

**VILNIAUS UNIVERSITETO EKOLOGIJOS INSTITUTAS**  
**VILNIAUS UNIVERSITETAS**

Sandra Radžiutė

**KAIROMONŲ IR FOTOSENSIBILIZATORIŲ, VEIKIANČIŲ**  
***LIRIOMYZA BRYONIAE* (DIPTERA, AGROMYZIDAE), TYRIMAI**

Daktaro disertacija

Biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra (03 B)

Vilnius, 2009

Disertacija rengta 2005 – 2009 metais Vilniaus universiteto Ekologijos institute

Mokslinis vadovas:

prof. habil. dr. Vincas Būda (Vilniaus universitetas, biomedicinos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – 03 B)

## Turinys

ĮVADAS.....	4
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	9
1.1. Minamusių vystymosi biologija.....	9
1.2. Augalo-šeimininko pasirinkimas.....	18
1.3. Ekonominė žala ir kovos būdai.....	25
1.4. Saulės aktyvuojami insekticidai: taikymas ir fototoksinio aktyvumo mechanizmai.....	31
2. MEDŽIAGA IR METODIKA.....	41
2.1. Medžiaga.....	41
2.2. Metodai.....	42
2.2.1. Sąveikos augalas-vabzdys tyrimai.....	42
2.2.2. Fotosensibilizatorių poveikio <i>L. bryoniae</i> tyrimai.....	51
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS.....	54
3.1. Kairomonų, veikiančių <i>L. bryoniae</i> elgseną, paieška.....	54
3.1.1. <i>L. bryoniae</i> patelių maitinimosi paros ritmas.....	54
3.1.2. <i>L. bryoniae</i> antenų sensilių suminės reakcijos (EAG) į augalų kvapus.....	56
3.1.3. Mitybinių augalų kvapo patrauklumas <i>L. bryoniae</i> .....	58
3.1.4. Augalo tinkamo <i>L. bryoniae</i> patelių maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui pasirinkimas.....	63
3.1.5. Potencialūs, <i>L. bryoniae</i> elgseną lemiantys kairomonai.....	67
3.1.6. Metilsalicilato kairomoninės savybės.....	69
3.2. Fotoinsekticidų paieška: įvairių fotosensibilizatorių poveikis bulvinei lirijomyzai <i>L. bryoniae</i> .....	82
3.2.1. <i>L. bryoniae</i> mitybos masalu su skirtingais fotosensibilizatoriais aktyvumas.....	82
3.2.2. Šviesos aktyvuotų fotosensibilizatorių poveikis <i>L. bryoniae</i> išgyvenamumui.....	84
3.2.3. Hematoporfirino dimetileterio kiekis ir	

veikimo trukmė <i>L.bryoniae</i> organizme.....	91
3.3. Apibendrinimas.....	97
4. IŠVADOS.....	99
5. LITERATŪRA.....	101
6. PUBLIKACIJŲ SĄRAŠAS.....	118
DARBO PRIEDAI.....	120

## ĮVADAS

### Darbo aktualumas

Pasaulyje žinoma apie 2450 minamusių rūšių. Lietuvoje jų gali būti apie 400 (Ivinskis ir kt., 1985). Pirmiausiai jomis susidomėta kaip žemės ūkio kenkėjais. Bulvinė liriomyza *Liriomyza bryoniae*, priklausanti dvisparnių būrio Agromyzidae šeimai – vienas plačiausiai paplitusių kenkėjų pramoniniuose pomidorų šiltnamiuose Lietuvoje ir Europoje. Bulvinė liriomyza – polifagas ir savo vystymosi ciklą gali užbaigti ant augalų, priklausančių 16 šeimų. Daugeliu atvejų minamusių lervos minta lapo parenchiminiais audiniais, ir dėl augalui daromos žalos žymiai sumažėja kultūrinių augalų derlius ar dekoratyvinių augalų estetinė vertė. Gamtos sąlygomis šių vabzdžių gausumą reguliuoja jų specifinis parazitoidų kompleksas. Ir tik kartais tokia pusiausvyra suardoma dėl natūralių veiksnių, pavyzdžiui, prarandamas išsiritimo sinchroniškumas tarp minamusių ir jų parazitoidų arba sumažėja parazitoidų populiacija dėl ligos ar nepalankių klimato sąlygų. Daug dažniau ši pusiausvyra pažeidžiama naudojant modernius cheminius insekticidus, kurie daugeliu atveju toksiškesni parazitoidams nei pačioms minamusėms.

Viena iš alternatyvų cheminiams insekticidams galėtų būti fotoinsekticidai. Tai yra fotoaktyvūs organiniai junginiai – fotosensibilizatoriai – kurie geba kauptis įvairiuose organizmuose, tame tarpe ir vabzdžio. Šios medžiagos aktyvuotos saulės ar dirbtinės šviesos skyla, sukeldamos eilę citotoksinių reakcijų vabzdžio organizme bei jo žūtį. Šie junginiai nemutageniški ir nesukeltų taršos problemų aplinkoje, kadangi saulės šviesoje

fotoinsekticidiai junginiai blykšta prarasdami savo savybes. Dažniausiai fotosensibilizatoriai dedami į vabzdžių kenkėjų mitybinę terpę, arba į masalų, sudarytų iš maistinių medžiagų (pvz., įvairių cukrų) sudėtį. Taigi reikalinga efektyvi strategija kaip sumažinti tokių masalų su fotosensibilizatoriais patekimą per mitybą į naudingų vabzdžių organizmą. Viena iš galimybių būtų naudoti naikinamų vabzdžių specifinius atraktantus, kurie pritrauktų prie masalo su fotosensibilizatoriumi norimas rūšis.

Nors pastaraisiais 30 metų Agromyzidae šeima buvo intensyviai tyrinėjama, tačiau dar trūksta žinių apie šių vabzdžių cheminę ekologiją ir elgseną.

Vos prieš keletą metų buvo pradėta tyrinėti minamusių reakcija į mitybinio augalo skleidžiamas lakiąsias chemines medžiagas (Zhao, Kang, 2002, 2003). Nėra abejonių, kad minamusės orientuojasi aplinkoje bei suranda ir atpažįsta mitybinius augalus būtent pastarųjų cheminių junginių dėka. Tokios cheminės medžiagos ir vadinamos kairomonais. Tačiau kol kas identifikuoti tik vieną minamusių rūšį – *Liriomyza sativae* - priviliojantys kairomonai (Wei et al., 2005). Nors daug minamusių mitybinių augalų skleidžiamų lakiųjų medžiagų yra identifikuota (žiūr. 1 priedą), minamusių elgesinės reakcijos į joms svarbias medžiagas kaip ir tų medžiagų mišiniai nėra nuodugnai ištirti. Atraktyvių minamusėms cheminių medžiagų nustatymas kaip ir minamusių elgesinių atsakų į mitybinių augalų skleidžiamas medžiagas ištyrimas padėtų suprasti esminius fiziologinius mechanizmus, atsakingus už vabzdžių elgseną aptinkant tinkamus mitybinius augalus. Taip pat tokių tyrimų rezultatai padėtų ateityje prognozuoti tiek šio kenkėjo gausumą, tiek plitimą, bei galėtų būti panaudoti naujų kovos priemonių, tame tarpe ir paremtų fotopesticidų taikymu, sukūrimui.

### **Darbo tikslas ir uždaviniai**

Darbo tikslas - nustatyti bulvinės liriomyzos *Liriomyza bryoniae* mitybinių augalų skleidžiamus kairomonus, bei ištirti fotosensibilizatorių poveikį

bulvinei lirijomyzai atrenkant efektyviausiai veikiančią (sukeliančią letalius efektus) fotosensibilizuojančią medžiagą.

Uždaviniai:

- ✓ nustatyti bulvinės lirijomyzos *L. bryoniae* patelių maitinimosi paros ritmą;
- ✓ nustatyti *L. bryoniae* uoslės receptorių reakcijas į mitybinių augalų lakiuosius junginius;
- ✓ įvertinti įvairių mitybinių augalų kvapo patrauklumą polifagai *L. bryoniae*;
- ✓ įvertinti polifago *L. bryoniae* mitybinių augalų patrauklumą suaugėlio maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui;
- ✓ nustatyti kairomoną (vieninę medžiagą ar mišinį), atraktyvų bulvinei lirijomyzai;
- ✓ rasti efektyvų fotosensibilizatorių, sukiantį letalius efektus, tačiau neslopinančio *L. bryoniae* maitinimosi;
- ✓ įvertinti efektyvaus fotosensibilizatoriaus farmakokinetiką *L. bryoniae* organizme.

### **Darbo naujumas**

- ✓ Pirmą kartą nustatytas bulvinės lirijomyzos *Liriomyza bryoniae* patelių maitinimosi paros ritmas.
- ✓ Pirmą kartą užregistruotos bulvinės lirijomyzos *Liriomyza bryoniae* patelių ir patinėlių uoslinės reakcijos į mitybinių ir nemitybinio augalų kvapus bei įvertintas mitybinių augalų patrauklumas.
- ✓ Nustatytas pirmas atraktantas *Liriomyza bryoniae* rūšiai.
- ✓ Naudojant GC-EAD metodiką pirmą kartą nustatytos augalinės cheminės medžiagos (potencialūs kairomonai), svarbios *Liriomyza bryoniae* rūšiai.
- ✓ Sukurta originali metodika mitybos fotosensibilizatoriais elgsenos tyrimams *L. bryoniae* rūšies pavyzdžiu.

- ✓ Pirmą kartą palygintas kelių fotosensibilizatorių efektyvumas pagal jų sukeltus letalius efektus Agromyzidae šeimos minamusėms.
- ✓ Pirmą kartą palygintas kelių fotosensibilizatorių efektyvumas minamusėms (Agromyzidae) pagal maitinimosi jais laiką.
- ✓ Pirmą kartą nustatytas fotosensibilizatorius, kuris gali būti naudojamas kaip efektyvus fotopesticidas kovoje su bulvine liriomyza *Liriomyza bryoniae*.
- ✓ Pirmą kartą nustatyta per kiek laiko fotosensibilizatorius - hematoporfirino dimetilo eteris - pašalinamas iš *Liriomyza bryoniae* organizmo.
- ✓ Bendradarbiaujant su Medžiagotyros ir Taikomųjų Mokslų Institutu, jų sukurta originali metodika pirmą kartą buvo panaudota fotosensibilizatoriaus kiekio bei farmakokinetikos vertinimui pavienio vabzdžio organizme (*L. bryoniae* rūšies pavyzdžiu).

### **Mokslinė ir praktinė darbo reikšmė**

Darbo rezultatai papildo Agromyzidae šeimos dvisparnių cheminės ekologijos bei elgsenos žinias. Jie yra svarbūs ir gali būti taikomi:

- ✓ identifikuojant *Liriomyza bryoniae* rūšies kairomonus;
- ✓ atliekant *Liriomyza bryoniae* bei kitų *Liriomyza* genties rūšių potencialių kairomonų paiešką;
- ✓ kuriant monitoringo bei ekologiškai nepavojingas kovos priemones *Liriomyza bryoniae* rūšiai;
- ✓ atliekant efektyviai veikiančių minamuses fotosensibilizatorių paiešką;
- ✓ kuriant fotopesticidų panaudojimo žemės ūkio kenkėjų gausumo reguliavimui programą.

### **Ginamieji darbo teiginiai**

1. Mitybinių augalų kvapo patrauklumą bulvinei liriomyzai *L. bryoniae* įtakoja vabzdžių maitinimosi patirtis lervos stadijoje.

2. Polifagas *L. bryoniae* renkasi skirtingus augalus suaugėlių maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui.

3. Nustatytas *L. bryoniae* elgseną veikiantis kairomonas gali būti efektyvi, gaudyklių atraktyvumą didinanti šių kenkėjų monitoringo priemonė.

4. Ekonomiškai svarbus augalų kenkėjas *L. bryoniae* yra jautrus fotosensibilizacijai, veikiant hematoporfirino dimetileteriu.

### **Darbo aprobavimas ir publikacijos**

Disertacijos medžiaga buvo pristatyta tarptautinėse konferencijose: “Gyvūnų cheminė komunikacija. Fundamentalios problemos” (Maskva, Rusija, 2006), “23, 24, 25 kasmetinėse Tarptautinės Cheminės Ekologijos Draugijos konferencijose” (Jena, Vokietija, 2007; Pensilvanija, JAV, 2008; Neuchatel, Šveicarija, 2009). Tyrimų rezultatai paskelbti 5 moksliniuose straipsniuose (3 iš jų įtraukti į Mokslinės Informacijos Instituto (ISI WOS) duomenų bazes su *impact* faktoriumi) bei 3 konferencijų tezėse.

**Disertacijos struktūra.** Disertacijos rankraštį sudaro šie skyriai: Įvadas, Literatūros apžvalga, Medžiaga ir metodai, Rezultatai ir jų aptarimas (skyrius susideda iš 3 poskyrių), Išvados, 168 literatūros šaltinių sąrašas, autoriaus mokslinių publikacijų sąrašas, Priedai. Disertacijos apimtis – 127 puslapiai, 12 lentelių ir 37 paveikslai. Disertacija parašyta lietuvių kalba, o disertacijos santrauka – anglų kalba.

**Padėkos.** Nuoširdžiai dėkoju už visokeriopą pagalbą ir patarimus savo vadovui prof., habil. dr. Vincui Būdai bei visiems VUEI Cheminės ekologijos ir elgsenos laboratorijos darbuotojams. Didelis ačiū dr. Sauliui Pakalniškiui ir dr. Henrikui Ostrauskui už naudingus patarimus ir pamokymus veisiant bulvinę lirijomyzą ir atliekant lauko eksperimentus, bei Erikui Lutovinovui už pagalbą apibūdinant dvisparnių rūšis. Dėkoju UAB “Evaldo daržovės” direktoriui Evaldui Masevičiui ir Kietaviškių šiltnamiams už galimybę atlikti lauko tyrimus bei VU Medžiagotyros ir Taikomųjų Mokslų Institutui už



fotosensibilizuojančias medžiagas. Taip pat dėkoju už suteiktas stipendijas: Lietuvos Valstybiniam Mokslo ir Studijų fondui ir World Federation of Scientists (Šveicarija), bei Vilniaus Universiteto Ekologijos Institutui už suteiktą galimybę studijuoti doktorantūroje.

## 1. LITERATŪROS APŽVALGA

### 1.1. Minamusių vystymosi biologija

Agromizidae šeimos minuotojams būdingos šios vystymosi stadijos: kiaušinėlio stadija, trys lervinės stadijos, lėliukės stadija ir suaugėlio stadija.

**Suaugėlis.** Agromyzidae šeimai priklausantys vabzdžiai – tai labai mažos, 0,9-4 mm. ilgio, minamusės. Jų kūnas yra pilkos, geltonos, juodos spalvos arba šių spalvų derinio. Suaugėliai išsiriti iš puparijų pro priekinį dorsalinį galą. Šis procesas gali trukti nuo 5 min. iki 1 val. Ką tik išsiritusiems suaugėliams būdingas teigiamas fototaksis. Suaugėlių patelės paprastai didesnės už patinus, jos išsiriti iš didesnių puparijų. Puparijų dydis tiesiogiai koreliuoja su vabzdžių gyvybingumu (Parrella, 1983). Patinėliams būdinga išsiristi anksčiau nei patelėms. Paprastai abiejų lyčių vabzdžiai anksti ryte palieka puparijų, tačiau išsiritimų piko laikas skiriasi priklausomai nuo rūšies. Pavyzdžiui *Liriomyza trifolii* (Burgess) suaugėlių išsiritimo iš lėliukės pikas būna apie vidurdienį (Charlton, Allen, 1981).

Išsiritusių suaugėlių lyčių santykis paprastai būna 1:1 arba patelės turi nežymią persvarą (Parrella, 1987). Suaugėliai gali pradėti porotis bet kuriuo laiku, bet įprastai jie poruojasi pirmąją dieną po išsiritimo ir dienos (fotofazės) laikotarpiu. Laiko periodas tarp suaugėlio išsiritimo ir poravimosi siejamas atvirkštine sąsaja su temperatūra ir gali skirtis priklausomai nuo lyties. Buvo teigiama, kad maistas, temperatūra ir drėgmė įtakoja trukmę iki poravimosi, kuri gali tęstis iki 5 dienų. Tačiau šiltnamio ir laboratorinėmis sąlygomis dauguma patelių pradeda dėti kiaušinius per 24-48 val. po išsiritimo (Parrella et al., 1983).

Lyties feromonai identifikuoti tik vienai, *Agromyza frontella* (Rondani), minamusių rūšiai. Detalūs poravimosi elgesio tyrimai parodė, kad patelės išskiria feromoną, kurio dėka patinėliai agreguoja ant augalo-šeimininko, ir kuris vaidina svarbų vaidmenį kopuliacinio elgesio inicijavime (Carriere, McNeil, 1988). Dujų chromatografijos būdu, pasitelkiant masių spektrometriją, *A. frontella* patelių heksano ekstrakto sudėtyje buvo aptiktas junginys, kurio patinų ekstrakto rasta nebuvo. Tai sotus, šakotas angliavandenilis – 3,7-dimetilnonadekanas (Carriere et al., 1988).

Suaugėlių kopuliacijos laikas labai skirtingas. Ji gali trukti nuo 10 min. iki 3 val. (pavyzdžiui *Liriomyza bryoniae* kopuliacija vidutiniškai trunka 14 min., o *Phytomyza vitalbae* – 2,5 val. (Minkenberg, Van Lenteren, 1986; Hill et al., 2001)). Patelės ir patinėliai poruojasi ne vieną kartą. Kuo trumpesnis kopuliacijos laikas, tuo didesnė tikimybė, kad patelės poruosis dar kartą, kad užtikrintų maksimalią kiaušinėlių produkciją (Parrella, 1987; Carriere, McNeil, 1990).

Minamusių patelės kiaušdėčių pagalba praduria lapo paviršių suformuodamos dviejų tipų skylutes, besiskiriančias savo forma. Maitinasi lapų sultimis, tekančiomis iš padarytų pažeidimų, nepriklausomai nuo jų formos, tačiau kiaušinėlius deda tik į ovalios ar vamzdinės formos skylutes. Patinai nesugeba perforuoti lapo paviršiaus, todėl naudojami patelių padarytais pradūrimais, kurių dydis varijuoja priklausomai nuo suaugusių patelių dydžio (Parrella, 1987).

Maitintis ir dėti kiaušinėlius suaugėliai pradeda rytinėmis saulėtekio valandomis. Tarp šios veiklos dažnumo ir temperatūros stebima teigiama koreliacija. Be abejonės maitinimasis vaidina svarbų vaidmenį augalo-šeimininko įvertinime. Besimaitindama patelė patvirtina, kad augalas yra tinkamas, gauna baltymų, specifinių augalui-šeimininkui, kurie yra būtini kiaušinėlių brendimui, ir pagaliau pasisavina angliavandenius, pačios patelės gyvybingumui palaikyti (Spencer, 1973).

Kiaušinių dėjimo feromonas kol kas aptiktas vienoje – *Agromyza frontella* (Rondani) rūšyje (McNeil, Quiring, 1983). Buvo atlikti tyrimai ir su

*Liriomyza trifolii* rūšimi, bet kiaušinio dėjimo feromono rasta nebuvo (Bethke, Parrella, 1985). *A. frontella* kiaušinių dėjimo feromonas tirpus vandenyje. Lauko sąlygomis jis išlieka aktyvus apie 24 val., netgi esant labai aukštai dienos temperatūrai. Tačiau dėl savo tirpumo vandenyje po gausaus ir stipraus lietaus gali tapti neveiksmingu. Taip pat šio feromono efektyvumas mažėja, didėjant populiacijos gausumui. Kadangi su lapkočiu ir lapo paviršiumi patelės daugiausiai kontaktuoja kojelių letenėlėmis nei antenomis, manoma, kad feromonas greičiausiai juntamas per lytėjimo sistemą (Quiring, McNeil, 1984c).

Patelių reproduktyvumas labai skiriasi ne tik genčių, bet ir rūšių tarpe. Vienos *Liriomyza* genties rūšies patelės vidutinė kiaušinėlių produkcija gali nesiekti 100 (pvz., *L. bryoniae*), kitos - gali viršyti 600 (pvz., *L. pictella*) (Oatman, Michelbacher, 1958; Hendriske et al., 1980). D.T. Quiring ir J.N. McNeil nustatė, kad *Agromyza frontella* (Rondani) patelių vislumas priklauso nuo lėliukų dydžio, iš kurių jos išsiritu. Iš didesnių lėliukių išsiritusios patelės padeda daugiau kiaušinėlių. Susiporavusių patelių kiaušinėlių dėjimo pikas būna 4-10 dieną po išsiritimo (Parrella et al., 1983). Vislumas labai susijęs su maisto šaltiniu ir temperatūra. Daugiausiai gyvybingų kiaušinėlių (ta yra kiaušinėlių, iš kurių išsiritu lervutės) padedama prie 20 - 27°C temperatūros, esant nuolatiniam maisto šaltiniui – medui (žiūr. 1 lentelę).

Kai kurių, *Liriomyza* genties rūšių neapvaisintos patelės taip pat deda kiaušinėlius, tačiau pastarieji toliau nesivysto (Oatman, Michelbacher, 1958). Nesusiporavusios patelės deda mažiau kiaušinėlių lyginant su susiporavusiomis, tačiau jų gyvenimo trukmė ilgesnė, o tai padidina sėkmingo poravimosi galimybę. Taigi nesusiporavusios patelės nepanaudotą kiaušinėlių dėjimui energiją panaudoja savo gyvenimo trukmės pailginimui (Quiring, McNeil, 1984a).

Laboratorinėmis sąlygomis minamusių patelės gyvena 15-20, o patinėliai 10-15 dienų. Maitinimasis medumi pailgina minamusių gyvenimo trukmę, kuri priklauso ir nuo augalo-šeimininko (Parrella, 1987). Natūraliomis

lauko sąlygomis minamusės gyvena kur kas trumpiau, patelės apie savaitę, o patinėliai mažiau nei 3 dienas (Charlton, Allen, 1981).

1 lentelė. Vidutinė *Liriomyza trifolii* gyvenimo trukmė (dienomis) ir vidutinė, visa vienos patelės gyvybingų kiaušinėlių dėtis (skliausteliuose) esant skirtingoms temperatūroms.

