

점박이응애 관리를 위한 저항성 기작과 생물검정법에 대한 고찰

김도익[†] · 이장훈^{1†} · 김경무² · 김영철*

전남대학교 디지털 작물병원연구센터, ¹한국바스프 농업솔루션 사업부, ²디지털농업연구소

A Review of Acaricide Resistance Mechanism and Bioassay Method for Management of Two-Spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

Do-Ik Kim[†], Jang Hoon Lee^{1†}, Kyoung Moo Kim² and Young Cheol Kim*

Digital Crop Hospital Research Center, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea

¹Agricultural Solutions, BASF Company Ltd., Seoul 04518, Korea

²Digital Agricultural Research Center, Pyeongtaek 17717, Korea

ABSTRACT: Two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) is a pest that causes damage to 250 plants and over 1,400 species. It rapidly develops resistance to acaricides due to its high reproductive capacity, inbreeding, asexual reproduction, and short life cycle, resulting in frequent occurrences per year. Resistance mechanisms include inhibition of AChE, sodium channel modulator, glutamate-gated chloride channels allosteric, mite growth inhibitors, inhibitors of acetyl CoA carboxylase, inhibition of mitochondrial ATP synthase, inhibition of mitochondrial complex I, II, III, and electron transport. The mechanism of action varies depending on acaricides used, making it necessary to confirm the appropriate treatment when spraying chemicals. Toxicity bioassay methods to evaluate the development of acaricide resistance include slide dip, leaf dip, leaf disc, topical application, vial leaf dip, and spray potter tower. Recently, molecular diagnostic methods have also been developed, but these methods do not depend on the pest species or developmental stage. Since accuracy varies depending on acaricide, it is essential to find the method that best suits your field. To effectively manage resistant two spotted spider mites, acaricides with a low risk of resistance development can be used. Additionally, biological control methods utilizing natural enemies like *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus* are suggested. Eco-friendly approaches, including the use of plant extracts and essential oils such as neem and pyrethrum, are also recommended. It is essential to explore various factors for integrated management to reduce the reliance on chemical applications.

Key words: *Tetranychus urticae*, acaricide resistance, mode of action, bioassay, management

초록: 점박이응애(*Tetranychus urticae*)는 250과 1400여종의 식물에 피해를 주고 있는 해충으로 높은 번식력, 근친 교배, 무성생식, 짧은 수명주기로 연간 발생회수가 많기 때문에 약제에 대한 저항성이 빠르게 발달하는 종이다. 저항성 기작은 AChE 저해, sodium channel modulator, glutamate gated chloride channels allosteric, mite growth inhibitors, inhibitors of acetyl CoA carboxylase, mitochondrial ATP synthase 저해, mitochondrial complex I, II, III, 그리고 electron transport 저해 등이 있으며 약제에 따라 작용기작이 다르므로 약제살포 시 확인이 필요하다. 약제저항성 발달을 평가하는 독성시험방법으로 slide dip, leaf dip, leaf disc, topical application, vial leaf dip, spray potter tower, leaf vial dipping 등이 있으며 최근에는 분자학적 진단법 등도 개발되어 있으나 이들 방법은 해충 종이나 발육상태에 약제에 따라 정확도가 달라지므로 현장에 가장 맞는 방법을 찾아야 할 것이다. 저항성 점박이응애를 효과적으로 관리하기 위한 방법으로 저항성 위험이 낮은 살응애제(chemical acaricide) 약제 선발, 천적인 칠레이리응애, 사막이리응애를 이용한 생물적 방제, 님, 제충국, 등 식물추출물이나 정유를 활용한 친환경적인 방법 등이 제시되고 있으며 종합관리를 위한 다양한 요인을 찾아 약제 사용을 줄여 나가야 할 것이다.

검색어: 점박이응애, 약제저항성, 작용기작, 생물검정, 관리

[†]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author: yckimyc@jnu.ac.kr

Received August 5 2024; Revised August 24 2024

Accepted August 27 2024

지난 100년간 기온상승과 폭염, 폭우 등 다양한 기후 변화는 식량공급의 안정에 부정적인 영향을 미쳤으며, 2050년까지 전 세계 농업 생산량은 인구 증가의 수요를 충족하기 위해 두 배로 증가해야 할 것으로 보인다(Skendžić et al., 2021). 작물 수확량을 늘리기 위해 살균제, 살충제, 제초제와 같은 작물보호제를 사용하지 않으면 적절한 식량 공급이 어렵다(Miller et al., 2010). 1970년과 2016년까지 중국에서는 온도 변화에 따라 작물에 피해를 주는 병해충 발생량이 53%에서 218%까지 크게 증가한 것으로 보고되고 있다(Wang et al., 2022). 기온상승은 곤충 개체군의 성장을 변화와 관련이 있다는 가설에 따라(Deutsch et al., 2018), 현재 기온 수준은 기후 온난화로 인해 열대 지역의 곤충 개체수는 이미 해충 발생 및 성장에 최적인 상태에 근접해 있어 성장률이 감소할 것으로 예상되는 반면, 온대 지역의 곤충은 증가할 것으로 보인다(Skendžić et al., 2021). 그에 따른 병해충 발생량의 증가는 작물보호제 사용량의 증가가 함께 이루어져 약제 저항성 병원균, 해충, 잡초도 증가로 이어지고 있다(Sparks

and Nauen, 2015).

한국작물보호협회 2022 농약연보(Korea Crop Protection Association, 2022)에 따르면 국내 작물보호제 시장은 살균제 6,400억원, 살충제 6,500억원으로 추정되고 있으며, 해충별로 보면 진딧물류가 13%인 866억원, 응애류 9%인 594억원, 나비목 10%, 밤나방과 11%, 수도해충 8%, 총채벌레 5%, 노린재류 4% 정도이며 이외에 깍지벌레, 배추좀나방, 과실파리 등이 각각 3% 정도 차지한다(Fig. 1). 특히 점박이응애는 250과 1,400여 종의 식물중에 기주식물로 알려져 있으며(Migeon et al., 2010), 원예작물 등 고수익의 경제작물에 피해를 주기 때문에 주요 해충으로 알려져 있다(Lindquist et al., 1996). 또한, 2022년도 응애류 방제를 위해 판매된 상위 7개 품목의 판매량은 280억 정도로 아바멕틴유제 55억원, 사이에노피라펜액상수화제 50억원, 스피로메시펜액상수화제가 45억원 정도이며, 그 외에 아사이노나피로 액상수화제, 아세퀴노실 액상수화제, 피플루부마이드 액상수화제 등이 판매되었다(Table 1).

농약에 대한 해충 저항성 관리는 수확량을 늘리고 품질을 높이는 데 필수적이다. 그러나 농약의 남용과 오용은 저항성 발달을 초래하여 작물 생산에 해를 끼칠 수 있다. 농약의 반수치사농도(LC₅₀)값은 개체군의 저항성 정도를 확립하는데 사용되며, 95% 신뢰구간을 조사하여 모집단간에 비교가 가능하고, 수컷과 암컷, 성충과 유충의 비교에도 사용 가능할 수 있다(Miller et al., 2010). 그 중에서 점박이응애(*Tetranychus urticae*)는 살비제에 대해 저항성이 빠르게 발달하는데(Van Leeuwen et al., 2008), 원인으로 높은 번식력, 근친 교배, 무성생식, 짧은 수명주기로 연간 발생회수가 많기 때문이다(Van Leeuwen et al., 2009). 2020년 농약저항성 데이터베이스에서 필터링한(Adesanya et al., 2021) 자료를 보면 저항성으로 기록된 사례는 다른 해충에 비해 많지 않으나 주요성분으로 보면 96건으로 배추좀나방의 97건 다음으로 높아 저항성이 심함을 알 수 있다. 저항성 기작으로는 AChE inhibitor 31%, MET inhibitor 25%, Abamectin

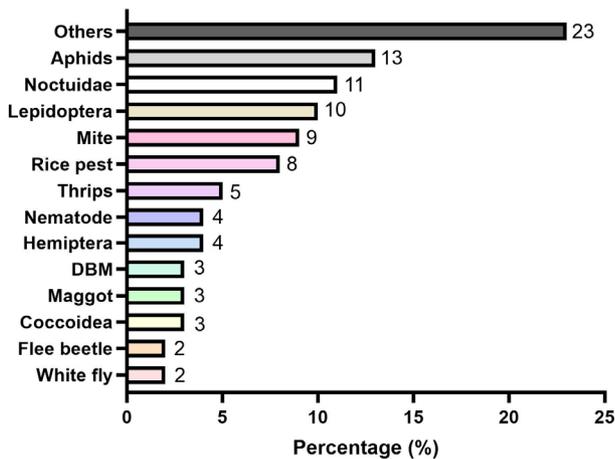


Fig. 1. Shipping amounts of insecticides to control of major insect pests in Korea. Source: Korea Crop Protection Association, 2022.

Table 1. A list of major sales acaricide for controlling spider mites in 2022 in Korea

Acaricides (Common name)	IRAC code	Active Ingredient (%)	Total volume (Kg/L)	Total value (KRW)	Launch year in Korea
Abamectin 1.8% EC	6	1.8	117,129	5,558,130,698	1995
Acequinocyl 15% SC	20b	15	69,755	3,353,567,300	1999
Spiromesifen 20% SC	23	20	42,755	4,567,816,611	2005
Cyenoxyrafen 25% SC	25a	25	42,173	5,068,810,760	2009
Pyflubumide 10% SC	25b	10	27,278	3,254,488,400	2020
Acynonapyr 20% DC	33	20	21,113	2,576,183,933	2021
Acynonapyr 20% SC	33	20	28,722	3,582,643,140	2021

Source: Korea Crop Protection Association, 2022

12%, pyrethroid 7% 기타 24%로 나타났다. 국내에서 2019년 1월부터 작물보호제 PLS 전면 시행은 올바른 농약 사용관리의 중요성이 강조되고 있으며, 병해충에 대한 저항성 정보 및 약효 스크리닝 방법에 대한 표준작업지침서 등이 요구되고 있다. 따라서 약제저항성이 빠르게 나타나는 점박이응애에 대해 저항성 기작을 살펴보고 여기에 맞는 저항성 수준을 평가하는 적절한 생물검정법과 관리방안에 대한 고찰을 하고자 한다.

