ар	LC01490/PA
3115	<i>C. pervicax</i>	10.06.2005, 5 km south of Krasnodar, Russia, В. Korotyayev	Ар	LC01490/PAT
3116	<i>C. pervicax</i>	10.06.2005, 5 km south of Krasnodar, Russia, В. Korotyayev	Ар	LC01490/PAT

Prilog 1/9

L273	<i>C. peyerimhoffii</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 28.04. 2013. на биљци, Рашка	Ap	LCO1490/PAT
L036	<i>C. pictitarsis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 24.04.2011. круна корена, Земун	Lp	LCO1490/ HCO2198
L112	<i>C. pictitarsis</i>	<i>Calpina irregularis</i> , 08.05.2011. круна корена, Земун	Ex	LCO1490/PAT
L316	<i>C. pictitarsis</i>	<i>Brassica napus</i> , 17.05. 2013. на биљци, Маршић	Ap	LCO1490/PAT
3993	<i>C. pictitarsis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 15.06.2011. корен, Земун	Ex	LCO1490/PAT
3995	<i>C. pictitarsis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 25.05.2012. корен, Земун	Ex	LCO1490/PAT
L021	<i>C. posthumus</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i> , 30.03.2011. Добановци слика, No 01042011/гала на стабљици	Ap	LCO1490/PAT
L022	<i>C. posthumus</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i> , 30.03.2011. Добановци слика, No 01042011/гала на стабљици	Ap	LCO1490/PAT
L023	<i>C. posthumus</i>	<i>Arabidopsis thaliana</i> , 30.03.2011. Добановци слика, No 01042011/гала на стабљици	Ap	LCO1490/PAT
L029	<i>C. posthumus</i>	<i>Erophila verna</i> , 4.04.2011. Добановци слика, No 01042011/3 гала махуне	Lp	LCO1490/PAT
L031	<i>C. posthumus</i>	<i>Erophila verna</i> , 4.04.2011. Добановци, слика, No 01042011/3 гала махуне	Lp	LCO1490/PAT
L040	<i>C. posthumus</i>	<i>Erophila verna</i> , 4.04.2011. Добановци, гала махуне, 30.04.2001 (6), 3.05.2001 (2)	Ex	LCO1490/PAT
L041	<i>C. posthumus</i>	<i>Erophila verna</i> , 4.04.2011. Добановци, гала махуне, 30.04.2001 (6), 3.05.2001 (2)	Ex	LCO1490/HCOd
L042	<i>C. posthumus</i>	<i>Erophila verna</i> , 4.04.2011. Добановци, гала махуне, 30.04.2001 (6), 3.05.2001 (2)	Ex	LCO1490/PAT
L146	<i>C. puncticollis</i>	<i>Erysimum crepidifolium</i> , 14.05.2011. Чардак, Делиблатски песак, GPS 250	Ap	LCO1490/PAT
L147	<i>C. puncticollis</i>	<i>Erysimum crepidifolium</i> , 14.05.2011. Чардак, Делиблатски песак, GPS 250	Ap	LCO1490/PAT
L194	<i>C. cf. puncticollis</i>	<i>Rorripa prostrata</i> , 04.06.2011. розета, Копаоник	Ap	LCO1490/PAT
3269	<i>C. cf. puncticollis</i>	<i>Erysimum rhaeticum</i> , 11.04.2014. круна корена, Голубац	Lp	LCO1490/PAT
3975	<i>C. puncticollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 9.05.2015. на биљци, Делиблатски песак, Сушара, туба 1446	Ap	LCO1490/PAT
4007	<i>C. puncticollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 9.05.2015. на биљци, Делиблатски песак, Сушара, туба 1446	Ap	LCO1490/PAT
4008	<i>C. puncticollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 9.05.2015. на биљци, Делиблатски песак, Сушара, туба 1446	Ap	LCO1490/PAT
L005	<i>C. rapae</i>	ex l., ex <i>Calepina irregularis</i> , 17.03.2011. розета, Батајница	Ex	LCO1490/PAT
1031*	<i>C. rapae</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 15.04.2011. Romania, Valea Lupuli	Ap	LCO1490/PAT
1203*	<i>C. rapae</i>	<i>Descurainia sophia</i> , 15.04.2011. Romania, Valea Lupuli	Ap	LCO1490/PAT
4024	<i>C. rapae</i>	<i>Descurainia sophia</i> , 17.04.2013. Велико градиште	Ap	LCO1490/PAT
4025	<i>C. rapae</i>	<i>Descurainia sophia</i> , 17.04.2013. Велико градиште	Ap	LCO1490/PAT
L053	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 18.04.2011. централни део стабљике, Неготин, L2-L3 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L054	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 18.04.2011. централни део стабљике, Неготин, L2-L3 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L055	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 18.04.2011. централни део стабљике, Неготин, L2-L3 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L056	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 18.04.2011. централни део стабљике, Неготин, L2-L3 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L060	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 19.04.2011. централни део стабљике, Пирот, GPS 346, L1-L2 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L061	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 19.04.2011. централни део стабљике, Пирот, GPS 346, L1-L2 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L062	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 19.04.2011. централни део стабљике, Пирот, GPS 346, L1-L2 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L063	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 17.04.2011. централни део стабљике, Case Study, Неготин, L3 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L064	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 17.04.2011. централни део стабљике, Case Study, Неготин, L3 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L101	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. Суводол, Књажевац	Lp	LCO1490/HCOd
L124	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. стабљика, Суводол, Књажевац	Ex	LCO1490/PAT
L125	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. стабљика, Суводол, Књажевац	Ex	LCO1490/PAT
L126	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. стабљика, Суводол, Књажевац	Ex	LCO1490/PAT
L131	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. стабљика, Совинац, Неготин	Ex	LCO1490/PAT

Prilog 1/10

L133	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. стабљика, Совинац, Неготин	Ех	LCO1490/PAT
L134	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. стабљика, Совинац, Неготин	Ех	LCO1490/PAT
L156	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 25.04.2011. стабљика, Шумарице, Крагујевац.	Ех	LCO1490/PAT
L160	<i>C. roberti</i>	<i>Cardamine hirsuta</i> , 25.04.2011. розета, Крагујевац, Драча	Ех	LCO1490/PAT
L174	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 21.05.2011. стабљика, Копаоник	Ех	LCO1490/PAT
L175	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 21.05.2011. стабљика, Копаоник	Ех	LCO1490/HCOd
L208	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 06.04.2013. на биљци, Шумарице, Крагујевац.	Ар	LCO1490/PAT
L244	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 21.04.2013. из стабљике, Бањани, GPS 33	Лр	LCO1490/PAT
L248	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 21.04.2013. Крагујевац GPS38	Ар	LCO1490/PAT
L254	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 26.04.2013. стабљика, Сабанта, GPS 43	Ех	LCO1490/PAT
L255	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 26.04.2013. стабљика, Сабанта, GPS 43	Лр	LCO1490/PAT
L256	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 26.04.2013. на биљци, Крагујевац, Сабанта	Ар	LCO1490/PAT
L260	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 26.04.2013. на биљци, Крагујевац, Сабанта, GPS 45	Ар	LCO1490/PAT
L268	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 26.04.2013. стабљика, Крагујевац, Превешт, GPS 47	Лр	LCO1490/PAT
L283	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 29.04.2013. Витково	Лр	LCO1490/PAT
L296	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 03.05.2013. стабљика, Сјеница, GPS 62	Лр	LCO1490/PAT
L321	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2013. стабљика, Копаоник	Лр	LCO1490/PAT
3032	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот	Ар	LCO1490/PAT
3033	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот	Ар	LCO1490/PAT
3036	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот	Ар	LCO1490/PAT
3037	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот	Ар	LCO1490/PAT
3038	<i>C. roberti</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот	Ар	LCO1490/PAT
3259	<i>C. roberti</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 2.04.2014. на биљци, Врчин	Ар	LCO1490/PAT
3281	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 11.04.2014. стабљика, Врчин	Лр	LCO1490/PAT
L066	<i>C. scrobicollis 1</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 17.04.2011. круна корена, Л3, Голубац, Ридан	Лр	LCO1490/HCOd
L067	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 17.04.2011. круна корена, Л3, Голубац, Ридан	Лр	LCO1490/HCOd
L068	<i>C. scrobicollis 2</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 18.04.2011. круна корена, Рајак, Неготин, L2-L3	Лр	LCO1490/HCOd
L115	<i>C. scrobicollis 1</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 22.04.2011. гала на стабљици, Сушара, 10.05.2011.	Ех	LCO1490/PAT
L173	<i>C. scrobicollis sp. 2</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 21.05.2011. корен, Копаоник	Ех	LCO1490/PAT
L209	<i>C. scrobicollis 1</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 06.04.2013. Шумарице, Крагујевац	Лр	LCO1490/PAT
L212	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 18.04.2013. Дивостин, Крагујевац, GPS 005	Лр	LCO1490/PAT
L213	<i>C. scrobicollis 2</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 18.04.2013. корен, Шумарице, Крагујевац	Лр	LCO1490/PAT
L221	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 20.04.2013. корен, Деспотовац, GPS 009	Лр	LCO1490/PAT
L249	<i>C. scrobicollis 2</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 21.04.2013. корен, Крагујевац, GPS38	Лр	LCO1490/PAT
L253	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 26.04.2013. корен, Крагујевац, Сабанта	Лр	LCO1490/PAT
L261	<i>C. scrobicollis 1</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 26.04.2013. на биљци, Сабанта, GPS 45	Лр	LCO1490/PAT
L267	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 26.04.2013. корен, Превешт GPS 47	Лр	LCO1490/PAT
L270	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 28.04.2013. Гледићке планине, GPS 49	Лр	LCO1490/PAT
L277	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 29.04.2013. корен, Копаоник, Влајовац, GPS 53	Лр	LCO1490/PAT
L290	<i>C. scrobicollis 1</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 03.05.2013. корен, Нова Варош	Лр	LCO1490/PAT
L302	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 03.05.2013. изданак, Ивањица, GPS 63	Лр	LCO1490/PAT
L330	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 3.05.2013. лисна петељка, Нова Варош	Лр	LCO1490/PAT
L331	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 01.06.2013. на биљци Ваљево, Повлен, GPS 87	Ар	LCO1490/PAT
3284	<i>C. scrobicollis larvae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 14.04.2014. база розете, Сићево, Ниш	Лр	LCO1490/PAT
3285	<i>C. scrobicollis larvae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 14.04.2014. круна корена, Сићево, Ниш, NIKON-4921	Лр	LCO1490/PAT
1030	<i>C. sophiae</i>	<i>ex Descurainia sophia</i> , 28.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului (IS)	Ар	LCO1490/HCO2198
L186	<i>C. striatellus</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 21.05.2011. на биљци, Ушће	Ар	LCO1490/PAT

Prilog 1/11

L187	<i>C. striatellus</i>	<i>Thlaspi praecox</i> , 22.05.2011. на биљци, Копаоник	Ар	LC01490/PAT
L188	<i>C. striatellus</i>	<i>Thlaspi praecox</i> , 22.05.2011. на биљци, Копаоник	Ар	LC01490/PAT
L044	<i>C. subpilosus</i>	<i>Alyssum alyssoides</i> , 1.05.2011. гала на корену, Кална	Лр	LC01490/HCOd
L089	<i>C. subpilosus</i>	<i>Alyssum montanum</i> , 1.05.2011. Кална, Источна Србија	Ар	LC01490/HCOd
L114	<i>C. subpilosus</i>	<i>Alyssum alyssoides</i> , 16.05.2011. гале на корену, Кална	Ех	LC01490/PAT
4011	<i>C. subpilosus</i>	<i>Alyssum alyssoides</i> , 16.05.2011. гале на корену, Кална	Ех	LC01490/PAT
4012	<i>C. subpilosus</i>	<i>Alyssum alyssoides</i> , 16.05.2011. гале на корену, Кална	Ех	LC01490/PAT
L007	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 26.03.2011. Земун двориште	Ар	LC01490/PAT
L008	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 26.03.2011. Земун двориште	Ар	LC01490/ HCO2198
L009	<i>C. sulcicollis</i>	<i>ex Calepina irregularis</i> , 26.03.2011. Земун двориште	Ар	LC01490/ HCO2198
L035	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 24.04.2011. круна корена, ларве грегарне, Земун	Лр	LC01490/PAT
L039	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 24.04.2011. круна корена, ларве грегарне, Земун	Лр	LC01490/PAT
L050	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 20.04.2011. круна розете и базални део стабљике, Добановци	Лр	LC01490/PAT
L069	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 18.04.2011. круна корена, Рајац, Неготин, L2-L3	Лр	LC01490/HCOd
L083	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 19.04.2011. круна корена, Пирот, GPS 346, L3	Лр	LC01490/PAT
L104	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 5.05.2011. ларве у стабљници, Добановци	Лр	LC01490/HCOd
L106	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 5.05.2011. ларве у стабљници, Добановци	Лр	LC01490/PAT
L127	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 1.05.2011. стабло, Суводол, Књажевац,	Ех	LC01490/PAT
L161	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 25.04.2011. корен, Крагујевац, Драча	Ех	LC01490/PAT
L162	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 25.04.2011. корен, Крагујевац, Драча	Ех	LC01490/PAT
L163	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Barbarea vulgaris</i> , 25.04.2011. лисна петељка, Шумарице, Крагујевац	Ех	LC01490/PAT
L164	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Hesperis</i> sp., 25.04.2011. корен, Крагујевац, Драча	Ех	LC01490/PAT
L165	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 28.05.2011. корен, Крагујевац, Станово	Ех	LC01490/PAT
L166	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 28.05.2011. корен, Крагујевац, Станово	Ех	LC01490/PAT
L169	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 7. 05.2011. розета, Крагујевац, Шумарице	Ех	LC01490/PAT
L170	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 7. 05.2011. розета, Крагујевац, Шумарице	Ех	LC01490/PAT
L172	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Hesperis silvestris</i> , 14.05.2011. круна корена, Тара, Калуђерске बारे	Ех	LC01490/PAT
L181	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 7. 05.2011. розета, Крагујевац, Шумарице	Ех	LC01490/PAT
L197	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 12.06.2011. Трса, Дурмитор	Лр	LC01490/PAT
L204	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 22.03.2013. круна розете, Морача, Подгорица,	Лр	LC01490/PAT
L207	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 4.04.2013. базални део стабљике, Шумарице, Крагујевац	Лр	LC01490/PAT
L211	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 18.04.2013. на биљци, Дивостин, Крагујевац, GPS 005	Ар	LC01490/PAT
L224	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 20.04.2013. корен, Деспотовац, GPS 010	Лр	LC01490/PAT
L225	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 20.04.2013. корен, Деспотовац, GPS 010	Лр	LC01490/PAT
L227	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Brassica nigra</i> , 20.04.2013. корен, Деспотовац, GPS 010.	Лр	LC01490/PAT
L228	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Brassica nigra</i> , 20.04.2013. стабљика, Деспотовац, GPS 010	Лр	LC01490/PAT
L231	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 20.04.2013. корен, Смедерево, GPS 012	Лр	LC01490/PAT
L238	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i> , 21.04.2013. стабљика, Обреновац, GPS 32	Лр	LC01490/PAT
L247	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Lunaria rediviva</i> , 21.04.2013. стабљика, Струганик, GPS 37	Лр	LC01490/PAT
L276	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Erysimum</i> sp., 28.04.2013. розета, Рашка	Лр	LC01490/PAT
L288	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 03.05.2013. корен, Увац, Златар, GPS 59	Лр	LC01490/PAT
L327	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 28.05.2013. Трса, Дурмитор	Лр	LC01490/PAT
L328	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Myagrum perfoliatum</i> , 28.05.2013. стабљика, Трса, Дурмитор	Лр	LC01490/PAT

Prilog 1/12

1297*	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 23.04.2010. Romania, Onesti	Lp	LCO1490/PAT
3265	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 15.03.2014 на биљци, Земун	Ap	LCO1490/PAT
3266	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i> , 15.03.2014 на биљци, Земун	Ap	LCO1490/PAT
3270	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Sysimbrium orientale</i> , 11.04.2014. круна корена, Велико Градиште, фарма, Пожежено	Lp	LCO1490/PAT
3992	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 15.06.2011. Земун, кавез башта	Ex	LCO1490/PAT
3994	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Sysimbrium orientale</i> , 12.05.2012. Александровац, Трговиште, Врање, GPS 436	Lp	LCO1490/PAT
L027	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 4.04.2011. на стабљици, Добановци	Ap	LCO1490/PAT
L033	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 8.04.2011. цветови, Земун Метро	Ap	LCO1490/ HCO2198
L034	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 8.04.2011. цветови, Земун Метро	Ap	LCO1490/ HCO2198
L096	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 2.05.2011. Бованско језеро, Алексинац	Ap	LCO1490/HCOd
L284	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 29.04. 2013. Витково	Ap	LCO1490/PAT
3288	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 26.04.2014. на биљци, Земун Поље	Ap	LCO1490/PAT
3292	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 21.04.2014. на биљци, Љубиње, Средњево	Ap	LCO1490/PAT
3298	<i>C. turbatus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 17.04.2014. на биљци, Земун Поље	Ap	LCO1490/PAT
L080	Species 1	<i>Camelina sativa</i> , 15.04.2011. гала у апикалном делу стабљике, Банатско Ново Село, Банат, L3 ларва	Lp	LCO1490/HCOd
L137	Species 1	<i>Camelina sativa</i> , 22.06.2011. гала у апикалном делу стабљике, Банатско Ново Село, Банат	Ex	LCO1490/PAT
L079	Species 2	<i>Barbarea intermedia</i> , 18.04.2011. гале на петиоли листова, Брусник, GPS 345, L2-L3 ларве	Lp	LCO1490/HCOd
L206	Species 3	<i>Bunias erucago</i> , 03.04.2013. корен, Биоче, Црна Гора, GPS 003 I	Lp	LCO1490/PAT
3972	Species 3	<i>Lepidium draba</i> , 6.07.2011. GPS 365, Akşarınar, Turkey, туба 909	Ap	LCO1490/PAT
L338	Species 4	<i>Erysimum cheri</i> , 14.06.2013. на биљци, Дурмитор, Црна Гора	Ap	LCO1490/PAT
3246	Species 5	<i>Arabis turrita</i> , 2.04.2014. на биљци, Голубац, Ридан	Ap	LCO1490/HCOd
3250	Species 5	<i>Arabis turrita</i> , 2.04.2014. на биљци, Голубац, Ридан	Ap	LCO1490/HCOd
3303	Species 6	<i>Lepidium draba</i> , 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак	Ap	LCO1490/HCOd
3997	Species 6	<i>Lepidium draba</i> , 1.05.2015. на биљци, Сушара, Банат, туба 1423 >2	Ap	LCO1490/HCOd

Прилог 2. Листа примерака за молекуларне анализе врста рода *Ceutorhynchus* који су коришћени као додатни материјал за поређење сложени према броју ДНК екстракције, имену врсте, пореклу, типу узорака и прајмер пару који је служио за амплификацију митохондријалне цитохром-оксидазе субјединице 1 (*COI* ген)

¹⁾ Lp=ларва; Ap=адулт; Ex= одгајени адулт у лабораторијским условима.