Augalas	Temperatūra (°C)									Literatūra
	15	15,6	20	21,1	25	26,7	30	32,2	37,8	
<i>Chrysanthemum morifolium</i> *	–	16,7(42)	–	14,6(234)	–	12,8(297)	–	12,3(189)	3,1(1)	Parrella, 1984
<i>Ch. morifolium</i> *	–	–	–	–	–	13,7(298)	–	–	–	Parrella et al., 1983
<i>Apium graveolens</i> 'Florida 2-14' *	27,7(24)	–	28,3(182)	–	16,8(288)	–	14,6(406)	–	–	Leibee, 1984
<i>A. graveolens</i> 'Tall Utah 5270-R' *	–	–	–	–	–	12,1(212)	–	–	–	Parrella et al., 1983
<i>Lycopersicon Esculentum</i> 'Moneydor'	6,2(3)	–	14,2(75)	–	5,4(55)	–	–	–	–	Minkenberg, Van Lenteren, 1986

\* minamusės buvo maitinamos medumi

**Kiaušinėlis.** Balkšvi, permatomi kiaušinėliai dedami apatinėje arba viršutinėje lapo pusėje. Viename lapo pradūrime dedamas vienas kiaušinėlis. Jų dydis varijuoja priklausomai nuo rūšies dydžio: *Liriomyza congesta* kiaušinėlio dydis 0,25×0,10mm, *L. huidobrensis* – 0,28×0,15mm, o *L. bryoniae* – 0,25×0,15mm. Buvo apskaičiuotas kiaušinėlių negyvybingumas, kuris gali siekti 20% ir yra priklausomas nuo temperatūros. Kiaušinėlių vystymosi laikas, įtakojamas temperatūros, gali trukti nuo 2 iki 8 dienų. Kiaušinėliui vystantis jis darosi matinis, kol pagaliau dėl lervos daromo spaudimo plyšta priekiniame gale. Kai kuriose rūšyse lerva gali suvalgyti kiaušinio kevalą prieš pasitraukdama į augalo parenchiminius audinius (Beri, 1974).

**Lerva.** Agromyzidae šeimos minamusių lervos minuoja daugybės gaubtasėklių augalų lapus, žolių lapkočius, stiebus, rečiau medžių kambį. Minamusės aptinkamos ir asiūklių stiebuose, minose ant paparčių lapų, netgi kerpėse (Marchantiales, Anthocerotales), tik plikasėklių jos neliečia.

Kai kurių minamusių lervos neminuoja, gyvena žolinių augalų stiebuose, randamos žieduose ar graižuose, sukelia stiebų ir net šaknų galus (pvz: *Agromyza erythrocephala*, *Melanagromyza cunctans*, *Hexomyza* spp.). Priminsime, kad terminas mina kilęs iš anglų kalbos (angl. mine – šachta, požeminė galerija). Mina vadiname žaliajame augalo audinyje vabzdžio lervos išgraužtą ertmę, kurią iš viršaus dengia epidermis ar bent kutikulė. Šioje ertmėje lervos maitinasi ir nuolat gyvena (Ivinskis ir kt., 1985).

Skirtingų rūšių lervos maitinasi skirtingose lapo parenchimos sluoksniuose (pavyzdžiui *L. trifolii* lervos maitinasi statinėje parenchimoje, *L. huidobrensis* – puriojoje, o *L. brassicae* abiejose parenchimos sluoksniuose) (Spencer, 1973). Daugiausiai žalos augalui padaro puriojoje parenchimoje besimaitinančios minamusių lervos. Esant konkurencijai dėl maisto šaltinio, lervos gali išgraužti tunelius lapkotyje ar pagrindiniame augalo stiebe.

Skirtingų minamusių rūšių lervų padarytos minos skiriasi pagal formą. Daugeliui minamusių lervų būdingos gyvatiškos minos, kai išgraužiama palaipsniui plėtėjanti ilga, vingiuota galerija (takas). Kelios *Liriomyza* genties minamusių rūšys daro spiralines minas (gyvatiška mina, susisukusi į spiralę). Lervų ekskrementai gali būti išdėstyti įvairiai: gyvatiškose minose jie sudaro dvi lygiagrečias beveik ištisines arba punktyrines linijas; gali būti viena linija, kuri kartais nutrūkdama eina čia kairiuoju, čia dešiniuoju tako kraštu; sudaro atskiras grūdelių sankaupas ar karoliukus; išsidėstę pavieniais apvaliais grūdeliais; tamsiai žalia ekskrementų masė išsilieja plačia juosta, kuri nutįsta tako viduriu (Ivinskis ir kt., 1985).

Lervų priekinis galas smailėjantis, o užpakalinis – nukirstas. Lervos juda hidrostatinio skeleto peristaltiniais judesiais. Jos neriasi tris kartus, taigi yra pirmo, antro, trečio ūgio lervos. Lervos amžiui nustatyti gali būti panaudojamas minos plotis arba nėrimosi metu minoje palikta juoda, sklerotizuota burnos aparato dalis (angl. *mouthhook*) (skirtingo ūgio lervų šios burnos aparato dalys skiriasi pagal dydį) (Parrella, 1987).

Lervos vystymąsi įtakoja temperatūra ir augalas-šeimininkas. Be to, jos vystymosi laikas ant atskiro augalo skiriasi priklausomai nuo lapo padėties ir

amžiaus, tačiau tyrimuose dažniausiai į tai neatsižvelgiama. Literatūroje pateikiamas lervos vystymosi laikas – nuo 4 iki 6 dienų, esant optimaliai lauko ir šiltnamio temperatūrai (Fagonee, Toory, 1984; Liebee, 1984).

Lervai vystantis, tiek minos skersmuo, tiek ilgis didėja. *Liriomyza trifolii* trečio ūgio lerva suvartoja 643 kartų daugiau lapo audinių nei pirmo ūgio lerva, o jos maitinimosi greitis 50 kartų didesnis (Parrella, 1983).

Yra ištirtos dvi *Agromyza frontella* (Rondani) lervų vidurūšinės konkurencijos formos: eksploatacijos ir interferencijos. Eksploatacinė konkurencija atsiranda tada, kai individai konkuruoja dėl riboto išteklių, tačiau agresyviai nesąveikauja vienas kito atžvilgiu (Miller, 1967). Tokia konkurencija būdinga *A. frontella* trečio ūgio lervoms. Trečio ūgio lervos retai atakuoja viena kitą, o jei taip atsitinka, agresija trunka vos kelias sekundes. Daug dažniau buvo stebimos trečio ūgio lervos besimaitinančios viena šalia kitos, be jokių agresijos požymių.

Interferencinei konkurencijai būdingos sąveikos, kurios riboja priėjimą prie būtinų išteklių. Kraštutiniu atveju dėl pastarųjų vyksta kova. Interferencinė, kovos tipo konkurencija būdinga pirmo ir antro ūgio *Agromyza frontella* lervoms. Dvi susitikusios pirmo ar antro ūgio lervos atakuoja viena kitą savo burnos aparatais. Vienam individui paprastai pasiseka perdurti antrojo kutikulę ir įsisavinti jo kūno skysčius. Tokių susidūrimų metu paprastai abu individai yra sužeidžiami, todėl laimėjęs individas vėliau taip pat gali mirti nuo padarytų jam žaizdų. Taigi pirmo ir antro ūgio lervų mirtingumas priklauso nuo jų gausumo, tai yra nuo jų skaičiaus ant vieno lapo lakšto (Quiring, McNeil, 1984b).

Esant eksploatacinei konkurencijai ribotas išteklius dažniausiai išsekvojamas lervų vystymuisi dar nepasibaigus. To pasekoje jų mirtingumas būna >50%, ant vieno lapo lakšto esant nuo 3 iki 6 trečio ūgio lervų. Nuo jų gausumo priklauso ir lėliukės svoris, todėl eksploatacinės konkurencijos intensyvumas labai svarbus, kadangi lėliukių mirtingumas atvirkščiai proporcingas jų svoriui (Quiring, McNeil, 1984b). Eksploatacinės konkurencijos atveju sėkmė priklauso nuo riboto išteklių akumuliacijos

greičio (greitesnio prarijimo, asimiliacijos ir greitesnio vystymosi) ir (arba) mažesnės minimalios masės reikalingos išgyvenimui. Tuo tarpu kovos tipo, interferencinės konkurencijos atveju sėkmė priklauso nuo individo kovinių gebėjimų (Wade, 1980). Tačiau tiek interferencinės, tiek eksploatacinės konkurencija mažina individų išgyvenamumą.

Prieš virstant lėliuke lerva išpjauna pusapvalį plyšį lapo paviršiuje, paprastai minos gale arba arti jo, pro kurį peristaltinių judesių dėka palieka lapą ir nukrenta ant žemės. Lervos lapą palieka ankstyvosiomis ryto valandomis. Lervos retkarčiais virsta lėliukėmis ir ant lapų ar stiebų, paprastai tų augalų, kuriems būdingi dideli, raityti lapai (pvz.: gerbera).

**Lėliukė.** Lėliukės stadijos trukmė varijuoja priklausomai nuo temperatūros. *Liriomyza* genties minamusės mažiausiai 50% viso vystymosi laiko praleidžia būtent šioje stadijoje. Lėliukės vystymosi laikas esant optimalioms šiltnamio arba lauko temperatūroms yra nuo 8 iki 11 dienų. Optimalus drėgnumas lėliukės vystymuisi 30-90%. Šiame intervale didėjant drėgmei, didėja išsiritimų iš lėliukių skaičius (žiūr. 2 lentelę) (Minkenberg, Van Lenteren, 1986). Teigiama, kad substratas, kuriame lervos virsta lėliukėmis, įtakoja sėkmingą vystymąsi iki suaugėlio stadijos (Oetting, 1983). Lėliukės svoris, jos vystymosi laikas ir išsiritusių suaugėlių procentas priklauso nuo augalo-šeimininko (Zoebisch et al., 1984).

2 lentelė. Drėgmės įtaka sėkmingam *Liriomyza trifolii* ritimuisi iš lėliukių.

Santykinė drėgmė	11%	15%	32%	51%	62%	76%	94%	100%
Išsiritusių vabzdžių procentas	6%	22%	40%	64%	65%	65%	72%	88%

Vidutinio klimato juostoje, šaltaisiais rudens ir ankstyvos žiemos periodais suaugėlių išsiriti labai nedaug. Tai labiau siejama su žema

temperatūra nei trumpu fotoperiodu, tačiau ar tai diapauzė ar uždelstas vystymasis kol kas nežinoma (Minkenberg, Van Lenteren, 1986).

Pilnas vystymosi ciklas nuo kiaušinėlio iki suaugėlio gali trukti mažiau nei tris savaites ar daugiau nei du mėnesius priklausomai nuo temperatūros ir augalo-šeimininko (Murphy, LaSalle, 1999) (žiūr. 3 lentelę).

3 lentelė. Vidutinis *Liriomyza trifolii* vystymosi laikas (dienomis) esant skirtingoms temperatūroms.

Augalas-šeimininkas	Temperatūra (°C)											Literatūra
	11.5	13.8	14.8	15	16	18	20	25	30	32.5	35	
<i>Phaseolus vulgaris</i> L. (rožinės pupelės)	>115.5	64.7	51.2	—	—	—	20.3	15.8	12.5	12.2	—	Charlton, Allen 1981
<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.	—	—	—	—	—	29.0	—	—	—	—	—	Prieto, Chaco de Ulloa, 1982
<i>C. morifolium</i> 'Show Off'	—	—	—	—	—	—	24.1	16.7	13.8	14.3	—	Charlton, Allen 1981
<i>Lycopersicon esculentum</i> 'Moneydor' (pomidoras)	—	—	—	44.5	—	—	26.3	16.9	—	—	—	Minkenberg, Lenteren, 1986
<i>Apium graveolens</i> L. 'Florida 2-14' (salieras)	—	—	—	64.0	—	—	29.8	18.7	15.9	—	14.0	Leibee, 1984
<i>C. morifolium</i> 'Fandago'	—	—	—	—	50.8	39.2	29.6	—	14.4	—	—	Miller, Isger 1985

***L. bryoniae* vystymosi biologija.** Bulvinė liriomyza *L. bryoniae* yra 1,7-2,2 mm dydžio: suaugusios patelės 2,0-2,3 mm, o patinėliai 1,5 mm dydžio (Pakalniškis et al., 2005). Jų kūnas geltonos ir juodos spalvų derinio. 30% *Liriomyza bryoniae* patinėlių išsirta viena diena anksčiau už daugumą patelių (Minkenberg, Van Lenteren, 1986). Kiaušinėlius patelės dažniausiai įterpia į viršutinį (statinį) mezofilio sluoksnį, bet taip pat gali padėti ir į apatinius (puriuosius) mezofilio sluoksnius. Kiaušinėlio stadija trunka nuo 4 iki 8 dienų esant vidutinei temperatūrai apie 20,6°C. Tai 0,25 mm ilgio, balti, ovalo formos kiaušinėliai. Patelės per dieną padeda vidutiniškai septynis kiaušinėlius, o per visą aktyvios reprodukcijos laikotarpį - apie 104 kiaušinėlius. Esant palankioms aplinkos bei temperatūros sąlygoms minuotojai stikliniuose šiltnamiuose veisiasi beveik visus metus: pavasario, vasaros ir rudens mėnesiai.



*L. bryoniae* būdingos trys lervinės stadijos, kurios iš viso trunka 7-13 dienų, priklausomai nuo temperatūros. Pirmoje lervinėje stadijoje lervos dydis būna apie 0,57 mm, o burnos aparato kabliukų dydis apie 95 µm, antroje stadijoje atitinkamai - 1,55 mm ir 188 µm, o trečioje - 2,50 mm ir 323 µm. Lerva greitai maitinasi ir formuoja netaisyklingos formos linijinę miną. Jei besimaitinančiai lervai lapo nepakanka pilnam vystymuisi, tada lerva gali judėti stiebo vidumi ir taip patekti į kitą lapą (lerva nesugeba prasiskverbti į lapą iš išorės). Prieš tapdama lėliuke, subrendusi lerva prakerpa lapo viršutiniame sluoksnyje išėjimo angelę ir nukrenta ant žemės, kur subręsta ir tampa lėliuke. Lėliukė vystosi dirvoje, rečiau lieka prilipusi prie viršutinio lapo paviršiaus arba pusiau išlindusi iš minos per lervos padarytą angelę (Pakalniškis, 2005). Lėliukė būna ovalo formos, nuo šviesiai geltonos iki juodai rudos spalvos. Lėliukės stadijos trukmė – nuo 8 iki 14 dienų, priklausomai nuo temperatūros. Žiemojanti lėliukė pereina į diapauzę ir sulėtina vystymąsi iki palankaus pavasario periodo.

Pilnas vystymosi ciklas nuo kiaušinėlio padėjimo iki suaugėlio gali trukti mažiau nei tris savaites ar daugiau nei mėnesį priklausomai nuo temperatūros ir augalo-šeimininko (žiūr. 4 lentelę).

4 lentelė. A - vidutinis *Liriomyza bryoniae* vystymosi (nuo kiaušinėlio padėjimo iki suaugėlio) laikas (dienomis) esant skirtingoms temperatūroms; B - vidutinė *L. bryoniae* patelių gyvenimo trukmė (dienomis), skliausteliuose - vidutinė, pilna vienos patelės kiaušinėlių dėtis esant 22°C.

	Augalas-šeimininkas	Temperatūra (°C)				Literatūra
		15	20	22	25	
A	<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill 'Moneydor'	40	24	–	17	Minkenbergl, Lenteren, 1986
	<i>L. esculentum</i> 'Moneydor'	–	–	19.6	–	Hendrikse et al., 1980
B	<i>L. esculentum</i> 'Moneydor'	–	–	8.7(67)	–	Hendrikse et al., 1980

## 1.2. Augalo-šeimininko pasirinkimas

Daugumai Agromyzidae šeimos rūšių būdinga monofagija arba siaura oligofagija, polifagų labai nedaug. Iš 2450 aprašytų minamusių rūšių, tik 11 priskiriamos tikriems polifagams ir pusė iš jų priklauso *Liriomyza* genčiai (Spencer, 1965).

Augalo-šeimininko pasirinkimą įtakoja daugelis veiksnių: lapų plaukelių išsidėstymas ir gausumas, augalo maistinės medžiagos. Neseni tyrimai parodė, kad kai kurie augalų antriniai metabolitai, neturintys maistinės vertės, kaip pavyzdžiui gliukozinolatas, taip pat gali įtakoti minamusių pasirinkimą šeimos Cruciferae tarpe (Abdel, Ismail, 1999).

Ieškant tinkamos kiaušinių dėjimui vietos, tikėtina jog veikia kelios vabzdžio jutiminės sistemos, įsijungiančios viena po kitos ar veikiančios kartu. Paprastai manoma, kad daugumai vabzdžių fitofagų uoslė yra viena svarbiausių jutiminių sistemų. Taip pat tyrimai parodė, kad minamusių atsakas į su maistu ar kiaušinių dėjimu susijusias chemines medžiagas priklauso nuo vabzdžio fiziologinės būklės. Pasimaitinusios patelės paprastai ieško tinkamos lapo vietos kiaušinėlių dėjimui, o badaujančios - bando surasti maisto šaltinį (Faraji et al., 2000). Taigi panašu, kad ką tik išsiritusios, dar nesimaitinusios minamusių patelės ieško maisto šaltinio orientuodamosi pagal kairomonus.

*Liriomyza* genties rūšių augalo-šeimininko pasirinkimas skiriasi nuo kitų augalėdžių vabzdžių, kadangi minamusių lervos negali judėti tarp augalų ir augalą renkasi tiktai patelės. Tačiau kol kas atlikta gan nedaug tyrimų siekiant išsiaiškinti chemines medžiagas nulemiančias minamusių suaugėlių elgseną.

Augalų skleidžiamos cheminės medžiagos. Kadangi nepavyko nustatyti *Liriomyza* genties lyties feromonų, manoma, kad šie minuotojai naudoja augalų lakiąsias medžiagas tiek mitybinio augalo, tiek poravimosi partnerio aptikimui. Pavyzdžiui, *L. sativae* tiek patelės, tiek patinėliai teigiamai reaguoja į mitybinio augalo pupos skleidžiamą kvapą (Zhao, Kang, 2002, 2003). Be to, *L. sativae* suaugėliai teigiamai reaguoja į mitybinių augalų (daržinės pupelės,

agurkų, pomidorų) skleidžiamus kvapus, bet neigiamai - į nemitybinių augalų (vijoklio, kinrožės) skleidžiamą kvapą (Zhao, Kang, 2003). Augalo lakiosios cheminės medžiagos – tai įvairūs trumpagrandžiai alkoholiai, aldehydai, ketonai, esteriai, aromatiniai fenoliai, laktonai, taip pat mono- ir seskviterpenai. Žalieji augalai gamina eilę lakiųjų komponentų lipidų metabolizmo eigoje. Šie komponentai dažnai vadinami “žaliojo lapo lakiosiomis medžiagomis”. Patys svarbiausi iš jų – 6 anglies atomus turintys alkoholiai, aldehydai ir esteriai, susiformavę lapo lipidų oksidacinės degradacijos metu.

Stimuliuojančios medžiagos anglies grandinės ilgis taip pat įtakoja atsaką į šią medžiagą. Pavyzdžiui *L. sativae* suminė antenų sensilių reakcija (elektroantograma, EAG) yra ryškiausia į 6 anglies atomus turinčius junginius lyginant su reakcijomis į 5, 7 ar 8 anglies atomus turinčius junginius. Didžiausią atsaką sukelia 6 anglies atomus turintys alkoholiai, ir šiek tiek mažesnę - 6 anglies atomus turintys esteriai ir aldehydai (Zhao, Kang, 2002).

Augalais mintančių vabzdžių evoliucijos eigoje labai svarbų vaidmenį vaidino cheminėmis medžiagomis pagrįstas augalo-šeimininko tinkamumas palikuonių vystymuisi (Courtney, Kibota, 1989). Todėl daugelis tyrimų buvo atliekami ieškant tarpusavio sąsajų tarp augalo cheminių medžiagų, palikuonių vystymosi ir augalo-šeimininko pasirinkimo.

Minamusių atveju daugelis jų lervų, eksperimentiškai perkeltų ant jų augalui-šeimininkui filogenetiškai negiminingo augalo, žūva. Tačiau kai kurių *Liriomyza* genties rūšių lervos gali išgyventi ir sėkmingai vystytis ant joms nebūdingo augalo. Taigi lervos gali būti kur kas mažiau jautrios augalų repelentams ar deterentams nei suaugėliai. Kadangi jos turi menkai išsivysčiusius jutimo organus, jų gebėjimas skirti įvairias augalo rūšis irgi menkesnis (Sehgal, 1971). Todėl patelei atsitiktinai padėjus kiaušinėlių ant jai nebūdingo augalo, yra reali galimybė, kad lerva išgyvens.

Kairomonai, lemiantys *Liriomyza* rūšių elgseną. Kairomonai - cheminės medžiagos, kurias į aplinką išskiria vienas organizmas, ir kurios tarnauja naudinga informacija kitam organizmui, nepriklausančiam tai pačiai rūšiai kaip medžiagas išskiriantysis (Būda, 2006).

Kaip jau buvo minėta, neseni tyrimai parodė, kad ir *Liriomyza sativae* Blanchard uoslė yra jautri augalo-šeimininko lakiosioms medžiagoms, kurios padeda orientuotis aplinkoje ieškant mitybinio augalo. Taigi, tokios augalų skleidžiamos medžiagos atlieka kairomonų funkciją (Zhao, Kang, 2003).

Minamusės reaguoja ne tik į daugeliui augalų būdingas “žaliojo lapo lakiąsias medžiagas” (pvz., heksan-1-olį, (E)-2-heksen-1-olį, (Z)-3-heksen-1-olį, heksanalį, (E)-3-heksenilacetatą), bet ir į kai kuriuos tik augalui-šeimininkui būdingus lakiuosius komponentus. Ta pati *L. sativae* labai jautri limonenui, kuris randamas pomidore, šios minamusės mėgiamam augale. Tuo tarpu eugenolis, kitas pomidoro lapuose randamas komponentas, nesužadina tokio pat atsako (Zhao, Kang, 2002). Kadangi augalo skleidžiami kvapai yra sudėtingas medžiagų mišinys, vabzdžio sugebėjimas atskirti augalus didės, jei didės jautrumas tam tikriems šio mišinio komponentams.