살비제의 작용기작

Jakubowska et al. (2022)는 2022년 현재 전세계적으로 시장에서 판매되는 살비제에 대해, 14개의 화학그룹으로 분류하였다. 이 그룹은 macrocyclic lactone (abamectin, milbemectin), quinolones (acequinocyl), carbzinates (bifenazate), tetrazines (clofentezine), tetrionic acids (spirodiclofen) 등으로 나누어진다. 응애의 특성상 거미줄이 나타나기 전까지 피해를 발견하기 어려워 발견 당시 많은 약제를 살포하고 또 작물생육 중 여러 세대를 경과하기 때문에 약제 저항성이 쉽게 발생한다고 하였다 (Jakubowska et al. 2022). Table 2는 지금까지 보고된 약제에 대한 저항성 기작과 약제의 목표 부위를 나타낸 것이다. Target physiology로 보면 nerve muscle에 bifenthrin, fenpropathrin, abamectin, milbemectin, amitraz, fluxametamide, acynonapyr

이 있으며, growth & development에 etoxazole, hexythiazox, flufenoxuron, spirodiclofen이 있고, respiration에 azoxyclostin, propargite, chlorfenapyr, acequinocyl, bifenazate, fenazaquin, fenpyroximate, pyridaben, cyenopyrafen, cyflumethofen, pyflubumide 등이 있는데 nerve muscle 중에 fluxamtamid, acynonapyr은 아직까지 저항성이 보고되어 있지 않다(Table 2). 또한, Table 2에 의하면 이들 약제에 대해 저항성을 보이는 응애종은 점박이응애(*Tetranychus urticae*), 점박이응애붙이(*T. cinnabatinus*), *T. okinawanus*, 사과응애(*Panonychus ulmi*), 귤응애(*P. citri*), *Oligonychus coffeae*, 애응애류(*Brevipalpus yothersi*) 등에 대해 저항성이 보고되어 있으며, 특히 점박이응애는 fluxamtamid, acynonapyr를 제외한 위에 언급된 모든 약제에 대해 저항성이 있는 것으로 판단된다.

살비제에 대한 작용기작 분류는 목표부위로 신경, 성장과 발육, 호흡으로 나눌 수 있다. 신경에는 AChE 저해, sodium channel modulator, glutamagated chloride channels allosteric, octopamine receptor agonist로 나눌 수 있으며, 성장과 발육은 mite growth inhibitors, inhibitors of acetyl CoA carboxylase로 나눈다. 호흡으로는 inhibitors of mitochondrial ATP synthase, uncouplers of oxidative phosphorylation, mitochondrial complex I, II, III, electron transport inhibitors로 나눌 수 있다(Khajehali et al., 2021).

Table 2. List of chemical acaricides which have resistance against two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*

IRAC code ¹⁾	Targeted physiology	Mode of action	Subgroup	Active ingredient (AI)	Year of AI Introduction ²⁾	Resistance issue	References
3A	Nerve & muscle	Sodium channel modulators	Pyrethroids	Bifenthrin	1986	Yes	Ay and Gürkan, 2005; Herron et al., 2001; Van Leeuwen et al., 2005, 2010a; Van Leeuwen and Tirry, 2007
3A				Fenpropathrin	1980	Yes	Kwon et al., 2010b; Van Leeuwen et al., 2010a
6	Nerve & muscle	Glutamate-gated chloride channel allosteric modulators	Avermectins	Abamectin	1985	Yes	Clark et al., 1995; Ferreira et al., 2015; Kwon et al., 2010c; Lee et al., 2003; Papapostolou et al., 2021; Sato et al., 2005; Tirello et al., 2012; Xue et al., 2020
6			Milbemycins	Milbemectin	1991	Yes	Lee et al., 2003; Nicastro et al., 2010; Xue et al., 2020
10A	Growth & Development	Mite growth inhibitors affecting CHS1	Hexythiazox	Hexythiazox	1985	Yes	Asahara et al., 2008; Herron and Rophail, 1993; Hu et al., 2010; Tirello et al., 2012
10B			Etoxazole	Etoxazole	1998	Yes	Asahara et al., 2008; Lee et al., 2003; Papapostolou et al., 2021; Uesugi et al., 2002

Table 2. Continued

IRAC code ¹⁾	Targeted physiology	Mode of action	Subgroup	Active ingredient (AI)	Year of AI Introduction ²⁾	Resistance issue	References
12B	Respiration	Inhibitors of mitochondrial ATP synthase	Organotin miticides	Azocyclotin	1978	Yes	Van Leeuwen et al., 2005
12C	Respiration	Inhibitors of mitochondrial ATP synthase	Propargite	Propargite	1964	Yes	Chapman and Penman, 1984; Keena and Granett, 1990
13	Respiration	Uncouplers of oxidative phosphorylation via disruption of the proton gradient	Pyrroles	Chlorfenapyr	1996	Yes	Herron et al., 2004; Nicastro et al., 2013; Uesugi et al., 2002; Van Leeuwen et al., 2005
15	Growth & Development	Inhibitors of chitin biosynthesis affecting CHS1	Benzoylureas	Flufenoxuron	1989	Yes	Tirello et al., 2012
19	Nerve & muscle	Octopamine receptor agonists	Amitraz	Amitraz	1971	Yes	Van Leeuwen et al., 2005; 2010a
20B	Respiration	Mitochondrial complex III electron transport inhibitors - Qo site	Acequinocyl	Acequinocyl	1999	Yes	Choi et al., 2020; Fotoukkaiaii et al., 2020; Lee et al., 2003
20D	Respiration	Mitochondrial complex III electron transport inhibitors - Qo site	Bifenazate	Bifenazate	1999	Yes	Fotoukkaiaii et al., 2020; Lee et al., 2003; Van Leeuwen et al., 2010a
21A				Fenazaquin	1992	Yes	Devine et al., 2001; Van Leeuwen et al., 2010a
21A				Fenpyroximate	1991	Yes	Devine et al., 2001; Kim et al., 2004; Papapostolou et al., 2021; Stumpf and Nauen, 2001; Tirello et al., 2012; Van Leeuwen et al., 2010a
21A	Respiration	Mitochondrial complex I electron transport inhibitors	METI acaricides and insecticides	Pyridaben	1990	Yes	Devine et al., 2001; Khalighi et al., 2016; Papapostolou et al., 2021; Stumpf and Nauen, 2001; Sugimoto and Osakabe, 2014; Van Leeuwen et al., 2010a
21A				Tebufenpyrad	1992	Yes	Devine et al., 2001; Tirello et al., 2012; Stumpf and Nauen, 2001; Van Leeuwen et al., 2010a
23	Growth & Development	Inhibitors of acetyl CoA carboxylase	Tetronic and Tetramic acid derivatives	Spirodiclofen	2003	Yes	
23				Spiromesifen	2005	Yes	Al-Lala et al., 2012; İnak et al., 2022a
25A	Respiration	Mitochondrial complex II electron transport inhibitors	<i>beta</i> -Ketonitrile derivatives	Cyfenopirafen	2009	Yes	Khalighi et al., 2016; Maeoka and Osakabe, 2021; Njiru et al., 2022; Papapostolou et al., 2021; Sugimoto and Osakabe, 2014
				Cyflumetofen	2007	Yes	İnak et al., 2022b; Khalighi et al., 2016; Papapostolou et al., 2021; Pavlidi et al., 2017

Table 2. Continued

IRAC code ¹⁾	Targeted physiology	Mode of action	Subgroup	Active ingredient (AI)	Year of AI Introduction ²⁾	Resistance issue	References
25B	Respiration	Mitochondrial complex II electron transport inhibitors	Carboxanilides	Pyflubumide	2015	Yes	Maeoka and Osakabe, 2021; Njiru et al., 2022
30	Nerve & muscle	GABA-gated channel allosteric modulators	Meta-diamides	Fluxametamide	2020	NA	
33	Nerve & muscle	Calcium-activated potassium channel (KCa2) modulators	Acynonapyr	Acynonapyr	2021	NA	

Source: 1) <https://irac-online.org/mode-of-action/> Mode of action classification, 2) The Global Crop Protection Market, Chapter 5 Products 2020, Agbioinvestor 2020

점박이응애에 사용되는 AChE 억제 살비제는 유기인계로는 malathion, chlorpyrifos, diazinon, parathion, 카바메이트계로는 N-methyl cabamic acid의 ester aldicarb, methomyl, demeton-S-methyl 등이 있다. AChE 억제는 가장 일반적인 저항성 기작으로서, AChE는 한 신경 세포에서 다음 신경 세포로 자극이 전달되는 것을 완료하기 위해 콜린성 시냅스 틈에서 아세틸콜린이 가수분해되는 데 필요하다. AChE의 작용을 차단하면 아세틸콜린이 축적되어 신경 전달이 중단된다(Kwon et al., 2010a). AChE의 저항성 연구는 다이아지논 내성 개체군에서 AChE 민감도가 크게 감소한다는 최초의 보고(Smissaert, 1964) 후, 유기인계와 카바메이트계에 대한 저항성이 AChE의 구조 변화로 인해 발생하며 교차저항성까지 나타난다고 보고되었다(Van Leeuwen et al., 2009; 2010b). 따라서 동일 생태계에서 두 계통의 동시 사용을 권장하지 않고 있다.