ДНК број	Врста	Опис узорка	Тип узорка ¹	Прајмер пар
3766	<i>Amalus scortillum</i> (outgroup)	on <i>Thlaspi arvense</i> , 16.06.2014. Sweden, Ljungsbro, GPS. 599	Ap	LCO1490/HCOd
3879	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3880	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3882	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3883	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3884	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3885	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3891	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3893	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3894	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3895	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3879	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3880	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3882	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3883	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3884	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3885	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3891	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3893	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3894	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3895	<i>C. alliariae</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/HCOd
3746	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014. гале на корену, – reference larvae Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/PAT
3747	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014. гале на корену, – reference larvae Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/PAT
3745	<i>C. assimilis</i>	NCT <i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014 – reference larvae of Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/PAT
3746	<i>C. assimilis</i>	NCT <i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014 – reference larvae of Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/PAT
3747	<i>C. assimilis</i>	NCT <i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014 – reference larvae of Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/PAT
3745	<i>C. assimilis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 03.12.2014. гале на корену, – reference larvae Biocontrol agent, South France, Montpellier	Lp	LCO1490/PAT
3131	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyayev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3132	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyayev	Ap	LCO1490/ HCO2198

Prilog 2/2				
3133	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3134	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3135	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3136	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3137	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3138	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3139	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3140	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
3141	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., 2-6.04.2013. Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, Igt. B.A. Korotyaev	Ap	LCO1490/ HCO2198
1287	<i>C. cardariae</i>	<i>Thlaspi arvensis</i> , 9.05.2010. Timisesti (NT), Romania	Lp	LCO1490/PAT
3131	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3132	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3133	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3134	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3135	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3136	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3137	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3138	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3139	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3140	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
3141	<i>C. cardariae</i>	Russia, Stavropol err., Novoaleksandrovsk Distr., 9 km E of Novoaleksandrovsk, steppe slope E of Prisadovyi, 2-6.04.2013, Igt. B.A. Korotyaev, det. B. Korotyaev	Ap	LCO1490/PAT
1286	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 9.05.2010. Timisesti (NT), Romania	Lp	LCO1490/ HCO2198
3119	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 23-31.05.2013. ex l., Iasi, Valea Lupulloli, Igt Alecu. 47°10'24.93"N, 27°29'0.26"E	Lp	LCO1490/ HCO2198
3121	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 23-31.05.2013. ex l., Iasi, Valea Lupulloli, Igt Alecu. 47°10'24.93"N, 27°29'0.26"E	Lp	LCO1490/ HCO2198
3122	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 23-31.05.2013. ex l., Iasi, Valea Lupulloli, Igt Alecu. 47°10'24.93"N, 27°29'0.26"E	Lp	LCO1490/ HCO2198
3123	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 23-31.05.2013. ex l., Iasi, Valea Lupulloli, Igt Alecu. 47°10'24.93"N, 27°29'0.26"E	Lp	LCO1490/ HCO2198

Prilog 2/3				
3126	<i>C. chalybaeus</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 23-31.05.2013. ex l., Iasi, Valea Lupuloli, Igt Alecu. 47°10'24.93"N, 27°29'0.26"E	Lp	LCO1490/ HCO2198
2646	<i>C. constrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 15.05.2013. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3771	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3772	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3773	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3774	<i>C. contractus</i>	<i>Lepidium draba</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3765	<i>C. contractus</i>	23.10.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3771	<i>C. contractus</i>	25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3772	<i>C. contractus</i>	31.10.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3773	<i>C. contractus</i>	31.10.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3774	<i>C. contractus</i>	31.10.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
2637	<i>C. marginellus</i>	<i>Lepidium latifolium</i> , South Russia, coll. and det. Dr Boris Korotyaev	Lp	LCO1490/ HCO2198
2632	<i>C. marginellus</i>	<i>Lepidium latifolium</i> , 04.2013. South Russia, Krasnodar	Lp	LCO1490/ HCO2198
3093	<i>C. marginellus</i>	<i>Lepidium latifolium</i> , 04.2013. South Russia, Krasnodar	Lp	LCO1490/ HCO2198
3094	<i>C. marginellus</i>	<i>Lepidium latifolium</i> , 04.2013. South Russia, Krasnodar	Lp	LCO1490/ HCO2198
3095	<i>C. marginellus</i>	<i>Lepidium latifolium</i> , 04.2013. South Russia, Krasnodar	Lp	LCO1490/ HCO2198
2687	<i>C. obstrictus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 15.05.2013. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3748	<i>C. obstrictus</i>	on <i>Thlaspi arvense</i> , 16.06.2014. Sweden, Ljungsbro, GPS. 599	Ap	LCO1490/ HCO2198
3784	<i>C. obstrictus</i>	on <i>Berteroa incana</i> , 11.06.2014. France, Rhona,	Ap	LCO1490/ HCO2198
3920	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3921	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3922	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3890	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3920	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3921	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3922	<i>C. pallidactylus</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3876	<i>C. peyerihoffi</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 15.04.2013. Italy	Lp	LCO1490/PAT
3876	<i>C. peyerihoffi</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 15.04.2013. Italy, Roma,	Lp	LCO1490/PAT
3874	<i>C. peyerimhoffi</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 15.04.2013. Italy	Lp	LCO1490/PAT
3875	<i>C. peyerimhoffi</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 15.04.2013. Italy	Lp	LCO1490/PAT
3539	<i>C. peyerimhoffi</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 15.04.2013. Italy, Roma	Lp	LCO1490/PAT
3540	<i>C. peyerimhoffi</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 15.04.2013. Italy, Roma	Lp	LCO1490/PAT
3753	<i>C. quadridens</i>	<i>Brasica rapae</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3754	<i>C. quadridens</i>	<i>Brasica rapae</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/PAT
3753	<i>C. quadridens</i> cf. <i>pictitarsis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
3754	<i>C. quadridens</i> cf. <i>pictitarsis</i>	<i>Calepina irregularis</i> , 25.11.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LCO1490/ HCO2198
1031	<i>C. rapae</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 2010. Romania, Iasi	Lp	LCO1490/ HCO2198
1203	<i>C. rapae</i>	<i>Descurainia sophia</i> , Valea Lupuli, Romania	Lp	LCO1490/ HCO2198
1031	<i>C. rapae</i>	ex <i>Thlaspi arvense</i> , 2010. Romania, Iasi	Ap	LCO1490/ HCO2198
1203	<i>C. rapae</i>	ex <i>Sisymbrium (=Descurainia) sophia</i> Valea Lupuli, Romania, ex stem	Lp	LCO1490/ HCO2198
3125	<i>C. roberti</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 27.05-3.06.2013. Secuienii Noi , Igt Alecu., Romania, 46°51'4.61"N, 26°52'54.13"E	Lp	LCO1490/ HCO2198
3125	<i>C. roberti</i>	ex l., ex <i>Thlaspi arvense</i> , Secuienii Noi, larvae coll: 10.05.2013. adult emerged: 27.05-3.06.2013, Igt Alecu., Romania, Secuienii Noi (NT) 46°51'4.61"N, 26°52'54.13"E	Ap	LCO1490/ HCO2198
3775	<i>C. rusticus</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 07.10.2014. Hessentalberg, Germany	Ap	LCO1490/ HCO2198
3776	<i>C. rusticus</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 07.10.2014. Hessentalberg, Germany	Ap	LCO1490/ HCO2198
3777	<i>C. rusticus</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 07.10.2014. Hessentalberg, Germany	Ap	LCO1490/ HCO2198
3778	<i>C. rusticus</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 07.10.2014. Hessentalberg, Germany	Ap	LCO1490/ HCO2198
3779	<i>C. rusticus</i>	<i>Isatis tinctoria</i> , 07.10.2014. Hessentalberg, Germany	Ap	LCO1490/ HCO2198
3896	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3897	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3898	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3899	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3493	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3896	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3897	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3898	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3899	<i>C. scrobicollis</i>	<i>Alliaria petiolata</i> , ex l., 25.05.2014. Delemont, Switzerland	Lp	LepF1/HCO2198
3113	<i>C. sophiae</i>	<i>Descurainia sophia</i> , 28.04.2010. стабълка, Valea Lapului, Iasi	Lp	LCO1490/ HCO2198
3114	<i>C. sophiae</i>	<i>Descurainia sophia</i> , 28.04.2010. стабълка, Valea Lapului, Iasi	Lp	LCO1490/ HCO2198

					Prilog 2/4
3124	<i>C. sophiae</i>	<i>Thlaspi arvense</i> , 27.05-3.06.2013. Timisesti, Igt Alecu., Romania, 47°14'29.28"N, 26°31'44.19"E	Ex		LCO1490/ HCO2198
3124	<i>C. sophiae</i>	<i>ex l., ex Thlaspi arvense</i> , Timisesti, larvae coll: 12.05.2013. adult emerged: 27.05-3.06.2013, Igt Alecu., Romania, Timisesti (NT), 47°14'29.28"N 26°31'44.19"E	Ap		LCO1490/ HCO2198
1297	<i>C. sulcicollis</i>	<i>Lepidium draba</i> , 23.04.2010. Romania, Onesti	Lp		LCO1490/ HCO2198
1297	<i>C. sulcicollis</i>	<i>L. draba</i> , 23.04.2010. Romania, Onesti	Lp		LCO1490/ HCO2198
3115	<i>C. suturellus</i>	10.06.2005. 5 km south of Krasnodar, Zoblonovskii vill., B. Korotyaev	Ap		LCO1490/ HCO2198
3116	<i>C. suturellus</i>	10.06.2005. 5 km south of Krasnodar, Zoblonovskii vill., B. Korotyaev	Ap		LCO1490/ HCO2198
3763	<i>Sirocalodes depressicollis</i> (outgroup)	on <i>Thlaspi arvense</i> , 16.06.2014. Sweden, Ljungsbro, GPS. 599	Ap		LCO1490/ HCO2198

Прилог 3. Морфолошке карактеристике *Ceutorhynchus* врста регистрованих у Србији



Ceutorhynchus aeneicollis

3991 *Calepina irregularis*, 15.06.2011. на биљци, Земун



Ceutorhynchus alliariae

3022 *Alliaria petiolata*, 27.04.2013. на биљци, Добра, Ђердапска клисура



Ceutorhynchus arator

3964 *Crambe tatarica*, 7.06.2015. на биљци, Venatori (IS), N 47 15' 56'', E 27 31' 13'', 124 m., Romania



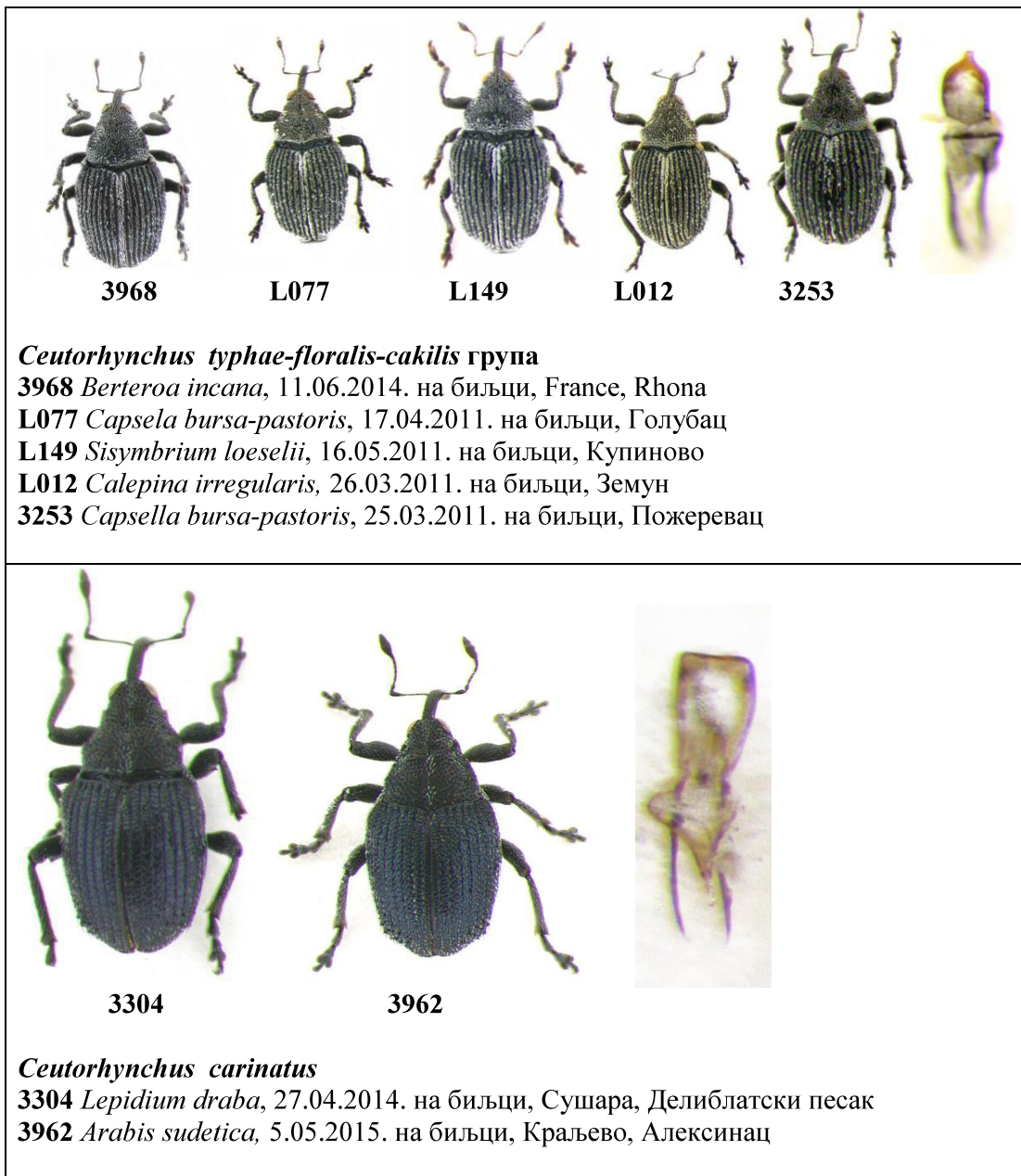
Ceutorhynchus assimilis

L130 ex *Lepidium draba*, 1.05.2011. гале на корену, Земун



Ceutorhynchus barbareae

L168 ex *Barbarea stricta*, 7.05.2011. лисна петелјка, Крагујевац, Ацине ливаде



***Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* група**

- 3968** *Berteroa incana*, 11.06.2014. на биљци, France, Rhona
L077 *Capsela bursa-pastoris*, 17.04.2011. на биљци, Голубац
L149 *Sisymbrium loeselii*, 16.05.2011. на биљци, Купиново
L012 *Calepina irregularis*, 26.03.2011. на биљци, Земун
3253 *Capsella bursa-pastoris*, 25.03.2011. на биљци, Пожеревац

Ceutorhynchus carinatus

- 3304** *Lepidium draba*, 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак
3962 *Arabis sudetica*, 5.05.2015. на биљци, Краљево, Алексинац



3017

3119

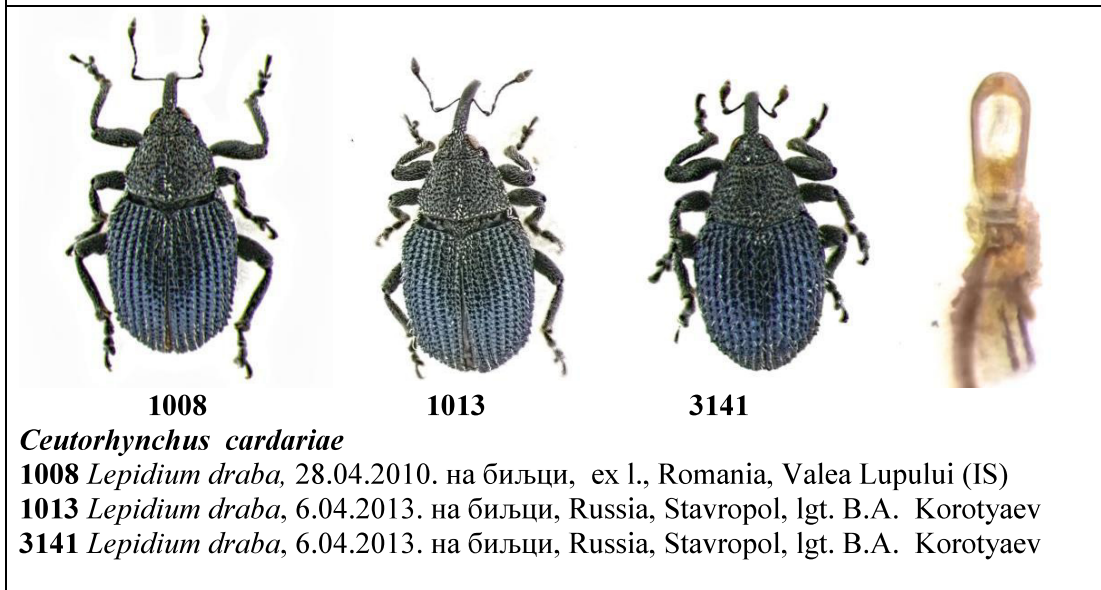
3248

Ceutorhynchus chalybaeus

3017 *Alliaria petiolata*, 27.04.2013. на биљци, Добра, Тердапска клисура

3119 ex l., ex *Thlaspi arvense*, 23-31.05.2013. Iasi, Valea Lupuloli, Igt Alecu.