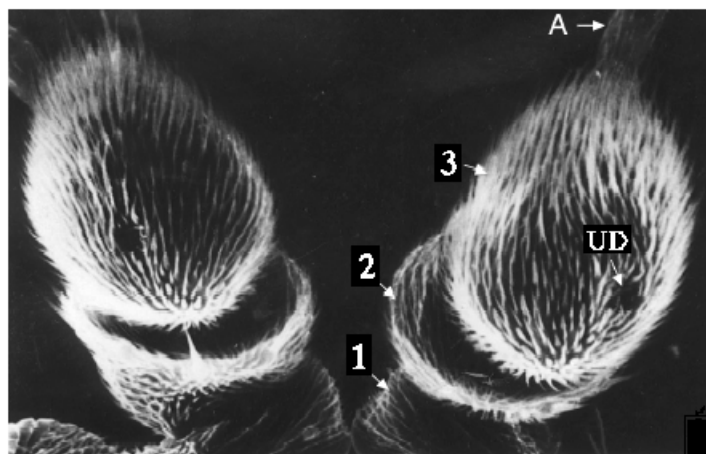
Elektrofiziologiniais metodais tiriant *L. sativae* reakcijas į skirtingų augalų skleidžiamus medžiagų mišinius pastebėta, kad minamusės nevienodai reaguoja į augalus-šeimininkus. Pavyzdžiui, antenų sensilių suminis atsakas į pupelės ir pomidoro skleidžiamus kvapus buvo didesnis nei į agurko, chrizantemos, saliero, medvilnės, paprikos skleidžiamas chemines medžiagas. Atsakas į nemitybinių augalų lakiuosius komponentus buvo dar mažesnis (Zhao, Kang, 2003). Elgesiniai bandymai olfaktometru taip pat parodė, kad laikas, praleistas prie skirtingų augalų-šeimininkų skleidžiamų medžiagų, skiriasi. Taigi augalai-šeimininkai skiriasi savo atraktyvumu, o jų išskiriamos lakiosios cheminės medžiagos padeda surasti norimą augalą didelėje jų rūšių įvairovėje.

Kairomonai kol kas identifikuoti tik vienai Agromyzidae šeimos rūšiai. Žinoma, kad *L. sativae* privilioja “žaliojo lapo lakiosios medžiagos”, tai yra 2-heksenalis, 3-heksen-1-olis, 2-heksen-1-olis, 3-heksenil acetatas bei dar trys junginiai, o būtent 1-okten-3-olis,  $\alpha$ -jononas ir  $\beta$ -jononas (Wei *et al.*, 2005). Visiškai neseni lauko bandymai parodė, kad metilsalicilatas atraktyvus netik parazitiniams plėviasparniams, bet ir Agromyzidae rūšims (James, 2005).

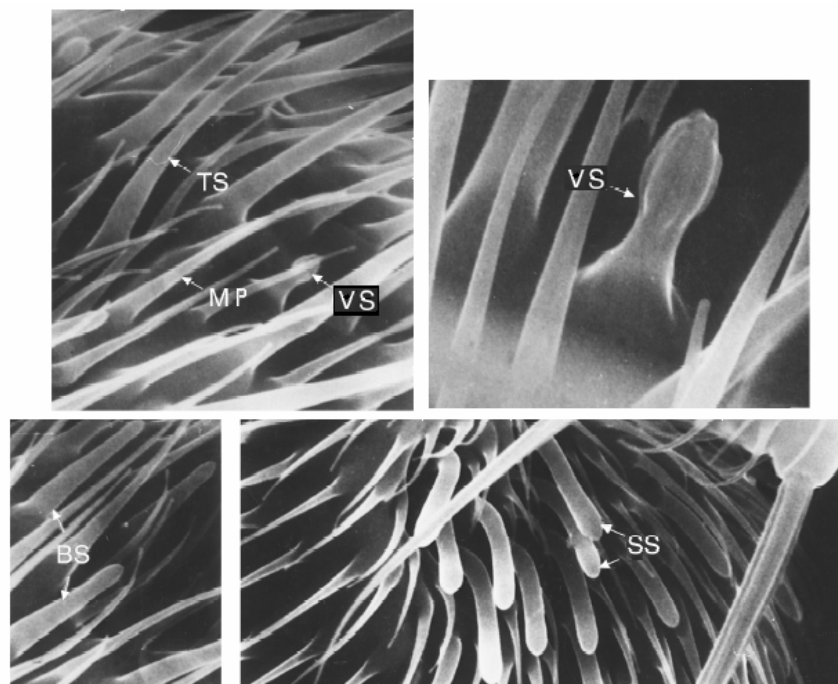
Tačiau būtent kokioms rūšims, ir ar jo atraktyvumas skiriasi lyčių tarpe, duomenų nėra.

Nors daug minamusių mitybinių ir nemitybinių augalų skleidžiamų lakiųjų medžiagų yra identifikuota (žiūr. 1 priedą), minamusių elgesinės reakcijos į joms svarbias medžiagas kaip ir tų medžiagų mišinys nėra nuodugniai ištirti. Atraktyvių minamusėms cheminių medžiagų nustatymas kaip ir minamusių elgesinių atsakų į mitybinių augalų skleidžiamas medžiagas ištyrimas netik padėtų sukurti efektyvesnius biologinės kovos su šiais kenkėjais būdus, tačiau taip pat padėtų suprasti esminius fiziologinius mechanizmus atsakingus už vabzdžių elgseną aptinkant tinkamus mitybinius augalus.

Chemoreceptoriai. Augalo skleidžiamas medžiagas, vabzdys atpažįsta ant antenų išsidėsčiusių sensilių dėka. Skenuojančiu elektroniniu mikroskopu buvo ištirta *Liriomyza sativae* anteninių sensilių morfologija ir pasiskirstymas. *L. sativae* antena susideda iš trijų narelių ir aristos (1.2.1 pav.) (Zhao, Kang, 2002). Patinėlių ir patelių antenos savo struktūra nesiskiria. Antenos pirmasis bazalinis narelis juntamųjų uoslės sensilių neturi. Jis padengtas daugybe mikroplaukelių ir įdubusiais šereliais. Pastarieji turbūt atlieka mechanotaktilinę funkciją. Antrasis antenos narelis taip pat padengtas neįnervuotais mikroplaukeliais ir ilgais ryškiais šereliais (30µm ilgio, pamato skersmuo - 6µm). Trečiasis narelis padengtas neįnervuotais mikroplaukeliais, tarp kurių išsidėsčiusios kelių tipų sensilės. Abiejų lyčių antenos trečiajame narelyje aptiktos 4 morfologinių tipų sensilės: trichoidinės, bazikoninės, smeigtuko formos (*angl. clavate*) ir vagotos (*angl. grooved*) sensilės (1.2.2 pav.). Plona arista, prasidedanti dorsaliniame trečiojo narelio krašte, yra apie 200µm ilgio, o pamato skersmuo - 11µm. Arista padengta daugybės nejutiminių šerelių. Kaip ir kitose dvisparnių rūšyse chemoreceptorių sensilių aristoje nėra.



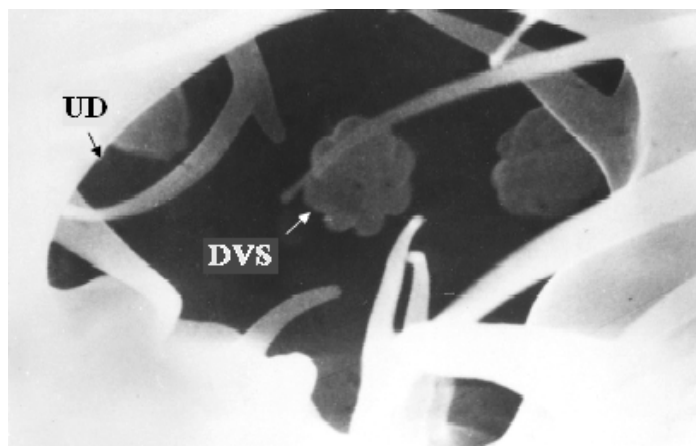
1.2.1 pav. *Liriomyza sativae* antenos. 1 - pirmasis bazalinis narelis; 2 – antrasis antenos narelis; 3 – trečiasis antenos narelis; A – arista; UD – uoslės duobutės (Zhao, Kang, 2002).



1.2.2 pav. *Liriomyza sativae* sensilių, esančių trečiajame antenų narelyje, tipai: TS – trichoidinė sensilė, BS – bazikoninė sensilė, SS - smeigtuko formos (*angl. clavate*) sensilė, VS - vagota (*angl. grooved*) sensilė, MP – mikroplaukelis (Zhao, Kang, 2002).

Be minėtų sensilių vabzdžiai turi uoslės duobutes (1.2.1 pav.), esančias ventromedialinėje trečiojo narelis pusėje. Duobutės apačioje yra vagotosios

uoslės duobutės sensilės (1.2.3 pav.). Morfologinių skirtumų tarp patelių ir patinėlių uoslės duobučių sensilių rasta nebuvo.



1.2.3 pav. *Liriomyza sativae* antenų trečiojo narelio uoslės duobutė, su joje esančiomis vagotomis sensilėmis. UD – uoslės duobutė; DVS – duobutės vagotoji sensilė (Zhao, Kang, 2002).

Taip pat šių tyrimų metu nustatyta, kad patinėlių visų keturių tipų sensilės savo ilgiu nesiskiria nuo patelių sensilių. Jokių žymių skirtumų taip pat rasta nebuvo ir tiriant tiek erdvinį sensilių pasiskirstymą, tiek jų gausumą.

Augalų pirminių metabolitų svarba. Pastarųjų metų tyrimai parodė, kad augalo-šeimininko pasirinkimą lemia ir jo pirminiai metabolitai arba maistinės augalo medžiagos (Scheirs, De Bruyn, 2002).

Augalo-šeimininko tinkamumas fitofagų vabzdžių vystymuisi yra siejamas su augalo maisto medžiagų balansu, cheminėmis apsauginėmis medžiagomis ir apsauginę funkciją atliekančiomis augalo struktūromis. Manoma, kad maisto medžiagos ar pirminiai metabolitai vaidina antraeilį vaidmenį palaikant fitofagų vabzdžių mitybinių augalų įvairovę (Berenbaum, 1995). Tačiau J. Scheirs su bendraminčiais savo bandymais parodė, kad dvi minamųjų rūšys, *Chromatomyia milli* ir *C. nigra*, pasirenka augalus su tam tikru baltymų kiekiu, kuris būtinas jų gyvybingumui ir vislumui palaikyti. Tuo tarpu lervos vystymosi stadijoje svarbiausios medžiagos – amino rūgštys ir vanduo, nes būtent nuo šių medžiagų priklauso lėliukės dydis (Scheirs et al.,

2003). Vadinasi maisto medžiagų kiekis augale gali riboti augalų-šeimininkų gausą, o suaugėliai augalų-šeimininką pasirenka ne tik pagal jo tinkamumą palikuonių vystymuisi, bet ir pagal tam tikras medžiagas, kurios reikalingos patiems suaugėliams.

Daugelis tyrimų patvirtino, kad minamosės geriau išgyvena ant tų augalų lapų, kurių sudėtyje yra daugiau maistingųjų medžiagų (Kang et al., 2009). Tokiu būdu trąšos naudojamos augalams ir didinančios maistingųjų medžiagų kiekį jų lapuose taip pat veikia minamuses. Pavyzdžiui, naudojimas trąšų, kurios didina azoto kiekį bulvių lapuose teigiamai veikia *L. trifolii* lervų išgyvenimą, tuo tarpu didėjant kalio ir fosforo koncentracijoms lapuose lervų išgyvenimas mažėja (Facknath, Lalljee, 2005). Minkenberg ir Ottenheim (1990) taip pat yra iškėlę hipotezę, kad minamusių augalams teikiama pirmenybė yra susijusi su didesniu suaugusių patelių gyvybingumu (geresniu išgyvenimu bei didesniu vaisingumu) mintant augalais su didesne azoto koncentracija. Jų tyrimai parodo, kad *L. trifolii* patelės reaguoja į padidėjusį azoto kiekį lapuose: jų maitinimasis padažnėja, o kiaušinėlių dėjimo periodas pailgėja kaip ir padidėja padėtų kiaušinėlių skaičius.

Taigi klausimas, kodėl minamosės pasirenka būtent šį augalą, ar teikia pirmenybę keliems augalams, lieka neišspręstas. Tačiau nekyla jokių abejonių, kad augalo-šeimininko pasirinkimą lemia keletas veiksnių. Kartu negalime atmesti galimybės, kad augalo-šeimininko pasirinkimas apsprendžiamas genetiškai (tyrimai su laboratorinėmis ir lauko *Liriomyza brassicae* populiacijomis parodė, kad patelės linkusios dėti kiaušinius ant to augalo, ant kurio ši rūšis vystėsi ilgiau nei tris kartas (Tavormina, 1982)). Be to, pastaruoju metu pasirodo vis daugiau pranešimų, kad minamusių mitybiniam augalams teikiama pirmenybė gali būti įtakojama jų patirties lervos ar suaugėlio stadijose. Kai kurie autoriai teigia, kad Hopkinso augalo-šeimininko pasirinkimo principas (t.y., kad dauguma vabzdžių suaugėlių pirmenybę teikia tiems augalams-šeimininkams, ant kurių jie vystėsi būdami lervos stadijoje) gali veikti minamuses joms renkantis augalų-šeimininką tarp skirtingų augalų



rūšių ar tarp skirtingų augalo rūšies atmainų (Facknath, Wright, 2007). Tačiau šis principas negalioja minamusėms renkantis skirtingo amžiaus augalų lapus.

Jau yra duomenų, kad uodžiamąją *L. sativae* orientaciją įtakoja augalo skleidžiamos lakiosios medžiagos (tiksliau šių medžiagų buvimas) lėliukės aplinkoje (GuoHui et al., 2008). O visiškai neseniai nustatyta, kad mitybinių augalų lapų ekstraktai įtakoja suaugusių *L. sativae* patelių uodžiamąją atmintį. Be to, skirtingų mitybinių augalų lapų ekstraktai minėtos rūšies uodžiamąją atmintį gali įtakoti skirtingai (GuoHui et al., 2008a).

### **1.3. Ekonominė žala ir kovos būdai**

Iš Agromyzidae šeimos atstovų patys pavojingiausi yra polifagai, ir daugeliu atvejų tai būna *Liriomyza* genties rūšys. Nuo jų visame pasaulyje kenčia tiek mažų ūkių savininkai, tiek sodininkystės ūkiai ar dekoratyvinių augalų augintojai, tiek stambios, daržovių auginimu besiverčiančios bendrovės. Be lervos daromos žalos, augalo gyvybingumą, fotosintezės galimybes ir mezofilio pralaidumą gali sumažinti ir suaugėlio padaryti pažeidimai jų maitinimosi metu. Minamusių žala auginamoms kultūroms gali būti keleriopa: (1) jos gali pernešti ligas; (2) gali sunaikinti jaunus daigus (dėl gausių minų jauni daigai žūva, ar labai sulėtėja jų augimas); (3) dėl jų sumažėja derlius; (4) pagreitina augalo lapų kritimą, dėl kurio džiūsta vaisiai; (5) mažina dekoratyvinių augalų estetinę vertę. Derliaus praradimai gali būti labai dideli. Pavyzdžiui 1980 metais Vietname dėl *Liriomyza sativae* buvo prarasta iki 70% pomidorų derliaus, o *Liriomyza huidobrensis* buvo visiško (100%) bulvių derliaus netekimo priežastimi Indonezijoje, kitų kultūrų derliaus netektis kai kuriuose šios šalies rajonuose siekė iki 70% (Shepard et al., 1998; Murphy, LaSalle, 1999).

Šiuo metu Europos Sąjungos karantininių objektų sąrašuose yra trys *Liriomyza* genties rūšys: *L. trifolii*, *L. sativae* ir *L. huidobrensis*. Be jų labai dažnai minimos *Liriomyza strigata* ir *L. congesta* (jos su minėtomis rūšimis turi daug panašumų ir yra plačiai paplitusios kaip ir pastarosios). Iki 2003 metų

pabaigos *L. bryoniae* taip pat buvo taikomas karantininis režimas, tačiau dabartinės nuostatos dėl apsaugos nuo *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach) yra pakeistos, apribojant jas tik Airijoje ir Jungtinėje Karalystėje (Šiaurės Airijoje) esančiose saugomose zonose, kuriose, kaip nustatyta, šios minamosės nėra (Komisijos direktyva 2002/36/EB).

Lietuvoje *Liriomyza bryoniae* (bulvinė liriomyza) rasta daugelyje rajonų, tiek šiltnamiuose, tiek jų aplinkoje ir natūraliose bendrijose. Rūšis natūraliai paplitusi nuo Šiaurės Afrikos iki Skandinavijos ir Kaukazo, bet visoje Europoje dažniausiai (kartais labai gausiai) randama šiltnamiuose, kur auginamos daržovės (pomidorai, agurkai, paprikos) ar dekoratyvinės kultūros (durnaropės, kiauļiauogės, petunijos, tabakas ir pan.). Ji ypač pavojinga jauniems augalams (Pakalniškis ir kt., 2005). *Liriomyza bryoniae* Lietuvoje uždaroje bendrijose registruojama nuo 1997 metų tiek daržovėse, tiek ir dekoratyviniuose augaluose. 2002 metais, ištyrus 56 pramoninius bei privatiems asmenims priklausančius plėvelinius ir stiklinius šiltnamius Lietuvoje, užimančius 73,55 ha, nustatyti 36 bulvinės minamosės *Liriomyza bryoniae* židiniai (Nečajeva ir kt., 2003). Lietuvos valstybinės augalų apsaugos tarnybos 2001-2003m. duomenimis, šio kenkėjo dažnumas šiltnamiuose ir jų aplinkoje siekė 32%, o prekyvietėse - 19%. Ši rūšis buvo aptikta ant sekančių augalų: *Amaranthus*, *Beta*, *Bryonia*, *Cucumis*, *Datura*, *Gypsophila*, *Lycopersicon*, *Nicandra*, *Nicotiana*, *Petunia*, *Physalis*, *Sisymbrium*, *Solanum tuberosum*, *S. nigrum* and *Spinacia* (Ostrauskas et al., 2005).

*L. bryoniae* – polifagas ir savo vystymosi ciklą gali užbaigti ant augalų, priklausančių 16 šeimų (Spencer, 1990). Šis kenkėjas lengvai gali išplisti tuose rajonuose, kur auga Asteraceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae ar Solanaceae šeimų augalai.

Gausumo reguliavimas ir monitoringas. Pastaruosius 40 metų buvo intensyviai ieškoma kovos būdų su minamosėmis. Dažnai sintetinės cheminės medžiagos ir natūralūs insekticidai paprastai naudojami smulkių ūkininkų bei didesnių bendrovių neduoda reikiamų rezultatų dėl jų netaisyklingo naudojimo, bei pačių vabzdžių biologijos (trumpo vystymosi periodo, palyginti ilgos lėliukės

vystymosi stadijos, kuri dažniausiai vyksta dirvoje, aukšto reproduktivumo, be to kiaušinėliai ir lervos yra apsaugoti lapo audinių). Taip pat insekticidų efektyvumą mažina ir didėjantis minamusių atsparumas šioms medžiagoms, bei neigiamas poveikis natūraliems jų priešams (Parrella, 1987). Kiti kovos būdai taip pat buvo išvystyti tiek Vakarų Europoje, tiek Amerikoje. Seniai žinoma, kad *Liriomyza* genties rūšis vilioja geltona spalva, todėl gaminamos šios spalvos plokštelės išteptos lipnia medžiaga, kurios gali tapti efektyviomis monitoringo priemonėmis bei padėti nustatyti minamusių plitimo kryptį ir tempą (Jones, Parrella, 1986; Durairaj et al., 2007; Galande, Ghorpade, 2007). Vyraujanti vėjo kryptis taip pat gali padėti nustatyti minamusių plitimo kryptį ir greitį, kadangi didelius atstumus minamosės įveikia būtent jo pagalba. Šiltnamio sąlygomis, kur nėra vėjo, nuotolis, kurį patelė įveikia per septynias dienas gali siekti apie 22 metrus, patinėlis nuskrenda kiek trumpesnę kelią (apie 18 m) (Jones, Parrella, 1986).

Kadangi Agromyzidae atstovai turi gausias natūralių priešų bendrijas, vis daugiau dėmesio kreipiamą į biologinius kovos būdus tiek lauko, tiek šiltnamių sąlygomis.

Natūralių priešų bendrijos. Agromyzidae šeimos minamosės labai dažnai kenčia nuo Hymenoptera būrio atstovų (žiūr. 5 lentelę), kurie natūraliomis sąlygomis palaiko tam tikrą minamusių populiacijos dydį ir neleidžia peržengti tam tikros ribos. Tačiau naudojami insekticidai, dažnai labiau toksiški minamusių parazitoidams nei pačioms minamosėms, suardo nusistovėjusią pusiausvyrą tarp šių rūšių populiacijų.

Kiekvienais metais vis daugiau publikuojama informacijos apie minamuses parazituojančias rūšis. Taip pat daugėja duomenų, kurios iš Hymenoptera būrio parazituojančių rūšių pasižymi specifiškumu šeimininkui, o kurios gali parazituoti kelias ar net daugelį minamusių rūšių. Tačiau didžiausio dėmesio susilaukė augalų, *Liriomyza sp.* rūšių ir su jomis susijusių parazitoidų cheminė ekologija, kurią tiria įvairios trapdisciplininės (biochemijos, fiziologijos, elgsenos ekologijos) mokslo sritys.

Nors parazitinių plėviasparnių orientacija priklauso nuo vizualinių, akustinių, kontaktinių ir skonio stimulų, yra svarių įrodymų, kad būtent cheminė informacija vaidina svarbiausią vaidmenį minamusių parazitoidams orientuojantis aplinkoje. Pavyzdžiui, lakiųjų junginių mišinys, kurį išskiria pomidoro lapai juos pažeidus minamusėms, lemia *Dacnusa sibirica* Telenga elgesį nesant vizualiniam stimului (Dicke, Minkenberg, 1991). Atraktyvūs parazitoidams cheminiai stimulai – tai sudėtingi augalų lakiųjų medžiagų mišiniai, kurių išskyrimą indukuoja minamusių pažeidimai. Taigi gana sunku iš tokio mišinio išskirti būtent tas specifines medžiagas, kurios biologiškai aktyvios ir privilioja parazitoidus. Tačiau tyrimais buvo parodyta, kad parazitoidų uoslės sensilės reaguoja į ribotą junginių, kuriuos išskiria minamusių pažeisti augalai, skaičių ir tai sumažina testuotinių junginių skaičių (Wei, Kang, 2006). Kombinuotu chromatografijos ir elektrofiziologijos metodu identifikuoti 9 junginiai iš *L. huidobrensis* ir *L. sativae* antro ūgio lervų pažeistų pupelių *Phaseolus vulgaris* lapų ekstrakto, kurie veikia minėtų minamusių parazitoido *Opius dissitus* elgesį. Septyni iš šių junginių netgi juos naudojant pavieniui vilioja parazitoido *O. dissitus* pateles (Wei, Kang, 2006). Tikimasi, kad tokios atraktyvios medžiagos galės pagerinti biologinės kovos su kenkėjais efektyvumą lauko sąlygomis priviliojant parazitoidus.