또한, AChE의 유전자 사본 두 개(two gene copy)를 보유하는 많은 곤충 종과 달리 *T. urticae* 계놈은 AChE 유전자의 단일 사본(single copy)을 보유한다(Grbić et al., 2011). 국내에서 점박이응애에 대한 monocrotopos 저항성 점박이응애의 AChE와 밀접한 관계가 있는데, 3개의 점돌연변이가 관여한다. 이들은 G228S, A391T, F439W으로 G228S와 F439W 두 점 돌연변이는 A399T와 달리 높은 빈도에 도달하지 않고 monocrotophos 저항성 응애에서 포화수준에 도달하지 않았다. 이런 이유로 저항성 개체는 여전히 돌연변이를 가지지 않은 야생형 유전자를 유지할 수 있다는 것을 의미하며 돌연변이 복사본과 야생형 복사본이 공존함으로써 돌연변이로 인한 생존에 불리해 질 수 있는 적응력 손실을 야생형 유전자가 상쇄시킬 수 있다(Kwon et al., 2010a).

피레스린 저항성의 기작은 microsomal monooxygenase에 의한 효소가수분해나 산화에 의해 발현된다(Van Leeuwen and Tirry, 2007) 피레스로이드의 target site인 Voltage-gated sodium channel (VGSC)는 세포내 활동 전위의 생성과 전파에 중추적인 역할을 하여 세포막을 가로질러 나트륨 이온의 이동에 관여하는 중요한 막 횡단 단백질이다(Dong, 2007). 이 VGSC는 DDT 및 피레스로이드와 같은 살충제의 주요 표적이다. 피레스로이드는 VGSC의 활성화 상태를 변경하여 지속적인 신경 발화를 일으키고 결국 사망에 이르게 한다(Van Leeuwen et al., 2009). 점박이응애의 피레스로이드에 대한 저항성은 주로 cytochrome-450 및 카르복실에스테라제에 의한 대사 해독 증가와 관련이 있다(Ay and Gürkan, 2005; Van Leeuwen and Tirry, 2007). 또한 glutathione S-transferase도 저항성 표현형에 관여하며(Vontas et al., 2001) 증가된 mono-oxygenase 활성화도 저항성 계통에서 나타난다(Van Leeuwen et al., 2005). Tsagkarakou et al. (2009)는 저항성 유전자 좌(loci) 중 하나인 VGSC의 III6 위치에서 F15381 치환이 농업해충에서 처음으로 발견되어 DNA 기반의 스크리닝 기법을 개발할 수 있을 것으로 보인다.

Glutamate-gated chloride channel (GluCl)은 Cys-loop ligand-gated chloride channe (CysLGCC)의 양이온 투과성 구성원 중 하나로서, 이 막 관통 이온 채널은 pH 조절 및 감각 반응과 같은 다양한 기능을 수행한다(Dermauw et al. 2012). 이 채널 활동을 조절하여 해충의 마비 및 사망을 초래하는 abamectin과 같은 살충제의 표적 사이트이다. 절지동물의 GluCl은 avemectin macrocyclic lactone chemical group의 표적 부위로서 다른 곤충종과 달리 점박이응애에서 6개의 이종상동 단위(GluCl 1-6)가 확인되었다(Dermauw et al. 2012). Abamectin은 GluCl의 조절제

역할을 하여 염화물 채널을 활성화하고 결과적으로 해충의 과분극, 마비 및 사망을 초래하는데, Campos et al. (1995)의 저항성 발달 보고 이후 브라질에서 milbemectin, fenproparhrin, chlerofenapyr (Sato et al., 2005), 터키에서 chloropyrifos, propargite, clofentezine, fenpyroximate에 대해 교차 저항성을 보였다(Yorulmaz and Ay, 2009). Abamectin은 점 돌연변이가 확인되기도 하지만 다른 집단에서는 발견되지 않은 경우도 있어 무독화 효소가 주 기작일 수도 있다고 하여 다양한 기작이 있음을 시사한다(Shin et al., 2021).

Etoxazol, clofentezine, hexiziazox 등은 키틴합성을 억제하여 알과 유충을 죽이는 살비제이다. ethoxazole의 표적부위로 chitin synthesis 1 gene (CHS 1)이 발견되는데, CHS 1은 키틴 침착의 최종 단계에 관여하는 막횡단 단백질로(Van Leeuwen et al., 2012), CHS 1 유전자에서 I1017F 돌연변이가 이들 약제에 저항성을 유발시키는 것으로 알려졌다(Demaeght et al., 2014).

Mitochondrial complex electron transport (MET)는 ATP 합성을 담당한다. 미토콘드리아 전자 수송(MET) 시스템은 기증자와 수용체 사이의 일련의 전자 이동을 포함하며 궁극적으로 산소가 물로 환원된다. 이 과정의 중심에는 전자 전달을 촉진하는 4개의 막횡단 복합체(I-IV)로 구성된 미토콘드리아 전자 전달(MET) 사슬이 있다. 이들은 복합체 I (NADH: 유비퀴논 산화 환원효소), 복합체 II (숙시네이트 탈수소효소), 복합체 III (시토크롬 bc1 복합체) 및 복합체 IV(시토크롬 C 산화효소)로 fenzaquin, fenpyroximate, pyridaben, tebufenpyrad (복합체 I), cyflumetofen, cyenopyrafen, pyflubumide (복합체 II), acequinocyl, bifenzate, fluacrypyrim (복합체 III) 등 많은 살비제가 여기에 해당되며 (Van Leeuwen et al., 2008; Van Nieuwenhuysse et al., 2009), propargite, diafenthiuron은 ATP 합성을 직접 억제하기도 한다(Adesanya et al., 2021).

Acetyl coenzyme A carboxylase (ACCCase)은 대부분의 진핵 생물에서 지질과 지방산 대사에 중요한 역할을 하며, 여기서 아세틸-CoA의 카르복실화를 촉진하여 지방산 합성의 중요한 중간체인 malonyl-CoA를 생성하는데, biotin carboxylase (BC)와 carboxytransferase (CT) 두가지의 촉매부위를 가지고 있어 이 부위에서 발생하는 특정 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되는 돌연변이에 의해 저항성이 발현되는데, 즉, 아미노산 변화에 의해 살충제가 해당 부위에 결합하여 효소활성을 억제하는 능력이 감소되어 발현된다(Tong, 2005).

Spiromesifen과 spirotetramat은 생식과 산란에 영향을 주는데 점박이용애에서 CYP392E10의 과발현과 연관되어 있으며 (Demaeght et al., 2013), 이는 이 P450 유전자가 spiroadiclofen 저항성을 모니터링하기 위한 분자표시로 사용 될 수 있음을 보여

준다고 보고되어 있다(Adesanya et al. (2021)).

독성 평가 생물검정

생물검정법은 실내에서 간단하고 쉽게 이루어지지만 실제 야외 시험포장의 결과와 가장 가까워야 한다. 또한 응애의 크기가 아주 작고 빠르기 때문에 이러한 특성에 맞는 생물검정법을 이용해야 한다. 점박이용애에서 주로 사용하고 있는 생물검정법은 slide dip, leaf dip, leaf disc, topical application, potter spray, vial leaf dip법 등이 있다(Fig. 2).

Slide dip은 Voss (1961)에 의해 처음 시도되었는데 양면테이프를 슬라이드에 붙이고 반대쪽에 응애를 등쪽이 붙여지도록 하여 희석된 약제에 5초간 침지 후 약액을 종이 타월로 제거하여 데시케이터에 보관하면서 습도를 조절한다. 이 방법은 먹이 공급이 제대로 이루어지지 않아 가끔은 살충율에 차이가 나지만 그럼에도 이 방법을 사용하는 가장 큰 장점은 재현성이 높다는 장점이 있다(Rincón et al., 2019). Busvine (1980)은 잎을 사용하지 않고 슬라이드를 사용하여 현미경으로 관찰하는 slide dip을 저항성 응애류의 생물검정법으로 정착하여 leaf dip의 단점을 보완하였다. 이후 국부처리법(topical application) 보다 다양하게 사용되어 점박이용애에 대한 저항성검정법으로 활용되었다. 그러나 Dennehy et al. (1983)는 residual bioassay가 544배, slid dip이 5.7배로 저항성이 나타나, residual법도 포장 개체군의 저항성 평가의 한 방법이 될 수 있다고 하여 이때부터 새로운 생물검정법에 대한 연구가 다양 해졌다. 또한 약제저항성 기작에 대해 검정하는 기법도 같이 발전해 오고 있다(Hemingway, 1998). 생물검정은 살충제 농도와 살충율 사이의 관계를 나타내는 것으로 일반적으로 성충 암컷을 2~3일 또는 3~5일동안 수행한다. 그러나 Martínez-Huasanche et al. (2021)는 살비제의 종류가 다양하고 많아 지기 때문에 leaf disk를 변형하여 4시간 이내에 독성을 평가하였다. 이 방법은 abamectin, acequinocyl, fenproparhrin, propylene glycol monolaurate는 가능하지만 bifenzate는 어렵다고 하여 약제 종류에 따라 생물검정법이 빠르게 이뤄질 수 있음을 시사하였다.