3248 *Arabis turrata*, 2.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац



1008

1013

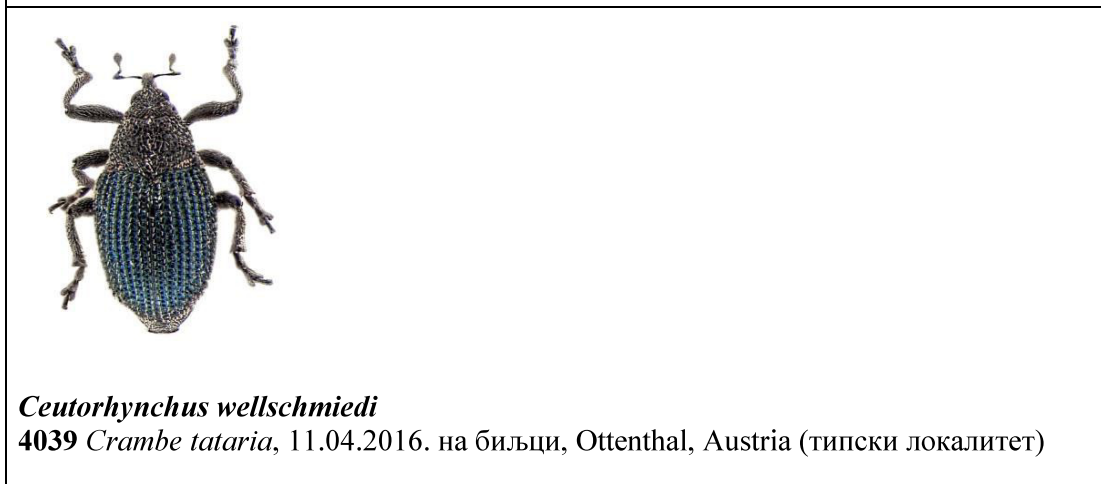
3141

Ceutorhynchus cardariae

1008 *Lepidium draba*, 28.04.2010. на биљци, ex l., Romania, Valea Lupului (IS)

1013 *Lepidium draba*, 6.04.2013. на биљци, Russia, Stavropol, Igt. B.A. Korotyaev

3141 *Lepidium draba*, 6.04.2013. на биљци, Russia, Stavropol, Igt. B.A. Korotyaev



Ceutorhynchus wellschmiedi

4039 *Crambe tataria*, 11.04.2016. на биљци, Ottenthal, Austria (типски локалитет)



Ceutorhynchus chlorophanus

3006 ex *Erysimum sylvestre*, 27.04.2013. корен, Голубац, Ридан



Ceutorhynchus coarctatus

3998 *Camelina sativa*, 14.05.2011. на биљци, Банатско Ново Село



Ceutorhynchus cochleariae

3020 *Alliaria petiolata*, 27.04.2013. на биљци, Добра, Ђердапска клисура



Ceutorhynchus constrictus

3044 *Alliaria petiolata*, 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот



Ceutorhynchus contractus

L001 *Capsella bursa-pastoris*, 17.03.2011. на биљци, Земун



L111



3025



Ceutorhynchus erysimi

L111 ex *Capsella bursa-pastoris*, 8.05.2011. круна корена, Земун

3025 *Sysimbrium loeselii*, 14.05.2013. на биљци, Земун, Шљункара

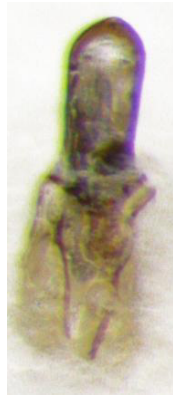


Ceutorhynchus liliputanus

1300 *Alyssum montanum*, 21.08.2010. на биљци, Мокра Гора



3976



3273



Ceutorhynchus lukesi

3976 *Alyssum saxatile*, 1.05.2011. на биљци, Књажевац, Источна Србија,
3273 *Alyssum murale*, 21.04.2014. на биљци, Ридан, Голубац



Ceutorhynchus merkli

3996 *Calepina irregularis*, 26.04.2015. на биљци, Сићево, Ниш



3973



3302



Ceutorhynchus nanus

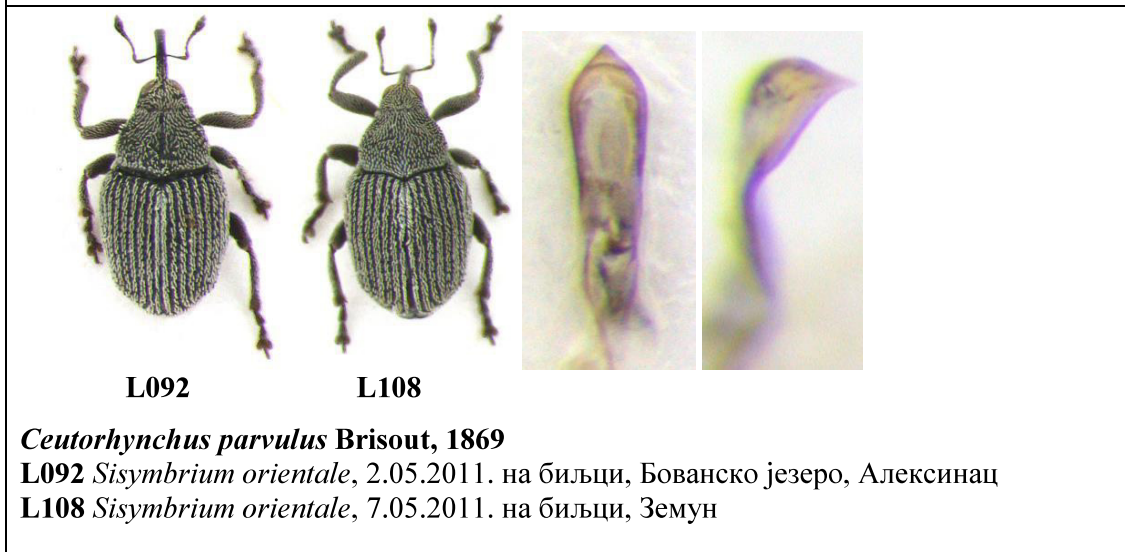
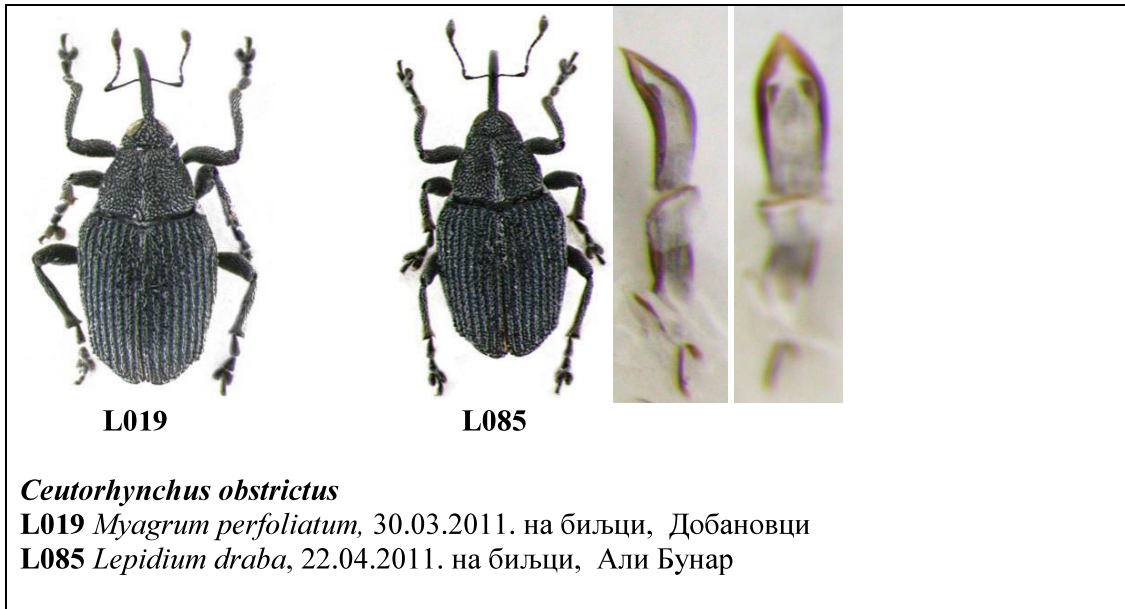
3973 *Lepidium draba*, 1.05.2015. на биљци, Делиблатски Песак, Сушара

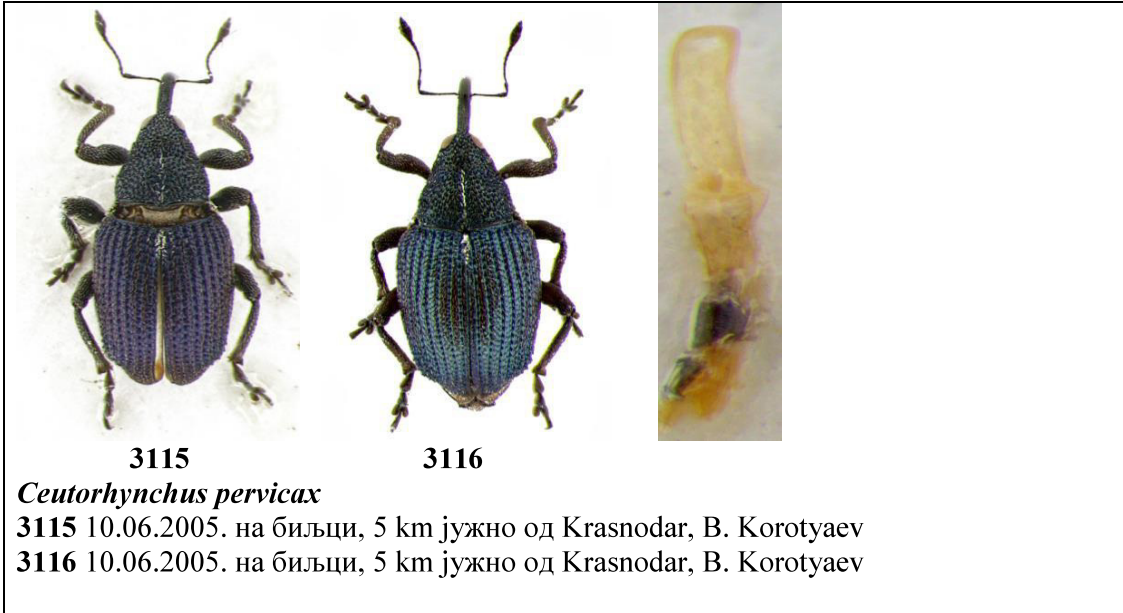
3302 *Lepidium draba*, 27.04.2014. на биљци, Делиблатски Песак, Сушара



Ceutorhynchus napi

L025 *Arabis nemorensis*, 4.04.2011. на биљци, Добановци





3115

3116

Ceutorhynchus pervicax

3115 10.06.2005. на биљци, 5 km јужно од Krasnodar, В. Korotyаev

3116 10.06.2005. на биљци, 5 km јужно од Krasnodar, В. Korotyаev



Ceutorhynchus peyerimhoffi

L273 *Isatis tinctoria*, 28.04.2013. на биљци, Рашка



L112

3995

Ceutorhynchus pictitarsis

L112 ex *Calpina irregularis*, 08.05.2011. круна корена, Земун

3995 ex *Calpina irregularis*, 25.05.2012. круна корена, Земун



Ceutorhynchus posthumus Germar, 1824

L029 ex *Erophila verna*, 4.04.2011. гала махуне, Добановци



3975

Ceutorhynchus puncticollis

3975 *Lepidium draba*, 9.05.2015. на биљци, Делиблатски песак, Сушара



L194

Ceutorhynchus cf. puncticollis

L194 ex *Rorippa prostrata*, 04.06.2011. розета, Копаоник



Ceutorhynchus rapae

L005 ex l., ex *Calepina irregularis*, 17.03.2011. розета, Батајница



Ceutorhynchus roberti

3033 *Alliaria petiolata*, 29.04.2013. на биљци, Станичење, Пирот



L331



3022



L173



Ceutorhynchus scrobicollis

L331 *Alliaria petiolata*, 01.06.2013. на биљци, Ваљево, Повлен

3022 *Alliaria petiolata*, 27.04.2013. на биљци, Добра, Ђердапска клисура, GPS 555

L173 ex *Alliaria petiolata*, 21.05.2011. корен, Копаоник



Ceutorhynchus sophiae

3113 ex *Descurainia sophia*, 28.04.2010. ex l., Romania, Valea Lupului (IS)



Ceutorhynchus striatellus

L187 *Thlaspi praecox*, 22.05.2011. на биљци, Копаоник



Ceutorhynchus subpilosus

L114 ex l., ex *Alyssum alyssoides*, 16.05.2011. гале на корену, Кална



Ceutorhynchus sulcicollis

3266 *Capsella bursa-pastoris*, 15.03.2014. на биљци, Земун

L009 *Calepina irregularis*, 26.03.2011. на биљци, Земун

L162 ex *Calepina irregularis*, 25.04.2011. корен, Крагујевац, Драча



3288

3292

Ceutorhynchus turbatus

3288 *Lepidium draba*, 26.04.2014. на биљци, Земун Поље

3292 *Lepidium draba*, 21.04.2014. на биљци, Љубиње, Средњево



***Ceutorhynchus* species 1**

L137 ex *Camelina sativa*, 15.04.2011. гала у апикалном делу стабљике, Банатско Ново Село



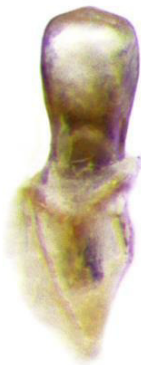
***Ceutorhynchus* species 3**

3972 *L. draba*, Аксарнар, Turkey = L206 *Bunias erucago*, корен, 3.04.2011. Биоче, Црна Гора



***Ceutorhynchus* species 4**

L338 *Erysimum cheri*, 14.06.2013. на биљци, Дурмитор, Црна Гора



***Ceutorhynchus* species 5**

3250 *Arabis turrita*, 2.04.2014. на биљци, Голубац, Ридан



3303



3997



***Ceutorhynchus* species 6**

3303 *Lepidium draba*, 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак

3997 *Lepidium draba*, 27.04.2014. на биљци, Сушара, Делиблатски песак



Прилог 4. Листа примерака за морфолошке и молекуларне анализе врста *Scutophynchus erysimi* и *C. contractus* сложених према броју ДНК екстракције, фенотипској идентификацији, молекуларној идентификацији према *COI* гену, молекуларној идентификацији према *EF-1 α* гену, асоцијацији са биљком домаћином, пореклу (локалитет) и именима хаплогитова. Скраћенице за митохондријалне хаплогитове су *ery#*, *con#*, а за нуклеарни *EF-1 α* ген, *EF-e#*, за *C. erysimi* и *EF-c#* за *C. contractus*. Примерци код којих је регистровано одступање између фенотипских карактеристика и генетског садржаја су обележени звездом (*). Бројеви у заградама у колони “Локалитет“ одговарају ознакама на **Слици 8**.

⁰ Ех= одгајени ад-лгу лабораторијским условима.

Scutophynchus contractus

ДНК екстракциони број	Фенотип	мтCOI генотип	<i>EF-1α</i> генотип	Биљка домаћин	Локалитет	Хаплогит <i>COI</i> ген	<i>EF-1α</i> ген
3299	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(1) Србија, Шушара, 17.04.2014, N44 56.968 E21 08.011, 177 m.	con5	EF-c1
L087	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Alyssum montanum</i>	(1) Србија, Шушара, 15.06.2013, N44 56.968 E21 08.011, 177 m.	con3	EF-c9
3295*	<i>C. contractus</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Samolita microcarpa</i>	(1) Србија, Шушара, 27.04.2014, N44 56.968 E21 08.011, 177 m.	ery16	EF-c13
L305	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(2) Србија, Сланкамен, 16. 04. 2010, N45 08.343 E20 15.042, 177 m	con1	EF-c11
L001	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(3) Србија, Земун, 17.03.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	con2	EF-c10
1018*	<i>C. contractus</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(4) Србија, Добановци, 12.05.2010., N44 50.332 E20 09.396, 72 m	ery13	EF-c1
L019	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(4) Србија, Добановци, 12.05.2010., N44 50.332 E20 09.396, 72 m	con4	EF-c1
L020	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(4) Србија, Добановци, 12.05.2010., N44 50.332 E20 09.396, 72 m	con1	EF-c4

1021	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(4) Србија, Добановци, 12.05.2010., N44 50.332 E20 09.396, 72 m	con1	EF-c1
3255	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(6) Србија, Умчари, 2.04.2014, N44 34.741 E20 47.350, 146 m	con4	EF-c1
3257	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(6) Србија, Умчари, 2.04.2014, N44 34.741 E20 47.350, 146 m	con1	EF-c6
3258	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(6) Србија, Умчари, 2.04.2014, N44 34.741 E20 47.350, 146 m	con1	EF-c1
3256	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(6) Србија, Умчари, 2.04.2014, N44 34.741 E20 47.350, 146 m	con1	EF-c9
L282*	<i>C. contractus</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. contractus</i>	ex <i>Thlaspi alliaceum</i>	(6) Србија, Умчари, 29.04.2014, N44 34.741 E20 47.350, 146 m	ery10	EF-c9
3254	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(8) Србија, Пожаревац, 15.04.2014, N44 36.557 E21 04.689, 75 m.	con1	EF-c7
L099	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(7) Србија, Средњево, 30.04.2011, N44 39.030 E21 28.355, 162 m	con1	EF-c5
3289	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(7) Србија, Средњево, 21.04.2014 N44 39.030 E21 28.355, 162 m	con1	EF-c3
3277*	<i>C. contractus</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium campestre</i>	(25) Србија, Брагинац, 13.04.2014, N44 39.112 E21 16.197, 85 m	ery6	EF-c9
3296	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Rorippa rupeica</i>	(9) Србија, Неготин, 22.04.2014, N44 16.612 E22 30.532, 69 m.	con1	EF-c1
L090	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Alyssum alyssoides</i>	(10) Србија, Капна, 1.05.2011, N43 29.450 E22 19.712, 278 m.	con1	EF-c1
L094	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>A. saxatiliae</i>	(11) Србија, Књажевац, 1.05.2011, N43 27.691 E22 23.268, 330 m.	con1	EF-c9
L117	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium campestre</i>	(11) Србија, Књажевац, 21.05.2011, N43 27.691 E22 23.268, 330 m.	con1	EF-c1
L312	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(12) Србија, Грошница, 14.05.2013, N43 57.401 E20 51.802, 314 m.	con1	EF-c8

L314	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Rorippa austriaca</i>	(12) Србија, Грошница, 14.05.2013, N43 57.401 E20 51.802, 314 m.	con1	EF-c9
L189	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(21) Србија, Рибничко језеро, 27.05.2011, N43 41.445 E19 39.744, 990 m.	con4	EF-c1
L234	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	ex <i>Lepidium draba</i>	(14) Србија, Обреновац, 21.04.2013, N44 40.377 E20 11.265, 74 m.	con1	EF-c1
L262*	<i>C. contractus</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(16) Србија, Превешт, 26.04.2011, N43 45.900 E21 01.050, 426 m	ery1	EF-c12
L269	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Alliaria petiolata</i>	(15) Србија, Раваница, 28.04.2011, N43 45.309 E20 57.598, 786 m.	con1	EF-c9
L303*	<i>C. contractus</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(17) Србија, Пријеноље, 443 m., 10.05.2013, N43 25.800 E19 37.831,	ery1	EF-c2
L329	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	<i>C. contractus</i>	на <i>Erysimum</i> sp.	(18) Србија, Рашка, 28.04.2013, N43 16.040 E20 35.945, 415 m.	con6	EF-c9
L333*	<i>C. contractus</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(19) Црна Гора, Жабљак, 1443 m 14.06.2013, N43 06.406 E19 07.223,	ery9	EF-c4
<i>Ceutorhynchus erysimi</i>							
ДНК екстракциони број	фенотип	мтCOI генотип	EF-1α генотип	Локалитет	Хаплотип	COI ген	EF-1α ген
3300	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	Билка домаћин на <i>Sisymbrium loeselii</i>	(1) Србија, Шушара, 27.04.2014, N44 56.968 E21 08.011, 177 m.	ery7	EF-e1
3305	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Carex microcarpa</i>	(1) Србија, Шушара, 27.04.2014, N44 56.968 E21 08.011, 177 m.	ery3	EF-e1
L111	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(3) Србија, Земун, 15.03.2014, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	ery11	EF-e1
3263	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(3) Србија, Земун, 15.03.2014, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	ery1	EF-e1
3025	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Sisymbrium loeselii</i>	(3) Србија, Земун, 14.05.2013, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	ery12	EF-e1



3252	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(3) Србија, Земун, 14.05.2013 N44 50.419 E20 21.125, 84 m	ery1	EF-e1
3287	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(3) Србија, Земун, 26.04.2014, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	ery1	EF-e7
L107	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Myagrum perfoliatum</i>	(4) Serbia, Dobanovci, 5.05.2011, N44 50.332 E20 09.396, 72 m	ery4	EF-e7
L145	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Arabis</i> sp.	(5) Србија, Кулиново, 16.05.2011. N44 41.760 E20 02.191, 72 m.	ery1	EF-e8
3261	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Sarmellina microcarpa</i>	(7) Србија, Средњево, 11.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m	ery14	EF-e3
3279	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(7) Србија, Средњево, 11.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m	ery15	EF-e1
3280	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Sarmellina microcarpa</i>	(7) Србија, Средњево, 11.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m	ery15	EF-e1
3282	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(7) Србија, Средњево, 11.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m	ery1	EF-e1
3290	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(7) Србија, Средњево, 11.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m	ery15	EF-e5
L304	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Lepidium draba</i>	(11) Србија, Књажевац, 17.04.2009, N43 44.265 E22 18.392, 165 m.	ery5	EF-e5
L158	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(20) Србија, Драча, 25.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	ery12	EF-e6
L203	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Alliaria petiolata</i>	(20) Србија, Драча, 18.04.2011. N44 01.640 E20 47.590, 284 m.	ery8	EF-e6
L159	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Cardamine hirsuta</i>	(20) Србија, Драча, 25.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	ery1	EF-e1
L185	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Thlaspi montanum</i>	(13) Србија, Рудине, 15.05.2011. N43 42.988 E19 45.304, 933 m.	ery1	EF-e6
L240	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(22) Србија, Бањани, 21.04.2013, N44 31.851 E19 58.083, 124m	ery1	EF-e1

L294	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(23) Србија, Сјеница, 03.05.2013, N43 28.436 E19 99.336 1036m.	ery1	EF-e2
L295	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(23) Србија, Сјеница, 03.05.2013, N43 28.436 E19 99.336 1036m.	ery1	EF-c6
L299	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(23) Србија, Сјеница, 03.05.2013, N43 28.436 E19 99.336 1036m.	ery2	EF-e1
L304	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	ex <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(24) Србија, Копаоник, 11.05.2013, N43 27.472 E20 76.682 1392m.	ery1	EF-e1
L332	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsella bursa-pastoris</i>	(19) Црна Гора, Жабљак, 14.06.2013, N43 06.406 E19 07.223, 1443 m	ery1	EF-e1

Прилог 5. Листа примерака за популационо-генетичке анализе врста *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus* уз помоћ генотипизације методом PCR-RFLP, сложени према броју ДНК екстракције, фенотипској идентификацији, асоцијацији са биљком домаћиним, пореклу (локалитет) и генетском садржају према добијеном RFLP профилу (Слика 9, 10). Примерци код којих је регистровано одступање између фенотипских карактеристика и генетског садржаја су су обележени звездом (*).