Visgi minamusių kenkėjų gausumo reguliavimas pasitelkiant natūralias priešų bendrijas nėra plačiai paplitęs, ypač silpnai ekonomiškai išsivysčiusiose šalyse. Pagrindinė to priežastis – šio kovos būdo brangumas. Kad tokia biologinė kova būtų efektyvi, reikia palaikyti optimalias aplinkos sąlygas (tiek temperatūrą, tiek drėgmę), kurios dažnai yra gana specifinės skirtingiems parazitoidams. Tai, be abejo, reikalauja papildomų kaštų. Taip pat kai kurios Hymenoptera rūšys labai priklauso nuo augalo, tai yra jų gausumas ant vieno ar kito augalo gali labai skirtis. Galiausiai pats biologinės kovos rezultatas pastebimas tik po kelių mėnesių.

5 lentelė. Hymenoptera būrio atstovai parazituoiantys minamusėse (Murphy, LaSalle, 1999).

<b>CHALCIDOIDEA</b>			<b>ICHNEUMONOIDEA</b>	<b>CYNIPOIDEA</b>
EULOPHIDAE	PTEROMALIDAE	TETRACAMPIDAE	BRACONIDAE	EUCOILIDAE
<b>Entedoninae</b>	<b>Ceinae</b>	<b>Platynochellinae</b>	<b>Alysiinae: Alysiini</b>	<i>Agrostocynips</i>
<i>Apleurotropis</i>	<i>Cea</i>	<i>Platynochelilus</i>	<i>Dapsilarthra</i>	<i>Disorygma</i>
<i>Asecodes</i>			<i>Epimicta</i>	<i>Ganaspidium</i>
<i>Chrysocharis</i>	<b>Herbertiinae</b>	<b>Tetracampinae</b>	<i>Oenonogastra</i>	<i>Gronotoma</i>
<i>Closterocerus</i>	<i>Herbertia</i>	<i>Epiclerus</i>	<i>Pseudopezomachus</i>	<i>Kleidotoma</i>
<i>Neochrysocharis</i>		<i>Tetracampe</i>	<i>Symphanes</i>	<i>Microstilba</i>
<i>Pediobius</i>	<b>Miscogasterinae</b>			<i>Nordlanderia</i>
<i>Pleurotroppopsis</i>	<i>Ceratetra</i>		<b>Alysiinae: Dacnusiini</b>	<i>Nordlandiella</i>
<i>Proacrias</i>	<i>Glyphognathus</i>		<i>Chorebus</i>	<i>Tobiasiana</i>
	<i>Halticoptera</i>		<i>Coloneura</i>	<i>Zaeucoila</i>
<b>Eulophinae</b>	<i>Heteroschema</i>		<i>Dacnusa</i>	
<i>Cirrospilus</i>	<i>Lamprotatus</i>		<i>Exotela</i>	
<i>Danuviella</i>	<i>Mauleus</i>		<i>Grandia</i>	
<i>Diaulinopsis</i>	<i>Merismus</i>		<i>Laotris</i>	
<i>Diglyphus</i>	<i>Miscogaster</i>		<i>Protodacnusa</i>	
<i>Hemiptarsenus</i>	<i>Schimitschekia</i>		<i>Symphya</i>	
<i>Meruana</i>	<i>Seladerma</i>			
<i>Pnigalio</i>	<i>Sphaeripalpus</i>		<b>Hormiinae: Exothecini</b>	
<i>Sympiesis</i>	<i>Stictomischus</i>		<i>Colastes</i>	
<i>Zagrammosoma</i>	<i>Thinodytes</i>			
<b>Tetrastichinae</b>	<b>Pteromalinae</b>		<b>Opiinae</b>	
<i>Aprostocetus</i>	<i>Callitula</i>		<i>Bitomus</i>	
<i>Baryscapus</i>	<i>Cyrtogaster</i>		<i>Eurytenes</i>	
<i>Minotetrastichus</i>	<i>Oxyharma</i>		<i>Opius</i>	
<i>Pronotalia</i>	<i>Sphegigaster</i>			
<i>Quadrastichus</i>	<i>Stenomalina</i>			
	<i>Syntomopus</i>			
	<i>Toxeumorpha</i>			
	<i>Trichomalopsis</i>			
	<i>Trichomalus</i>			
	<i>Trigonogastrella</i>			

Be plėviasparnių Agromyzidae šeimos rūšis parazituoja ir entomopatogeninės nematodų rūšys. Neseni bandymai parodė, kad kai kurios entomopatogeninių nematodų rūšys (pvz.: *Steinernema feltiae*),

parazituojančios antro ūgio minamusių lervose gali būti didelio jų mirtingumo priežastimi (Williams, Walters, 2000). Ar minamusių mirtingumą gali sukelti ir entomopatogeniniai grybai, kol kas nėra tirta.

Minamusių mitybos bei kiaušinėlių dėjimo stimulantai bei deterantai. Nors minamusių mitybos ir kiaušinėlių dėjimo stimulantai nėra detalai ištirti, tačiau žinomi biologiškai aktyvūs deterantai išskirti iš kelių augalų rūšių. Pavyzdžiui, pastebėta, kad *L. trifolii* maitinasi ir deda kiaušinėlių kur kas mažiau ant laukinio pomidoro *Lycopersicon pennellii* nei ant kultivuojamo žemės ūkyje pomidoro *L. esculentum*. Iš šių laukinių pomidorų liaukinių trichomų buvo izoliuoti ir identifikuoti acilo cukrai, kurie pasirodo yra šiltamėgės liriomyzos mitybos ir kiaušinėlių dėjimo deterantai (Hawthorne et al., 1992).

Pastaruoju metu panašiais eksperimentais iš skirtingų augalų buvo identifikuoti keli minamusių kiaušinių dėjimo deterantai. Iš paprikų *Capsicum annuum* L. lapų buvo išskirti trys azoto junginiai (4-aminobutanojinė rūgštis, (2*S*, 4*R*)-4-hidroksi-1-metil-2-pirolidino karboksilinė rūgštis ir 4-amino-1-β-D-ribofuranozil-2(1*H*)-pirimidinonas) bei fitolis ir liuteolinas atbaidanantys *L. trifolii* nuo kiaušinėlių dėjimo (Kashiwagi et al., 2005; Dekebo et al., 2007). Iš moliūginių šeimos augalo, raukšlėtojo svaidenio *Momordica charantia* L., buvo išskirti kukurbitano gliukozidai bei triterpenoidai, kuriais padengus pupelės *Phaseolus vulgaris* L. lapus buvo pastebimai slopinamas *L. trifolii* kiaušinėlių dėjimas ant pastarojo augalo (Mekuria et al., 2005). Tolimesni tyrimai turėtų išaiškinti tokių deterentų įtraukimo į integruoto kenkėjų gausumo reguliavimo programas galimybes.

Dabartinio integruoto kenkėjų gausumo reguliavimo kertinis akmuo – biologiniai kovos būdai. Vis daugiau tyrimų atliekama siekiant išsiaiškinti sėkmingos minamusių parazitoidų introdukcijos reikalavimus, nepažeidžiant vietinių parazitoidų populiacijų, o kartu mažinant ir visai atsisakant insekticidų naudojimo (Murphy, LaSalle, 1999). Tačiau pastaruoju metu vis daugiau mokslininkų domisi ir liriomyzų chemine ekologija bei jos pritaikymo aspektais. Naujų atraktyvių signalinių cheminių medžiagų identifikavimas

pastebimai praplėstų kovos su šiais kenkėjais galimybes, ypač jei specifiniai atraktantai būtų naudojami kartu su aplinkai nekenksmingomis medžiagomis, pvz., fotoinsekticidais. Fotoinsekticidai – dar viena iš ateities alternatyvų tradiciniams cheminiamis pesticidams.

#### **1.4. Saulės aktyvuojami insekticidai: taikymas ir fototoksinio aktyvumo mechanizmai**

Fotocheminių procesų panaudojimas siekiant reguliuoti kai kurių vabzdžių populiacijas ne vieną kartą buvo tiriamas tiek laboratorijose (Heitz, 1987; Rebeiz et al., 1991), tiek lauko sąlygomis (Lenke et al., 1987; Ben Amor et al., 2000). Daugiausia tyrimų buvo atlikta naudojant šviesos aktyvuojamus policiklinius aromatinius dažus, sugeriančius šviesą, kurios bangos ilgis artimas ultravioletui (UV). Tokiems junginiams priklauso tiofenai, furokumarinai, chinonai. Taip pat buvo tiriami ir ksanteno dariniai (eozinas ir jo analogai), kurie sugeria šviesos intervalus matomojo spektro srityje (Heitz, 1997). Kad pasireikštų visų minėtų dažančių junginių fototoksinis veikimas, reikalingas molekulinis deguonis; taigi, visas fotoinsekticidinis procesas yra fotodinaminio tipo (Jori, 1996).

Rebeiz su bendradarbiais pasiūlė ir porfirinus naudoti kaip fotoinsekticidus (Rebeiz et al., 1988). Šie mokslininkai testavo protoporfiriną IX ir jo Zn(II) darinius, kurie yra ypač perspektyvūs fotoinsekticidiniai junginiai, kadangi sugeria iš esmės visus UV-regimosios šviesos bangos ilgius. Tai yra šių junginių molekulės efektyviai sužadina natūrali saulės šviesa. Ben Amor su bendraautoriais tokiu pačiu principu pademonstravo, kad porfirinams priklausantis hematoporfirinas keletui vabzdžių yra efektyvus fototoksinas (Ben Amor et al., 1998a).

Taigi fotoinsekticidai reprezentuojami kaip perspektyvi alternatyva esamiems tradiciniams cheminiamis insekticidams. Pastarųjų naudojimas, kaip žinome, gali sukelti daug svarbių problemų, įskaitant ir toksinį poveikį augalams, gyvūnams, ir ypač žmogui. Taip pat šie insekticidai ilgai

išlieka aplinkoje ir gali tapti dirvožemio bei vandens taršos priežastimi. To galima būtų išvengti naudojant fotodinaminius insekticidus (Ben Amor, Jori, 2000).

Žemiau pateikiame trumpą šviesos aktyvuojamų insekticidų naudojimo istorijos, bei dabarties perspektyvų apžvalgą.

Istorijos faktai. Pirmieji moksliniai faktai, įrodantys, kad saulės šviesa gali būti toksiška biologinėms sistemoms, buvo pateikta dar XIX a. pabaigoje (Marcacci, 1888). Marcacci paskelbė, kad augalų alkaloidų ir amfibijų kiaušinių fermentacija tampa daug intensyvesnė prie UV/regimosios šviesos nei tamsoje. Netrukus 1900 m. Oscar Raab, Miuncheno farmakologijos instituto studentas, tirdamas ląstelių kultūros *Paramecia* gyvybingumą pastebėjo, kad įdėjus į kultūrą kai kurių matomą šviesą sugeriančių junginių (pvz., akridino oranžo) ir apšvitinus ląsteles saulės šviesa, jos žūva. Tokie pat tyrimai buvo pakartoti naudojant įvairius daugialąsčius ir vienaląsčius organizmus. Akridino oranžas bei kiti junginiai su panašiomis savybėmis buvo pavadinti fotosensibilizatoriais. Fotosensibilizatoriai - gyvoje gamtoje sutinkami pigmentai ir susintetintos molekulės, efektyviai sugeriančios matomosios spektro srities šviesą ir perduodančios sugertos šviesos energiją aplink jas esančioms biomolekulėms, arba deguonies molekulėms esančioms organizme. Pastebėjus, kad fotosensibilizacijai būtinas ir deguonis, trijų elementų - šviesos, deguonies ir fotosensibilizatoriaus – bendras poveikis buvo pavadintas fotodinaminiu (Ben Amor, Jori, 2000).

Šie mokslinių tyrimų rezultatai buvo pradėti naudoti praktikoje, tiek medicinos, tiek aplinkosaugos srityse. Fotoaktyvių junginių panaudojimo siekiant reguliuoti kenkėjų populiacijas tyrimus pirmasis pradėjo italų mokslininkas Barbieri 1928 m. Jis tyrė ksanteno darinių mišinio (fluoresceino, eritrozino ir bengalo rožinio) poveikį *Anopheles* ir *Aedes* uodų lervoms. Barbieri parodė, kad šviesa ar fotosensibilizatorius veikdami pavieniui, toksiško poveikio vabzdžiams nesukelia (Ben Amor, Jori, 2000).

Ksantenu kaip vabzdžiams letalių efektų aktyvatoriaus galimybes (po vabzdžių apšvitinimo saulės šviesa) išsamiai ištyrė J.R. Heitz su



bendradarbiais. Jis tyrinėjo įvairių eksperimento kriterijų vaidmenį minėto tipo junginių fotoinsekticidiniame efektyvumui (Heitz, 1987, 1997). Daug dėmesio susilaukė lauko bandymai, kuriuose buvo panaudoti keli masalo ir ksanteno dažų deriniai, ypač po to, kai buvo išsirta, kad ksantenai vandeninėje terpėje bei saulės šviesoje greitai biodegraduoja (Carpenter et al., 1981). Tuo pačiu metu kitos laboratorijos eksperimentais pademonstravo, kad dažai (ar organiniai pigmentai) sugeriantys šviesą, kurios bangos ilgis artimas UV ar matomajai šviesai, priklauso skirtingoms organinių junginių, galinčių fototoksiškai veikti įvairius vabzdžius, kategorijoms. Taigi buvo suformuotas teiginys, kad bet koks fotodinamiškai aktyvus junginys, kuris gali būti dedamas į tam tikrai vabzdžių grupei skirtą masalą (apribojant prieinamumą kitų vabzdžių grupėms), gali veikti kaip insekticidas.

Kadangi UV/matomoji šviesa gali prasiskverbti daugumoje biologinių audinių iki 1 cm (prasiskverbimo gylis priklauso nuo bangos ilgio), galima fotoindukuoto audinio pažeidimą moduluoti pasirenkant fotosensibilizatorių su specifinėmis sugerties savybėmis. Šiuo aspektu visiškai neseniai pradėti tirti porfirino junginiai (Rebeiz, 1992; Ben Amor et al., 1998a). Šie junginiai geba sugerti platų UV/regimojo spektro šviesos diapozoną, todėl gali būti sužadunami tiek baltos šviesos, tiek pasirinkto bangos ilgio šviesos priklausomai nuo to, kokio dydžio pažeidimas siekiama sukelti. Porfirino junginių kaip efektyvių fotoinsekticidų tyrimai tęsiasi.

Fotodinaminės sensibilizacijos mechanizmai. Fotosensibilizatoriai gali pereiti daugybę elektroninio sužadavimo būsenų iki UV ar matomosios šviesos fotonų absorbcijos. Fotosensibilizatorius apšvitinus tinkamo bangos ilgio šviesa, įvyksta fotosužadavimas, t.y. molekulės pereina į sužadintą didesnės energijos būseną. Fotosensibilizacijos efektyvumas priklauso nuo sužadinto, iš singletinės į tripletinę būseną perėjusio fotosensibilizatoriaus fotofizinių savybių.

Sąveikaujant sužadintam fotosensibilizatoriui su biologiniais objektais, galimi du pagrindiniai reakcijų tipai. Pirmo tipo reakcijose fotosensibilizatorius betarpiškai sąveikauja su biomolekule. Tos sąveikos metu vyksta elektrono

arba vandenilio atomo pernešimas ir susidaro laisvieji radikalai, kurie yra chemiškai labai aktyvūs ir inicijuoja reakcijas, sukeliančias vėlesnę ląstelių žūtį (Jori, Reddi, 1991).

Antro tipo reakcijų metu energijos perdavimas vyksta nuo sužadinto fotosensibilizatoriaus bet kokiai biomolekulei (substratui), kurios energija sužadintoje tripletinėje būsenoje mažesnė nei fotosensibilizatoriaus (Jori, Reddi, 1991). Dauguma audinių ir ląstelių komponentų nėra tinkami elektroninės energijos iš fotosensibilizatoriaus akceptoriai, kadangi jie tripletinėje būsenoje gan energiški. Išimtį sudaro deguonis. Sužadintoje tripletinėje būsenoje esantis fotosensibilizatorius gali sąveikauti su molekuliniumi deguonimi (kurio pagrindinė būseną - tripletinė), perduodamas jam sužadavimo energiją. Sužadinta deguonies molekulė (vadinama singletiniu deguonimi,  $^1O_2$ ) yra labai chemiškai aktyvi ir oksiduodama biomolekules (substratą) gali sutrikdyti ląstelės metabolizmą. Daugelis fotosensibilizatorių gali sudaryti tiek laisvus radikalus, tiek ir singletinį deguonį (Wasserman, Murray, 1989).

Daugeliu atveju fotosensibilizatorių prasiskverbimą į organizmo ląsteles ir jų poveikį nulemia jų cheminė struktūra ir ypatingai – hidrofobiškumo laipsnis (Jori, Reddi, 1993). Lipofiliški fotosensibilizatoriai pirmiausiai jungiasi su ląstelių membranomis: esant trumpam inkubaciniam periodui – daugiausia su plazmine membrana, o ilgam – su mitochondrijų, lizosomų, Goldžio aparato ar šiurkščiojo endoplazminio tinklo membranomis. Hidrofilisčių fotosensibilizatorių patekimas į ląstelės vidų sudėtingesnis. Nors šie junginiai pasižymi joninėmis sąveikomis su krūvį turinčiomis dalelėmis, esančiomis ląstelės paviršiuje, jie gali taip pat patekti į ląstelę ir pasyvios ar aktyvios difuzijos keliu. Tokiu būdu katijoniniai fotosensibilizatoriai dažniau lokalizuojasi mitochondrijose, o anijoniniai akumuliuojasi lizosomose (Jori, 1996). Galiausiai kai kurie fotosensibilizatoriai, pvz. furokumarinai, gali pasiekti ląstelės branduolius ir prisirišti prie DNR bazių. Fotosensibilizatoriaus buvimo vieta ląstelėje apsprendžia jo poveikio efektyvumą kaip ir fotoindukuoto ląstelės neveiklumo mechanizmus. Fotosensibilizatoriaus vieta

ląstelėje tam tikru mastu reguliuoja apoptotinius ir nekrotinius procesus, atsakingus už ląstelės žūtį.

Fotoaktyvių insekticidų pagrindinės grupės. Pagrindinės fotoinsekticidų grupės pateiktos 6 lentelėje. Ksantenai - viena labiausiai ištyrinėtų fotosensibilizatorių grupių, o šiai grupei priklausantis floksinas B šiuo metu jau įgijo ir komercinę vertę kaip pesticidas (Heitz, 1997). Visi ksantenai intensyviai sugeria matomojo spektro žaliosios srities šviesą. Maksimali absorbcija vyksta 480-550 nm bangos ilgio intervale. Prisijungusių halogenų skaičius ir jų atominės masės didėjimas įtakoja ksantenu fotodinaminį efektyvumą. Apskritai, ksantenu fototoksinis veikimas pasireiškia reaktyvių deguonies formų (dažniausiai singletinio deguonies) susidarymu ląstelėse. Ksantenai kaupiasi ląstelių membranose ir daugiausiai veikia membranos baltymų tarpusavio jungtis, ko pasekoje iš neprisotintų lipidų formuojasi hidroperoksidai. Tokiu būdu labai sumažėja ląstelės osmosinis stabilumas (Ben Amor, Jori, 2000).

Labai panašiai veikia ir kita fotosensibilizatorių grupė – akridinai. Šie junginiai efektyviai sugeria šviesą, kurios bangos ilgis apie 550 nm ir kaip ksantenai dažniausiai generuoja aktyvias deguonies formas. Tačiau yra vienas svarbus skirtumas – akridinai gali suskaldyti specifines ląstelės organėles, pvz. lizosomas, ar sąveikauti su dvigubos DNR grandinės fosfatų grupėmis, taip pažeisdami genetinę informaciją (Briviba et al., 1997).

Ir furokumarinai, ir tiofenai sugeria šviesą, kurios bangos ilgis artimas ultravioletui. UV pasižymi mažu skvarbumu į daugelį biologinių audinių. Taigi šie fotosensibilizuojantys junginiai daugiausiai pažeidimų sukelia paviršutiniuose audinių sluoksniuose. Furokumarinai taip pat gali įsiterpti tarp DNR bazių, taip inhibuodami ląstelės dalijimąsi (Armitage, 1998).

Fenotiazinai ir hipericinas intensyviai sugeria šviesą matomojo spektro oranžinės ir raudonos spalvos srityje. Abi šios fotosensibilizatorių grupės tiesiogiai pažeidžia audinio sritis, išsidėsčiusias kelių milimetrų atstumu nuo paviršiaus, kuris pirmiausiai apšviečiamas šviesos. Kai kurie šiai grupei priklausantys junginiai indukuoja ypač reaktyvaus singletinio deguonies susidarymą.

6 lentelė. Fotosensibilizatoriai, kurie pasižymi fotoinsekticidinėmis savybėmis.