Leaf disc법은 콩, 장미, 복숭아 등 다양한 종류의 잎을 사용할 수 있으며 크기도 다양하고 접종하는 개체수도 다양하게 할 수 있다. 또한 습도 유지를 위해 찬천, 탈지면 등도 사용한다. 접종 후 일정 시간 안정화를 시킨 후에 살포한다. 이 방법의 가장 큰 문제는 접종한 응애의 탈출이므로 이 방법을 보완한 변형된 leaf disc법을 개발하였다(Bostanian et al., 2009). 잎을 거꾸로 놓고 습도 유지를 위해 탈지면을 두고 petri dish 뚜껑을 닫아 밀폐시키는데 공기흐름과 과습 방지를 위해 구멍을 뚫고 망사로

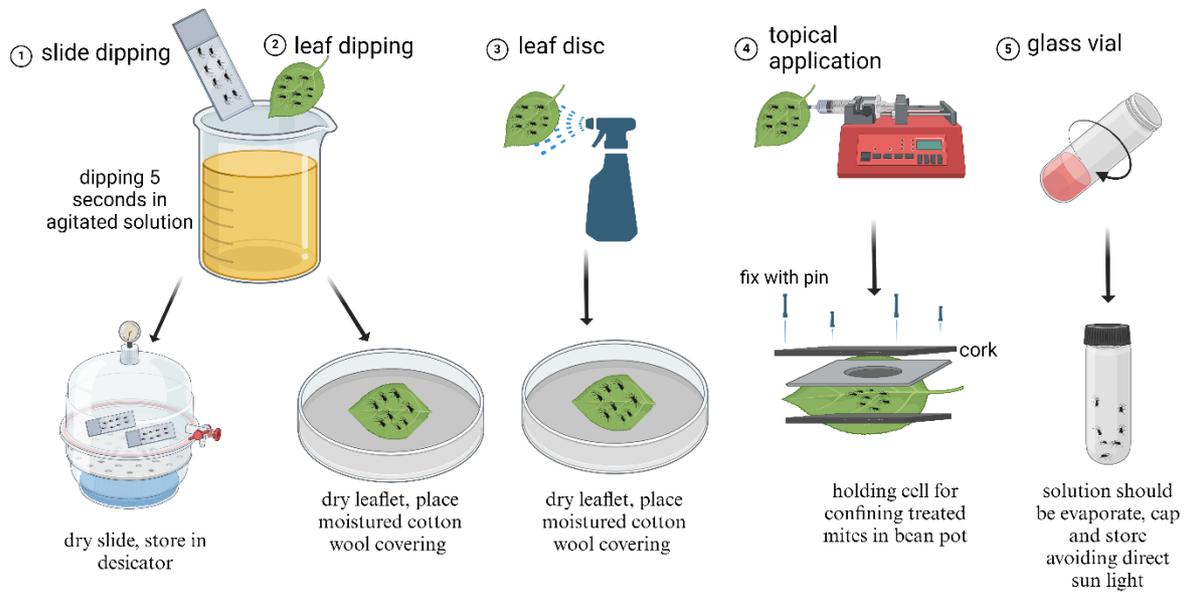


Fig. 2. Several bioassay methods with spider mite for detection of resistance to acaricides.

막아 놓은 방법이다. 이 방법을 이용하면 9일 동안 잎을 유지시켜 시험이 가능하며 효과가 빠르거나 느린 약제 모두 사용 가능하다는 장점이 있다.

Knight et al. (1990)은 석류의 점박이응애, 사과응애에 대한 abamectin B, fenbutatin oxide, hexythiazox 살비제에 대한 저항성 모니터링을 위한 생물검정으로 leaf disk 시험을 할 때 움직이지 않은 개체를 살충율에 포함시키며, 시간은 48시간 이상 조사하여야 완전한 평가가 가능하다고 하였는데, 이것은 일부 연구자들이 지속적인 응애의 움직임이 없는 것을 사망 기준으로 삼고(Flexner et al., 1988), 살아 있는 응애가 적어도 한 몸 길이를 걷을 수 있어야 한다고 주장한 것과(Welty et al., 1987) 일치하였다.

Welty et al. (1987)는 사과응애의 경우 유기주석계인 cyhexatin의 저항성 측정에서 72시간의 open-leaf residual bioassay가 24시간의 slide dip보다 더 민감하지만 실제 포장에서는 slide dip이 leaf residual보다 더 비슷한 결과를 얻는다. 실제 포장의 나무 밀도, 크기, 살포량, 분무기의 속도 등이 저항성 평가에 영향을 줄 수 있으므로 현장 효과를 정확히 파악하기는 어렵지만 어떤 방법을 사용하던지 실험실 내의 결과는 현장에서 보다 정밀한 저항성 효과를 평가할 수 있어야 한다고 하였다.

Pree et al. (2000)은 사과응애의 독성을 현장에서 활용하기 위해 petri dish와 leaf dip을 수행하고 실내에서는 leaf disk에 처리하기 위한 potter spray tower 방법을 사용하였을 때, leaf disk 보다는 petri dish법이 독성이 높아 pyridaben의 경우 petri dish에서 100% 살비율을 보이는 활성농도(active ingredient)는 5

mg, leaf disk는 15 mg으로 petri dish법이 이 약제 개체군의 감수성을 평가하는 방법으로 추천되었다. 그러나 abamectin은 2 mg 처리의 leaf disk에서 98~100%의 살비효과가 나타나지만 petri dish에서는 다양한 살충율의 결과가 나타나 독성평가 방법으로 추천되지 않은 것으로 볼 때 생물검정은 약제의 종류, 검정 대상 해충의 종류, 해충의 발육 단계별로 다르게 평가해야 함을 알 수 있다.

Nauen et al. (2001)은 점박이응애와 사과응애 유충에 대한 저항성 검정법으로 spray법을 추천하였는데 다양한 계통의 살비제에 적용가능하다고 하였다. 그러나 Kim and Lee (1992)은 살비제 저항성 수준 결정 독성시험에서 slide dip이 leaf dip이나 leaf disk보다 변이가 적고 정확도가 높으며 처리방법이 간단하고 한가지 농도에 대해 여러 계통을 동시에 처리 가능하며, 처리 후 조건을 균일하게 유지시키며 기주식물이 필요 없다고 하였다. 그러나 국부처리법은 정밀도는 높으나 장비 구입비용이 높고 시간이 많이 드는 단점이 있다고 하여 slide dip법을 생물검정법으로 추천한 바 있다. Kabir et al. (1993)는 점박이응애와 사과응애에 대해 6가지 생물검정법 시험에서, 처리 후 노출 시간이 LC₅₀에 영향을 크게 주는데, slide dip과 petri dish법은 24시간, leaf disk는 48시간이 적합한 시간이라 하였다. 약제별로는 petri dish residue-potter tower method은 propargite에는 정밀하지만 fenbutatin oxide에는 정밀하지 않으며 또한 slide dip은 같은 약제인 fenbutatin oxide의 수화제(WP)보다 액상수화제(SC)에 대해 정밀도 더 높다고 하여 약제 종류나 제형에 따라 생물검정법이 달라 질 수 있음을 시사하였다. 더하여 leaf dip법

은 접촉 개체가 도망가는 경우가 생겨 살충율을 측정하기가 어려운데 도망가서 죽었는지 여부가 확실하지 않기 때문이다. 따라서 petri dish법이 leaf disc법을 대체할 수 있으며 이와 같은 결과는 사과응애의 시험에서도 유사한 결과를 얻었다(Pree et al., 1989). 그러나 Ahn et al. (1992)은 분무법과 침지법이 슬라이드법보다 변이가 적어 살비제 생물검정법으로 추천한 바 있기도 하다.

Dennehy et al. (1993)는 점박이응애 접촉독성을 시험하기 위해 마이크로침지법을 사용하여 25마리의 응애를 진공 상태에서 작은 피펫 팁에 빨아들이고 약제에 30초 동안 담근 다음, 처리된 응애를 새로운 잎에 모아 두어 살충율을 평가하여 기존 잔류 생물검정의 값과 잘 일치하였고 probit 선의 기울기가 일관되게 더 크게 나타나 정밀도가 높다고 한 바 있다. 이 방법은 독성이 빠르거나 늦은 약제 모두 사용 가능하며 실내에서 소량으로 검정할 때 사용 가능한 방법으로 추천하였다.

Wang et al. (2015)은 vial-leaf dipping (VLD) 방법을 고안하였는데, 2 ml 마이크로 원심분리기 튜브와 1cm leaf disc에 살비제를 각각 코팅하여 LC₅₀을 평가하였을 때 VLD법이 기존의 slide dip보다 훨씬 민감하고 반복 간의 차이가 없고 포장 저항성 검정에서도 저항성 차이가 잘 나타났다고 하였다. 또한 slide dip은 검정 시 많은 수의 개체와 숙련이 필요하고, 시간이 많이 걸리는 등 검정 효율이 낮으며, leaf dip은 응애가 자주 탈출하여 결과에 변이가 많다고 하였다. 또한 residual contact vial (RCV)은 새로운 방법으로 쉽기는 하지만 접촉독은 가능하나 섭식독의 평가는 어렵다고 하였다. 따라서 VLD가 기존의 다른 방법보다 쉽게 조작할 수 있으며 비용이 적게 들고 섭식독과 접촉독을 동시에 평가하므로 VLD를 새로운 생물 검정방법으로 추천하였다.