¹⁾ Ех= одгајени адулт у лабораторијским условима.

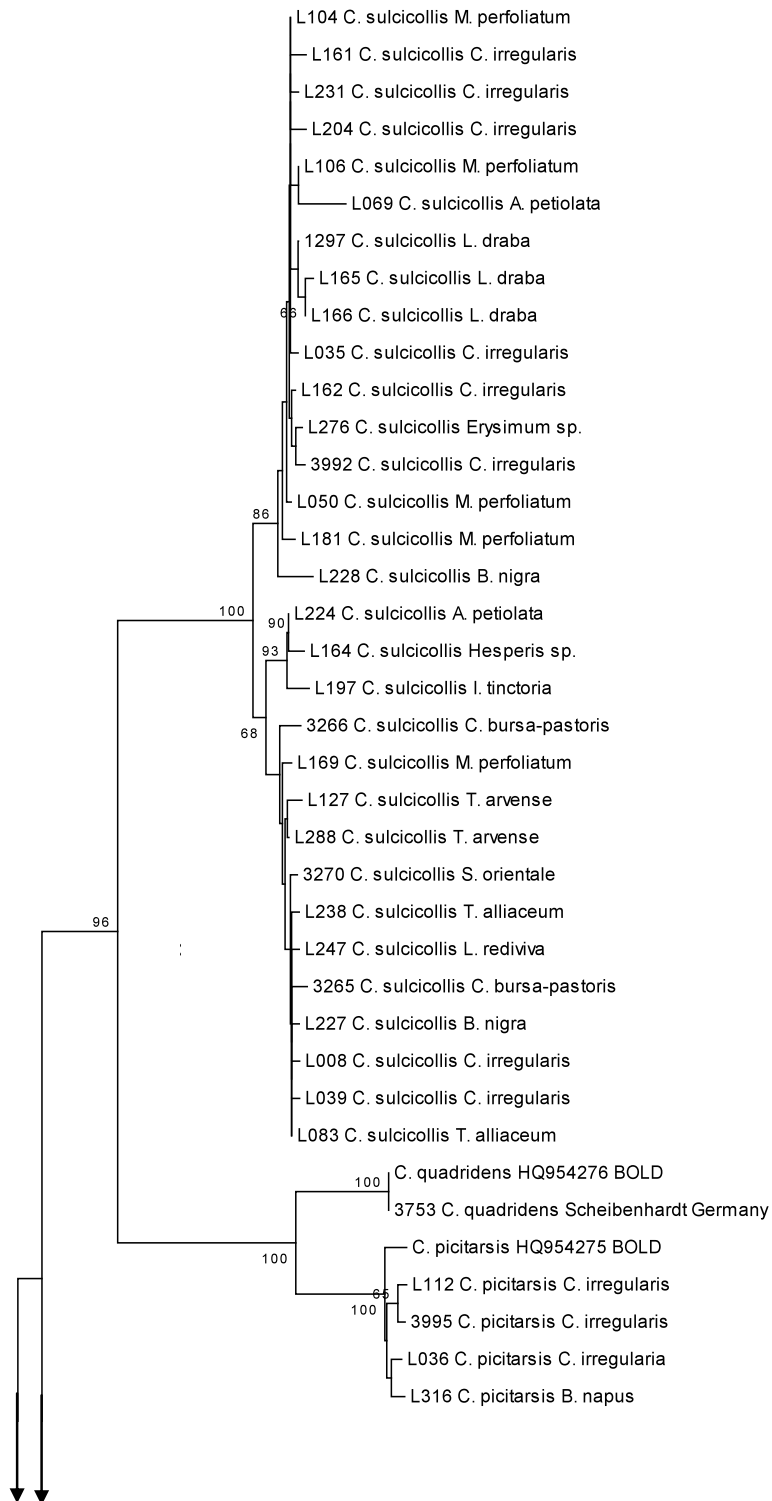
ДНК екстракциони број	Идентификација на основу фенотипа	Биљка домаћин	Локалитет	Идентификација на основу COI гена
3280	<i>C. erysimi</i> (control)	на <i>Carmellina microcarpa</i>	Србија, Средњево, 11.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m	<i>C. erysimi</i>
3299	<i>C. contractus</i> (control)	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Шушара, 17.04.2014, N44 56.968 E21 08.011, 177 m.	<i>C. contractus</i>
3306	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3307	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3308	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3309	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3310	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3311	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3312	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3313	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3314	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 6.06.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3315	<i>C. erysimi</i>	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Суводол, 4.04.2014, N43 44.265 E22 18.392, 165 m.	<i>C. erysimi</i>
3317	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. erysimi</i>
3318	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3319	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3320*	<i>C. contractus</i>	на <i>Alysum allisoides</i>,	Србија, Кална, 14.04.2014, N43 29.450 E22 19.712, 278 m.	<i>C. erysimi</i>
3321	<i>C. contractus</i>	на <i>Alysum allisoides</i> ,	Србија, Кална, 14.04.2014, N43 29.450 E22 19.712, 278 m.	<i>C. contractus</i>
3322	<i>C. contractus</i>	на <i>Alysum allisoides</i> ,	Србија, Кална, 14.04.2014, N43 29.450 E22 19.712, 278 m.	<i>C. contractus</i>
3323	<i>C. contractus</i>	на <i>Alysum allisoides</i> ,	Србија, Кална, 14.04.2014, N43 29.450 E22 19.712, 278 m.	<i>C. contractus</i>
3324	<i>C. contractus</i>	на <i>Alysum allisoides</i> ,	Србија, Кална, 14.04.2014, N43 29.450 E22 19.712, 278 m.	<i>C. contractus</i>
3325	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 26.04.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3326	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 26.04.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3327	<i>C. erysimi</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Земун, 26.04.2011, N44 50.419 E20 21.125, 84 m	<i>C. erysimi</i>
3328	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Средњево, 21.04.2014 N44 39.030 E21 28.355, 162 m	<i>C. contractus</i>
3329*	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Средњево, 21.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3330	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Средњево, 21.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. contractus</i>

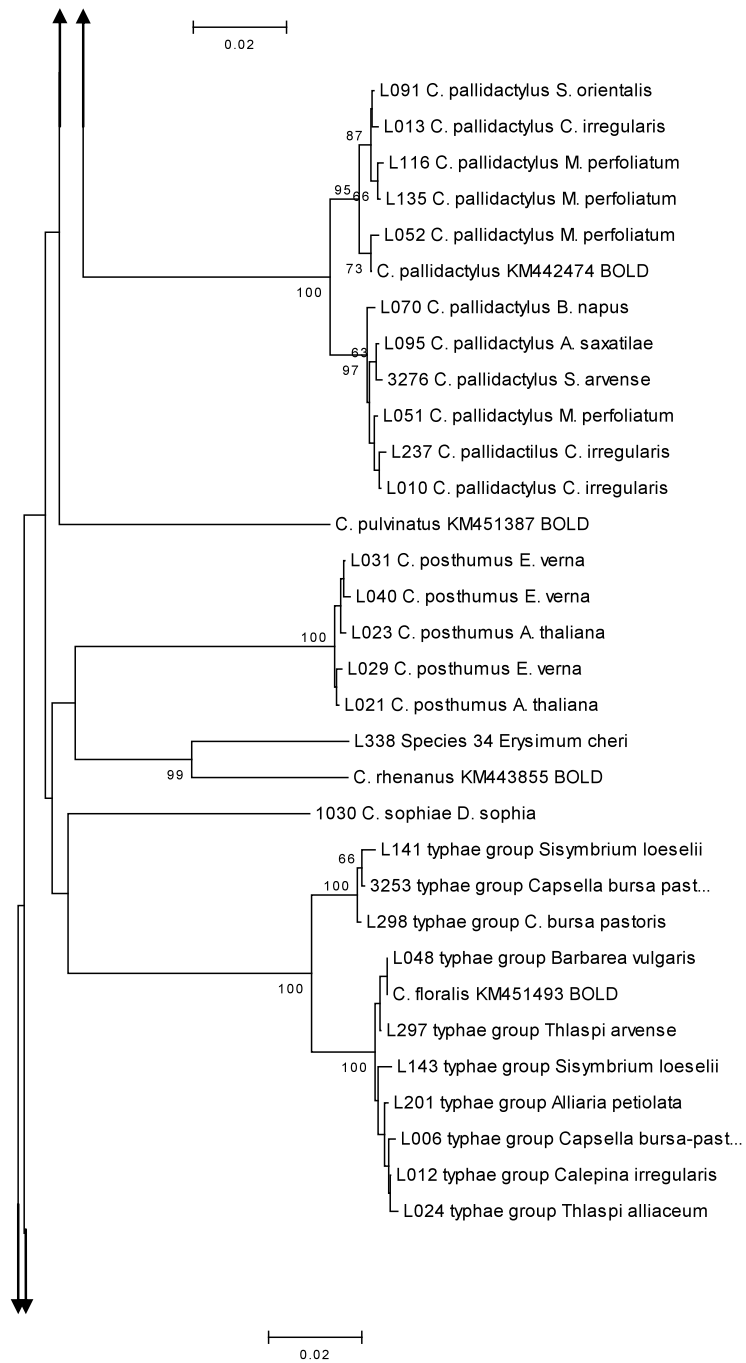
3331	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Средњево, 21.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. contractus</i>
3332	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Средњево, 21.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. contractus</i>
3333	<i>C. contractus</i>	на <i>Lepidium draba</i>	Србија, Средњево, 21.04.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. contractus</i>
3334	<i>C. contractus</i>	на <i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3335	<i>C. contractus</i>	на <i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3336*	<i>C. contractus</i>	на <i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. erysimi</i>
3337	<i>C. contractus</i>	на <i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3338	<i>C. contractus</i>	на <i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3339	<i>C. contractus</i>	на <i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3340	<i>C. contractus</i>	на <i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Витково, 29.04.2014, N43 45.499 E21 10.788 298 m.	<i>C. contractus</i>
3341	<i>C. erysimi</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Драча, 18.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	<i>C. erysimi</i>
3342	<i>C. erysimi</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Драча, 18.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	<i>C. erysimi</i>
3343	<i>C. erysimi</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Драча, 18.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	<i>C. erysimi</i>
3344	<i>C. erysimi</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Драча, 18.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	<i>C. erysimi</i>
3345	<i>C. erysimi</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Драча, 18.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	<i>C. erysimi</i>
3346	<i>C. erysimi</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Драча, 18.04.2011, N44 01.640 E20 47.590, 284 m	<i>C. erysimi</i>
3347	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3348	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3349	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3350	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3351	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3352	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3353	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3354	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3355	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3356	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3357	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3358	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3359	<i>C. erysimi</i>	ex l., <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Средњево 2.05.2014, N44 39.030 E21 28.355, 162 m.	<i>C. erysimi</i>
3360	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3361	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3362	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3363	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3364	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3365	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>

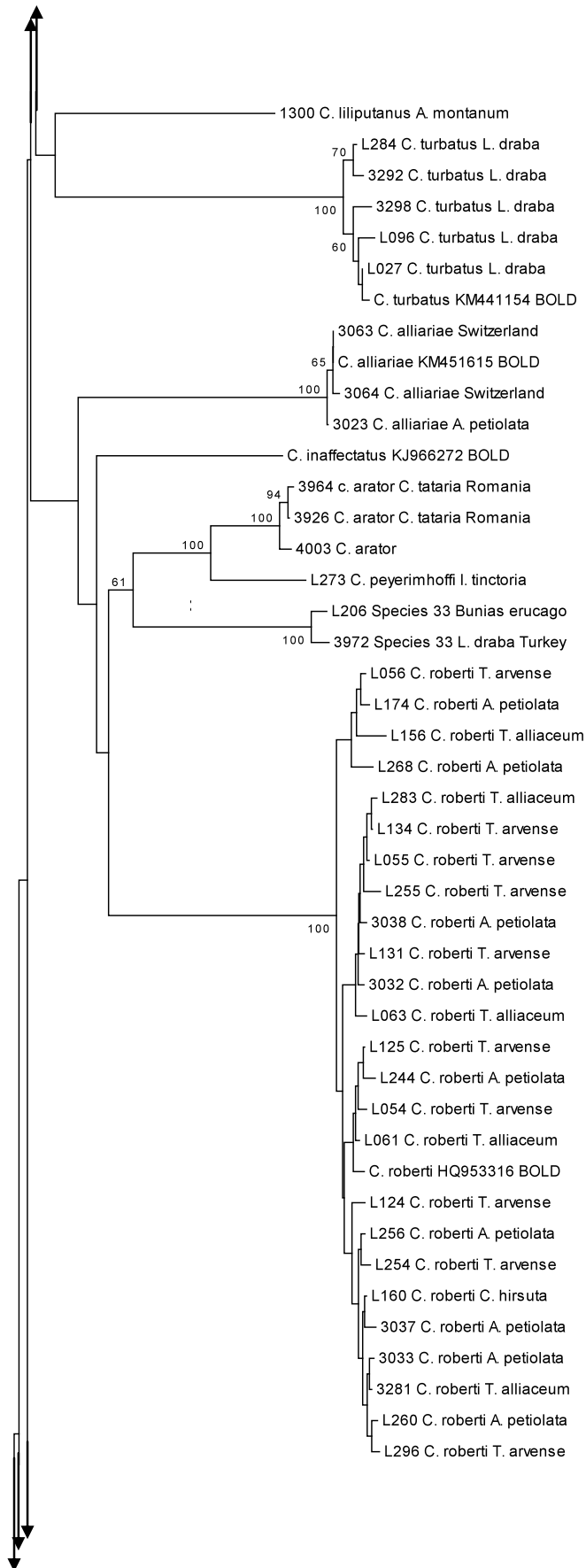
3366	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3367	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3368	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3369	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3370	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3371	<i>C. contractus</i>	на <i>Capsela bursa-pastoris</i>	Србија, Крагујевац, 9.04.2011, N44 01.3241 E20 53.330, 226 m.	<i>C. contractus</i>
3372*	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. erysimi</i>
3373	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04.2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3374	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3375*	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. erysimi</i>
3376	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3377	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3378	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3379	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3380	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3381	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. contractus</i>
3382	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. erysimi</i>
3383*	<i>C. contractus</i>	<i>Capsela bursa pastoris</i>	Србија, пл. Гоч, 12.04. 2011. N 43 37.936 E 020 42.074 342 m	<i>C. erysimi</i>
3384	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3385	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3386	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3387	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3388	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3389	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3390*	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3391	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3392	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3393	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3394*	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. erysimi</i>
3395	<i>C. contractus</i>	на <i>Brassica napus</i>	Србија, Грбице, 18.04.2011. N 44 3.517 E 20 47.322 361 m	<i>C. contractus</i>
3396	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3397	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3398	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>

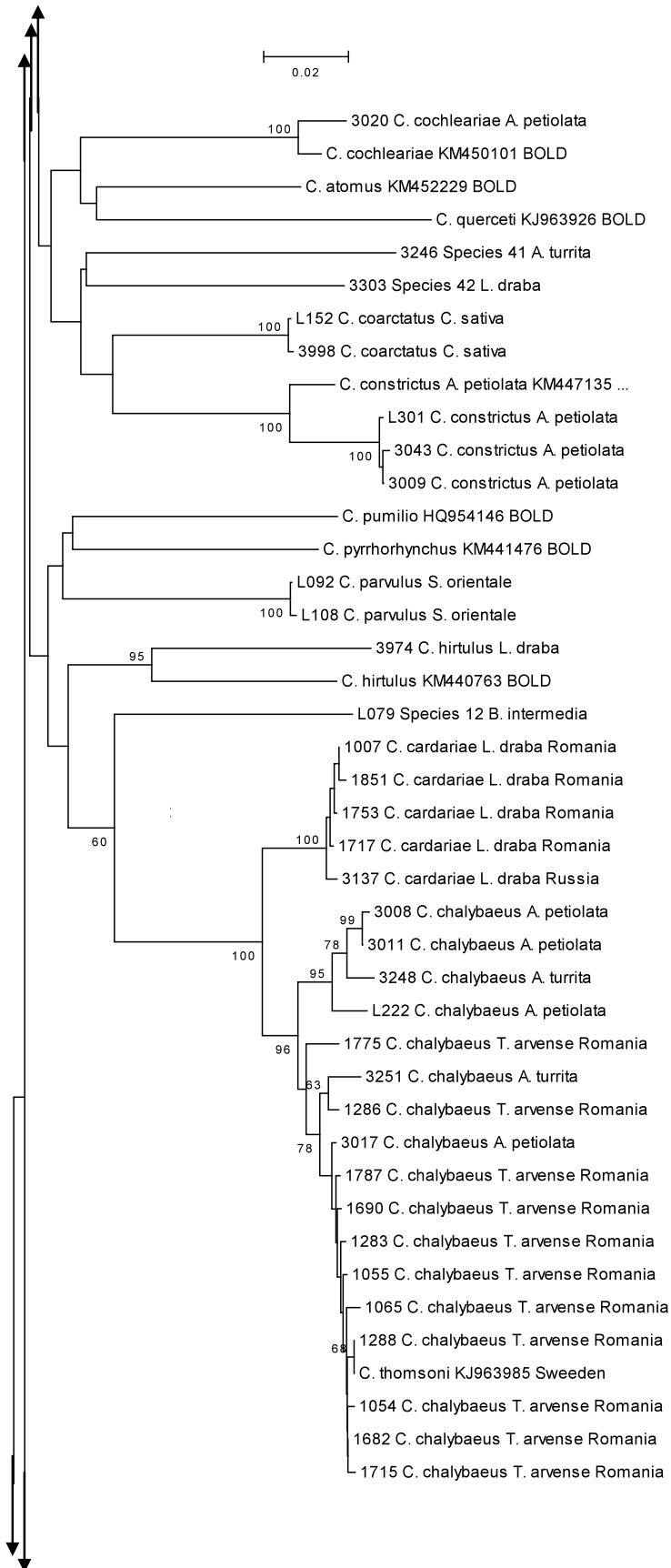
3399	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3400	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3401	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3402	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3403	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3404	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3405	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. contractus</i>
3406*	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. erysimi</i>
3407*	<i>C. contractus</i>	<i>Thlaspi alliaceum</i>	Србија, Дивостин, 18.04.2011. N 44 01.523 E20 49.515, 300m.	<i>C. erysimi</i>