Grupė	Fotosensibilizatorius	Taikinys	Literatūra
Ksantenai	Rose bengal	kambarinė musė, <i>Aedes</i> lervos	Carpenter et al., 1984
	Eritrozinai B	kambarinė musė, <i>Musca autumnalis</i>	Fairbrother et al., 1981
	Floksinas B	<i>Culex</i> uodų lervos	Fondren et al., 1979
	Rodaminas 6G	uginės skruzdėlės, kambarinė musė	Fondren, Heitz, 1978, Heitz, 1987
Fenotiazinai	Metileno mėlis	didysis milčius,  kopūstinis baltukas	Lavialle, Dumortier, 1978
Furokumarinai	Ksantotoksinas	<i>Papilio polyxenes</i> lervos	Cunat et al., 1990
	Angelicinas	machaonas	Robinson, 1983
Tiofenai	$\alpha$ -Tertienilas	<i>Aedes</i> uodų, mašalų lervos	Guillet et al., 2000
Akridinai	Akridino raudonis	žiemsprindžio lervos	Robinson, 1983
Porfirinai	Hematoporfirinas	<i>Ceratitis capitata</i>	Ben Amor et al., 1998a
		<i>Bactrocera oleae</i> musė kandiklė	Ben Amor et al., 2000
Įvairūs	Cerkosporinas	<i>Aedes</i> uodų lervos	Bosca, Miranda, 1998
	Benzopirenas	mašalų lervos	Cunat et al., 1990

Pastaraisiais metais ypač daug dėmesio buvo skiriama porfirinų ar jų analogų (chlorinų, ftalocianinų) fotosensibilizacijos ypatybėms. Porfirinai yra natūralūs ar artimi natūraliems junginiai, todėl naudojant juos paprastai išvengiama bet kokio pastebimo citotoksiškumo, nesant šviesos šaltiniui. Galiausiai porfirinams būdingi specifiniai bruožai (aptariami žemiau), kurių dėka šie junginiai ypač patrauklūs biologinių sistemų fotosensibilizacijai (Ben Amor, Jori, 2000).

Pirmiausiai pažymėtina, kad porfirinai gali sugerti iš esmės visų ilgių saulės šviesos bangas UV ir regimojo spektro diapozone. Ypač porfirinai sugeria mėlynos spektro srities šviesą, kuri yra intensyviausias saulės emisijos komponentas vidurdienio laiku (Svaasand et al., 1990). Iš kitos pusės, porfirinų sugebėjimas sugerti raudonojo spektro srities šviesą naudingas saulėtekio ir

saulėlydžio valandomis, kuomet intensyviausiai veikia saulės šviesa, kurios bangos ilgis didesnis nei 600 nm.

Paprastai porfirinai sukelia ląstelių inaktyvaciją generuodami singletinį deguonį, tačiau gali dalyvauti ir radikalų pernešimo reakcijose. Tai padidina porfirinų kaip fotosensibilizatorių galimybes, kadangi jie gali būti efektyvūs ir tose biologinėse sistemose, kurioms būdingas žemas deguonies spaudimas. Be to porfirinų cheminė struktūra gali būti modifikuota įvairiais lygmenimis. Tokiu būdu galima moduluoti fizikochemines porfirino molekulių savybes ir reguliuoti jų veikimą ląstelėse. Cheminė porfirinų struktūra labai įtakoja jų fotoinsekticidinį veikimą. Pavyzdžiui vandenyje tirpūs hidrofiliniai porfirinai yra mažai efektyvūs fotoinsekticidai. Kaip ir kitų fotosensibilizatorių taip ir porfirinų fotoaktyvumas didėja didėjant jų hidrofobiškumui. Hidrofobiški porfirinai kaupiasi ląstelės membranose, įskaitant ir plazminę bei mitochondrijų ir lizosomų membranas. Genetinė informacija nėra pažeidžiama fotoprocesų, atsakingų už ląstelės žūtį, metu. Kaip rodo daugumas tyrimų, porfirinai fotosensibilizuodami ląsteles nesukelia mutageninių efektų, o tai minimizuoja fotoatsparių ląstelės klonų atrankos riziką (Bonnert, Berenbaum, 1989).

Vienas iš patrauklių porfirinų kaip fotoinsekticidų bruožų yra tai, kad šie junginiai greitai išblunka (fotodegraduoja) tiek saulės, tiek dirbtinio šviesos šaltinio šviesoje (Rotomskis et al., 1997). Fotodegradacijos produktai nesukelia pastebimų toksinių ar fototoksinių efektų daugelyje biologinių sistemų. Taigi greitas porfirinų išnykimas aplinkoje reikšmingai sumažina ilgai išliekančios taršos ar jos paplitimo pavojų. Be to, kai kurie porfirinai yra naudojami kaip fototerapinė priemonė. Toksikologiniai tyrimai parodė, kad žmogaus organizme svarbius pažeidimus šie junginiai sukelia tik esant labai didelei jų koncentracijai – mažiausiai 100 mg/kg kūno svorio. Tuo tarpu santykinis kiekis reikalingas toksiškumui sukelti vabzdžių organizme yra kur kas mažesnis. Pavyzdžiui kai kurių rūšių musių staigiam mirtingumui sukelti, esant tam tikram apšvietimo intensyvumui, užtenka vos kelių nanomolių (Ben Amor et al., 2000).

Galiausiai reikia paminėti, kad porfirinų ekstrakcija ar išskyrimas iš natūralių produktų, taip pat kaip ir sintetinis jų paruošimas (dažnai modifikuojant natūralius porfirinus) yra gana nesudėtingos procedūros (Ricchelli et al., 1995). Todėl ir komercinė porfirinų kaina nebūtų labai didelė. Taigi ir šių medžiagų praktinis panaudojimas kaip kovos priemonės su kenkėjais nereikalautų didelių kaštų.

Fotoinsekticidinio veikimo mechanizmai bei jį lemiantys veiksniai. Galimybė reguliuoti vabzdžių kenkėjų populiacijų gausumą fotodinaminių procesų pagalba buvo tyrinėjama naudojant įvairius vabzdžius esant skirtingoms apšvietimo sąlygoms. Nepaisant daugelio bandymų metodinių skirtumų, galima palyginti ir apžvelgti rezultatus, gautus įvairių mokslininkų bei daryti kai kurias išvadas apie fotodinaminio tipo insekticidinių priemonių veikimo mechanizmą:

1. Fotodinaminių procesų metu pirmiausiai pažeidžiamos vabzdžio žarnyno sienelės membranos, kas nulemia vabzdžio maitinimosi slopinimą (Ben Amor et al., 1998a).
2. Membranos pralaidumo pakitimus parodo pasikeitęs kalio kiekis hemolimfoje. Fotosensibilizacijos metu hemolimfos kiekis sparčiai mažėja, o hemocelio skysčiai iš kūno ertmės pernešami į virškinamąjį traktą (Weaver et al., 1976).
3. Fotosensibilizaciją patyrę vabzdžiai labai skiriasi savo svoriu, vandens ir baltymų kiekiu organizme nuo kontrolinės grupės vabzdžių. Tai rodo energijos stresą vabzdžių organizmuose, kurio poveikis dažnai letalus (Pimprikar et al., 1980).
4. Fotosensibilizacija taip pat sukelia fiziologines ir morfologines anomalijas tiek suaugėlio, tiek lėliukės ar lervos stadijose. Suaugėliai padeda mažiau kiaušinėlių, kurie mažiau gyvybingi (Sakurai, Heitz, 1982).
5. Galimybė išsivystyti fotoatspariems individams taip pat buvo tirta. Tyrimai su kambarine muse ir ksantenu grupės fotosensibilizatoriais parodė, kad vabzdžiai paimti iš laukinės populiacijos išvystė

fotoatsparumą po 32 kartų, kurios buvo veikiamos bendro fotosensibilizatoriaus eritrozino ir šviesos poveikio. Pašalinus iš eksperimento atrankos spaudimą sukeliančius veiksnius (eritrozina ir šviesą), 20 - yje kartų išliko pakankamai pastovus atsparumas minėtiems veiksniams (Respicio, Heitz, 1985). Atlikus panašius bandymus su porfiriniais, fotoatsparumo nebuvo pastebėta (Ben Amor et al., 2000). Taigi šis specifinis fotoinsekticidinio poveikio aspektas greičiausiai susijęs su konkrečiu fotosensibilizatoriumi bei apšvietimo sąlygomis.

6. Keletas fotosensibilizatorių, pvz., bengalo rožinis ar kiti ksantenai, toksiškai veikia vabzdžius ir tamsoje (Carpenter, Heitz, 1981). Tačiau fotosensibilizatorių sukeltos reakcijos tamsoje kur kas mažiau efektyvios už indukuojamas šviesos reakcijas. Be to panašu, kad toksinis efektas tamsoje būdingas tik ksantenu grupės fotosensibilizatoriams, kadangi panašių efektų nebuvo stebėta naudojant furokumarinus, tiofenus ar porfirinus, bent jau tokias jų dozes, kurios yra fotodinamiškai aktyvios (Cunat et al., 1990; Ben Amor et al., 2000).

Fotosensibilizatorių insekticidinių savybių efektyvumas priklauso nuo įvairių parametru. Akivaizdūs veiksniai reguliuojantys vabzdžių fotojautrumą – fotosensibilizatoriaus dozė ir vidutinės šviesos intensyvumas. Daugumoje atvejų fotoinsekticidinis efektyvumas didėja, didėjant fotosensibilizatoriaus dozei masale. Prisotinimo efekto nepastebėjo dauguma tyrėjų naudodami netgi labai dideles fotosensibilizatoriaus koncentracijas. Fotosensibilizacijos veikiamų vabzdžių mirtingumas didėja ilgėjant jų apšvitinimo laikui ar didėjant šviesos intensyvumui (Ben Amor, Jori, 2000).

Iš kitos pusės sunku palyginti skirtingų fotosensibilizatorių grupių efektyvumą, kadangi bendras fotoinsekticidinis poveikis priklauso tiek nuo šviesos šaltinio emisijos spektro, tiek nuo spektro, kurį sugeba sugerti fotosensibilizatorius. Dažniausiai fotoinsekticidai naudojami lauko sąlygomis ir yra aktyvuojami saulės šviesos. Apskritai natūrali saulės šviesa daug

efektyvesnė nei dirbtinė (tikriausiai dėl jos žymiai didesnio intensyvumo). Šiuo atžvilgiu (kaip jau buvo minėta) porfirinai yra pranašesni tuo, kad sugeria beveik visus saulės emisijos spektro šviesos bangos ilgius. Taipogi tikimasi, kad porfirinai gali efektyviau veikti nei kitų grupių fotosensibilizatoriai esant mažesnėms jų koncentracijoms vabzdžių organizme (Ben Amor et al., 1998a).

Galiausiai buvo bandyta apsaugoti vabzdžius nuo fotodinaminio poveikio, tipiško oksidacijos proceso, antioksiduojančiais junginiais – karotenais, tokoferoliais, askorbio rūgštimi (Robinson, Beatson, 1985). Visais tirtais atvejais to gauti nepavyko, nors minėti junginiai galingi fotooksidacinių reakcijų inhibitoriai in vitro. Priežastys gali būti kelios – spartus antioksidantų perdirbimas arba kitoks nei fotosensibilizatorių pasiskirstymas vabzdžių organizme (Ben Amor, Jori, 2000).

Apibendrinimas. Šviesos aktyvuojami insekticidai pasižymėtų keliais privalumais, bei plataus taikymo galimybėmis. Pirmiausia, galima reguliuoti procesus ląstelėse taikant įvairius fotosensibilizatorius. Taip pat svarbu, kad kartu naudojami fotosensibilizatoriai pasižymi sinergistiniu veikimu, pvz., kartu naudojant du ksantenus (fluoresceiną ir bengalo rožinį) prieš kambarinę musę, jų sugerties spektras padidėja 60 nm (Carpenter et al., 1981).

Naudojant fotosensibilizatorius sumažėja ir aplinkos taršos problema, kadangi saulės šviesoje fotoinsekticidiniai junginiai blykšta prarasdami savo savybes (Spikes, 1992).

Svarbiausias saulės aktyvuojamų fotosensibilizatorių privalumas yra tas, kad jie tamsoje netoksiški daugumai biologinių sistemų, kas mažina jų neigiamą poveikį aplinkai. Tačiau sprendžiant praktinio fotosensibilizatorių panaudojimo galimybes išryškėja keletas problemų. Viena jų – kaip privilioti vabzdžius kenkėjus prie masalo su fotosensibilizatoriumi. Be to, turi būti sukurta efektyvi strategija kaip sumažinti tokių masalų su fotosensibilizatoriais patekimą per mitybą į naudingų vabzdžių organizmą. Šiuo atveju viena iš galimybių ir būtų naudoti naikinamų vabzdžių specifinius atraktantus, kurie pritrauktų prie masalo su fotosensibilizatoriumi norimas rūšis ir atbaidytų likusias.



## 2. MEDŽIAGA IR METODIKA

### 2.1. Medžiaga

Vabzdžiai. Tyrimų objektas – bulvinė liriomyza *Liriomyza bryoniae* Kaltenbach (Diptera, Agromyzidae). Vienas iš pagrindinių medžiagos sukauptimo būdų - *L. bryoniae* auginimas laboratorinėmis sąlygomis. Pradiniam veisimui bulvinė liriomyza paimta iš Vilniaus Universiteto Ekologijos Instituto Entomologijos laboratorijoje palaikomos populiacijos. Pastaroji populiacija buvo užveista surinkus medžiagą iš gamtos. Vilniaus rajone buvo surinkti pelkinio karklavijo *Solanum dulcamara* (Solanaceae) lapai su *L. bryoniae* minomis. Iš surinktų lervučių išauginti suaugėliai buvo panaudoti *L. bryoniae* populiacijos užveisimui laboratorijoje.

Tyrimams *L. bryoniae* rūšis buvo auginama ant pelkinio karklavijo *Solanum dulcamara* (Solanaceae) ir pupos *Vicia faba* (Fabaceae). Suaugėliai suleidžiami į plastikinį keturkampį narvelį (16 cm aukščio, pagrindas - 7 cm), kurio viršus uždengtas nailono tinkleliu, o apačia – poralonu. Į narvelį su jame esančia patele ir keliais patinėliais talpinami pirmi šeši ar aštuoni (skaičiuojant nuo viršūnės) pilnai išsiskleidę augalo lapai. Praėjus trims, keturioms dienoms narvelis su minamusėmis buvo perkeliamas ant kito augalo. Augalas su *L. bryoniae* minomis apsukamas plastikiniu maišeliu, ant jo nukritusios ir subrendusios minamusių lėliukės po vieną talpinamos į stiklinius mėgintuvėlius su drėgnais filtrinio popieriaus rutulėliais drėgmei palaikyti. Minamusės buvo veisiamos esant  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$  temperatūrai, bei 15D:9N fotoperiodui. Spalio-Balandžio mėn. buvo naudojamas dirbtinis apšvietimas – kaitinamoji, 400 W lempa (DRLF tipo, skirta šiltnamiams). Esant tokioms laboratorinėms sąlygoms suaugėliai iš lėliukių išsivysto per 7 – 12 dienų, o visas *L. bryoniae* vystymosi ciklas trunka 3 – 4 savaites.

Karklavijo *S. dulcamara* augalai bulvinės lirijomyzos veisimui buvo renkami gamtoje prie Sudervės ežero, Vilniaus raj. Augalai po vieną ar kelis buvo sodinami į 20-25 cm aukščio vazonėlius su „Sulinkių“ durpių substratu.

Augalai. Tyrimuose buvo naudojami šių rūšių augalai: pelkiniai karklavijai *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae), pomidorai *Lycopersicon esculentum* Mill. (Solanaceae), baltosios balandos *Chenopodium album* L. (Amaranthaceae), baltažiedės notrelės *Lamium album* L. (Lamiaceae), plaukuotosios dumplūnės *Physalis pubescens* L. (Solanaceae), pupos *Vicia faba* (Fabaceae), raukšlėtalapis erškėtis *Rosa rugosa* Thunb. (Rosaceae).

Augalai tyrimams šiltuoju metų laiku buvo imami iš gamtos, o šaltuoju – auginami laboratorinėmis sąlygomis. Augalų auginimui laboratorinėmis sąlygomis buvo naudojamas „Sulinkių“ durpių substratas. Augalai laboratorijoje buvo auginami esant  $24 \pm 2$  °C temperatūrai, 60 – 70 % santykiniam oro drėgnumui, bei 15D:9N fotorežimui. Tyrimams buvo naudojami viršutiniai (8-12), pilnai išsiskleidę, kitų kenkėjų nepažeisti, tiek laboratorijoje užaugintų, tiek paimtų iš gamtos augalų lapai.

Fotosensibilizatoriai. Tyrimuose naudoti fotosensibilizatoriai – hematoporfirino dimetilo eteris (HPde) (prof. G.V. Ponomarev (Rusija) dovana), akridino oranžas (AO), metileno mėlis (MM) bei protoporfirino PpIX pirmtakas 5-amino levulino rūgštis (ALR) („Merck“, JAV). Minėtos medžiagos buvo ištirpintos fiziologiniame tirpale ( $2.5 \times 10^{-2}$  M) ir iki eksperimentų laikomos tamsoje, žemesnėje nei 10°C temperatūroje.

## **2.2. Metodai**

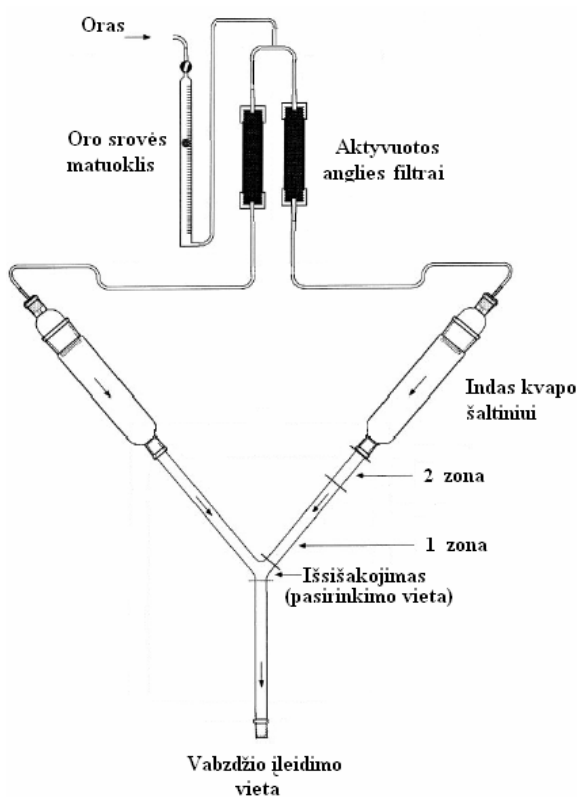
### **2.2.1. Sąveikos augalas-vabzdys tyrimai**

#### *Elgesiniai metodai*

*L. bryoniae* patelių maitinimosi elgesio tyrimai. Bulvinės lirijomyzos patelių maitinimosi paros ritmas buvo stebėtas 2005 m gegužės mėn. antroje pusėje, laboratorijoje, esant natūraliam fotorežimui (saulė tekėjo – 5 val., leidosi – 21 val.) bei  $21 \pm 2$ °C temperatūrai. Patelų stebėjimas buvo pradėdamas 11 val.

ryte ir tęsiamas visą parą, t.y. 24 val. Tyrimuose buvo naudojamos tik 1 dienos amžiaus patelės. Viena patelė buvo įleidžiama į stiklinį mėgintuvėlį, užkimštą sudrėkintu paraloniniu kamščiu. Į mėgintuvėlį buvo dedamas vienas karklavijo *S. dulcamara* lapas, kurio kotelis buvo įtvirtinamas drėgname paraloniniame mėgintuvėlio kamštyje. Po valandos karklavijo lapas buvo pakeičiamas nauju, nepažeistu lapu. Registruojami ant karklavijo lapo bulvinės minamusės padaryti maitinimosi pažeidimai. Vienu metu buvo vertinamas 4-5 patelių maitinimasis, viso - 16 bulvinės lirijomyzos patelių. Visų stebėtų patelių per tą pačią paros valandą padaryti maitinimosi pažeidimai buvo susumuojami ir apskaičiuojamas vidurkis. Skirtumai tarp maitinimosi aktyvumo įvairiu paros laiku buvo vertinami taikant t-studento kriterijų.

Mitybinių augalų kvapo ir sintetinės cheminės medžiagos patrauklumo vertinimas olfaktometru. Y-tipo olfaktometras buvo naudojamas siekiant nustatyti bulvinės lirijomyzos patelių ir patinėlių elgesines reakcijas į



2.2.1.1 pav. Y-tipo olfaktometras.

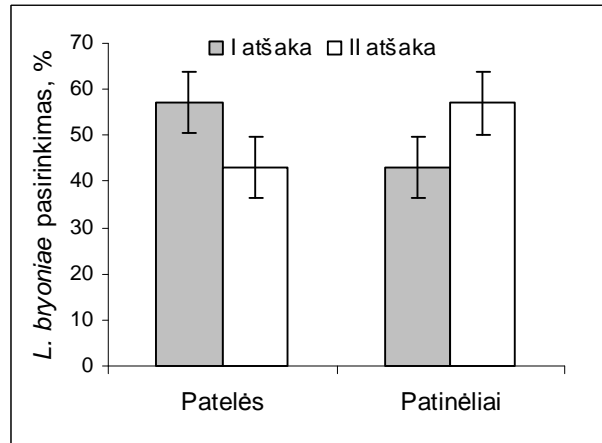
elektrofiziologiškai aktyvius mitybinių augalų skleidžiamus lakiųjų komponentų mišinius ir sintetinę augalinę medžiagą - metilsalicilatą (MeSa) nesant vizualinių stimulų. Y-tipo olfaktometras (pagrindinio vamzdelio ilgis – 10 cm; atšakų ilgis – 12 cm; išsišakojimo kampas - 45°; atšakų vidinis skersmuo – 0,6 cm (1 pav.). Oro srovė 430 mL/min greičiu buvo leidžiama per aktyvuotos anglies filtrus, oro drėkintuvus ir stiklines ovalias talpas (ilgis – 30 cm, skersmuo – 8 cm), į kurias buvo

talpinami kvapų šaltiniai. Vertinant mitybinių augalų kvapo patrauklumą

bulvinei liriomyzai, kvapų šaltiniu buvo pirmi 8-12 pilnai išsiskleidę mitybinio augalo viršūnės lapai. Tiriant pažeisto augalo kvapo patrauklumą, buvo naudojamas pelkinis karklavijas, kuriuo 24 val. maitinasi 3 *L. bryoniae* patelės. Prieš talpinant augalus į stiklines talpas, augalų lapų plotas buvo išmatuojamas. Augalų lapų plotui išmatuoti ir apsiskaičiuoti buvo naudojami trafaretai, iškirpti iš milimetrinio popieriaus. Vertinant sintetinės medžiagos – metilsalicilato – patrauklumą bulvinei liriomyzai kvapo šaltiniu buvo 1,5 mL plastikinis mėgintuvėlis, pripildytas 0,5 mL testuojamo junginio MeSa ( $\geq 99\%$ , Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Vokietija) ir lengvai užkimštas vata (kontrolei buvo naudotas tuščias plastikinis mėgintuvėlis su vata). 100 W kaitrinė lempa buvo įtaisyta priešais angą į Y-formos stiklinį vamzdelį. Kadangi minamusėms būdingas teigiamas fototaksis, lempos šviesa skatino vabzdžius judėti prieš oro srovę link kvapų šaltinių. Buvo testuojami tik nesiporavę 1 dienos suaugėliai (patelės ir patinėliai). Patinėliai prieš bandymą maitinami nebuvo. Patelės prieš bandymą apie 24 val. galėjo maitintis vienu ar kitu poroje esančiu mitybiniu augalu, kuriuos ir olfaktometriniu tyrimo metu galėjo pasirinkti. Patelės ir patinėliai po vieną buvo leidžiami į olfaktometrą bei stebimi 5 min. Minamusės pasirinkimas olfaktometre buvo registruojamas tik jai pasiekus 2-ą Y vamzdelio atšakos zoną ( $>5$  cm) (pav. 1). Minamusių, kurios nepasiekusios 2-os Y vamzdelio atšakos zonos pereidavo į kitą vamzdelio atšaką (2 zoną), paskesnis pasirinkimas buvo registruojamas kaip galutinis. Jei per 5 min. minamusė nepasirinkdavo nei vienos Y vamzdelio atšakos, ji buvo traktuojama kaip neaktyvi ir nebuvo įtraukiama į rezultatus. Y vamzdelio atšakų, kuriomis tekėjo skirtingą kvapą nešančios oro srovės, padėtis buvo keičiama (atšakos sukeičiamos vietomis) po 5 suaugėlių testavimo.