최근에는 작용점의 DNA 염기서열에서 진보하여 PCR을 기초로 약제저항성을 분자학적 진단 방법으로 활용하는 연구가 활발하다. DNA의 유전을 기초로 quantitative sequencing (QS), PASA, bi-PASA, SSCP, SISAR 등이 single nucleotide polymorphism을 확인할 때 시간과 비용을 줄일 수 있다고 하였다(Kwon et al., 2004). Lee et al. (2011)는 약제저항성 점박이응애의 mitochondrial cytochrome b (*cytb*) 점 돌연변이인 G126S를 확인하고 G126S가 점돌연변이가 bifentazate 약제저항성 점박이응애의 유용한 분자진단 마커로 이용될 수 있으며, 진단 방법인 quantitative sequencing (QS)와 PCR amplification of specific alleles (PASA)에서 G125S 점돌연변이를 잘 탐지했다고 보고하였다.

저항성 관리방안

약제저항성관리(Insecticide Resistance Management, IRM)의 전략은 선택 압력을 낮추는 데 도움을 줄 수 있는 일련의 선택(살포량 조절, 상승제 첨가, 약제 변경, 저항성이 생기기 전 감수성해충이 약제에 적절히 노출되도록 모자이크방식처럼 일정구역만 살포하여 비 살포구를 두거나, 특정 발육단계 만 살포, 교호살포) 등으로 이중에서 가장 중요한 것은 다른 계통의 약제를 교호살포하는 것이다(Zhao et al., 2010). 교호살포 전략은 같은 공간에서 다른 시간에 적용하는 것으로 한가지 약제에 저항성인 개체군에 다음 번 살포에는 다른 약제를 살포하는 것이다. 이것은 모자이크(mosaic) 처리와도 비슷한데, 모자이크처리는 동일한 개체군에 대해 두가지 이상의 살충제를 서로 다른 지역에 살포하는 것으로, 즉 한 농부 또는 다른 농부가 같은 개체군에 대해 다른 작물이나 지역에서 다른 약제를 살포하는 것으로 작용기작이 다르고 교차저항성이 없는 개체군의 초기 관리에 효과적일 수 있다(Roush, 1989; Zhu et al., 2016). 그러나 모자이크 방식은 한 지역에 두개 이상의 살충제가 한 세대에 동시에 살포되므로 살충제의 내구성이 오히려 저하될 수 있어, 모자이크 방식은 교호살포보다 더 좋지 않은 결과를 가져올 수 있다고 하여(Zhao et al., 2010), 이 방법에 대한 연구와 논의는 추후 더 이루어져야 할 것이다.

해충종합관리를 위해 생물 농약을 사용하기도 한다. 생물농약은 일반적으로 표적 곤충에 대해 특이성을 가지며 비 표적 유기체에 미치는 영향은 제한적이고, 생분해성이고 환경에 축적될 위험이 낮으며, 활성 성분은 생물학적으로 다양한 구조와 작용 방식을 갖고 있어 살충제 저항성의 발달을 억제하는 데 도움이 되기 때문이다(Zhu et al., 2016). 또한 천적을 이용한 생물적 방제가 자주 이용되는데, 이리응애과(Phytoseiidae)의 칠레이리응애(*Phytoseiulus persimilis*)와 사막이리응애(*Neoseiulus californicus*)가 대표적인 응애류 천적이며 이들 종은 많은 양을 섭식하고 내적자연증가율이 높아 발육율이 높기 때문이다(Hoy, 2011). 그 중에서 식물추출물이나 식물정유가 저항성 응애에 대한 종합관리차원에서 천적과 함께 사용 가능할 것으로 보인다(Rincón et al., 2019). Han et al. (2010)은 레몬유칼립투스 정유가 chlorfenapyr (저항성비 > 9,140), fenpropathrin (저항성비 94), pyridaben (저항성비 > 390) 그리고 abamectin (저항성비 85)에 저항성인 점박이응애에 대해 높은 독성을 보여 저항성 개체군을 관리 할 수 있을 것으로 평가하였다.

식물추출물과 천적을 함께 사용하는 종합관리를 위해서 주엽, 차나무, 란타나, 계피 등을 혼합한 추출물이 점박이응애보다 천적인 칠레이리응애에 저독성을 나타내어 사용 가능성을 확인

한 바 있다(Lee et al., 2019). Kim et al. (2009)은 제충국과 멀구슬이 칠레이리온애에 대해 높은 살충효과를 보이지만 애꽃노린재에는 낮으며, 독성도 제충국은 낮으나 멀구슬 추출물은 높기 때문에 천적 방사 시에는 멀구슬 추출물을 먼저 살포하고 최소 1일 이후에 천적을 방사하여야 한다고 보고하여 식물추출물은 천적 종류에 따라 독성이 다르게 나타남을 알 수 있다. 또한 Cheon et al. (2008)은 긴털이리온애와 점박이온애 독성 시험에서 fluacrypyrin과 cyflumetofen이 점박이온애 종합관리 체계에서 긴털이리온애와 함께 사용 가능하다고 하였다. Kim and Yoo (2002)도 긴털이리온애와 긴꼬리이리온애의 암컷 성충과 알에 영향이 적은 살비제 4종, 살충제 2종, 살균제 4종을 선발하였다. Ahn et al. (2004)은 칠레이리온애에 대해서 acetylquinocyl, bifenazate, fenbutatin oxide, spirodiclofen 등 살비제 4종과 살충제 5종, 살균제 7종을 선발하여 장미 점박이온애의 종합관리에서 사용 가능하다고 하였다.

Neem 유래 생물농약 또한 칠레이리온애, 사막이리온애, *Euseius alatus*, *Phytoseiulus macropilis* 와 함께 종합관리 자원으로 사용가능 하지만(Brito et al., 2006; Bernardi et al., 2013), 동양이리온애(*Metaseiulus occidentalis*)와는 사용할 수 없다(Yanar, 2019)고 하여 식물 추출물 종류와 천적 사이의 독성 여부를 잘 살펴야 종합관리가 성공할 것이다.

천적을 사용할 때 작물에 따라 천적을 다르게 사용해야 하는데, den Belder et al. (2009)는 장미온실에서는 점박이온애 종합관리 연구에서 천적인 칠레이리온애(*Phytoseiulus persimilis*)와 *Amblyseius californicus* 두 종을 동시에 방사하는 것이 농약만 사용하는 것보다 점박이온애의 밀도를 더 낮게 유지시킬 수 있으므로 농약과 함께 천적을 이용한 생물적 방제를 하기 위해 천적의 유지를 위한 환경 관리가 필요하다고 보고하였다. 딸기에서는 abamectin과 fenpyroximate의 저항성 비율이 69%, 68.3%까지 올라가는 포장에서 천적인 *Neoseiulus californicus*와 선택성 약제인 propagite를 사용함으로써 점박이온애의 밀도를 관행보다 6배 낮게 유지시킬 수 있었다(Iwassaki et al. (2015). 또한 Lilley and Campbell (1999)은 dwarf hop에서는 점박이온애를 방제하기 위해 clofentezine과 칠레이리온애를 처리하여 천적 단독, 농약 단독 보다 더 낮은 밀도를 유지할 수 있었다. 그러나 tall hop에서는 칠레이리온애가 적합하지 않고(Hirschberger and Kremheller, 1993), *Typhlodromus pyri*와 *T. occidentalis*가 적합하다고 하였다(Pruszyński and Cone, 1972). 대신 *T. occidentalis*는 사과에는 적합하지 않다고 하여 작물에 따라 종합관리를 위해서는 면밀한 선택성 약제와 천적 선정이 필요할 것이다. 선택성 약제 선발에서 Bergeron and Schmidt-Jeffris (2020)는 bifenthrin은 천적인 칠레이리온애, *Neoseiulus californicus*,

*N. fallacis*에 대해 독성을 보이며 점박이온애를 방제하지 못하여 선택적이지 않았으나 cyflumethofen, bifenazate, acequinocyl은 선택성 약제로 사용 가능하다고 한 바 있다. 저항성 응애에 대해 약제를 선발하는 것 또한 중요한데, Bergeron and Schmidt-Jeffris (2021)은 South Carolina 딸기 점박이온애 6개 개체군에 대해 약제 저항성을 평가하면서 bifenthrin, fenbutatin oxide, abamectin은 저항성이 증가하거나 감수성이 감소했으나 hexythiazox, etoxazole, acequinocyl, bifenazate, fenpyroximate, spiromesifen, cyflumetofen는 저항성이 발견되지 않아 추천할 수 있다고 하면서 광범위 살충제나 생산된 지 오래된 제품의 사용을 줄여야 한다고 주장한 바 있다.

그러나 Alzoubi and Çobanoğlu (2010)는 bifenthrin과 칠레이리온애를 이용하여 온실의 오이재배에서 점박이온애를 방제하면 약제단독이나 천적단독 처리보다 낮은 밀도를 유지시킬 수 있다고 하여 약제저항성이 많이 알려진 약제라도 지역이나 재배작물에 따라 종합관리에 사용할 수 있을 것으로 판단된다. 때로는 같은 지역에서 작물별로 채집한 점박이온애는 약제에 대해 거의 같은 저항성을 보이기도 한다. Vassiliou and Kitsis (2013)는 Cyprus섬의 장미, 토마토, 콩, 오이에서 채집한 점박이온애 개체군을 Leaf disk법으로 독성수준을 검정한 결과 abamectin과 acrinathrin에 대해 저항성이 높기 때문에 실내외 모든 환경에서 사용을 자제해야 한다고 보고한 바 있다.