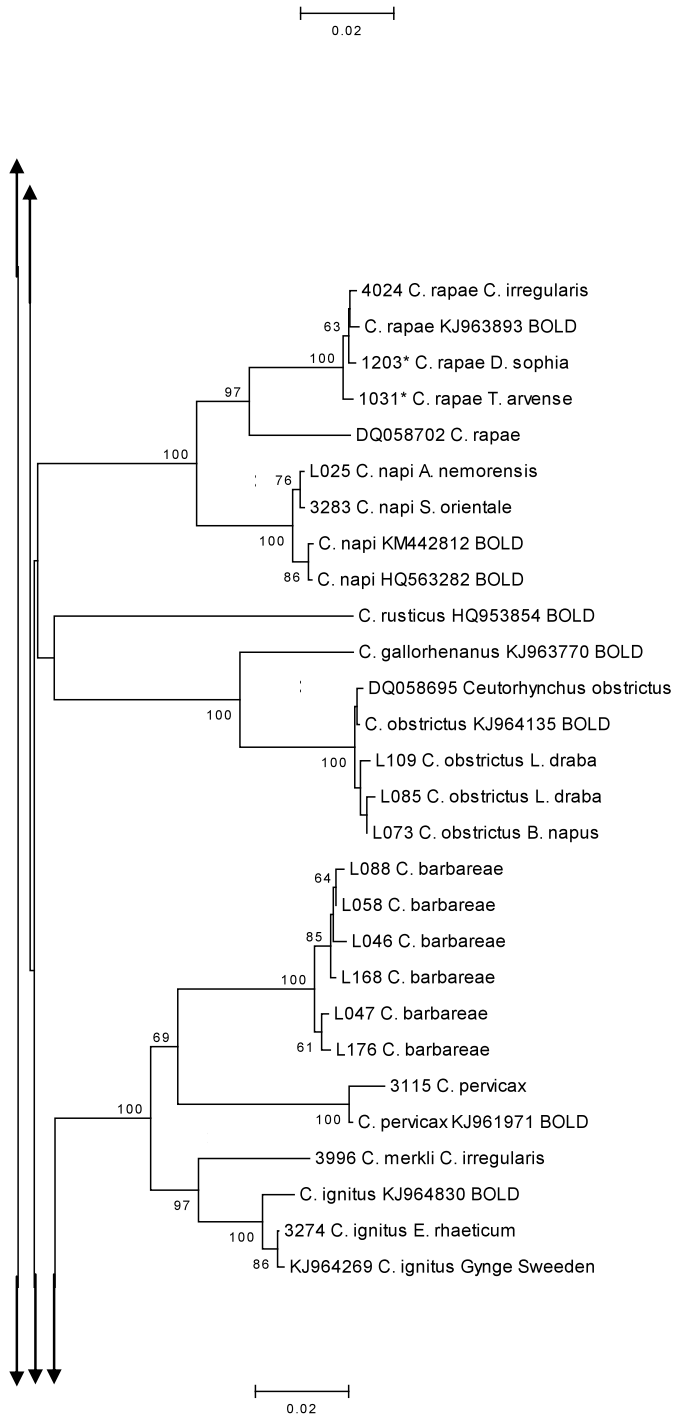
Прилог 6. Neighbor-Joining филогентско стабло *Ceutorhynchus* врста (*p*-distance model). Процент заједничког груписања према *bootstrap* тесту од 500 репликација је приказан поред чворишта грана. Вредности *bootstrap* теста испод 60% нису назначене на стаблу. Анализирано је 616 нуклеотидних позиција од укупно 261 секвенци. Филогентске групе са високом *bootstrap* подршком (>60) су означене звездом.

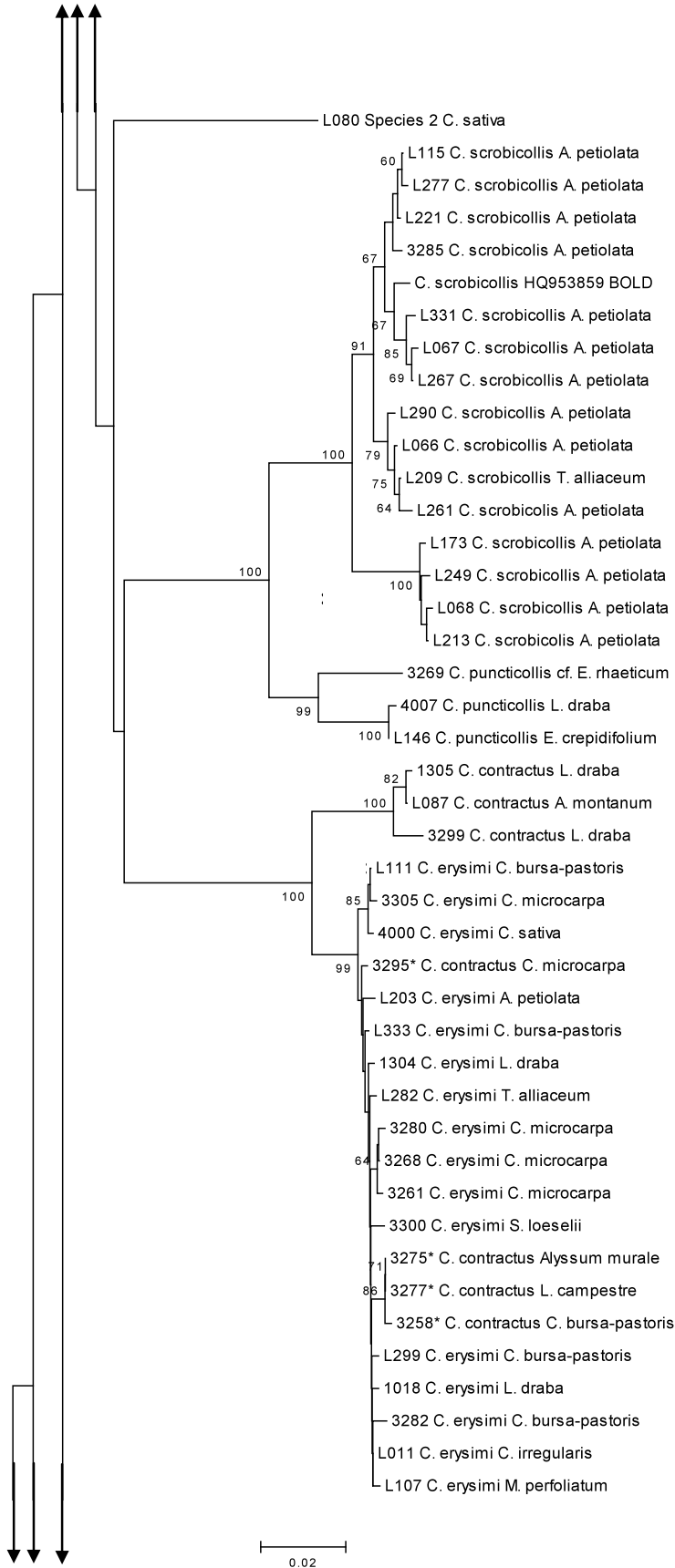


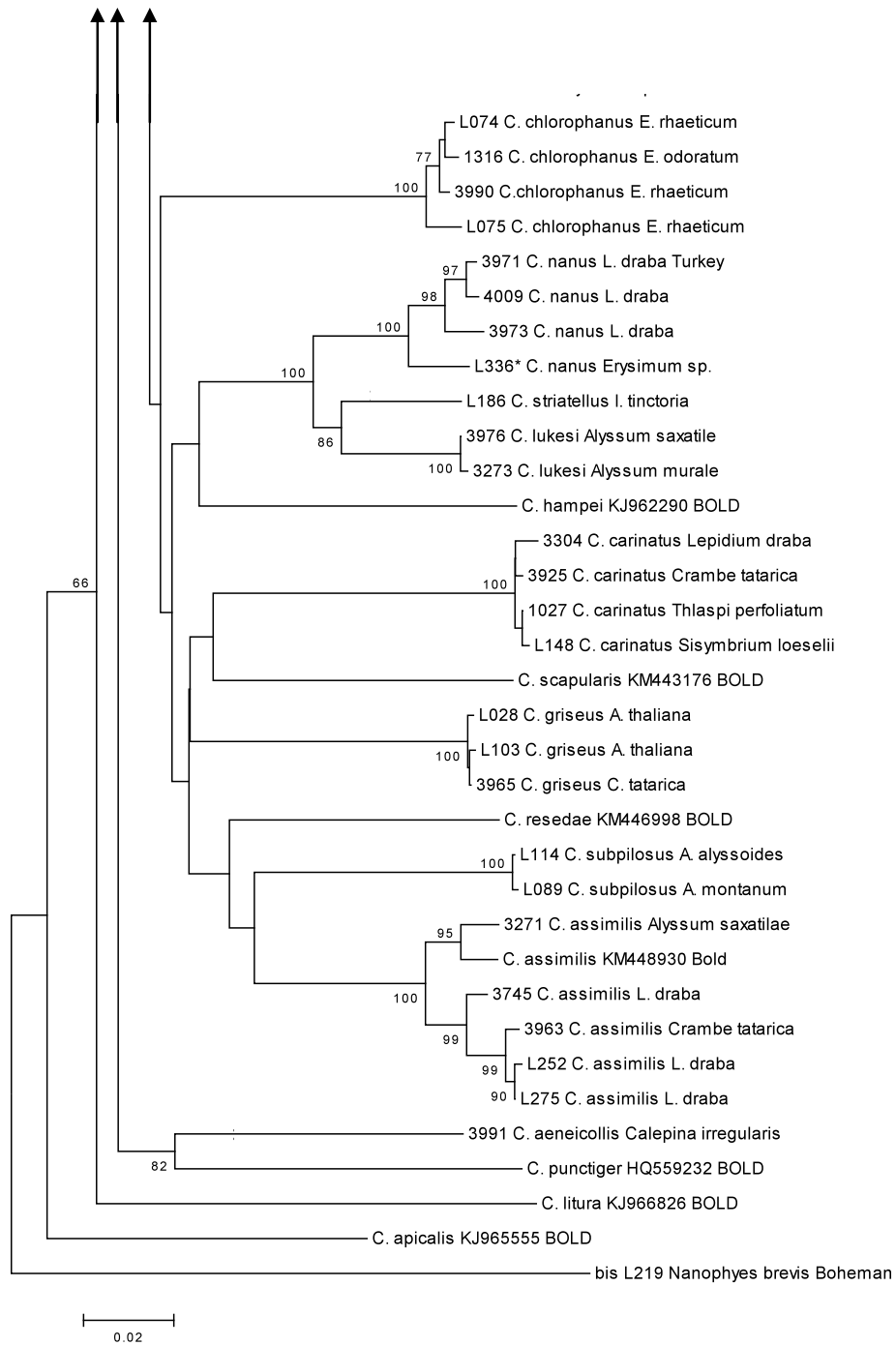












Биографија

Кандидат Светлана Степановић је рођена 20.06.1979. године у Крагујевцу, где је завршила основну и средњу школу. На Природно-математички факултет у Крагујевцу, студијска група Биологија - Екологија, уписала се школске 1998/1999. године, где је и дипломирала са просечном оценом 8.69 и оценом 10 на дипломском раду.

Од новембра 2006. године до 2008. године Светлана Степановић је у Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета у Крагујевцу била ангажована као сарадник у настави за предмете Екологија и географија животиња и Основи екологије.

Од 2008. године до 2015. године била је запослена као асистент за ужу научну област Екологија, биогеографија и заштита животне средине на Природно-математичком факултету у Крагујевцу, изводећи практичну наставу из предмета Екологија и географија животиња, Екологија животиња, Основи екологије, Основи биогеографије и Биогеографија.

Школске 2006/2007. године се уписала на докторске академске студије Биологије.

На основу досадашњих истраживања кандидат Светлана Степановић је објавила следеће радове: **2** рада објављена у међународном часопису са SCI листе: из категорије **M 21a** - **1 рад**; из категорије **M23** - **1 рад**; **1 рад** објављен у часопису националног значаја - **M52**; **1 рад** објављен у часопису националног значаја - **M53**; и **6 саопштења** на међународним и националним конгресима и скуповима: из категорије **M34** - **2 саопштења** са међународних скупова штампана у изводу, **M63** - **3 саопштења** са скупова националног значаја штампана у целини и **M64** - **1 саопштење** и са скупа националног значаја штампана у изводу.

Библиографија

РАДОВИ ОБЈАВЉЕНИ У НАУЧНИМ ЧАСОПИСИМА МЕЂУНАРОДНОГ ЗНАЧАЈА (M20)

Рад објављен у међународном часопису изузетних вредности (M 21a=8)

1. Stepanović S., Kosovac A., Krstić O., Jović J., Toševski I. (2015): Morphology versus DNA barcoding: two sides of the same coin. A case study of *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* identification. *Insect Science*. DOI 10.1111/1744-7917.12212.

Рад објављен у међународном часопису (M 23=3)

2. Milutinović, T., Avramović, S., Pešić, S., Blesić, B., Stojanović, M., Mitrovski, A. (2010): Contribution to the knowledge of pedofauna in Šumadija (Central part of Serbia). *Biotechnology & Biotechnological Equipment* (24) 2010 Special Edition Second Balkan Conference on Biology 21-23 May 2010, Plovdiv, 628-635. 24 (2).

РАДОВИ ОБЈАВЉЕНИ У ЧАСОПИСИМА НАЦИОНАЛНОГ ЗНАЧАЈА (M50)

Рад објављен у часопису научналног значаја (M52=1,5)

1. Pešić, S., Avramović, S. (2010): Preliminary research of Apionidae and Nanophyidae (Coleoptera: Curculionoidae) of the biosphere reserve Golija-Studenica. *Acta entomologica*, 15/2:195-204.

Рад објављен у научном часопису (M53=1)

1. Avramović, S., Pavlović, D., Branković, S. (2007): Structure and dynamics of bush woods vegetation in Šumarice (Central Serbia). *Kragujevac Journal of Science* 29: 121-130.

САОПШТЕЊА НА СКУПОВИМА

I Саопштења са међународног скупа штампан у изводу М 34/0,5

1. Pešić, S., Avramović, S. (2010): Comparison of aquatic weevils fauna (Coleoptera: Curculionoidea) of four artificial lakes in Central Serbia. *Programme and Book of Abstracts, IXth European Congress of Entomology*; Budapest (Hungary); 22-27 August 2010: 74.
2. Pešić, S., Avramović, S. (2010): Comparison of soil weevils' faunas (Coleoptera: Curculionoidea) in Serbia. *Programme and Book of Abstracts, IXth European Congress of Entomology*; Budapest (Hungary); 22-27 August 2010: 248.

II Саопштења са скупова националног значаја штампана у целини М 63/0,5

1. Аврамовић, С., Кнежевић, Д. (2007): Коровска синузија у усеву пшенице и тритикале. *Зборник радова Смотре научних радова студената агрономије, са међународним учешћем*, 5: 129-139. Чачак, 30.08.-01.09.2007.
2. Аврамовић, С., Кнежевић, Д. (2007): Коровска синузија у усеву пшенице. *Мултифункционална пољопривреда и рурални развој. Тематски зборник 2*: 738-747. Београд-Беочин, 05.-07.12.
3. Кнежевић, Д., Зећевић В., Ђукић, Н., Мићановић, Д., Арсић, С., Аврамовић, С., Јелоћник, М. (2008): Variability of grain yield of two rowed spring barley cultivars. International scientific meeting. *State, possibilities and perspectives of rural development on area of huge open-pit minings. Thematic Proceedings*: 462-458. Belgrade-Vrujci Spa, 24.-25.04.

III Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу М 64/0,2

1. Branković, S., Pavlović, D., Topuzović, M., Milojević, J., Avramović, S. (2007): Concentration of metals (Fe, Mn, Cu and Pb) in aquatic macrophytes in the Reservoir Gruža. *Abstracts of 9th Symposium on the flora of Southeastern Serbia and Neighbouring Regions*, Niš, 1007:39.

ОБРАЗАЦ 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а: Светлана Степановић

бр уписа: 30/06

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Еколошка специјализација и генетичка диференцијација врста рода *Ceutorhynchus* (Curculionidae) према биљкама хранитељкама фамилије Brassicaceae

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

У Крагујевцу, 20. 09. 2016.

Потпис аутора



ОБРАЗАЦ 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије доктората

Потписани-а: Светлана Степановић

Број уписа: 30/06

Студијски програм: Докторске академске студије биологије

Наслов рада:

Еколошка специјализација и генетичка диференцијација врста рода *Ceutorhynchus* (Curculionidae) према биљкама хранитељкама фамилије Brassicaceae

Ментор: Др Иво Тошевски

Потписана: Светлана Степановић

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предала за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу**.

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

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

У Крагујевцу, 20.09.2016.

Потпис аутора



ОБРАЗАЦ 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Еколошка специјализација и генетичка диференцијација врста рода *Ceutorhynchus* (Curculionidae) према биљкама хранитељкама фамилије Brassicaceae

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предала сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

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

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

У Крагујевцу, 20. 09. 2016.

Потпис аутора



ОБРАЗАЦ 4.

1. Ауторство - Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. Ауторство – некомерцијално. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. Ауторство - некомерцијално – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. Ауторство – без прераде. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. Ауторство - делити под истим условима. Дозвољавање умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.



КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈА

Редни број	
Тип записа	Текстуални штампани материјал
Врста рада	Докторска дисертација
Аутор	Светлана Степановић
Ментор	др Иво Тошевски
Наслов рада	Еколошка специјализација и генетичка диференцијација врста из рода <i>Ceutorhynchus</i> према биљкама хранитељкама фамилије Brassicaceae
Језик публикације	српски (ћирилица)
Језик извода	српски
Земља публиковања	Србија
Година публикације	2016
Издавач	Ауторски репринт
Место и адреса	Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија
Научна област	Екологија
Научна дисциплина	Екологија 574
Предметна одредница/кључне речи	<i>Ceutorhynchus</i> , Brassicaceae, екологија, филогенија, популациона генетика, баркодинг, <i>COI</i> мтДНК
Чува се	У Универзитетској Библиотеци у Крагујевцу и у Библиотеци Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Р. Домановића 12, 34000 Крагујевац

Централа: 034 336 223 Деканат: 034 335 039 Секретар: 034 300 245

Студентска служба: 034 300 260 Факс: 034 335 040



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ



Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија

Србија

Важна напомена

Извод

Биологија и екологија врста рода *Ceutorhynchus* није довољно позната иако су неке од врста значајне пољопривредне штеточине. У литератури се углавном наводе спискови биљних врста из фамилије Brassicaceae које су регистроване као биљке хранитељке. О филогенетским односима у оквиру рода има такође мало података. Неке врсте из рода *Ceutorhynchus* су познате као значајне штеточине на економски важним врстама Brassicaceae. Са друге стране, неке врсте су значајне као потенцијално корисни инсекти за биолошко сузбијање инвазивних врста фамилије Brassicaceae.