Prieš atliekant pasirinkimo bandymus buvo atliktas kontrolinis bandymas. Jo metu buvo naudojama tik gryno oro srovė. Vykdam olfaktometro kontrolinį patikrinimą nustatoma ar vabzdžiai vienodai dažnai renkasi dešinę ir kairę atšakas, t.y. ar teisingai išbalansuoti šviesos ir kiti neregistruojami stimulai. Kontrolinio bandymo rezultatai pateikti 2.2.1.2. paveiksle.

Olfaktometriniai eksperimentai buvo atliekami dienos metu tarp 9 ir 18 val., esant  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  temperatūrai. Rezultatų statistinė analizė atlikta taikant  $\chi^2$  kriterijų.



2.2.1.2 pav. *L. bryoniae* patelių bei patinėlių vienos iš dviejų Y formos vamzdelio atšakos pasirinkimas Y – olfaktometre be stimuliacijos augalo skleidžiamomis medžiagomis.

*L. bryoniae* patelių maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui tinkamo augalo pasirinkimo tyrimai. Dviejų vienodo amžiaus tačiau skirtingos rūšies augalų viršūnės su pilnai išsiskleidusiais pirmais 8 – 12 lapų buvo talpinamos į plastikinį ovalų indą (aukštis - 20 cm, skersmuo - 15 cm). Augalų viršūnės talpinamos skirtinguose indo pusėse, kad jų lapai kuo mažiau liestųsi. Indo viršus uždengiamas nailono tinkleliu, o apačia – poralonu. Vienos dienos amžiaus *L. bryoniae* patelė ir du patinėliai suleidžiami į plastikinį narvelį su dviem augalais.

Minamusės buvo laikomos inde su augalais 5 d., po to indas buvo nuimamas ir suskaičiuojamos augalų lapuose patelių padarytos pažaidos, po 3 – 5 dienų iš padėtų apvaisintų minamusių kiaušinėlių išsiriti lervutės, kurios tuoj pat pradeda maitintis ir augalų lapuose pasirodo minos. Kadangi buvo svarbu suskaičiuoti apvaisintus kiaušinėlius, tai buvo nustatomas minų skaičius ir vertinamas kaip sudėtų kiaušinėlių skaičius. Bandyamas naudojant tą pačią augalų porą kartojamas ne mažiau kaip 6 kartus ir kiekvienas bandymas

kartojimas su nauja minamusių (patelės ir 2 patinėlių) pora. Prieš talpinant augalus į plastikinį indą, augalų lapų plotas buvo išmatuojamas. Augalų lapų plotui išmatuoti ir apsiskaičiuoti buvo naudojami trafaretai, iškirpti iš milimetrinio popieriaus. Trafaretu išmatuojamas kiekvienas augalo lapas, kuris bus talpinamas į indą. Į indą dedami augalai su kuo vienodesniu suminiu lapų plotu (~125-148 cm<sup>2</sup>).

Bandymas buvo atliekamas esant 24 ± 2°C temperatūrai, bei 15D:9N fotoperiodui. Mitybinio augalo tinkamumas bulvinės lirijomyzos *L. bryoniae* maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui vertinamas atitinkamai pagal mitybos metu padarytų pažaidų ant augalo lapų skaičių bei minų skaičių. Gauti duomenys analizuoti naudojant „Statistica 5.0“ programą bei Vilkoksono ženklų kriterijų priklausomoms imtims.

#### Metilsalicilato biologinio aktyvumo testavimas lauko sąlygomis.

Bandymas buvo vykdomas vadovaujantis James (2005) metodika. Lauko biotestas atliktas 1 ha pramoniniame pomidorų (veislė „Barcelona RZ“, sėklų tiekėjas Rijk Zwaan, De Lier, Olandija) šiltnamyje (kur ant kai kurių pomidorų lapų buvo matyti *L. bryoniae* lervučių išgraužtos minos), Kietaviškėse, Kaišiadorių raj., 2006 rugpjūčio mėn. ir trijuose 0,5 ha dydžio firmos „UAB Evaldo daržovės“ šiltnamiuose Sakaluose, Šalčininkų raj., 2006 rugsėjo mėn., kur buvo auginamos salotos ir prieskoniniai augalai.

Šiltnamiuose buvo iškabintos lipnios geltonos ir aliuminio folijos spalvos kortelės formos gaudyklės. Nors geltonos ir aliuminio folijos spalvos gaudyklės savo dydžiu kiek skyrėsi, jų lipnysis plotas buvo vienodo dydžio. Geltonų lipnių kortelių (tipas „Bug scan“, 25 × 13 cm dydžio) tiekėjai – firma Biobest N.V., Westerlo, Belgija. Aliuminio folijos spalvos lipnios kortelės buvo pagamintos iš laminuoto popieriaus (TetraPak sulčių pakeliai, 20 × 16 cm dydžio) ir padengtos vabzdžių gaudymui skirtais klijuais „Pestifix“ (Tartu, Estija) Vilniaus Universiteto Ekologijos Instituto Cheminės ekologijos ir elgsenos laboratorijoje. Šiltnamiuose tokios gaudyklės buvo iškabintos vertikaliai, tvirtinant ant varinių vielų 30 cm aukštyje nuo augalų viršūnių. Prie kiekvienos gaudyklės 2 cm aukštyje nuo centro buvo tvirtinami 2 mL talpos

plastmasiniai mėgintuvėliai. Mėgintuvėliai buvo užpildomi 0,25, 0,5 ir 1 mL neskiesto metilsalicilato ( $\geq 99\%$ , Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Vokietija) ir lengvai užkemšami vatos gabalėliu. Prie kontrolinių gaudyklių pritvirtinti mėgintuvėliai buvo paliekami tušti. Gaudyklės buvo iškabintos trimis eilėmis, 12 m atstumu viena nuo kitos, atsitiktine tvarka. Šiltnamiuose buvo iškabinta po tris kiekvienos gaudyklės su skirtinga metilsalicilato doze pakartojimus. Po 10 dienų Kietaviškių šiltnamyje ir po 14 dienų Sakalų šiltnamiuose gaudyklės buvo surinktos, sugavimai registruoti.

Lipniomis geltonos ir aliuminio folijos spalvos gaudyklėmis sugautų Agromyzidae muselių genitalijų analizė buvo atliekama pagal Spencer (1976), Drosophilidae rūšis apibūdinta remiantis Shtakelberg (1970), o Calliphoridae rūšis - Grunin (1970) apibūdinimo raktais.

Statistinė sugavimų analizė buvo atlikta naudojant statistinę programą „Statistika 5.0“ bei Kruskalio-Voliso ranginį kriterijų nepriklausomoms imtims.

#### *Elektrofiziologiniai metodai*

L. bryoniae antenų sensilių reakcijų į lakiąsias chemines medžiagas registravimas. Elektroantenogramų (EAG) registravimo technika buvo paruošta remiantis Zhao ir Kang (2002) metodika. Stikliniai kapiliarai buvo užpildomi fiziologiniu tirpalu (NaCl, 0,9%) ir užmaunami ant Ag elektrodų. Minamos galva buvo atskiriama nuo kūno, o kairiosios antenos aristos galiukas nukerpamas. Įeinantysis stiklinis kapiliaras buvo įvedamas į galvos ertmę (dažniausiai per burnos aparatą), o išeinantysis (registravimo) – sujungiamas su nukirpta arista. Ventralinis antenos paviršius buvo atsukamas į pastovios oro srovės srautą. Pastovi oro srovė, praėjusi anglies filtrus ir oro drėkintuvą, tekėjo 1,2 mL/min greičiu stikliniu vamzdeliu ( $\emptyset$  6 mm), kurio galas nuo antenos buvo nutolęs 1 cm atstumu. Oras su testuojamomis cheminėmis medžiagomis (tai oras, praėjęs pro pastero pipetę su filtrinio popieriaus (Whatman<sup>®</sup> 1, Whatman International Ltd., Anglija) gabalėliu (2 mm  $\times$  0,5 mm), ant kurio buvo užnešama 6 mg testuojamo augalo sulčių) 6

mL/s greičiu buvo įpučiamas į pastovios oro srovės srautą 0,5 s bėgyje. Tokiu būdu testuojamų augalų kvapas pastovios oro srovės pagalba pasiekdavo vabzdžio anteną. Po kiekvieno dirginimo augalo kvapu sekdavo 90 s pertrauka, kurios metu antena buvo apipučiama tik pastovia, švaraus oro srove. Signalas buvo sustiprintas 2000 kartų naudojant biopotencialų stiprintuvą ir buvo stebimas osciloskopo (CAFA, Rusija) ir kompiuterio ekranuose tiesios ar vingiuotos linijos pavidalu. EAG buvo registruojama naudojant EAG signalo registracijos programą, skirtą kompiuterinei DOS sistemai.

Testuojamų kvapų šaltiniu buvo šviežios mitybinių augalų – pelkinio karklavijo, *Solanum dulcamara* L., pomodoro, *Lycopersicon esculentum* Mill., baltosios notrelės, *Lamium album* L., plaukuotosios dumplūnės, *Physalis pubescens* L., baltosios balandos, *Chenopodium album* L., bei nemitybinio augalo - raukšlėtalapio erškėčio, *Rosa rugosa* Thunb. viršutinių lapų sultys. Mažiausiai 20 patelių ir 20 patinėlių antenų buvo panaudota registruojant EAG į vieno augalo kvapą. Po vieno ar dviejų antenos dirginimų testuojamu kvapu sekė kontrolinis dirginimas, kurio metu buvo naudojama pastero pipetė su švariu filtrinio popieriaus gabalėliu. Su kiekviena vabzdžio antena buvo pratestuojami trijų skirtingų augalų kvapai. EAG registracijos metu matomo signalo neigiamo nuokrypio dydis (-mV) buvo užrašomas kompiuteryje. Testuojamų kvapų (dirgiklio) elektroantogramos buvo vertinamos iš neigiamo nuokrypio (-mV) amplitudės maksimumo, kurį sukėlė dirgiklis, atėmus kontrolinio dirginimo sukeltos amplitudės dydį. Statistinė EAG analizė buvo atlikta naudojant „Statistica 5.0“ programą bei Vilkoksono ženklų kriterijų priklausomoms imtims.

#### *Chromatografiniai metodai*

Pomodoro *Lycopersicon esculentum* lakiųjų komponentų surinkimas iš oro. Lakiųjų komponentų surinkimui buvo naudojami 1 mėnesio amžiaus, nežydintys ir neturintys vaisių “Gold Nugget” veislės pomidorai. Vieno, pasodinto vazonyje ir nepažeisto pomodoro viršutinė dalis buvo talpinama į 2 L talpos uždara stiklinį indą, pro kurį 300 mL/min greičiu tekėjo pastovi, pro



aktyvuotos anglies filtrus ir oro drėkintuvą praėjusi oro srovė. Oro srovės nešamų, pomidoro lakiųjų komponentų surinkimui buvo naudojamas adsorbentas Porapak Q (akutės dydis = 80-100, SERVA Feinbiochemica, Heidelberg, Vokietija). 200 mg adsorbento buvo talpinama į stiklinį vamzdelį (išorinis Ø- 0,9 cm, vidinis Ø – 0,6 cm, ilgis – 6 cm), kurio galai buvo užkemšami stiklo vata. Po 8 val. rinkimo lakieji pomidoro komponentai iš Porapak Q adsorbento tirpikliu (1,5 mL pentano (≥99% švarumo, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Vokietija)) buvo išplaunami į stiklinį mėgintuvėlį. Iš viso surinkta 12 mėginių, kurių kiekvieno rinkimas truko 8 val. Pomidoro lakiųjų komponentų surinkimas iš oro buvo atliekamas kambario temperatūroje, šviesiuoju paros metu.

Visi 12-os mėginių ekstraktai buvo sujungti į vieną ir azoto (švarumas 99,999%) atmosferoje sukoncentruoti iki 500 µL. Gautas pomidoro lakiųjų komponentų mišinys buvo laikomas -18°C temperatūroje iki DC-EAD bandymų.

Pomidoro *L. esculentum* skleidžiamų cheminių medžiagų surinkimas hidrodistiliacijos metodu. 5 g šviežių pomidoro lapų buvo talpinami į 50 mL distiliuoto vandens ir laikomi 1 min., po to 2 val. hidrodistiliuojami naudojant Klavendžerio aparatą (European Pharmacopoeia, 1996). Pomidoro skleidžiamos cheminės medžiagos buvo surenkamos į 3 mL heksano (≥99% švarumo, Riedel-de Haën, Seelze, Vokietija) ir eterio (2:1) mišinio.

Dujinės chromatografijos ir EAG registravimas vienu metu (DC-EAD). Bulvinės lirijomyzos antenos EAG registravimui buvo paruošiamos taip pat kaip ir *L. bryoniae* antenų sensilių reakcijų į lakiąsias chemines medžiagas registravimo metodikoje. Signalai iš antenos buvo priimami signalų perdavimo įtaiso (IDAC 4, Syntech, Olandija), o duomenys kaupiami ir analizuojami naudojant specialų kompiuterinių programų paketą (GCEAD version 4.4, Syntech). 2 µL testuojamo augalo skleidžiamų cheminių medžiagų mišinio buvo injekuojama “splitless” režimu į dujų chromatografą (DC) Clarus 500 (Perkin Elmer), kuriame įmontuota EliteWax kolonėlė (30 m × 0.25 mm × 0.25 µm) ir papildomas išėjimas (temperatūros reguliatorius, TC-02, Syntech).

Papildomo išėjimo dėka tuo pačiu metu vyko ir liepsnos jonizacija, registruojama liepsnos jonizaciniu detektoriumi (LJD), ir EAG registravimas (elektroantenografiniu detektoriumi (EAD)). Injektoriaus, detektoriaus ir EAD perdavimo linijos temperatūros buvo atitinkamai 230°C, 240°C ir 240°C. DC termostato temperatūra buvo programuojama sekančiai: 2 min. izoterminė 40°C temperatūra, po to 6°C/min greičiu temperatūra kilo iki 150°C, tada 20°C/min greičiu vėl kilo iki 240°C ir ši galutinė temperatūra buvo palaikoma 5 min. Vandenilis tarnavo kaip dujos-nešėjos (4 mL/min), o azotas - kaip pagalbinės dujos (4 mL/min). Iš kolonėlės išėjusios testuojamo mišinio medžiagos buvo suskirstomos į dvi dalis santykiu 1:1 ir viena dalis (50%) buvo nukreipiama į LJD, o kita (50%) – į EAD. Kolonėlės galas, įeinantis į elektroantenografinį detektorių per specialią angą buvo įvedamas į 12 mm skersmens stiklinį vamzdelį, kuriuo 1,2 L/min greičiu tekėjo pastovi oro srovė. Tekanti oro srovė buvo leidžiama per aktyvuotos anglies filtrus ir oro drėkintuvą prieš jai pasiekiant į stiklinį vamzdelį įvestą kolonėlės galą. Tarp dviejų elektrodų įtaisyta vabzdžio antena nuo stiklinio vamzdelio galo buvo nutolusi 0,5 cm atstumu (9 cm nuo DC išėjimo į EAD). Vieno mišinio tyrimo metu buvo atlikti 4 sėkmingi DC\_EAD registravimai. Registruoti *L. bryoniae* patelių ir patinėlių antenų atsakai.

Pomidoro *Lycopersicon esculentum* skleidžiamų lakiųjų komponentų identifikavimas. Kai kurie pomidoro lakieji komponentai buvo identifikuoti dujų chromatografu panaudojus cheminius standartus, būtent heksan-1-olį (99% švarumo, Fluka, Buchs, Šveicarija),  $\alpha$ -pineną ( $\geq 99\%$ (DC) švarumo, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Vokietija),  $\beta$ -pineną ( $\geq 99\%$ (DC) švarumo, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Vokietija), mirceną (90%(DC) švarumo, Fluka, Buchs, Šveicarija), limoneną (98% švarumo, Fluka, Buchs, Šveicarija), metilsalicilatą ( $\geq 99\%$  švarumo, Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Vokietija). Dalis pomidoro lakiųjų komponentų buvo identifikuota dujų chromatografu ir masių spektrometru (DC/MS) bendradarbiaujant su Chemijos Institutu. DC/MS analizė buvo atlikta su HP 5890 dujų chromatografu, kuriame buvo įmontuotas HP 5971 masių selektyvumo detektorius, DB-5 kapiliarinė kolonėlė (50 m  $\times$

0.32 mm × 0.25 μm) ir split/splitless tipo HP 7673 injektorius (splitless 0,75 min). DC termostato temperatūra buvo programuojama sekančiai: 2 min izoterminė 60°C temperatūra, po to 6°C/min greičiu temperatūra keliama iki 150°C, tada 20°C/min greičiu vėl keliama iki 240°C ir ši galutinė temperatūra buvo laikoma 20 min. Injektoriaus ir detektoriaus temperatūros atitinkamai buvo 230°C ir 240°C. Masių spektrometru jonizuojančių elektronų energija - 70 eV.

### **2.2.2. Fotosensibilizatorių poveikio *L. bryoniae* tyrimai**

#### *Elgesiniai metodai*

#### Minamusių maitinimosi masalu su fotosensibilizatoriais elgesio registravimas.

Minamusių suaugėlių mitybos masalu, į kuro sudėtį įėjo fotosensibilizatorius, aktyvumas buvo vertinamas pagal laiką, kurį vabzdys praleido demonstruodamas mitybos elgesį, vabzdį stebint 30 min. Mitybos elgesys aiškiai skyrėsi nuo kito elgesio pagal vabzdžio vietą mėgintuvėlyje ir jo kūno padėtį: besimaitinantis vabzdys buvo šalia maisto šaltinio (masalo) su nuleista žemyn galva ir ištiestu straubliuku. Kiti minamusių elgesio aktai, pavyzdžiui, ramus tupėjimas ar judėjimas, buvo vertinamos kaip „nemitybos“ elgesys. Stebint minamusių elgseną mitybos/nemitybos elgesio aktų trukmė buvo registruojama kompiuteriu, naudojant originalią programą, kuri leido vienu metu registruoti 5 suaugėlių elgesį, kiekvienam suaugėliui priskiriant po atskirą kanalą. Kiekviena minamusių elgesio aktų trukmė buvo registruojama milisekundžių tikslumu. Minamusių mitybos elgesio stebėjimas buvo atliktas prie raudonos šviesos apšvietimo esant  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  temperatūrai. Raudona šviesa užtikrino fotosensibilizatoriaus stabilumą masale. Minamusių stebėjimo metu buvo maitinamos individualiuose mėgintuvėliuose. Maisto šaltinis – mažas, paralono gabalėlis sudrėkintas masalu. Masalą sudarė 1 mL cukraus/vandens tirpalo (koncentracija 0,2 g/mL) ir 150 μL fotosensibilizatoriaus ( $2,5 \times 10^{-2}$  M). Kiekvieną kontrolinę ir testuojamų vabzdžių grupę sudarė 15 suaugėlių (patelių arba patinelių), kurių elgesys buvo registruojamas ir analizuojamas.

Tyrimai atlikti su nemaitintais, 8-24 val. amžiaus *L. bryoniae* patelėmis ir patinėliais.

Statistinė maitinimosi skirtumų analizė buvo atlikta naudojant statistinę programą „Statistika 5.0“ bei Vilkoksono ženklų kriterijų priklausomoms imtims.

Fotosensibilizatorių toksiškumo *L. bryoniae* minamusėms vertinimas. Iš lėliukių išsiritę *L. bryoniae* suaugėliai buvo nemaitinami mažiausiai 8 val. *L. bryoniae* patinėlių ir patelių mitybai buvo dedamas paralono gabalėlis, suvilgytas cukraus tirpalu (0,2 g cukraus/1 mL distiliuoto vandens). Kontrolinė vabzdžių grupė maitinasi tik cukraus tirpalu, o testuojamoji – cukraus tirpalu, į kurį buvo įdėta fotosensibilizatoriaus (150  $\mu$ L  $2,5 \times 10^{-2}$  M fotosensibilizatoriaus/1 mL cukraus tirpalo). Ir kontrolinė, ir testuojamoji vabzdžių grupės buvo maitinamos 15 val. tamsoje ir 5 val. prie raudonos šviesos esant  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  temperatūrai. Raudona šviesa užtikrina fotosensibilizatoriaus stabilumą masale. Vabzdžių švitinimui buvo naudojamas dirbtinis šviesos šaltinis sudarytas iš volframo lempos (500W), optinės sistemos šviesos fokusavimui ir optinio filtro UV ir infraraudonųjų spindulių eliminavimui ( $370 \text{ nm} < \lambda < 680 \text{ nm}$ ) (Luksienė et al., 2004a). Šviesos intensyvumas ląstelių padėtyje –  $30 \text{ mW/cm}^2$ . Vabzdžiai buvo švitinami 30 min., todėl suminė švitinimo dozė neviršijo 54 J. Po švitinimo išgyvenę vabzdžiai buvo maitinami cukraus tirpalu, o jų mirtingumas buvo registruojamas kiekvieną dieną.