결론

기후가 변화하여 건조하고 따뜻해지면 응애는 활동 범위를 넓히고 세대단축이 빨라질 것으로 예상하고 있다(Ximenez-Embun et al., 2017). 즉 온난화지역에서는 발생이 증가할 것이기 때문에 응애의 적극적인 관리 전략이 더욱 필요한 시점이다. 세계적인 관심으로 인해 1984년에 결성된 Insecticide Resistance Action Committee (IRAC)가 약제 저항성의 사례를 정의하고 문서화하여 정보 및 교육하는 기관으로 해충의 생물학적 분류, 살충제 적용방법, 저항성 관리 특히 살충제 작용 기작에 대한 분류를 집중적으로 담당하고 있다(Sparks et al., 2021). 농약의 저항성 문제는 작물보호회사, 농업인, 연구기관, 컨설팅 업체 모두의 관심사항으로 광범위한 협력에 의해 해결해야할 과제인 것이다. 해충 저항성 관리는 3가지 기본 범주에서 인식을 해야 하는데 비화학적 처리에 의한 낮은 선택, 유인제나 상충제에 의한 저항성 개체의 선택적 제거, 관련 없는 다른 살충제 교호, 혼합에 의한 다중부위 작용 등으로 관리 전략은 해당 종의 생물학과 생태를 파악하여 가능한 비 화학적 방법을 활용하는 것이다(Georghiou, 1994).

Ramasubramanian et al. (2005)은 약제저항성 관리를 위해 몇가지 제안을 하였는데, 주기적인 모니터링으로 저항성 정도를 확인하고, 살포농도를 다르게 하며 저항성이 생긴 약제는 살포를 제한해야 하고 교호살포를 하되 교차저항성이 없는 약제나 작용기작이 다른 약제를 선발, 살포한다. 또한 혼합 살포는 1회 정도로 제한하여 더 높은 저항성 유발을 방지해야 하며 미생물이나 식물성 농약과 혼용도 권장할 만하며 신규 살비제는 저항성 발달 가능성을 낮추기 위한 LC₅₀을 확립해서 관리하는 것이 필요하다고 한 바 있다. 최근에는 농약사의 추천으로 사용한 농약이 효과가 떨어지거나 작용기작이 비슷한 약제의 지속적인 사용, 일반성분은 같으나 상표명이 달라 지속적인 사용 등으로 저항성 발달이 이루어 지기도 하기 때문에 농가에서 손쉽게 정보를 제공 받도록 충재벌레 대해 웹 기반 플랫폼을 구축하여 농가 맞춤형 방제와 함께 약제저항성을 효율적으로 관리하는 경우도 있다(Kim et al., 2023).

살충제 저항성 응애류 관리는 농작물의 안전한 재배와 지속 가능한 농업을 강화시켜 생태계를 보전하기 위한 살비제의 효율적인 사용을 위해 설계되어 농약 효과는 극대화 시키고 선택 압력을 최소화하면서 생태계의 부작용을 경감 시키는 것이다(Han and Kim, 2012). 앞으로 유전자 조작, 인공지능 등의 혁신적인 기술이 도입되어 응애류 관리의 효율성을 높일 것으로 기대한다. 해충 개체군에 대한 살충제 감수성 조사는 살충제 효과의 변화를 감지하여 화학적 방제 전략을 예방적으로 세울 수 있는 접근 방식이다. 화학적 방제를 포함한 해충종합관리 방안을 수립하는데 중요한 역할을 하는 것이다.

Acknowledgments

Funding was provided by the Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (project no. RS02022-RD010417), Rural Development Administration, Republic of Korea.

Statements for Authorship Position & Contribution

Kim, D.-I.: Digital Crop Hospital Research Center, Chonnam National University, Position: Research Professor: Involved in design and ideas, Collecting references, drawing figures, and writing first draft.

Lee, J.H.: BASF Korea LTD, Position: Researcher: Involved in design and ideas, data acquisition and

analysis, drawing Figures, and writing first draft.

Kim, K.M.: Digital Agricultural Research Center, Position: CEO: Involved in design and ideas, data acquisition and analysis, drawing Figures, and writing first draft.

Kim, Y.C.: Department of Applied Biology, Chonnam National University, Position-Full Professor; Involved in study conception and design, drawing Figures and Tables, manuscript preparation, and financial grant acquisition.

All authors read and approved the manuscript.

Literature Cited

- Adesanya, A.W., Lavine, M.D., Moural, T.W., Lavine, L.C., Zhu, F., Walsh, D.B., 2021. Mechanisms and management of acaricide resistance for *Tetranychus urticae* in agroecosystems. *J. Pest Sci.* 94, 639-663.
- Ahn, K.-S., Lee, S.-Y., Lee, K.-Y., Lee, Y.-S., Kim, G.-H., 2004. Selective toxicity of pesticides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* and control effects of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* by predatory mite and pesticide mixture on rose. *Korean J. Appl. Entomol.* 43, 71-79.
- Ahn, Y.J., Kim, G.H., Park, N.J., Cho, K.Y., 1992. Establishment of bioassay system for developing new insecticide II. Differences in susceptibilities of the insect species to insecticides according to different application methods. *Korean J. Appl. Entomol.* 31, 452-460.
- Al-Lala, M.R.K.L., Al-Antary, T.M., Abdel-Wali, M.I., 2012. Response of seven populations of the two spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch) for spiromesifen on cucumber under plastic houses in Jordan. *J. Adv. Biol.* 2669-2674.
- Alzoubi, S., Çobanoğlu, S., 2010. Integrated control possibilities for two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) on greenhouse cucumber. *Int. J. Acarol.* 36, 259-266.
- Asahara, M., Uesugi, R., Osakabe, M., 2008. Linkage between one of the polygenic hexythiazox resistance genes Journal of economic entomology and an etoxazole resistance gene in the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 101, 1704-1710.
- Ay, R., Gürkan, M.O., 2005. Resistance to bifenthrin and resistance mechanisms of different strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) from Turkey. *Phytoparasitica.* 33, 237-244.
- Bergeron, P.E., Schmidt-Jeffris, R.A., 2020. Not all predators are equal: miticide non-target effects and differential selectivity. *Pest Manag. Sci.* 76, 2170-2179.

- Bergeron, P.E., Schmidt-Jeffris, R.A., 2021. Spider mite resistance to miticides in South Carolina strawberry and implications for improved integrated pest management. *Exp. Appl. Acarol.* 84, 407-418.
- Bernardi, D., Botton, M., da Cunha, U.S., Bernardi, O., Malausa, T., Garcia, M.S., Nava, D.E., 2013. Effects of azadirachtin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and its compatibility with predatory mites (Acari: Phytoseiidae) on strawberry. *Pest Manag. Sci.* 69, 75-80.
- Bostanian, N.J., Beudjekian, S., McGregor, E., Racette, G., 2009. A modified excised leaf disc method to estimate the toxicity of slow-and fast-acting reduced-risk acaricides to mites. *J. Econ. Entomol.* 102, 2084-2089.
- Brito, H.M., Gondim Jr, M.G., Oliveira, J.V.d., da Câmara, C.A., 2006. Toxicidade de formulações de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) ao ácaro-rajado e a *Euseius alatus* De Leon e *Phytoseiulus macropilis* (Banks)(Acari: Phytoseiidae). *Neotrop. Entomol.* 35, 500-505.
- Busvine, J.R., 1980. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Campos, F., Dybas, R.A., Krupa, D.A., 1995. Susceptibility of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) populations in California to abamectin. *J. Econ. Entomol.* 88, 225-231.
- Chapman, R., Penman, D., 1984. Resistance to propargite by European red mite and two-spotted mite. *New Zealand J. Agric. Res.* 27, 103-105.
- Cheon, G.S., Paik, C.H., Kim, S.S., 2008. Selective toxicity of three acaricides to the predatory mite, *Neoseiulus womersleyi* and its prey, *Tetranychus urticae*. Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae: Acari: Phytoseiidae, Tetranychidae. *Korean J. Pestic. Sci.* 12, 249-255.
- Choi, J., Koo, H.-N., Kim, S.I., Park, B., Kim, H., Kim, G.-H., 2020. Target-site mutations and glutathione S-transferases are associated with acequinocyl and pyridaben resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insects* 11, 511.
- Clark, J., Scott, J., Campos, F., Bloomquist, J., 1995. Resistance to avermectins: extent, mechanisms, and management implications. *Annu. Rev. Entomol.* 40, 1-30.
- Demaeght, P., Dermauw, W., Tsakireli, D., Khajehali, J., Nauen, R., Tirry, L., Vontas, J., Lümmer, P., Van Leeuwen, T., 2013. Molecular analysis of resistance to acaricidal spirocyclic tetrone acids in *Tetranychus urticae*: CYP392E10 metabolizes spiropdiclofen, but not its corresponding enol. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 43, 544-554.
- Demaeght, P., Osborne, E.J., Odman-Naresh, J., Grbic, M., Nauen, R., Merzendorfer, H., Clark, R.M., Van Leeuwen, T., 2014. High resolution genetic mapping uncovers chitin synthase-1 as the target-site of the structurally diverse mite growth inhibitors clofentazine, hexythiazox and etoxazole in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 51, 52-61.
- den Belder, E., Elings, A., Yilma, Y., Dawd, M., Lemessa, F., 2009. On-farm evaluation of integrated pest management of red-spider mite in cut roses in Ethiopia: final report to the Ministry of Agriculture and Rural Development. Wageningen UR Greenhouse Horticulture, Wageningen, Netherlands.
- Dennehy, T.J., Farnham, A.W., Denholm, I., 1993. The micro-immersion bioassay: a novel method for the topical application of pesticides to spider mites. *Pestic. Sci.* 39, 47-54.
- Dennehy, T.J., Granett, J., Leigh, T.F., 1983. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *J. Econ. Entomol.* 76, 1225-1230.
- Dermauw, W., Ilias, A., Riga, M., Tsagkarakou, A., Grbic, M., Tirry, L., Van Leeuwen, T., Vontas, J., 2012. The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: Implications for acaricide toxicity and a novel mutation associated with abamectin resistance. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 42, 455-465.
- Deutsch, C.A., Tewksbury, J.J., Tigchelaar, M., Battisti, D.S., Merrill, S.C., Huey, R.B., Naylor, R.L., 2018. Increase in crop losses to insect pests in a warming climate. *Science* 361, 916-919.
- Devine, G.J., Barber, M., Denholm, I., 2001. Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pest Manag. Sci.* 57, 443-448.
- Dong, K., 2007. Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invertebr. Neurosci.* 7, 17-30.
- Ferreira, C.B., Andrade, F.H., Rodrigues, A.R., Siqueira, H.A., Gondim Jr, M.G., 2015. Resistance in field populations of *Tetranychus urticae* to acaricides and characterization of the inheritance of abamectin resistance. *Crop Prot.* 67, 77-83.
- Flexner, J., Westigard, P., Croft, B., 1988. Field reversion of organotin resistance in the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) following relaxation of selection pressure. *J. Econ. Entomol.* 81, 1516-1520.
- Fotoukiai, S.M., Tan, Z., Xue, W., Wybouw, N., Van Leeuwen, T., 2020. Identification and characterization of new mutations in mitochondrial cytochrome b that confer resistance to bifentazate and acequinocyl in the spider mite *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 76, 1154-1163.
- Georghiou, G.P., 1994. Principles of insecticide resistance management. *Phytoprotection.* 75, 51-59.
- Grbić, M., Van Leeuwen, T., Clark, R.M., Rombauts, S., Rouzé, P., Grbić, V., Osborne, E.J., Dermauw, W., Thi Ngoc, P.C., Ortego, F., 2011. The genome of *Tetranychus urticae* reveals herbivorous pest adaptations. *Nature* 479, 487-492.
- Han, J., Choi, B.-R., Lee, S.-G., Il Kim, S., Ahn, Y.-J., 2010. Toxicity of plant essential oils to acaricide-susceptible and-resistant *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). *J. Econ. Entomol.* 103, 1293-1298.
- Han, S.-B., Kim, J.-H., 2012. Research trend on secure tools to