У складу са наведеним чињеницама, дисертација има научне циљеве да сагледа интеракције сурлаша из рода *Ceutorhynchus* са биљкама хранитељкама из фамилије Brassicaceae, да утврди значај еколошке специјализације као извора генетичке структурираности унутар и између популација сурлаша, да утврди генетичке варијабилности, дивергенције и таксономски статус врста рода *Ceutorhynchus* у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae на основу популационо-генетичке карактеризације *COI* гена митохондријалне DNA, као и да реконструише филогенетске односе са проценом временског оквира дивергенције између врста рода *Ceutorhynchus* које се развијају на/у биљкама из фамилије Brassicaceae.

Централа: 034 336 223 Деканат: 034 335 039 Секретар: 034 300 245

Студентска служба: 034 300 260 Факс: 034 335 040

www.pmf.kg.ac.rs

e-mail: pmfkrag@kg.ac.rs



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ



Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија

У оквиру спроведених истраживања од 2010. до 2015. године, обрађене су врсте из рода *Ceutorhynchus* које су у асоцијацији са биљкама из фамилије Brassicaceae. Већим делом, материјал је сакупљан на локалитетима у Србији и Црној Гори. За потребе поређења популација на ширем биогеографском подручју сакупљен је додатни материјал са територије источне Румуније, Француске, Швајцарске, Аустрије, Шведске и Русије. За потребе таксономске верификације и поређења врста из рода *Ceutorhynchus* коришћена је база података баркодинг секвенци. За молекуларне анализе и оцену дивергенције на интер- и интраспецијском нивоу коришћен је молекуларни маркер, ген који кодира цитохром оксидазу субјединица 1 митохондријалне DNA (*COI* mt DNA).

Истраживања су реализована на укупно 79 локалитета у Србији и два у Црној Гори. Током четворогодишњих истраживања сакупљен је материјал од преко 6500 сурлаша из рода *Ceutorhynchus* са укупно 55 биљних врста из фамилије Brassicaceae. На основу спроведених истраживања регистрована је укупно 41 врста из рода *Ceutorhynchus*. Врсте рода *Ceutorhynchus* су углавном полифагне у односу на биљке домаћине из фамилије. Ово је нарочито присутно код адулта који за допунску исхрану могу користити већи број алтернативних биљака из различитих родова ове фамилије. Врсте рода *Ceutorhynchus* имају знатно ужи еколошки круг домаћина које користе за развиће ларви, тако да се могу сматрати олигофагним у односу на биљке из фамилије Brassicaceae. Због олигофажности на нивоу фамилије Brassicaceae, њихову погодност као биолошких агената за контролу инвазивних биљних врста ове фамилије треба ригорозно проверити.

Централа: 034 336 223 Деканат: 034 335 039 Секретар: 034 300 245

Студентска служба: 034 300 260 Факс: 034 335 040

www.pmf.kg.ac.rs e-mail: pmfkrag@kg.ac.rs



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ

Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија



На основу филогенетске анализе врста *Ceutorhynchus* базиране на митохондријалном баркодинг маркеру *COI* гена, уочава се 10 филогентски блиских група врста са високом *bootstrap* подршком. Интерспецијска дивергенција код регистрованих врста је била висока (3.8-19.7%) са преко 290 варијабилних позиција (47.1%), на 616 анализираних базних парова. Популационо-генетичке анализе врста *Ceutorhynchus scrobicollis*, *C. assimilis*, *C. constrictus*, *C. pallidactylus*, *C. puncticollis*, *C. roberti*, *C. sulcicollis* и *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* комплекса, базиране на статистичкој парсимонији и Median-joining network анализи, показале су постојање високе интраспецијске дивергенције до 4.5% на митохондријалном баркодинг маркеру *COI* гена, комплексну генеологију са формирањем добро издиференцираних хаплотипских група, са могућим импликацијама на њихове биоэколошке преференце и перформанце и могуће криптичне диференцијације. Популационо-генетичке анализе врста *Ceutorhynchus erysimi* и *C. contractus* показале су постојање асиметричне интрогресије код морфолошки добро издиференцираних врста, са импликацијама за таксономску позицију ове две врсте. Дубока митохондријална дивергенција на интраспецијском нивоу врста, заједно са регистрованом интрогресијом код морфолошки добро издиференцираних врста указују на неопходност ревизије статуса врста рода *Ceutorhynchus* уз помоћ молекуларних метода и интегративне таксономије.

Централа: 034 336 223 Деканат: 034 335 039 Секретар: 034 300 245

Студентска служба: 034 300 260 Факс: 034 335 040

www.pmf.kg.ac.rs e-mail: pmfkrag@kg.ac.rs



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
ИНСТИТУТ ЗА БИОЛОГИЈУ И ЕКОЛОГИЈУ



Радоја Домановића 12, 34000 Крагујевац, Србија

Датум прихватања теме од стране ННВ	
Дату одбране	
Чланови комисије	<ol style="list-style-type: none">1. Др Жељко Томановић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, ужа научна област: Морфологија, систематика и филогенија животиња2. Др Александар Отојић, ванредни професор на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Екологија, Биогеографија и заштита животне средине3. Др Ана Митровски-Богдановић, доцент на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Зоологија.

Централа: 034 336 223 Деканат: 034 335 039 Секретар: 034 300 245

Студентска служба: 034 300 260 Факс: 034 335 040

www.pmf.kg.ac.sr e-mail: pmfkrag@kg.ac.sr



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT FOR BIOLOGY AND ECOLOGY



Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac

KEY WORDS DOKUMENTATION

Accession number	
Type of record	Textual material, printed
Contents code	PhD Thesis
Author	Svetlana Stepanović
Mentor	dr Ivo Toševski
Title	Ecological specialization and genetic differentiation in species of the genus <i>Ceutorynchus</i> associated with host plants in the family Brassicaceae
Language of text	Serbian
Language of abstract	Serbian/English
Country of publication	Serbia
Publication year	2016.
Publisher	Copyright reprint
Publisher place	34000 Kragujevac, Serbia, Radoja Domanovića 12
Scientific field	Ecology
Scientific discipline	Ecology 574
Key words	<i>Ceutorhynchus</i> , Brassicaceae, ecology, phylogeny, barcoding, population genetics, <i>COI mtDNA</i>
Holding data	Library of University of Kragujevac, Library of Faculty of Science, Kragujevac 34000 Kragujevac, Serbia, R. Domanovića 12

Phone: +381 34 336 223 Dean's office +381 34 335 039 Secretary Office +381 34 300 245

Administrative student office +381 34 300 260 Fax +381 34 335 040

www.pmf.kg.ac.rs e-mail: pmfkrag@kg.ac.rs



Note

Abstract

Biology and ecology of the species of the genus *Ceutorhynchus* are not known enough even though some of the species are important agricultural pests. The literature generally mentions lists of plant species of the family Brassicaceae which are registered as host plants. Furthermore, few data are available in the literature on the phylogenetic relationships within the genus. Some species of the genus *Ceutorhynchus* are known as important pests of economically important species Brassicaceae. On the other hand, some species are important as potentially useful insects for biological control of invasive species of the family Brassicaceae.

In accordance with the above mentioned facts, the dissertation has the scientific objectives to look at the interaction of the weevils from genus *Ceutorhynchus* with the host plants of the family Brassicaceae, to determine the significance of the ecological specialization as the origin of the genetic structuring within and among populations of the weevil, to determine the genetic variability, divergence and taxonomic status of the species of the genus *Ceutorhynchus* spp. in association with plants of the family Brassicaceae on the basis of the population-genetic characterization of mitochondrial DNA *COI* gene, as well as to reconstruct the phylogenetic relationships with the assessment of the time frame of the divergence between species of the genus *Ceutorhynchus* that develop on/in plants of the family Brassicaceae.

Phone: +381 34 336 223 Dean's office +381 34 335 039 Secretary Office +381 34 300 245

Administrative student office +381 34 300 260 Fax +381 34 335 040



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT FOR BIOLOGY AND ECOLOGY



Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac

Within the research carried out from 2010 to 2015, the species of the genus *Ceutorhynchus* that are in association with plants in the family Brassicaceae were processed. For the most part, the material was collected at the sites in Serbia and Montenegro. For the purpose of comparing populations in a wider bio-geographical area, additional material was collected from the territory of eastern Romania, France, Switzerland, Austria, Sweden and Russia. For the purpose of the taxonomic verification and comparison of species of the genus *Ceutorhynchus* the BOLD Barcode of Life Data System was used. For molecular analysis and evaluation of the divergence on inter- and intraspecific level a molecular marker was used, a gene that encodes the cytochrome oxidase subunit of 1 mitochondrial DNA (mtDNA *COI*).

Surveys were carried out on a total of 79 locations in Serbia and two in Montenegro. During the four-year research material was collected from over 6500 of the weevil genus *Ceutorhynchus* with a total of 55 plant species from the family Brassicaceae. Based on the conducted research a total of 41 species of the genus *Ceutorhynchus* was registered. Species of the genus *Ceutorhynchus* are generally polyphagous in relation to the host plants of the family. This is especially present in adults in which a number of alternative plants from different genera of this family can be used as dietary supplements. Species of the genus *Ceutorhynchus* have a significantly narrower ecological host range used for larval development, so they can be considered oligophagous in comparison with plants of the family Brassicaceae. Due to oligophagy at the level of the Brassicaceae family, their suitability as biological control agents for invasive plant species of this family should be rigorously checked.

Phone: +381 34 336 223 Dean's office +381 34 335 039 Secretary Office +381 34 300 245

Administrative student office +381 34 300 260 Fax +381 34 335 040

www.pmf.kg.ac.rs

e-mail: pmfkrag@kg.ac.rs



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT FOR BIOLOGY AND ECOLOGY



Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac

Based on the phylogenetic analysis of the species *Ceutorhynchus* based on mitochondrial *COI* barcoding marker gene, there are 10 phylogenetically close groups of species with high *bootstrap* support. Interspecific divergence in the registered species was as high as (3.8-19.7%) with over 290 variable positions (47.1%), in 616 analyzed base pairs. Population-genetic analysis of the species *Ceutorhynchus scrobicollis*, *C. assimilis*, *C. constrictus*, *C. pallidactylus*, *C. puncticollis*, *C. roberti*, *C. sulcicollis* and *Ceutorhynchus typhae-floralis-cakilis* complex, based on a statistical parsimony and Median-joining network analysis, revealed the existence of high intraspecific divergence to 4.5% in the mitochondrial *COI* barcoding marker gene, a complex genealogy with the formation of well differentiated haplotype groups, with possible implications for their bioecological preferences and performances, and a possible cryptic differentiation. Population genetic analysis of the species *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* showed the existence of asymmetric introgression in morphologically well differentiated species, with implications for the taxonomic position of these two species. Deep mitochondrial divergence at the interspecies level, together with the registered introgression at morphologically well differentiated species, indicates the necessity of revising the status of the species of the genus *Ceutorhynchus* with the help of molecular methods and integrative taxonomy.

Phone: +381 34 336 223 Dean's office +381 34 335 039 Secretary Office +381 34 300 245

Administrative student office +381 34 300 260 Fax +381 34 335 040

www.pmf.kg.ac.rs

e-mail: pmfkrag@kg.ac.rs



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT FOR BIOLOGY AND ECOLOGY



Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac

Accepted by Scientific Board on	
Defended on	
Commission	<ol style="list-style-type: none">1. Dr Zeljko Tomanovic, Professor at the Faculty of Biological Sciences University of Belgrade, scientific field: Morphology, systematics and phylogeny of animals2. Dr Aleksandar Ostojic, Associate professor at the Faculty of Science in Kragujevac, scientific field: Ecology, Biogeography and Environmental Protection3. Dr Ana Mitrovski – Bogdanovic, docent at the Faculty of Science in Kragujevac, scientific field: Zoology.

Phone: +381 34 336 223 Dean's office +381 34 335 039 Secretary Office +381 34 300 245

Administrative student office +381 34 300 260 Fax +381 34 335 040

www.pmf.kg.ac.rs

e-mail: pmfkrag@kg.ac.rs

Претходно објављен научни рад приложен је уз докторску дисертацију по одобрењу издавача.

Previously published paper reproduced with permission from the publisher.

ORIGINAL ARTICLE

Morphology versus DNA barcoding: two sides of the same coin. A case study of *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* identification

Svetlana Stepanović¹, Andrea Kosovac², Oliver Krstić², Jelena Jović² and Ivo Toševski^{2,3}

¹Faculty of Science, Institute of Biology and Ecology, University of Kragujevac, 34000 Kragujevac, Serbia; ²Department of Plant Pests, Institute for Plant Protection and Environment, Banatska 33, 11080 Zemun, Serbia; and ³CABI, 1 Rue des Grillons, 2800 Delémont, Switzerland

Abstract Genotyping of 2 well-known weevil species from the genus *Ceutorhynchus* (Coleoptera: Curculionidae) distributed in west Palearctic, *C. erysimi* and *C. contractus*, revealed phenotype versus genotype inconsistencies in a set of 56 specimens (25 *C. erysimi* and 31 *C. contractus*) collected from 25 locations in Serbia and Montenegro. An analysis of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene (*COI*), widely used as a barcoding region, and a nuclear gene, elongation factor-1 α (*EF-1 α*), revealed stable genetic divergence among these species. The average uncorrected pairwise distances for the *COI* and *EF-1 α* genes were 3.8%, and 1.3%, respectively, indicating 2 genetically well-segregated species. However, the genetic data were not congruent with the phenotypic characteristics of the studied specimens. In the first place, *C. erysimi* genotypes were attached to specimens with phenotypic characteristics of *C. contractus*. Species-specific PCR-RFLP assays for the barcoding gene *COI* were applied for the molecular identification of 101 additional specimens of both morphospecies (33 *C. erysimi* and 68 *C. contractus*) and were found to confirm this incongruity. The discrepancy between the genetic and morphological data raises the question of the accuracy of using a barcoding approach, as it may result in misleading conclusions about the taxonomic position of the studied organism. Additionally, the typological species concept shows considerable weakness when genetic data are not supported with phenotypic characteristics as in case of asymmetric introgression, which may cause certain problems, especially in applied studies such as biological control programs in which the biological properties of the studied organisms are the main focus.

Key words *Ceutorhynchus contractus*; *Ceutorhynchus erysimi*; DNA barcoding; molecular identification; morphology; PCR-RFLP

Introduction

Biodiversity protection, preservation and inventorization are leading concepts in modern biology; however, species identification and precise recognition still remain the key

Correspondence: Ivo Toševski, Department of Plant Pests, Institute for Plant Protection and Environment, Banatska 33, 11080 Zemun, Serbia. Tel/fax: +381 11 2611762; email: tosevski_ivo@yahoo.com

problems in basic and applied studies. The rapid development of molecular techniques during the 1990s, accompanied by the DNA barcoding initiative launched by Hebert *et al.* (2003), lent insight into the potential of molecular methods to provide better taxonomic resolution in species recognition efforts (Hebert *et al.*, 2004), especially as the decline of traditional taxonomic knowledge has become more than obvious (Taylor & Harris, 2012). However, it is indisputable that during the last 250 years, traditional taxonomy accumulated knowledge that has been

incorporated into every aspect of current research into the Earth's biodiversity. Without doubt the barcoding initiative became an extraordinary useful tool for fast species identification and inventorying organisms (Miller, 2007), but the epistemological value of this method has been questioned by many authors (DeSalle *et al.*, 2005; Brower, 2006; Meier *et al.*, 2006; Song *et al.*, 2008). In general, from a taxonomical point of view, the criticism of the barcoding approach was rightly directed (Goldstein & DeSalle, 2011). In addition, barcoding practitioners have made no efforts to stabilize any nomenclature issues in inventoried taxa, despite the fact that the current taxonomy is based exclusively on the typological species concept, following the International Codes of Nomenclature (Zoological, Botanical, Bacteria, etc.). The typological species concept is of essential importance for linking traditional taxonomy with novel approaches, such as DNA barcoding. The primary determination of any organism at the species level is always based on traditional taxonomic methods; if this link breaks, than fixation of inadequate DNA barcoding sequences for particular organisms in public databases offers no benefit, only an unnecessary mess (Peterson *et al.*, 2007). Therefore, traditional taxonomy and DNA barcoding should not be treated as antagonistic methods, but rather as complementary approaches for resolving the phylogeny, taxonomy and nomenclature of living organisms (Packer *et al.*, 2009; Taylor & Harris, 2012).

The weevil genus *Ceutorhynchus* Germar, 1824 (Coleoptera: Curculionidae) is composed of approximately 380 species, widespread all over the Holarctic region (Colonnelli, 2004). Only several species are known to occur outside of this area, in Central and South Africa (Colonnelli, 2006; Korotyaev, 2008). Nearly all known species of *Ceutorhynchus* utilize members of the family Brassicaceae and the closely related Resedaceae as host plants. Some of the species are known as serious pests on economically important cruciferous crops (Doddall *et al.*, 2011; Vaitelytė *et al.*, 2013). On the other hand, several *Ceutorhynchus* species are treated as beneficial organisms and have been considered in various biological control programs as potential agents for the control of invasive weeds from the family Brassicaceae (Fumanal *et al.*, 2004; Hinz *et al.*, 2008; Gerber *et al.*, 2009; Gerber *et al.*, 2012; Hinz & Diaconu, 2015).

In general, the biology of the *Ceutorhynchus* weevils is poorly understood, with biological data mostly presented as lists of cruciferous plants that have been noted as potential hosts. The phylogenetic relationships within the genus *Ceutorhynchus* are also poorly studied, without hardly any comprehensive work elaborating this topic in the literature, with the exception of a few contributions (Laffin

et al., 2005; Hinz *et al.*, 2008; Rauth *et al.*, 2011). This is most likely a reflection of the obvious fact that taxonomic issues related to many *Ceutorhynchus* species are still unresolved, given that in many species groups only a few characters can delimit closely related species within this very species-rich genus. Taxonomical and nomenclatural issues thus represent the main constraints in studying this important weevil group. Korotyaev (2008) noted that the comprehensive classification of the genus *Ceutorhynchus* is a problematic task and proposed, as a more efficient approach, to gradually distinguish subgenera for the most clearly defined groups of species. Because both the biology and genetics/phylogeny of *Ceutorhynchus* are understudied, work on the molecular identification of the different species is necessary to clarify their taxonomic positions and relationships. This is especially relevant for applied studies where precise species identification is a precondition for any laboratory testing.

Our study on the molecular identification of *Ceutorhynchus* species (primarily using barcoding) was initiated by the need for more precise determination of their field host associations and level of polyphagy in the context of studying their potential use as biocontrol agents. The concept of the study was to match adult specimens (identified morphologically and molecularly) that was found to be feeding on different plants with larvae (identified molecularly) developing within the suspected plants, host and niche. This approach should have provided a direct link between morphological and molecular identification, host association and behavior related to the niche for oviposition and larval development. The data presented in this paper are related to the evaluation of the taxonomic status of these 2 well-known polyphagous *Ceutorhynchus* weevil species *C. erysimi* (Fabricius, 1787) and *C. contractus* (Marsham, 1802) using both classical and molecular techniques. Both species are easily recognizable morphologically and are ascribed in the literature as polyphagous and very common (Hoffmann, 1954; Dieckmann, 1972). *Ceutorhynchus erysimi* is mainly associated with *Capsella bursa-pastoris* for larval development and is less frequently found on other crucifers (Colonnelli, 2004), whereas *C. contractus* is proposed to utilize a broad plant host range, including different Brassicaceae, Resedaceae, and Capparaceae (Hoffmann, 1954; Colonnelli, 2004). Both species possess very broad and overlapping distributions in the west Palearctic region, with the northernmost distribution in the subarctic zone and a southeastern distribution expanding to the Middle East and northern Africa. Because of their wide distribution and abundance in the western Palearctic, both species are likely to be the most common species in private and public weevil collections.