Fotosensibilizatoriaus toksiškumui įvertinti tamsoje vabzdžiai buvo maitinami cukraus tirpalu, į kurio sudėtį įėjo fotosensibilizatorius (koncentracijos ir maitinimosi laikas tokie pat, kaip ir buvo minėta aukščiau), tačiau nebuvo švitinami.

Kiekvieną (tiek testuojamąją, tiek kontrolinę) vabzdžių grupę sudarė 10 patelių arba patinėlių. Atlikti 2-3 bandymo pakartojimai su kiekviena vabzdžių grupe. Standartinė paklaida buvo skaičiuojama kiekvienam bandymo taškui ir grafikuose žymima kaip atkarpa. Taip pat buvo atlikta statistinė išgyvenamumo

skirtumų analizė naudojant statistinę programą „Statistika 5.0“ bei Cox'o F testą.

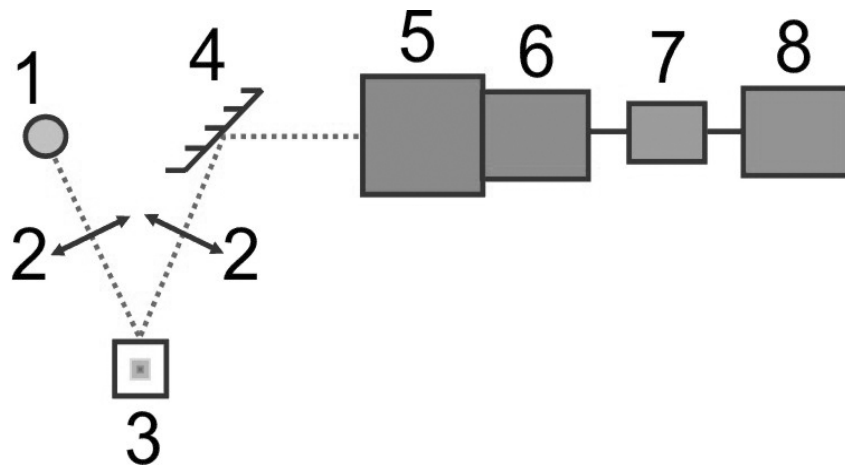
### *Spektrofotometriniai metodai*

Fotosensibilizatoriaus farmakokinetikos vertinimas vabzdžio organizme. *L. bryoniae* patinėlių ir patelių maitinimas masalu (cukraus tirpalu), į kurio sudėtį įeina fotosensibilizatorius, buvo toks pat kaip ir vertinant fotosensibilizatorių toksiškumą minamusėms. Po testuojamosios vabzdžių grupės maitinimo cukraus tirpalu su fotosensibilizatoriumi, o kontrolinės grupės – cukraus tirpalu 15 val. tamsoje ir 5 val. prie raudonos šviesos, abi vabzdžių grupės buvo maitinamos tik cukraus tirpalu. 48 val. laikotarpyje kas 8 val. vabzdžių grupės po 12 suaugėlių (patinėlių arba patelių) buvo užšaldomos  $-18^{\circ}\text{C}$  temperatūroje ir nustatomas fotosensibilizatoriaus fluorescencijos intensyvumas pavienio vabzdžio organizme. Fotosensibilizatoriaus farmokinetika vabzdžio organizme buvo registruojama naudojant standartinį liuminescencinį spektrometrą (2.2.2.1 pav.). Sužadinimui sukelti buvo naudojamas šviesą skleidžiantis 2 mW galingumo diodas, kurio skleidžiamos šviesos bangos ilgis buvo 394 nm. Suminė apšvitos dozė naudojant šviesą skleidžiančio diodo apšvietimą fluorescencijos matavimuose buvo mažesnė nei 0,5 J (žymiai mažesnė už apšvietimo naudoto vabzdžių išgyvenamumo testuose). Diodo skleidžiama šviesa ant vabzdžio kūno išsidėstė 2 mm skersmens taške. Antrinis spinduliavimas nuo vabzdžio kūno buvo surenkamas lęšių sistema ir išsklaidomas dvigubo monochromatoriaus (Jobin Yvon Model HRD-1). Duomenų surinkimui buvo naudojamas atvėsintas fotodaugintuvas (Hamamatsu R1463P) sujungtas su fotonus skaičiuojančia sistema.

HPde kiekio vabzdžio organizme nustatymui buvo išmatuota ir Hpde fluorescencija cukraus tirpalo masale bei nustatyta linijinė priklausomybė tarp HPde monomerinės formos fluorescencijos intensyvumo ir fotosensibilizatoriaus koncentracijos.

Visi matavimai buvo atlikti kambario temperatūroje. Atlikti 3 bandymo pakartojimai su kiekviena vabzdžių grupe. Standartinė paklaida buvo

skaičiuojama kiekvienam bandymo taškui ir grafikuose žymima kaip atkarpa. Fluorescencijos matavimo duomenys buvo analizuojami naudojant Origin 7.5 programą (OriginLab Corporation, Northampton, MA 01060, USA). Tyrimai atlikti VU Medžiagotyros ir Taikomųjų Mokslų Institute.



2.2.2.1 pav. Liuminescencinis spektrometras: 1 – šviesos diodas (LED (394 nm)), 2 - lęšiai, 3 - objektas, 4 - veidrodis, 5 - dvigubas monochromatorius, 6 - fotodaugintuvas, 7 - fotonų skaičiavimo sistema, 8 - kompiuteris.

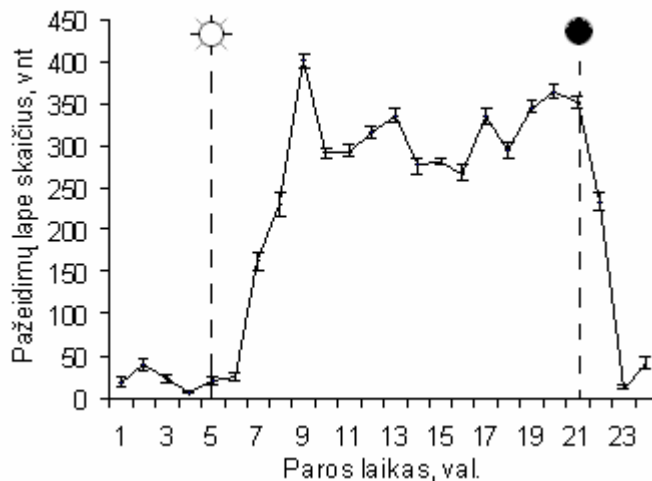
### 3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. Kairomonų, veikiančių *L. bryoniae* elgseną, paieška

##### 3.1.1. *L. bryoniae* patelių maitinimosi paros ritmas

Kairomonų tyrimų pradiniame etape buvo svarbu nustatyti bulvinės lirijomyzos maitinimosi paros ritmą, kadangi nuo gautų rezultatų priklausė, koku paros metu bus atliekami tolimesni tyrimai, susiję su mitybinių augalų pasirinkimu. Bandyje buvo stebėtos tik patelės, kadangi tik jos geba lape padaryti maitinimosi pažeidimus, taigi yra atsakingos už mitybinio augalo

pasirinkimą bei daromą žalą. *Liriomyza bryoniae* patelių didžiausias maitinimosi intensyvumas saulei tekant 5val., o leidžiantis 21val. nustatytas 9 val. ryte ( $p < 0,01$  pagal t-studento kriterijų). Po to patelės beveik tolygiai maitinasi visą dieną iki saulėlydžio (3.1.1.1 pav.)



3.1.1.1 pav. *Liriomyza bryoniae* patelių maitinimosi paros ritmas (n=16). ☀ - saulėtekis, ● – saulėlydis.

Šie rezultatai neprieštarauja literatūroje pateiktiems duomenims, tai yra buvo nustatyta, kad *Liriomyza trifolii* ir *L. pictella* rūšių patelės taip pat aktyvios šviesiuoju paros metu (Parrella, 1987). Detalesni maitinimosi aktyvumo tyrimai yra atlikti su *Agromyza frontella* (Diptera, Agromyzidae) rūšimi lauko sąlygomis (Quiring, McNeil, 1987). Lauko bandymų metu nustatyta, kad *A. frontella* patinėlių aktyvumo ir maitinimosi paros ritmai skiriasi nuo patelių. Jei patelės yra aktyvios ir maitinasi visą dieną, tai patinėliai aktyviausi rytinėmis valandomis (05:00 – 10:00 val.) bei popietės/ankstyvo vakaro valandomis (16:00 – 19:00 val.). Patinėlių pasyvus lyginant su patelėmis maitinimasis siejamas su laiku, kurio metu patinėliai ieško poravimosi partnerio, optimizavimu. Panašūs patinėlių aktyvumo pikai buvo stebimi tiriant *Liriomyza sativae* ir *L. trifolii* rūšių erdvinį pasiskirstymą ir aktyvumą naudojant lipnias gaudykles (Zehnder, Trumble, 1984). Tiek patelių, tiek patinėlių maitinimosi aktyvumą įtakoja ir abiotiniai veiksniai:

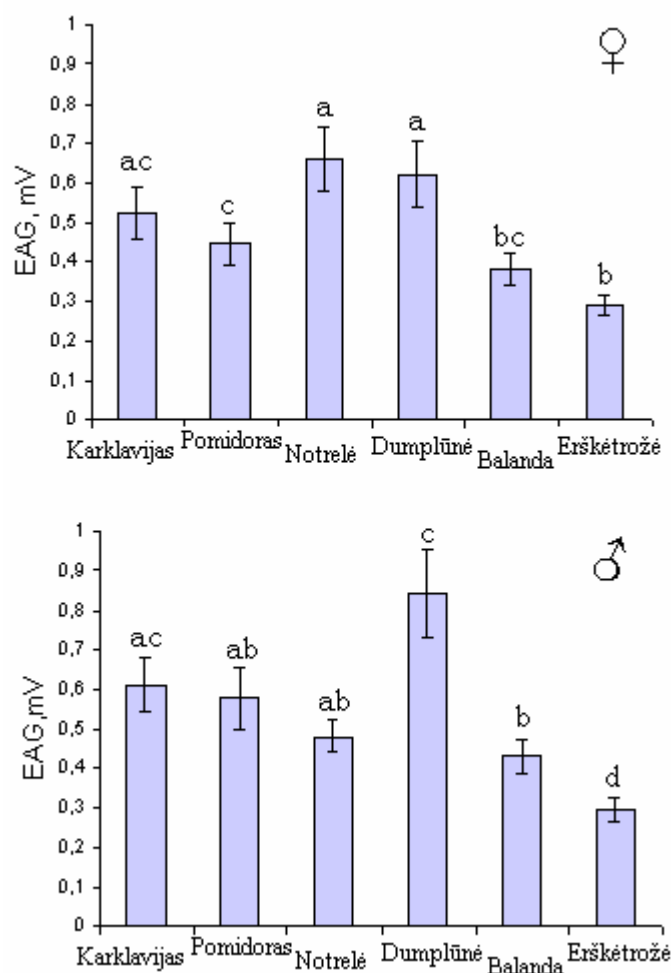
temperatūra, drėgmė, vėjo greitis (lauko sąlygomis). Manoma, kad patinėliai yra jautresni aukštomis temperatūroms bei nepalankioms drėgmės sąlygoms (didelė išdžiūvimo tikimybė), todėl nėra aktyvūs karščiausiomis paros valandomis. Tai siejama su jų mažesniu nei patelių dydžiu (didesnis paviršius palengvina vandens mainus) bei nesugebėjimu pradurti lapo paviršiaus ir maitinantis lapo sultimis atstatyti vandens nuostolių (Quiring, McNeil, 1987).

### **3.1.2. *L. bryoniae* antenų sensilių suminės reakcijos (EAG) į augalų kvapus**

*Liriomyza bryoniae* patelių ir patinėlių uoslės sensorinio aparato reakcijos į mitybinių augalų (karklavijo, pomodoro, baltažiedės notrelės, plaukuotosios dumplūnės) kvapus kiekybiškai skiriasi statistiškai patikimai nuo reakcijos į nemitybinio augalo (raukšlėtalapo erškėčio) kvapą (3.1.2.1 pav.) Beje šis skirtumas geriau išreikštas patinėlių uoslės sistemoje: patelių reakcija į baltosios balandos (mitybinis augalas) kvapą statistiškai patikimai nesiskyrė nuo reakcijos į raukšlėtalapo erškėčio (nemitybinis augalas) kvapą ( $Z=1,41$ ,  $p=0,156$ ) (3.1.2.1 pav.) Augalų išskiriamos cheminės medžiagos yra svarbios netik bulvinei lirijomyzai skiriant mitybinius augalus nuo nemitybinių, bet ir atpažįstant augalo rūšį. Tai patvirtina tyrimo metu nustatyti patikimi skirtumai tarp reakcijų į skirtingų augalų kvapus (3.1.2.1 pav.). Taip pat pastebėti reakcijų skirtumai, priklausantys nuo minamusių lyties: didžiausias patelių antenų sensilių reakcijas iššaukė plaukuotoji dumplūnė ( $0,62\pm 0,08$  mV) ir baltažiedė notrelė ( $0,66\pm 0,08$  mV), o patinėlių – tik plaukuotoji dumplūnė ( $0,84\pm 0,11$  mV). Notrelės kvapas sukėlė didžiausią reakciją patelėms, patinėliams sukėlė tik nedidelę,  $0,47\pm 0,04$  mV dydžio reakciją ( $Z=1,916$ ,  $p=0,055$ ). Tuo tarpu visais kitais atvejais patinėlių antenų sensilių reakcijos į mitybinių augalų kvapus buvo šiek tiek didesnės nei patelių, nors statistiškai patikimai ir nesiskyrė. Tik reakcija į nemitybinio augalo kvapą buvo tokia pat tiek patinėlių ( $0,29\pm 0,025$  mV), tiek patelių ( $0,29\pm 0,029$  mV). Šiuos skirtumus galėjo nulemti tai, kad patinėliai augalus renkasi mitybai, o patelės – mitybai ir kiaušinėlių dėjimui. Tačiau vertinti tokius skirtumus labai sunku be papildomų



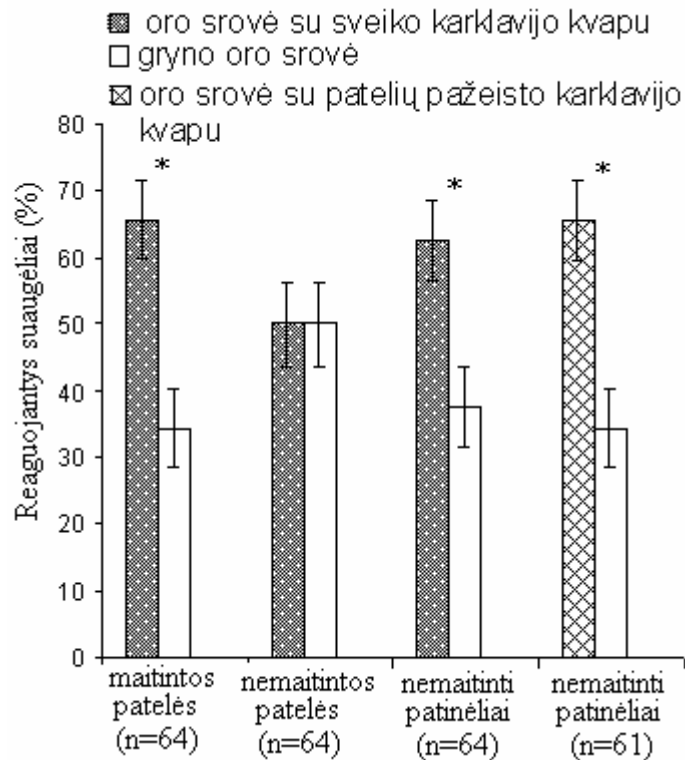
elgesinių tyrimų, kurių metu nustatomos testuojamų augalų patrauklumo ar repelentiškumo savybės. O tai, kad patinėlių atveju skirtumai tarp mitybinių augalų ir nemitybinio augalo yra ryškesni paaiškintų ir morfologijos skirtumai tarp patelių ir patinėlių. Patinėliai nesugeba pradurti lapo paviršiaus ir ieško patelių pažeistų mitybinių augalų, todėl klaidos apsirikimo atveju gana „brangiai kainuotą“ mitybinių augalų aptikimui skirtą pastangų atžvilgiu. Patelių atvejų tokios klaidos netgi gali būti naudingos, kadangi vabzdžiai yra polifagai ir vienas iš mitybinių augalų gausos plėtimo būdų yra atsitiktinis apsirikimas renkantis mitybinį augalą.



3.1.2.1 pav. *Liriomyza bryoniae* patelių (aukščiau) ir patinėlių (žemiau) antenų sensilių suminės reakcijos į augalų išskiriamas chemines medžiagas. Skirtingos raidės virš stulpelių – reakcijų skirtumų į augalų kvapus statistinis patikimumas ( $p < 0,05$ , Vilkoksono ženklų kriterijus priklausomoms imtims,  $n > 20$ ).

### 3.1.3. Mitybinių augalų kvapo patrauklumas *L.bryoniae*

Įvertinus bulvinės liriomyzos suaugėlių reakcijos į augalo, naudoto jų veisimui, kvapus, kai minamosės Y-tipo olfaktometre galėjo rinktis arba gryno oro srovę, arba oro srovę su augalo (karklavijo) kvapu, aptikti skirtumai tarp patelių ir patinėlių pasirinkimo (3.1.3.1 pav.). Tik prieš bandymą augalu pasimaitinusios patelės patikimai dažniau rinkosi oro srovę su augalo kvapu nei gryno oro srovę ( $\chi^2 = 6,25$ ,  $p < 0,012$ ). Nesimaitinusios patelės oro srovę su augalo kvapu rinkosi tiek pat dažnai kaip ir gryno oro srovę. Tai leidžia manyti, kad patelėms renkantis mitybinį augalą svarbų vaidmenį vaidina patirtis.



3.1.3.1 pav. *Liriomyza bryoniae* pasirinkimas Y - olfaktometre. \* - reikšmės tarp grupių esančių poroje skiriasi statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) pagal  $\chi^2$  kriterijų.

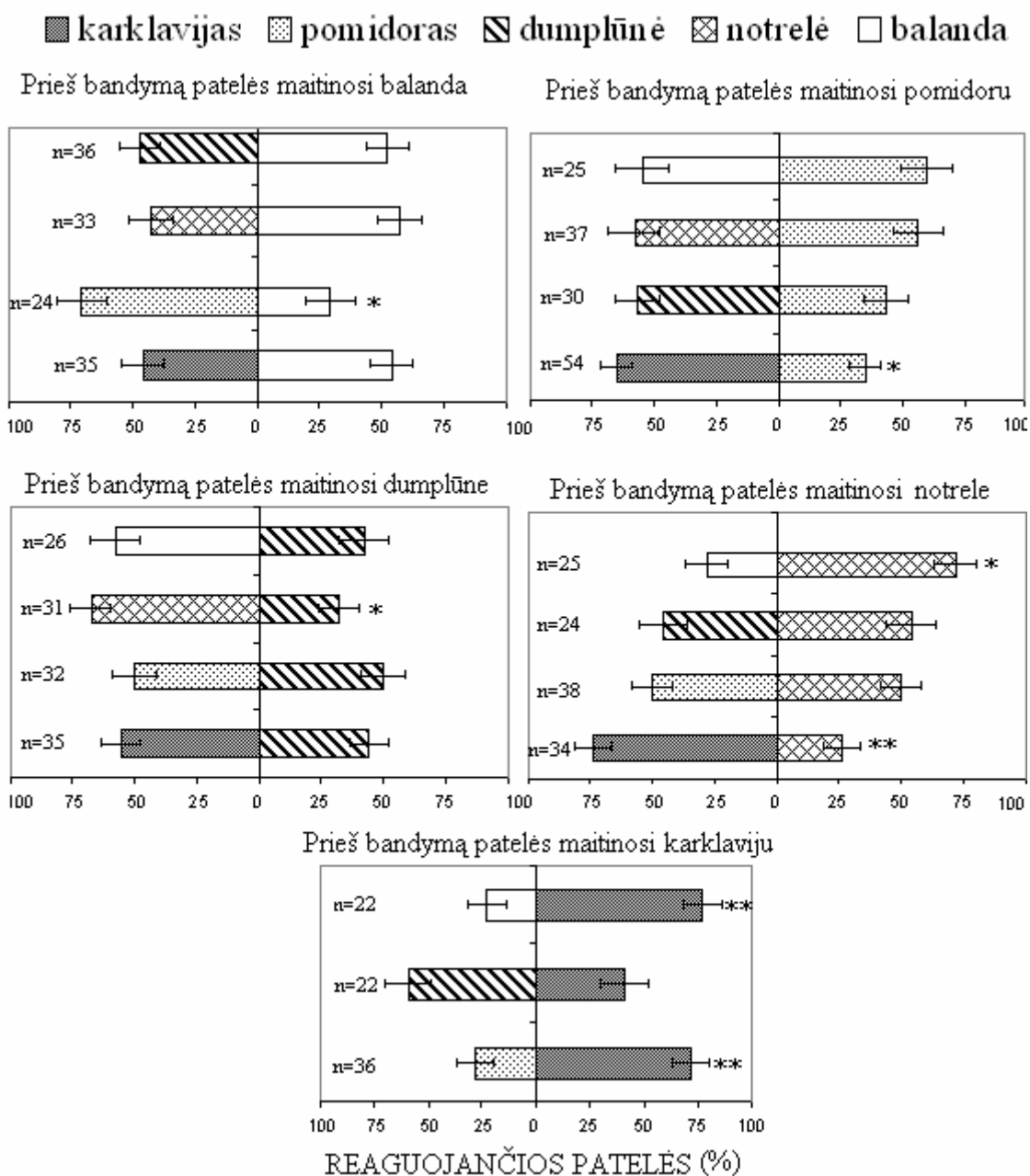
Prieš bandymą augalu nesimaitinę patinėliai, skirtingai nei patelės, patikimai dažniau rinkosi oro srovę su augalo kvapu ( $\chi^2 = 4,0$ ,  $p < 0,05$ ). Šio elgesinio bandymo rezultatai papildė elektrofiziologinių tyrimų metu gautus

duomenis, tai yra, kad patinėlių receptoriai jautriau reaguoja į augalo kvapą. Kadangi patinėliams svarbu surasti patelių jau pažeistą augalą, buvo tiriamos ir jų reakcijos į augalo, ant kurio prieš bandymą maitinosi bulvinės liriomyzos patelės, kvapą. Tačiau jokių pasirinkimo skirtumų pastebėta nebuvo (3.1.3.1 pav.).