- manage pesticide resistance. *Korean J. Pestic. Sci.* 16, 409-417.
- Hemingway, J., 1998. Technique to detect insecticide resistance mechanism (field and laboratory manual). WHO CD, Geneva, Switzerland, p. 39.
- Herron, G., Rophail, J., Wilson, L., 2001. The development of bifenthrin resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton. *Exp. Appl. Acarol.* 25, 301-310.
- Herron, G., Rophail, J., Wilson, L., 2004. Chlorfenapyr resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton. *Exp. Appl. Acarol.* 34, 315-321.
- Herron, G.A., Rophail, J., 1993. Genetics of hexythiazox resistance in two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Exp. Appl. Acarol.* 17, 423-431.
- Hirschberger, G., Kremheller, H., 1993. Biologische Bekämpfung der Roten Spinnmilbe (*Tetranychus urticae*) im Hopfenbau. *Gesunde Pflanzen.* 45, 96-98.
- Hoy, M.A., 2011. Agricultural acarology: introduction to integrated mite management. CRC press, Boca Raton, Florida.
- Hu, J., Wang, C., Wang, J., You, Y., Chen, F., 2010. Monitoring of resistance to spiroticlofen and five other acaricides in *Panonychus citri* collected from Chinese citrus orchards. *Pest Manag. Sci.* 66, 1025-1030.
- İnak, E., Alpkent, Y.N., Çobanoğlu, S., Toprak, U., Van Leeuwen, T., 2022a. Incidence of spiromesifen resistance and resistance mechanisms in *Tetranychus urticae* populations collected from strawberry production areas in Turkey. *Crop Prot.* 160, 106049.
- İnak, E., Alpkent, Y.N., Saalwaechter, C., Albayrak, T., Inak, A., Dermauw, W., Geibel, S., Van Leeuwen, T., 2022b. Long-term survey and characterization of cyflumetofen resistance in *Tetranychus urticae* populations from Turkey. *Pestic. Biochem. Physiol.* 188, 105235.
- Iwassaki, L.A., Sato, M.E., Calegario, F.F., Poletti, M., Maia, A.d.H.N., 2015. Comparison of conventional and integrated programs for control of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.* 65, 205-217.
- Jakubowska, M., Dobosz, R., Zawada, D., Kowalska, J., 2022. A review of crop protection methods against the twospotted spider mite - *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) - with special reference to alternative methods. *Agriculture* 12, 898.
- Kabir, K., Chapman, R., Penman, D., 1993. Miticide bioassays with spider mites (Acari: Tetranychidae): effect of test method, exposure period and mortality criterion on the precision of response estimates. *Exp. Appl. Acarol.* 17, 695-708.
- Keena, M.A., Granett, J., 1990. Genetic analysis of propargite resistance in pacific spider mites and twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 83, 655-661.
- Khajehali, J., Alavijeh, E.S., Ghadamyari, M. Marčić, D., 2021. Acaricide resistance in *Panonychus citri* and *P. ulmi* (Acari: Tetranychidae): Molecular mechanisms and management implications. *Syst. Appl. Acarol.* 26, 1526-1542.
- Khalighi, M., Dermauw, W., Wybouw, N., Bajda, S., Osakabe, M., Tirry, L., Van Leeuwen, T., 2016. Molecular analysis of cyenopyrafen resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 72, 103-112.
- Kim, D.-I., Kim, S.-G., Kang, B.-R., Ko, S.-J., Kim, J.-S., Kim, S.-S., 2009. Management of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, on organic strawberry field in Jeonnam area and toxicity of natural enemies against crude extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* and *Melia azedarach*. *Korean J. Org. Agr.* 17, 211-226.
- Kim, D.I., Lee, S.C., 1992. Toxicological test methods and AChE inhibition of organophosphorus acaricides of two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Korean J. Appl. Entomol.* 31, 1-6.
- Kim, S.-H., Lee, Y.S., Shin, Y.S., Han, S.J., Jeong, I.-H., Lee, S.H., 2023. Establishment of a web-based platform for the management of thrips insecticide resistance. *Korean J. Pestic. Sci.* 27, 361-371.
- Kim, S.S., Yoo, S.S., 2002. Comparative toxicity of some acaricides to the predatory mite, *Phytoseiulus persimilis* and the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *BioControl* 47, 563-573.
- Kim, Y.J., Lee, S.H., Lee, S.W., Ahn, Y.J., 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Manag. Sci.* 60, 1001-1006.
- Knight, A., Beers, E., Hoyt, S., Riedl, H., 1990. Acaricide bioassays with spider mites (Acari: Tetranychidae) on pome fruits: evaluation of methods and selection of discriminating concentrations for resistance monitoring. *J. Econ. Entomol.* 83, 1752-1760.
- Korea Crop Protection Association, 2022, Agrochemical year book, Munsun Design, Seoul.
- Kwon, D., Clark, J., Lee, S., 2010a. Extensive gene duplication of acetylcholinesterase associated with organophosphate resistance in the two-spotted spider mite. *Insect Mole. Biol.* 19, 195-204.
- Kwon, D.H., Clark, J.M., Lee, S.H., 2004. Estimation of knockdown resistance in diamondback moth using real-time PASA. *Pestic. Biochem. Physiol.* 78, 39-48.
- Kwon, D.H., Clark, J.M., Lee, S.H., 2010b. Cloning of a sodium channel gene and identification of mutations putatively associated with fenpropathrin resistance in *Tetranychus urticae*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 97, 93-100.
- Kwon, D.H., Seong, G.M., Kang, T.J., Lee, S.H., 2010c. Multiple resistance mechanisms to abamectin in the two-spotted spider mite. *J. Asia. Pac. Entomol.* 13, 229-232.
- Lee, C.-J., Kuk, Y.-I., Kim, S.-S., 2019. Differential susceptibility of *Tetranychus urticae* and its predator, *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) against individual and combined treatments of plant extracts. *Korean J. Org. Agric.* 27, 327-339.
- Lee, K.-R., Shin, Y.-H., Cho, S.-R., Koo, H.-N., Choi, J.-J., Ahn, K.-S., Kim, G.-H., 2011. Monitoring of bifenazate resistant two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* using molecular detection method. *Korean J. Pestic. Sci.* 15, 61-67.
- Lee, Y.-S., Song, M.-H., Ahn, K.-S., Lee, K.-Y., Kim, J.-W., Kim,