Materials and methods

Insect sampling

This study included weevils collected in the territory of Serbia and one location in Montenegro. The weevils were collected using 2 methods: (a) entomological net sweeping and (b) collecting mature L3 larvae from their host plant and subsequently rearing them to the adult stage. For sweeping, we targeted particular plant species of interest, avoiding mixed plant populations with 2 or more cruciferous plants. The collected weevils were stored just after collection in 96% ethanol at 5–7 °C until DNA extraction. The larvae were collected from various cruciferous plants, but mainly from the root-crown for larvae of *C. erysimi*, and from basal parts of the stem leaf petioles for *C. contractus*. Collected L3 larvae were released into plastic containers (6 × 5 cm) filled with 2-cm of sifted loamy soil and closed with gauze leads. The containers were sprayed daily with water to provide humidity to the soil. After emergence, adults were fed with leaves of various crucifers for the next 5 d until they were fully sclerotized and then stored in 96% ethanol until DNA extraction. After DNA extraction, weevils were prepared as dry voucher specimens for taxonomic studies. Several surveys were performed to collect insect material between April and June of 2010–2014 (Fig. 1, Table S1).

Morphological analysis

Following the descriptions in Hoffmann (1954) and Dieckmann (1972), we used 2 phenotypic characters to clearly differentiate *C. erysimi* from *C. contractus*: the body length (rostrum excluded) and the structure and color of elytra.

Polymerase chain reaction amplification and sequencing

Individual weevils were punctured between the 2nd and 3rd thoracic sternites, and total DNA was extracted from the whole specimen using the QIAGEN Dneasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen, Hilden, Germany) according to the manufacturer's instructions. The barcoding region of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene (*mtCOI*) was amplified using the primers LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') and HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGCTGACC AAAAATCA-3') (Folmer *et al.*, 1994). Amplification of the nuclear gene elongation factor-1 α (*EF-1 α*) was performed with the primers EF1-Bf (5'-AGAACGTGAA CGTGGTATCA-3') and EF-Br (5'-CTTGGAGTCA CCAGCTACATAACC-3') (Hernández-Vera *et al.*, 2013).

Polymerase chain reactions (PCR) for both amplifications were performed in a 20- μ L final volume containing Kapa Biosystems High Yield Reaction Buffer A with 1.5 mmol/L MgCl₂ (1 \times), an additional 2.25 mmol/L of MgCl₂, 0.6 mmol/L of each dNTP, 0.5 μ M of each primer, 1 U of KAPATaq DNA polymerase (Kapa Biosystems, Inc., Woburn, MA, USA) and 1 μ L of DNA extract. PCR cycles were carried out in a Mastercycler ep gradient S (Eppendorf, Hamburg, Germany) applying the following thermal steps for amplification of the *COI* barcoding region: 95 °C for 5 min (initial denaturation), 35 cycles at 94 °C for 1 min, 54 °C for 1 min (annealing), 72 °C for 1.5 min and a final extension at 72 °C for 7 min. The thermal protocol for amplification of the *EF-1 α* gene was similar, with the exception of an annealing temperature of 50 °C and the use of 40 cycles.

The amplified products of the *mtCOI* gene were sequenced with the forward primer only, whereas products of the nuclear *EF-1 α* gene were sequenced in both directions. The sequencing was performed on an ABI Prism 3700 automated sequencer using the commercial services of Macrogen Inc. (Seoul, South Korea). Sequences were deposited in the GenBank database under accession numbers KP215391–402 for *COI* of the *C. contractus* phenotype (haplotypes con1–6 and ery1, ery6, ery9–10, ery13, ery16), KP215403–13 for *COI* of the *C. erysimi* phenotype (haplotypes ery1–5, ery7–8, ery11–12, ery14–15), KP215414–27 for *EF-1 α* of the *C. contractus* phenotype (haplotypes EF-c1–13 and EF-e4) and KP215428–34 for *EF-1 α* of the *C. erysimi* phenotype (haplotypes EF-e1–3, EF-e5–8).

Phylogenetic analysis of the barcoding mtCOI gene and the nuclear EF-1 α gene

Relationships resulting from intrinsic population-level processes (e.g., persistence of ancestral haplotypes, multifurcations, or recombination) are better visualized in reticulated graphs or networks (Posada & Crandall, 2001) than on evolutionary gene trees, although both may be informative at intraspecific levels in closely related species. Thus, gene genealogies for *mtCOI* and *EF-1 α* were inferred using 2 approaches for haplotype network construction. Median-joining networks (Bandelt *et al.*, 1999) were calculated with the program NETWORK version 4.6.1.2 (<http://www.fluxus-engineering.com>), keeping the parameter $\epsilon = 0$ and the postprocessing option for maximum parsimony (MP) calculation. This method starts with minimum spanning trees combined within a single network, and then median vectors (consensus sequences) are added to reduce tree length. Such vectors can be interpreted as possibly extant unsampled sequences or extinct

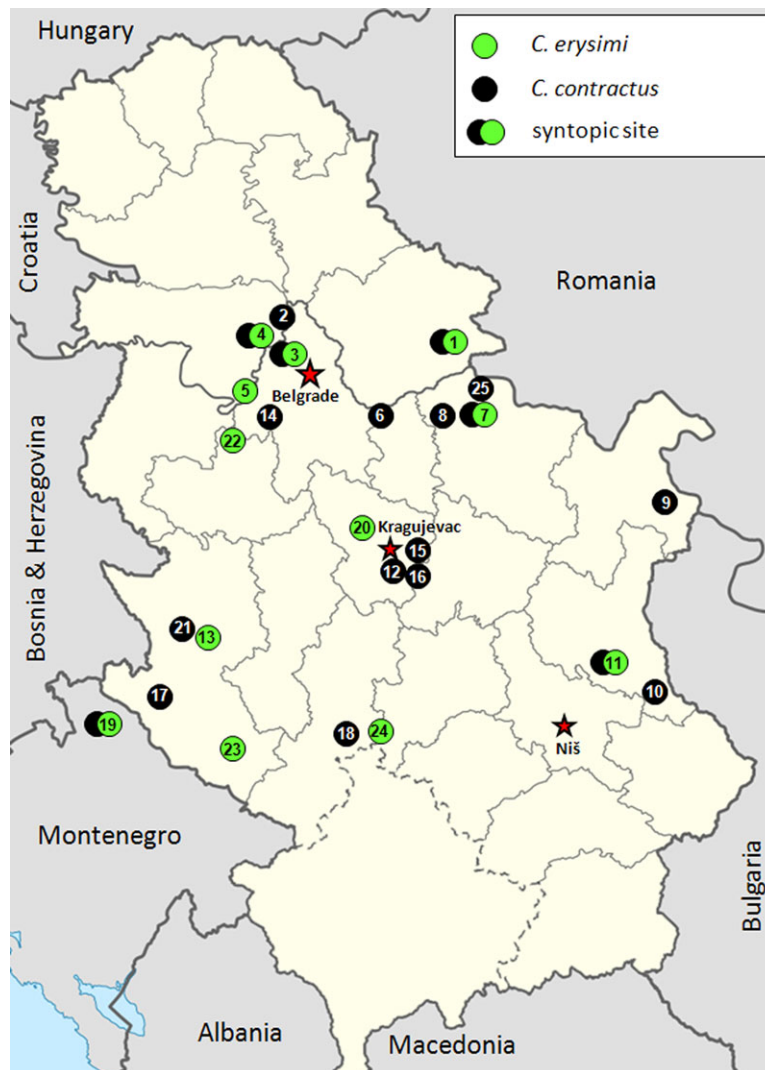


Fig. 1 Locations at which populations of *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* were sampled in this study. Collection site details (GPS, host plant, date of collection) are given in Table S1.

ancestral sequences (Bandelt *et al.*, 1999). In addition, gene genealogies of the mt*COI* and *EF-1 α* genes were also inferred using TCS, version 1.21 (Clement *et al.*, 2000), to infer haplotype networks using statistical parsimony (Templeton *et al.*, 1992) with a confidence limit of 95%.

Virtual restriction analysis and gel plotting of the barcoding region of the mtCOI gene

The obtained sequences of the *COI* barcoding region were edited using FinchTV v.1.4.0 (<http://www.geospiza.com>) and aligned using the ClustalW program integrated into the MEGA5 software (Tamura *et al.*,

2011). *In silico* restriction analysis was performed for all registered *COI* haplotypes to identify suitable restriction enzymes that could be used for identification of *C. erysimi* and *C. contractus*. Sequences of all haplotypes of both species were aligned, and the presence of species-specific SNPs (single nucleotide polymorphisms) in the recognition sites for restriction endonucleases was determined using the pDRAW32 software (AcaClone Software, <http://www.acaclone.com>). The *SspI* endonuclease was selected based on its recognition sequence, which occurred twice within the sequences of the *C. erysimi* *COI* haplotypes and once within the *C. contractus* *COI* haplotypes, tentatively generating 3-fragment and 2-fragment profiles, respectively. Virtual

SspI restriction patterns were separated on a 1.5% agarose gel generated in the pDRAW32 program and compared with the actual enzymatic RFLP (restriction fragment length polymorphism) patterns of amplicons obtained from specimens representing each *COI* haplotype.

Species-specific PCR-RFLP analysis of the barcoding region of the mtCOI gene

For the species-specific RFLP identification of *C. erysimi* and *C. contractus* via the barcoding region of the *mtCOI* gene, an additional set of 101 specimens, 33 *C. erysimi*, and 68 *C. contractus*, were collected from 5 and 7 locations, respectively (Table S2). Some of the specimens for this analysis were collected as L3 larva instars and then reared to adults under laboratory condition, whereas others were collected from particular plant populations by the sweeping net method. Taken together, the material for the morphological and genetic study was collected from 25 localities, of which 6 sites were syntopic for the collection of both species (Fig. 1).

The *COI* amplicons amplified with the LCO1490/HCO2198 primer pair were 709 bp in length and were subjected to restriction digestion with the *SspI* endonuclease (Fermentas, Vilnius, Lithuania) to obtain species-specific patterns typical for the *C. erysimi* and *C. contractus* genotypes. All restriction analyses were performed according to the manufacturer's instructions. The restriction products were separated via the automated capillary electrophoresis QIAxcel Advanced System (Qiagen) using the Screening Gel Cartridge (Qiagen) with the following parameters: sample injection voltage 5 kV, sample injection time 8 sec, separation voltage 6 kV and separation time 320 sec. The QX alignment marker 15 bp/5 kb (Qiagen) was used for alignment of the obtained restriction fragments, and the QX DNA size marker FX174/HaeIII (Qiagen) was used for fragment size comparison.

Results

Morphological study

The primary differences that clearly define the phenotypes of *C. contractus* and *C. erysimi* are the ground color of the vestiture from the dorsal side and the body size of the adult weevils. All examined *C. erysimi* specimens fit the description of Hoffmann (1954) and Deickmann (1972); from a dorsal perspective, the elytra were always shining metallic blue or metallic green to different extents, and the average body length

(rostrum excluded) was 2.3 ± 0.2 mm (range 1.8–2.7, $n = 58$). Pronotum dorsally black with more or less bronze shine, densely punctured, $\approx 0.6\times$ as long as wide, with median furrow more or less expressed. Elytra with intervals 2–2.4 times as wide as striae; striae slightly convex with more or less expressed transverse wrinkles; preapical tubercles on intervals 5–8, pronounced, shining black. Aedeagus rectangular, truncate apically. In all *C. contractus* specimens, the elytra shined black dorsally, with some specimens showing very discrete dark black/bluish reflections. Pronotum dorsally black sometimes with discrete bronze shine, densely punctured, $\approx 0.9\times$ as long as wide, without median furrow. Elytra with intervals nearly twice times as wide as striae; striae slightly convex with less expressed transverse wrinkles; preapical tubercles on intervals 5–8, less pronounced, shining black. Aedeagus rectangular, truncate, sometimes slightly depressed along the apical margin. The average body length for *C. contractus* was 1.7 ± 0.2 (range 1.2–2.0, $n = 99$). Body length was significantly different between *C. erysimi* and *C. contractus* (ANOVA, $F_{1,56} = 20.6$, $P < 0.01$). Thus, following traditional taxonomical methods we considered 2 possible phenotypes of the specimens in our study: the black and small specimens were considered *C. contractus*, whereas larger and green/blue-colored specimens were considered *C. erysimi*.

Mitochondrial COI analyses

The final 633-bp trimmed alignment of *mtCOI* yielded a total of 46 (7.2%) polymorphic nucleotide sites, of which 29 were parsimony-informative. The maximum in-group genetic distance between sequences obtained from *C. erysimi* and *C. contractus* was 4.3% (uncorrected), with an average of 3.8% (Table S3). The median-joining network analysis revealed a total of 22 haplotypes, which, according to their substantial genetic divergence, formed 2 distinct clusters (Fig. 2). The *C. contractus* cluster contained a total of 6 haplotypes and all specimens possessed the typical phenotype characteristic for this species, that is, small in size and black in color. In the second cluster, composed of 16 haplotypes (hereafter referred to as the *C. erysimi* genotype group), 7 specimens expressed the typical *C. contractus* phenotype, whereas 25 other specimens were phenotypically *C. erysimi*. Among the sequences within the *C. erysimi* genotype group, an intraspecific genetic divergence of 0.4% (range: 0.2%–0.8%) was recorded, whereas the mean divergence among the 6 haplotypes of the *C. contractus* genotype group was 0.7% (range: 0.2%–1.1%) (Table S3). In addition, the

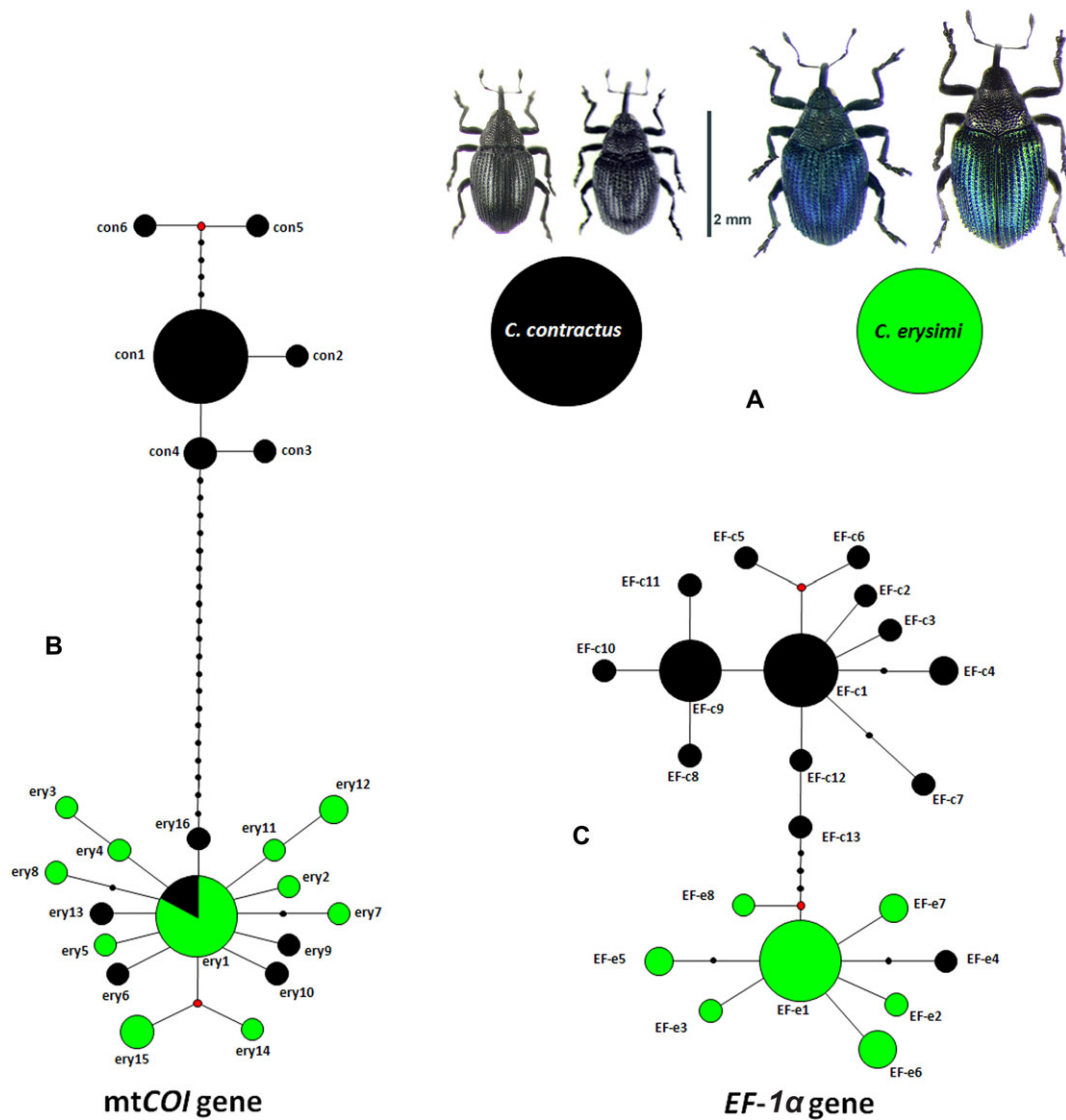


Fig. 2 Phenotype and genotype associations for *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus*. (A) Phenotype. (B) Median-joining network of the cytochrome oxidase subunit I gene (*COI*). (C) Median-joining network of the elongation factor-1 α gene (*EF-1 α*). Circle sizes are proportional to phenotype frequency (A) or haplotype frequency (B, C). The red dots are median vectors, and the small black dots represent missing haplotypes. Each connecting line represents 1 mutational difference.

statistical parsimony network did not connect the *C. erysimi* and *C. contractus* genotype groups at the 95% parsimony connection limits (data not shown).

Nuclear *EF-1 α* analyses

We reduced *EF-1 α* sequences to unique genetic variants to perform the haplotype network analysis. From the 667-bp alignment of *EF-1 α* sequences (the intron was removed from analysis), there were a total of

25 polymorphic nucleotides (3.7%), of which 10 were parsimony-informative, with a maximum ingroup genetic distance of 1.6% (uncorrected), and an average of 1.3% (Table S4). A total of 21 *EF-1 α* haplotypes were revealed using median-joining network analysis; these were clustered in 2 haplotype groups, referred to as the EF-e genotypes for *C. erysimi* (8 haplotypes) and the EF-c genotypes for *C. contractus* (13 haplotypes). A mean divergence of 0.8% was estimated from all obtained haplotypes from both species. Among sequences within each genotype groups, an intraspecific genetic divergence

of 0.4% (range 0.1%–0.6%) was recorded (Table S4). With regard to the phenotype of the analyzed specimens, 1 specimen (voucher code L333, Table S1) that was phenotypically identified as *C. contractus* carried an *EF-1 α* haplotype associated with the *C. erysimi* EF-e4 genotype group as well as the *C. erysimi* *COI* haplotype ery9 (Fig. 2, Table S1).