- G.-H., 2003. Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. *J. Asia. Pac. Entomol.* 6, 91-96.
- Lilley, R., Campbell, C.A., 1999. Biological, chemical and integrated control of two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* on dwarf hops. *Biocontrol Sci. Technol.* 9, 467-473.
- Lindquist, E.E., Bruin, J., Sabelis, M.W., 1996. Eriophyoid mites: their biology, natural enemies and control. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Maeoka, A., Osakabe, M., 2021. Co-occurrence of subunit B and C mutations in respiratory complex II confers high resistance levels to pyflubumide and cyenopyrafen in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pest Manag. Sci.* 77, 5149-5157.
- Martínez-Huasanche, F., Rodríguez-Maciel, J.C., Santillán-Galicia, M.T., Lagunes-Tejeda, Á., Rodríguez-Martínez, D., Toledo-Hernandez, R., Guzmán-Franco, A.W., Silva-Aguayo, G., 2021. Rapid bioassay for detection of acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Entomol. Sci.* 56, 246-255.
- Migeon, A., Nouguier, E., Dorkeld, F., 2010. Spider mites web: a comprehensive database for the Tetranychidae. *Trends in acarology: Proceedings of the 12th international congress.* Springer, New York, pp. 557-560.
- Miller, A.L., Tindall, K., Leonard, B.R., 2010. Bioassays for monitoring insecticide resistance. *J. Vis. Exp.* 46, e2129.
- Nauen, R., Stumpf, N., Elbert, A., Zebitz, C.P., Kraus, W., 2001. Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). *Pest Manag. Sci.* 57, 253-261.
- Nicastro, R.L., Sato, M.E., Arthur, V., Da Silva, M.Z., 2013. Chlorfenapyr resistance in the spider mite *Tetranychus urticae*: stability, cross-resistance and monitoring of resistance. *Phytoparasitica* 41, 503-513.
- Nicastro, R.L., Sato, M.E., Da Silva, M.Z., 2010. Milbemectin resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): selection, stability and cross-resistance to abamectin. *Exp. Appl. Acarol.* 50, 231-241.
- Njiru, C., Saalwaechter, C., Gutbrod, O., Geibel, S., Wybouw, N., Van Leeuwen, T., 2022. A H258Y mutation in subunit B of the succinate dehydrogenase complex of the spider mite *Tetranychus urticae* confers resistance to cyenopyrafen and pyflubumide, but likely reinforces cyflumetofen binding and toxicity. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 144, 103761.
- Papapostolou, K.M., Riga, M., Charamis, J., Skoufa, E., Souchlas, V., Ilias, A., Dermauw, W., Ioannidis, P., Van Leeuwen, T., Vontas, J., 2021. Identification and characterization of striking multiple-insecticide resistance in a *Tetranychus urticae* field population from Greece. *Pest Manag. Sci.* 77, 666-676.
- Pavlidis, N., Khalighi, M., Myridakis, A., Dermauw, W., Wybouw, N., Tsakireli, D., Stephanou, E.G., Labrou, N.E., Vontas, J., Van Leeuwen, T., 2017. A glutathione-S-transferase (TuGSTd05) associated with acaricide resistance in *Tetranychus urticae* directly metabolizes the complex II inhibitor cyflumetofen. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 80, 101-115.
- Pree, D., Bittner, L., Whitty, K., 2000. Field bioassay methodologies for the detection of resistance to acaricides in populations of European red mite (Acari: Tetranychidae). *Can. Entomol.* 132, 69-80.
- Pree, D., Cole, K., Fisher, P., 1989. Comparison of leaf disc and petri dish assays for the assessment of dicofol resistance in populations of European red mite from southern Ontario. *Can. Entomol.* 121, 771-776.
- Pruszyński, S., Cone, W.W., 1972. Relationships between *Phytoseiulus persimilis* and other enemies of the twospotted spider mite on hops. *Environ. Entomol.* 1, 431-433.
- Ramasubramanian, T., Ramaraju, K., Regupathy, A., 2005. Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)-global scenario. *J. Entomol.* 2, 33-39.
- Rincón, R.A., Rodríguez, D., Coy-Barrera, E., 2019. Botanicals against *Tetranychus urticae* Koch under laboratory conditions: a survey of alternatives for controlling pest mites. *Plants* 8, 272.
- Roush, R.T., 1989. Designing resistance management program: How can you choose? *Pestic. Sci.* 26, 423-441.
- Sato, M.E., Silva, M.Z.d., Raga, A., Souza Filho, M.F.d., 2005. Abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae): selection, cross-resistance and stability of resistance. *Neotrop. Entomol.* 34, 991-998.
- Shin, E., Cho, S.-R., Kang, Y.-G., Kim, H.K., Koo, H.-N., Kim, G.-H., 2021. Analysis of point mutations associated with resistance and acaricides selection for control of field-collected populations in two-spotted mites, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Korean J. Pestic. Sci.* 25, 177-187.
- Skendžić, S., Zovko, M., Živković, I.P., Lešić, V., Lemić, D., 2021. The impact of climate change on agricultural insect pests. *Insects.* 12, 440.
- Smitsaert, H., 1964. Cholinesterase inhibition in spider mites susceptible and resistant to organophosphate. *Science* 143, 129-131.
- Sparks, T.C., Nauen, R., 2015. IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pestic. Biochem. Physiol.* 121, 122-128.
- Sparks, T.C., Storer, N., Porter, A., Slater, R., Nauen, R., 2021. Insecticide resistance management and industry: the origins and evolution of the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) and the mode of action classification scheme. *Pest Manag. Sci.* 77, 2609-2619.
- Stumpf, N., Nauen, R., 2001. Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 94, 1577-1583.
- Sugimoto, N., Osakabe, M., 2014. Cross-resistance between cyeno-

- pyrafen and pyridaben in the twospotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pest Manag. Sci.* 70, 1090-1096.
- Tirello, P., Pozzebon, A., Cassanelli, S., Van Leeuwen, T., Duso, C., 2012. Resistance to acaricides in Italian strains of *Tetranychus urticae*: toxicological and enzymatic assays. *Exp. Appl. Acarol.* 57, 53-64.
- Tong, L., 2005. Acetyl-coenzyme A carboxylase: crucial metabolic enzyme and attractive target for drug discovery. *Cell Mol. Life Sci.* 62, 1784-1803.
- Tsagkarakou, A., Leeuwen, T.V., Khajehali, J., Ilias, A., Grispou, M., Williamson, M., Tirry, L., Vontas, J., 2009. Identification of pyrethroid resistance associated mutations in the para sodium channel of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insect Mol. Biol.* 18, 583-593.
- Uesugi, R., Goka, K., Osakabe, M., 2002. Genetic basis of resistances to chlorfenapyr and etoxazole in the two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 95, 1267-1274.
- Van Leeuwen, T., Demaeght, P., Osborne, E.J., Dermauw, W., Gohlke, S., Nauen, R., Grbic, M., Tirry, L., Merzendorfer, H., Clark, R.M., 2012. Population bulk segregant mapping uncovers resistance mutations and the mode of action of a chitin synthesis inhibitor in arthropods. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 4407-4412.
- Van Leeuwen, T., Tirry, L., 2007. Esterase-mediated bifenthrin resistance in a multiresistant strain of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 63, 150-156.
- Van Leeuwen, T., Van Pottelberge, S., Tirry, L., 2005. Comparative acaricide susceptibility and detoxifying enzyme activities in field-collected resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 61, 499-507.
- Van Leeuwen, T., Vanholme, B., Van Pottelberge, S., Van Nieuwenhuysse, P., Nauen, R., Tirry, L., Denholm, I., 2008. Mitochondrial heteroplasmy and the evolution of insecticide resistance: Non-mendelian inheritance in action. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 5980-5985.
- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W., Tirry, L., 2010a. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40, 563-572.
- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Dermauw, W., Tirry, L., 2010b. Acaricide resistance mechanisms in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* and other important Acari: a review. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40, 563-572.
- Van Leeuwen, T., Vontas, J., Tsagkarakou, A., Tirry, L., 2009. Mechanisms of acaricide resistance in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. in: Ishaaya, I., Horowitz, A.R. (Eds.), *Bio-rational control of arthropod pests: application and resistance management*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 347-393.
- Van Nieuwenhuysse, P., Van Leeuwen, T., Khajehali, J., Vanholme, B., Tirry, L., 2009. Mutations in the mitochondrial cytochrome b of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) confer cross-resistance between bifentazate and acequinocyl. *Pest Manag. Sci.* 65, 404-412.
- Vassiliou, V.A., Kitsis, P., 2013. Acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations from Cyprus. *J. Econ. Entomol.* 106, 1848-1854.
- Vontas, J.G., Small, G.J., Hemingway, J., 2001. Glutathione S-transferase as antioxidant defence agents counter pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochem. J.* 357, 65-72.
- Voss, G., 1961. Ein neues akarizid-austestungsverfahren für spinnmilben. *Anz. Schadlingskd.* 34, 76-77.
- Wang, C., Wang, X., Jin, Z., Müller, C., Pugh, T.A., Chen, A., Wang, T., Huang, L., Zhang, Y., Li, L.X., 2022. Occurrence of crop pests and diseases has largely increased in China since 1970. *Nature Food.* 3, 57-65.
- Wang, L., Zhang, Y., Xie, W., Wu, Q., Wang, S., 2015. A bioassay for evaluation of the resistance of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) to selected acaricides. *Syst. Appl. Acarol.* 20, 570-590.
- Welty, C., Reissig, W., Dennehy, T., Weires, R., 1987. Cyhexatin resistance in New York populations of European red mite (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 80, 230-236.
- Ximenez-Embun, M.G., Castanera, P., Ortego, F., 2017. Drought stress in tomato increases the performance of adapted and non-adapted strains of *Tetranychus urticae*. *J. Insect Physiol.* 96, 73-81.
- Xue, W., Snoeck, S., Njiru, C., Inak, E., Dermauw, W., Van Leeuwen, T., 2020. Geographical distribution and molecular insights into abamectin and milbemectin cross-resistance in European field populations of *Tetranychus urticae*. *Pest Manag. Sci.* 76, 2569-2581.
- Yanar, D., 2019. Side effects of different doses of azadirachtin on predatory mite *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari: Phytoseiidae) under laboratory conditions. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 17, 3433-3440.
- Yorulmaz, S., Ay, R., 2009. Multiple resistance, detoxifying enzyme activity, and inheritance of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Turkish J. Agri. Forest.* 33, 393-402.
- Zhao, J.Z., Collins, H.L., Shelton, A.M., 2010. Testing insecticide resistance management strategies: mosaic versus rotations. *Pest Manag. Sci.* 66, 1101-1105.
- Zhu, F., Lavine, L., O'Neal, S., Lavine, M., Foss, C., Walsh, D., 2016. Insecticide resistance and management strategies in urban ecosystems. *Insects* 7, 2.