PCR-RFLP analysis of the barcoding region of the mt*COI* gene

A total of 101 individuals were assessed by a PCR-RFLP assay to determine the RFLP profile of the tested specimens. We tested 33 specimens that exhibited the phenotype of *C. erysimi* and 68 specimens with a typical *C. contractus* phenotype. The *COI* amplicons obtained with the LCO1490/HCO2198 primers (709 bp) were subjected to restriction digestion with the *SspI* endonuclease to obtain information on the restriction profiles that should be characteristic for each species. The *SspI* endonuclease cuts amplicons of *C. erysimi* at 2 positions, giving fragments of 385, 235, and 89 bp, whereas the *C. contractus* genotype possesses 1 restriction site, giving fragments of 474 and 235 bp (Fig. 3G). The restriction profiles that delimited the *C. erysimi* and *C. contractus* genotypes were confirmed via virtual digestion using pDRAW32 software on all 22 haplotypes obtained from both genotype groups. Our RFLP analysis confirmed the presence of *C. erysimi* mitochondrial genotypes in 10 of 68 (14.7%) specimens that exhibited the typical phenotype of *C. contractus* (Fig. 3), whereas no *C. contractus* mitochondrial genotypes were found in 33 analyzed specimens with the *C. erysimi* phenotype.

Discussion

The haplotype network of mitochondrial *COI* and nuclear *EF-1 α* sequences constructed with the phenotypically well-separated species *C. erysimi* and *C. contractus* from the territory of Serbia and Montenegro demonstrated an unusual genetic richness in both of the studied species. In our study, which covered a relatively small geographic area, the observed haplotype richness values for *COI* and *EF-1 α* were 22 and 21 haplotypes, respectively. We recorded 6 haplotypes for the with mitochondrial *COI* gene of *C. contractus* of 31 analyzed specimens from 19 locations, whereas almost 3 times as many haplotypes were recorded for *C. erysimi* of 25 specimens collected from 12 locations. Surprisingly, more haplotypes were identified in the *EF-1 α* gene for *C. contractus* (= 13) than *C. erysimi* (= 8), although the diversity of the

EF-1 α gene was expected to be lower for both species, given that nuclear *EF-1 α* is a more conservative gene. Nevertheless, the main finding of our study is the discrepancy between phenotypic and genotypic content in a subset of the analyzed specimens. This discrepancy was recorded primarily for specimens with phenotypic characteristics typical of *C. contractus*; mitochondrial genotypes typical for *C. contractus* were not recorded in specimens with the typical phenotype of *C. erysimi* (Fig. 2B). Observed pattern of asymmetric introgression is very common especially in the events of local and introduced species hybridization (Curat *et al.*, 2008; Excoffier *et al.*, 2009) as well as behavioral and mating differences between 2 sympatric species (Patton & Smith, 1993; Gomes *et al.*, 2009). In the case of these 2 well-studied *Ceutorhynchus* species, the latter is more plausible, having in mind their sympatric occurrence. However, further research is needed to determine exact behavioral and mating differences and as a consequence, the levels of asymmetric introgression. This discrepancy applies to the nuclear *EF-1 α* gene, because we recorded 1 specimen with the *C. contractus* phenotype but an *EF-1 α* haplotype clustering within the *C. erysimi* genotype group (Fig. 2C). Accordingly, ambiguity in the mitochondrial data strongly suggests more or less episodic hybridization events between *C. erysimi* and *C. contractus*. Genetic diversity in regard to the conservative *EF-1 α* gene also supports the existence of hybridization events between the 2 weevil species, although it is likely that during such events, the surviving offspring subsequently underwent repeated assortative mating with one of the parental lineages. In this scenario, the accumulation of *C. erysimi* mitochondrial genotypes inside populations of *C. contractus* weevils should represent a consequence of recent or historical hybridization events with *C. erysimi* followed by an asymmetric introgression. A plausible explanation for the subsequent sorting of nuclear alleles according to morphotypes of the nuclear genetic content in the *C. erysimi* and *C. contractus* populations could be the gregarious behavior of the adult populations, especially those with less expressed polyphagous behavior. Thus, our study supports the idea that nuclear genotyping is more reliable method for defining the real taxonomic positions of specimens with ambiguous mitochondrial contents.

Initially, our intent was to understand the speciation process and enable precise species identification within the weevil genus *Ceutorhynchus*, keeping in mind that some of the species from this genus have been proposed as biological control agents for the control of invasive cruciferous weeds. The polyphagous behavior of *C. erysimi* and *C. contractus* deserves special attention because both

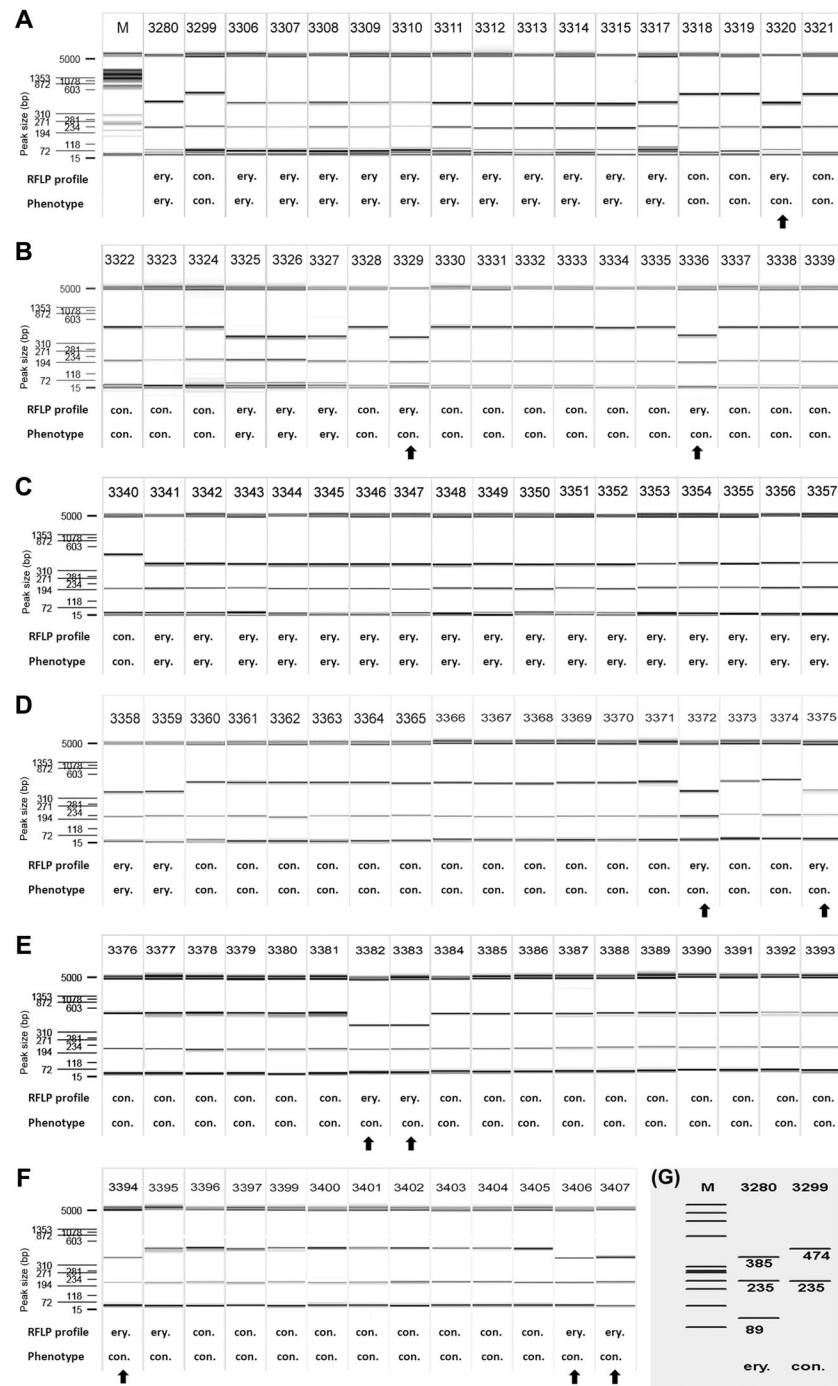


Fig. 3 The mtCOI PCR-RFLP species-specific identification of *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus*. (A–F) *SspI* RFLP profiles of the *COI* barcoding region (LCO1490/HCO2198) of 101 specimens of *C. erysimi* (33) and *C. contractus* (68) identified by phenotype. Restriction fragments were separated using the capillary electrophoresis system QIAxcel advanced (Qiagen). The reference controls for the restriction pattern comparison are *C. erysimi* (3280) and *C. contractus* (3299). M: QX DNA size marker FX174/*HaeIII* (Qiagen). Fragment sizes (bp) of the marker (1353, 1078, 872, 603, 310, 281, 271, 234, 194, 118 and 72) and the alignment marker QX 15 bp/5 kb (15 and 5000) are designated. Arrows indicate specimens with mismatched species designation according to phenotype and *COI*-RFLP genotype. (G) *In silico* gel electrophoresis of the *COI* sequence (delimited by the LCO1490 and HCO2198 primer annealing positions) of control specimens of *C. erysimi* (3280) and *C. contractus* (3299) virtually digested with *SspI*. The abbreviations “ery.” and “con.” are used for *C. erysimi* and *C. contractus*, respectively.

species possess a characteristic niche for development: *C. erysimi* occupies the root crown for larval development, whereas *C. contractus* uses the basal part of stem leaf petioles. In addition, both species were easy to rear and adults were easily distinguishable. The first ambiguity recorded in our study occurred during our attempt to distinguish larvae of *C. contractus* collected from diverse cruciferous plants, sampled from the typical host niche for this species, that is, the basal part of leaf petioles. For this purpose, we designed a fast identification protocol for *C. contractus* larvae according to the RFLP profiles of the barcoding region using the *SspI* endonuclease for the restriction digest. The observed ambiguity in the RFLP profiles forced us to sequence the barcoding region of these specimens, which revealed *COI* sequences typical for *C. erysimi*. Furthermore, our study of adult specimens of both species confirmed the existence of genetic ambiguity between these phenotypically well-segregated species.

Even though the situation of *C. erysimi* and *C. contractus* could be treated as an isolated case, the results presented in this study open several important questions related to the “undeclared war” between researchers advocating traditional or barcoding approaches in taxonomy (Brower, 2006; Miller, 2007; Song *et al.*, 2008; Boero, 2010; Goldstein & DeSalle, 2011; Boero & Bernardi, 2014). In any case, for specimens that exhibit the phenotype of *C. contractus* but share the mitochondrial genotype of *C. erysimi*, it is not possible to determine their taxonomic position because if the traditional approach is applied, these specimens would be treated as *C. contractus sensu stricto*. However, this would not be the case if the barcoding approach were applied, especially if species determination were performed at the larval stage, which is advocated as one of the best reasons for applying the barcoding approach for species recognition (Köhler, 2007; Wong & Hanner, 2008). Thus, to stabilize taxonomic status of species with documented introgression, the process should consider applying other relevant methods, such as analysis of additional genetic markers, which would provide more reliable resolution in defining species limits.

In the end, it is not a question of which approach is preferable or which method better fits the needs of modern science, or, more importantly, those of practitioners involved in applied research. In this study, we present a very specific situation where 2 different approaches, traditional taxonomy and barcoding, failed to agree. We believe that such situations are not rare, particularly not in groups with pronounced species radiation or cryptic speciation events.

Acknowledgments

This research was supported by research grant from the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, No. III43001. We thank the two anonymous reviewers for their constructive comments, which helped us to improve the manuscript.

Disclosure

The authors declared that they have no conflict of interests.

References

- Bandelt, H.J., Forster, P. and Rohlf, A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37–48.
- Boero, F. (2010) The study of species in the era of biodiversity: a tale of stupidity. *Diversity*, 2, 115–126.
- Boero, F. and Bernardi, G. (2014) Phenotypic vs genotypic approaches to biodiversity, from conflict to alliance. *Marine Genomics*, 17, 63–64.
- Brower, A.V. (2006) Problems with DNA barcodes for species delimitation: ‘ten species’ of *Astraptus fulgurator* reassessed (Lepidoptera: Hesperidae). *Systematics and Biodiversity*, 4, 127–132.
- Clement, M., Posada, D. and Crandall, K.A. (2000) TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9, 1657–1659.
- Colonnelli, E. (2004) Catalogue of Ceutorhynchinae of the world, with a key to genera (Insecta: Coleoptera: Curculionidae). *Argania edition, Barcelona*, 1–124.
- Colonnelli, E. (2006) The genus *Ceutorhynchus* Germar in tropical Africa (Coleoptera Curculionidae). *Atti della Accademia roveretana degli Agiati. B, Classe di scienze matematiche, fisiche e naturali. Rovereto (TN): Accademia roveretana degli Agiati*, 8, 47–74.
- Curat, M., Ruedi, M., Petit, R.J. and Excoffier, L. (2008) The hidden side of invasions: Massive introgression by local genes. *Evolution*, 62, 1908–1920.
- DeSalle, R., Egan, M.G. and Siddall, M. (2005) The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 360, 1905–1916.
- Dieckmann, L. (1972) Beiträge zur Insektenfauna der DDR. Coleoptera: Curculionidae: Ceutorhynchinae. *Beiträge zur Entomologie*, 22, 47–108.
- Dosdall, L.M., Cárcamo, H., Olfert, O., Meers, S., Hartley, S. and Gavloski, J. (2011) Insect invasions of agroecosystems

- in the western Canadian prairies: case histories, patterns, and implications for ecosystem function. *Biological Invasions*, 13, 1135–1149.
- Excoffier, L., Foll, M. and Petit, R.J. (2009) Genetic consequences of range expansions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 40, 481–501.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Fumanal, B., Martin, J.F., Sobhian, R., Blanchet, A. and Bon, M.C. (2004) Host range of *Ceutorhynchus assimilis* (Coleoptera: Curculionidae), a candidate for biological control of *Lepidium draba* (Brassicaceae) in the USA. *Biological Control*, 30, 598–607.
- Gerber, E., Cortat, G., Hinz, H.L., Blossey, B., Katovich, J. and Skinner, L. (2009) Biology and host specificity of *Ceutorhynchus scrobicollis* (Curculionidae; Coleoptera), a root-crown mining weevil proposed as biological control agent against *Alliaria petiolata* in North America. *Biocontrol, Science and Technology*, 19, 117–138.
- Gerber, E., Hinz, H.L., Blossey, B. and Bacher, S. (2012) Two shoot-miners, *Ceutorhynchus alliariae* and *Ceutorhynchus roberti*, sharing the same fundamental niche on garlic mustard. *Environmental Entomology*, 41, 1086–1096.
- Goldstein, P.Z. and DeSalle, R. (2011) Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: determination, discovery, and description. *Bioessays*, 33, 135–147.
- Gomes, B., Sousa, C., Novo, M., Freitas, F., Alves, R., Côté-Real, A., Salgueiro, P., Donnelly, M., Almeida, A. and Pinto, J. (2009) Asymmetric introgression between sympatric molestus and pipiens forms of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in the Comporta region, Portugal. *BMC Evolutionary Biology*, 9, 1–15.
- Hebert, P.D.N., Ratnasingham, S. and deWaard, J.R. (2003) 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, S96–S99.
- Hebert, P.D.N., Penton, E.H., Burns, J.M., Janzen, D.H. and Hallwachs, W. (2004) Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astrartes fulgerator*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 14812–14817.
- Hernández-Vera, G., Caldara, R., Toševski, I. and Emerson, B.C. (2013) Molecular phylogenetic analysis of archival tissue reveals the origin of a disjunct southern African–Palaeartic weevil radiation. *Journal of Biogeography*, 40, 1348–1359.
- Hinz, H.L., Schwarzländer, M. and Gaskin, J. (2008) Does phylogeny explain the host-choice behaviour of potential biological control agents for Brassicaceae weeds. *Proceedings of the XII International Symposium on Biological Control of Weeds*. International Wallingford, UK, pp. 410–417.
- Hinz, H.L. and Diaconu, A. (2015) Biology and field host range of *Ceutorhynchus cardariae*, a potential biological control agent for *Lepidium draba*. *Journal of Applied Entomology*, 139, 168–178.
- Hoffmann, A. (1954) Faune de France-Coleopteres Curculionides. *Editions Paul Lechevalier, Paris*, 59, 487–1208.
- Köhler, F. (2007) From DNA taxonomy to barcoding—how a vague idea evolved into a biosystematic tool. *Zoosystematics and Evolution*, 83, 44–51.
- Korotyaev, B.A. (2008) Geographical distribution of the weevil subfamily Ceutorhynchinae (Coleoptera, Curculionidae). *Entomological Review*, 88, 928–947.
- Laffin, R.D., Dosdall, L.M. and Sperling, F.A.H. (2005) Population structure and phylogenetic relationships of *Ceutorhynchus neglectus* (Coleoptera: Curculionidae). *The Canadian Entomologist*, 137, 672–684.
- Meier, R., Shiyang, K., Vaidya, G. and Ng, P.K. (2006) DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Systematic Biology*, 55, 715–728.
- Miller, S.E. (2007) DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104, 4775–4776.
- Packer, L., Gibbs, J., Sheffield, C. and Hanner, R. (2009) DNA barcoding and the mediocrity of morphology. *Molecular Ecology Resources*, 9, 42–50.
- Patton, J.L. and Smith, M.F. (1993) Molecular evidence for mating asymmetry and female choice in a pocket gopher (*Thomomys*) hybrid zone. *Molecular Ecology*, 2, 3–8.
- Peterson, A.T., Moyle, R.G., Nyári, Á.S., Robbins, M.B., Brumfield, R.T. and Remsen Jr, J.V. (2007) The need for proper vouchering in phylogenetic studies of birds. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 1042–1044.
- Posada, D. and Crandall, K.A. (2001) Intraspecific gene genealogies: trees grafting into networks. *Trends in Ecology & Evolution*, 16, 37–45.
- Rauth, S.J., Hinz, H.L., Gerber, E. and Hufbauer, R.A. (2011) The benefits of pre-release population genetics: A case study using *Ceutorhynchus scrobicollis*, a candidate agent of garlic mustard, *Alliaria petiolata*. *Biological Control*, 56, 67–75.
- Song, H., Buhay, J.E., Whiting, M.F. and Crandall, K.A. (2008) Many species in one: DNA barcoding overestimates the number of species when nuclear mitochondrial pseudogenes are coamplified. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105, 13486–13491.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731–2739.

- Taylor, H.R. and Harris, W.E. (2012) An emergent science on the brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding. *Molecular Ecology Resources*, 12, 377–388.
- Templeton, A.R., Crandall, K.A. and Sing, C.F. (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA-sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics*, 132, 619–633.
- Vaitelytė, B., Brazauskienė, I. and Petraitiienė, E. (2013) Species diversity of weevils (*Ceutorhynchus* spp.), migration activity and damage in winter and spring oilseed rape. *Zemdirbyst-Agriculture*, 100, 293–302.
- Wong, E.H.K. and Hanner, R.H. (2008) DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Research International*, 41, 828–837.

Accepted February 11, 2015

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's web-site:

Table S1 List of *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* specimens collected for morphological and molecular analyses, sorted by DNA voucher code, species name according to phenotypic and genetic content, host plant affiliation, locality, and haplotype name.

Table S2 List of *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* specimens used for PCR-RFLP genotyping, sorted by DNA voucher code, phenotypic identification, host plant affiliation, locality and species designation according to PCR-RFLP analysis of the *COI* gene.

Table S3 Average mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I (*COI*) divergence based on a pairwise analysis (p-distance method) of haplotypes of the *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* genotype groups.

Table S4 Average nuclear DNA elongation factor-1 α gene (*EF-1 α*) divergence based on a pairwise analysis (p-distance method) of haplotypes of the *Ceutorhynchus erysimi* and *C. contractus* genotype groups.