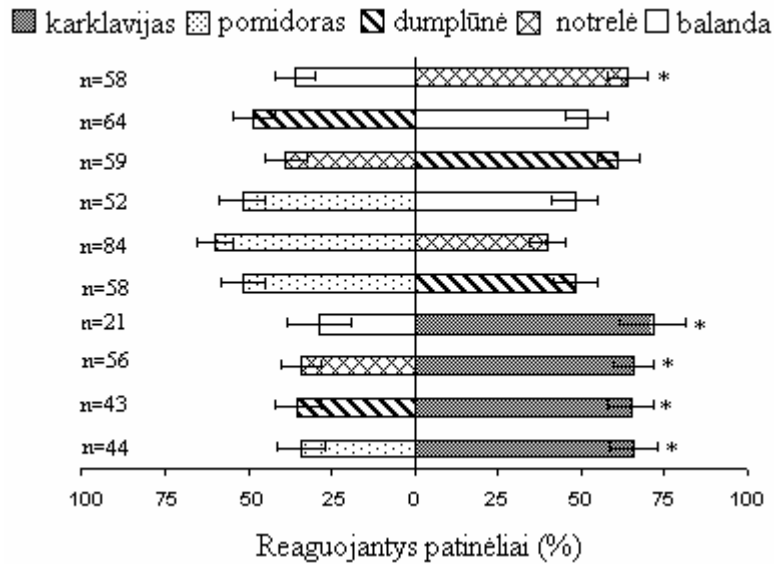
Yra žinoma, kad augalėdžių vabzdžių pažeisti augalai išskiria cheminių lakiųjų medžiagų mišinį, kuris skiriasi nuo mechaniškai pažeistų ar visai nepažeistų (sveikų) augalų skleidžiamų junginių tiek kiekybine, tiek ir kokybine sudėtimi (Pare, Tumlinson, 1999). Nustatyta, kad augalai priklausomai nuo jų pažeidžiančio vabzdžio rūšies išskiria skirtingas medžiagas. Pavyzdžiui, apniktos baltasparnių *Trialeurodes vaporariorum* paprastosios pupelės (*Phaseolus vulgaris*) skleidžia keturis cheminius junginius ((Z)-3-heksen-1-olį, 4,8-dimetil-1,3,7-nonatrieną, 3-oktanoną ir dar vieną neidentifikuotą junginį) ypač dideliais kiekiais palyginus su nepažeistu augalu (Birkett et al., 2003). Tuo tarpu kai pupelės lapus pažeidžia kitas kenkėjas – šiltamėgė liriomyza *Liriomyza trifolii*, augalo skleidžiamų junginių sudėtis ir kiekiai kiti. Šiuo atveju didžiausi kiekiai skiriami to pačio (Z)-3-heksen-1-olio bei 4-hidroksi-4-metil-2-pentanono. Be to, pupelės lapai su juose besivystančiomis minamusių lervutėmis skleidžia dar vieną junginį - 1-okten-3-olį, kurio neaptinkama nei mechaniškai pažeistų, nei sveikų augalų skleidžiamų medžiagų mišiniuose (Finidori-Logli et al., 1996). Tokius augalų skleidžiamus lakiuosius junginius galima suskirstyti į tris grupes: riebalų rūgščių darinius, terpenoidus ir fenolinius junginius. Riebalų rūgščių lakiesiems dariniams priklauso šešis anglies atomus turintys aldehidai, alkoholiai ir jų esteriai, pvz., (Z)-3-heksen-1-ilacetatas, heksanolis. Tai įprasti augalų lakieji komponentai, vadinami žaliojo lapo lakiaisiais komponentais. Jų skleidžiami kiekiai labai padidėja tiek mechaniškai pažeidus augalą, tiek dėl vabzdžių padarytų pažeidimų (Mattiacci et al., 1994). Taip pat kai kurie junginiai, priklausantys šiai grupei, išskiriami tik pažeistų augalų. Augalas žaliojo lapo lakiuosius junginius išskiria tuoj pat jų pažeidus (per 0-5 min.). Išskiriamame pažeisto augalo apsauginių medžiagų mišinyje jų gali būti

daugiau nei 50% (Holopainen, 2004). Tiriant *L. bryoniae* patinėlių reakciją į sveiko ir pažeisto augalo skleidžiamą kvapą tikėtina, kad patinėliai naudoja pažeisto augalo lakiąsias medžiagas aptinkant patelių perforuotus augalus. Tačiau mūsų gautas rezultatas rodo (3.1.3.1 pav.), kad bulvinės lirijomyzos patinėlių elgsena aptinkant tinkamus mitybinius augalus yra daug sudėtingesnė nei manyta.

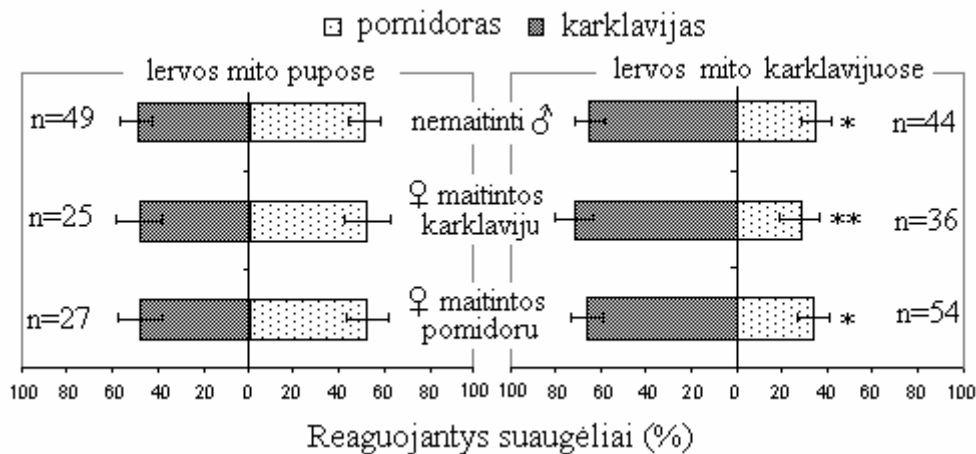
Vertinant įvairių mitybinių augalų kvapo patrauklumą bulvinei lirijomyzai tiek patelių, tiek patinėlių atveju išsiskyrė vienas augalas – pelkinis karklavijas (3.1.3.2 pav., 3.1.3.3 pav.). Patinėliams šio augalo kvapas buvo patrauklesnis už kitų tyrime naudotų mitybinių augalų kvapus. Patelėms karklavijo kvapas nebuvo visais atvejais patraukliausias, tačiau tai vienintelis augalas, kurio kvapas 4 (iš 7 atliktų) pasirinkimo tyrimuose buvo statistiškai patikimai patrauklesnis už kitų tuose tyrimuose naudotų augalų kvapus. Bulvinės lirijomyzos patelėms karklavijo kvapas yra patrauklesnis už pomodoro ( $\chi^2=13,69$ ,  $p<0,0002$  (patelėms prieš bandymą maitinantis karklaviju) ir  $\chi^2=4,74$ ,  $p<0,03$  (patelėms prieš bandymą maitinantis pomidoru)), notrelės (tuo atveju, kai patelės prieš bandymą maitinosi notrele ( $\chi^2=7,52$ ,  $p<0,006$ )), bei balandos (tuo atveju, kai prieš bandymą patelės maitinosi karklaviju ( $\chi^2=6,54$ ,  $p<0,01$ )) kvapus. Atsižvelgiant į tai, kad karklavijas yra augalas, kuriame vystėsi minamosės naudotos šiame bandyme, galima daryti prielaidą, kad *L. bryoniae* augalą-šeimininką renkasi pagal Hopkinso principą, t.y., kad dauguma vabzdžių suaugėlių pirmenybę teikia tiems augalams-šeimininkams, kuriais jie mito būdami lervos stadijoje. Prielaidą, kad bulvinės lirijomyzos patelės ir patinėliai renkasi karklavijo kvapą labiau nei kitus dėl įgytos maitinimosi patirties lervos stadijoje, patvirtina dar vieno bandymo rezultatai (3.1.3.4 pav.). *L. bryoniae* suaugėliai užaugę misdami pupų *Vicia faba* lapų parenchiminiais audiniais pasirinkimo tarp karklavijo ir pomodoro kvapų Y-olfaktometre metu pirmenybės karklavijo kvapui neteikė. Tuo tarpu suaugėliai, lervos stadijoje mitę karklavijo lapų vidiniais audiniais, patikimai dažniau rinkosi karklavijo kvapą nei pomodoro (3.1.3.4 pav.).



3.1.3.2 pav. *Liriomyza bryoniae* patelių mitybinio augalo kvapo pasirinkimas Y - olfaktometre. \* - reikšmės tarp grupių esančių poroje skiriasi statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) pagal  $\chi^2$  kriterijų, \*\* -  $\chi^2$ ,  $p < 0,01$ .



3.1.3.3 pav. *Liriomyza bryoniae* patinėlių mitybinio augalo kvapo pasirinkimas Y - olfaktometre. \* - reikšmės tarp grupių esančių poroje skiriasi statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) pagal  $\chi^2$  kriterijų.



3.1.3.4 pav. *Liriomyza bryoniae* suaugėlių, lervos stadijoje mitusių pupos *Vicia faba* ir karklavijo *Solanum dulcamara* lapų parenchiminius audinius, mitybinio augalo kvapo pasirinkimas Y - olfaktometre. \* -  $\chi^2$ ,  $p < 0,05$ , \*\* -  $\chi^2$ ,  $p < 0,01$ .

Kitų autorių tyrimai parodė, kad šis principas tinka ir kitoms dviems *Liriomyza* genties rūšims, būtent *Liriomyza huidobrensis* ir *Liriomyza trifolii*. Olfaktometrinių bei tinkamo augalo maitinimuisi/kiaušinėlių dėjimui pasirinkimo tyrimų metu buvo nustatyta, kad minėtų dviejų minamusių rūšių

mitybinio augalo (pomidoro ar bulvės) pasirinkimas priklauso nuo to, ant kokio augalo jos vystėsi, kitaip tariant nuo maitinimosi patirties lervos stadijoje (Facknath, Wright, 2007). Pastarųjų bandymų metu taip pat buvo pastebėta, kad minamusių augalo pasirinkimą gali modifikuoti jų patirtis ankstyvojoje suaugėlio stadijoje.

*L. bryoniae* patelių augalo pasirinkimas tarp dviejų augalų dar priklauso ir nuo to, kuriuo iš augalų jos maitinasi prieš pasirinkimą (3.1.3.2 pav.). Suaugėlių (patelių) maitinimasis augalu prieš pasirinkimo bandymą veikia jo kvapo patrauklumą (jį gali arba padidinti, arba sumažinti) priklausomai nuo augalo rūšies. Pavyzdžiui, maitinantis patelėms notrele ir leidus rinktis tarp balandos – notrelės kvapų, patelės patikimai dažniau ( $\chi^2 = 4,84$ ,  $p < 0,03$ ) rinkosi notrelės kvapą. Arba maitinantis patelėms karklaviju ir leidus rinktis tarp balandos – karklavijo kvapų, patelės patikimai dažniau ( $\chi^2 = 6,54$ ,  $p < 0,01$ ) rinkosi karklavijo kvapą. Tačiau kai prieš minėtus pasirinkimo bandymus patelės maitinasi balanda, patikimi skirtumai nebuvo nustatyti, tai yra *L. bryoniae* patelės vienodai dažnai rinkosi tiek balandos kvapą, tiek notrelės ar karklavijo kvapus. Taigi pasimaitinusioms balanda *L. bryoniae* patelėms šio augalo kvapas patrauklesnis nei toms patelėms, kurios maitinasi notrele ar karklaviju.

Vertinant bulvinės lirijomyzos patelių mitybinio augalo pasirinkimą reikėtų pabrėžti, kad patelės augalą renkasi tiek pagal jo tinkamumą suaugėlio mitybai, tiek pagal tinkamumą kiaušinėlių dėjimui (lervučių mitybai). Todėl kai kurių rezultatų, gautų olfaktometriniu tyrimo metu, suvokimui buvo atlikti papildomi tyrimai, o būtent tinkamo augalo maitinimuisi/kiaušinėlių dėjimui pasirinkimo bandymai.

### **3.1.4. Augalo tinkamo *L. bryoniae* patelių maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui pasirinkimas**

Tyrimai atlikti su bulvine lirijomyza, kurios lervos vystėsi maitinantis pupų *Vicia faba* lapais. Tyrimų metu, bulvinėms lirijomyzoms renkantis

mitybinį augalą ir augalą kiaušinėlių dėjimui tarp dviejų skirtingos rūšies augalų, gauti rezultatai pateikti 3.1.4.1 ir 3.1.4.2 paveiksluose.

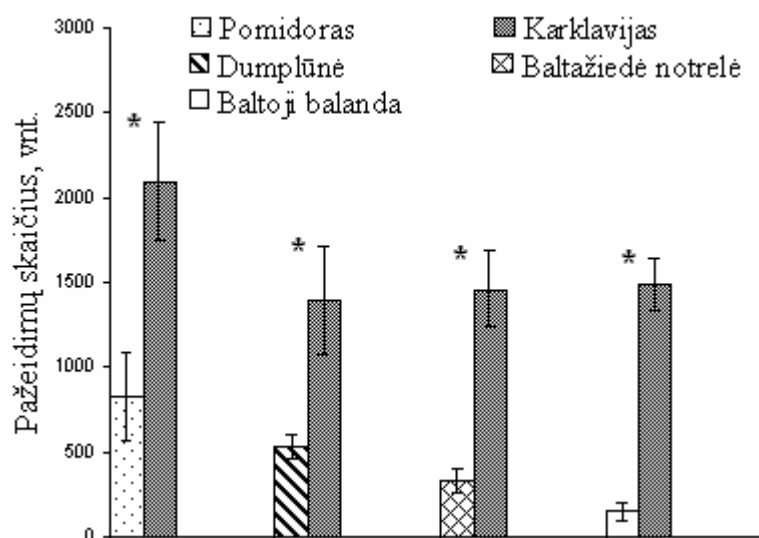
Bulvinei liriomyzai leidus rinktis tarp karklavijo (*Solanum dulcamara* L.) ir pomidoro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) augalų, kenkėjas patikimai dažniau ( $Z=2,20$ ,  $p<0,027$ ) maitinasi karklavijo lapais (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $2096 \pm 346$ ) nei pomidoro (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $824 \pm 259$ ). Tuo tarpu kiaušinėlių skaičius sudėtas tiek ant karklavijo lapų, tiek ant pomidoro buvo labai panašus ir statistiškai patikimai nesiskyrė ( $Z=0,404$ ,  $p=0,68$ ) (2 priedas, 1 lentelė).

Liriomyzai leidus rinktis tarp karklavijo (*Solanum dulcamara* L.) ir plaukuotosios dumplūnės (*Physalis pubescens* L.) augalų, kenkėjas statistiškai patikimai dažniau ( $Z=3,059$ ,  $p<0,002$ ) maitinasi karklavijo lapais (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $1390 \pm 319$ ) nei plaukuotosios dumplūnės (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $536 \pm 70$ ). O kiaušinėlių dėjimui *L. bryoniae* statistiškai patikimai dažniau ( $Z=2,74$ ,  $p<0,006$ ) rinkosi plaukuotosios dumplūnės augalus, nei karklavijo (kiaušinėlių skaičiaus vidurkis atitinkamai  $20,58 \pm 4,62$  ir  $4,8 \pm 1,02$ ) (2 priedas, 2 lentelė).

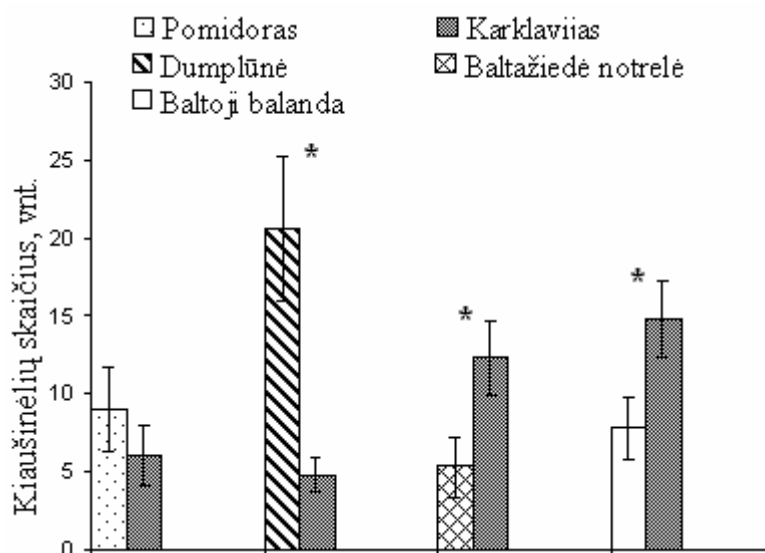
Polifagai renkantis tarp karklavijo (*Solanum dulcamara* L.) ir baltažiedės notrelės (*Lamium album* L.) augalų, bulvinė liriomyza statistiškai patikimai dažniau maitinasi ( $Z=3,50$ ,  $p<0,00046$ ) bei dėjo kiaušinėlius ( $Z=3,396$ ,  $p<0,00068$ ) ant karklavijo lapų (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $1463 \pm 221$ ), nei ant baltažiedės notrelės (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $330,78 \pm 75,19$ ) (2 priedas, 3 lentelė).

Bulvinei liriomyzai pateikus karklavijo (*Solanum dulcamara* L.) ir baltosios balandos (*Chenopodium album* L.) augalų porą, šis kenkėjas statistiškai patikimai dažniau ( $Z=3,059$ ,  $p<0,002$ ) maitinasi karklavijo lapais (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $1486 \pm 154$ ) nei baltosios balandos (pažeidimų skaičiaus vidurkis  $157 \pm 53$ ). Kiaušinėlių dėjimui *L. bryoniae* patelės statistiškai patikimai dažniau ( $Z=2,47$ ,  $p<0,01$ ) rinkosi karklavijo augalų lapus, nei baltosios balandos (kiaušinėlių skaičiaus vidurkis atitinkamai  $14,8 \pm 2,4$  ir  $7,8 \pm 2$ ) (2 priedas, 4 lentelė).





3.1.4.1 pav. *Liriomyza bryoniae* padarytų mitybinių pažeidimų skaičius ant skirtingų mitybinių augalų. Atkarpa žymi standartinę paklaidą. \* – reikšmės tarp grupių esančių poroje skiriasi statistiškai patikimai pagal Vilkoksono ženklų kriterijų priklausomoms imtims.



3.1.4.2 pav. *Liriomyza bryoniae* kiaušinėlių, sudėtų ant skirtingų mitybinių augalų, skaičius. Atkarpa žymi standartinę paklaidą. \* – reikšmės tarp grupių esančių poroje skiriasi statistiškai patikimai pagal Vilkoksono ženklų kriterijų priklausomoms imtims.

Analizuojant tyrimo metu gautus rezultatus galima teigti, jog *L. bryoniae* suaugėlių maitinimuisi patraukliausias ir tinkamiausias mitybinis augalas (iš eksperimentuose tirtų) – karklavijas *S. dulcamara*. Taigi karklavijas pagal savo struktūrinės ar maistinės savybes bei skleidžiamas chemines medžiagas bulvinės liriomyzos mitybai yra labiau tinkamas nei pomidoras, baltažiedė notrelė, plaukuotoji dumplūnė ar baltoji balanda. Panašių tyrimų su kita *Liriomyza* rūšimi metu buvo nustatyta patikima, teigiama koreliacija tarp *Liriomyza huidobrensis* mitybiniam augalam teikiamos pirmenybės ir tirpių cukrų kiekio tuose augaluose (Jun-ping et al., 2007). Tų pačių bandymų metu buvo nustatyta daug mažesnė koreliacija tarp *L. huidobrensis* teikiamos pirmenybės renkantis augalą ir ištirpusių baltymų bei chlorofilo kiekio augalų lapuose. Literatūroje duomenų apie mūsų eksperimente naudotų augalų maistinės savybes (baltymų, amino rūgščių, vandens bei cukrų kiekį) yra labai mažai (ištirtas tik pomidoras), todėl įvardinti tiksliai *L. bryoniae* teikiamos pirmenybės karklavijui priežastis gan sunku. Tačiau tikėtina, kad pirminiai metabolitai nėra vienintelis ir pagrindinis veiksnys, lemiantis tinkamo maitinimuisi augalo pasirinkimą. Lemiamą vaidmenį gali vaidinti ir augalo antriniai metabolitai. Pavyzdžiui, yra žinoma, kad pomidoras išskiria fenolinius junginius – rutiną ir chlorogeninę rūgštį – kurie neigiamai veikia augalėdžius vabzdžius (Bradfield, Stamp, 2004). Tai galėtų būti viena iš priežasčių, kodėl bulvinė liriomyza maitinimuisi rinkosi karklaviją dažniau nei pomidorą.

Vertinant bulvinės liriomyzos tinkamo augalo pasirinkimą kiaušinėlių dėjimui, taip pat išsiskyrė vienas augalas, tai plaukuotoji dumplūnė. Karklavijas bulvinei liriomyzai buvo patikimai patrauklesnis kiaušinėlių dėjimui už balandą ir notrelę, o nuo pomodoro savo patrauklumu nesiskyrė. Tačiau bulvinė liriomyza, galėdama rinktis tarp karklavijo ir dumplūnės, dėdama kiaušinėlius pirmenybę teikė plaukuotajai dumplūnei, o ne karklavijui. Kadangi visose tirtose augalų porose buvo naudojamas karklavijas, jis gali būti tam tikru lyginamuoju veiksniu. Tuo remiantis galima daryti prielaidą, kad plaukuotoji dumplūnė, *L. bryoniae* renkantis augalą kiaušinėlių dėjimui, bus patrauklesnė ir už pomidorą, balandą ar notrelę. Čia reikėtų prisiminti ir

elektrofiziologinių, ir olfaktometrinių tyrimų rezultatus. Dumplūnė sukėlė vienas iš didžiausių *L. bryoniae* patelių (taip pat ir patinėlių) antenų sensilių reakcijas. Taip pat plaukuotoji dumplūnė buvo vienintelis augalas, kuris olfaktometriniuose bandymuose savo patrauklumu patelėms nenusileido karklavijui tiek bulvinės lirijomyzos patelėms prieš eksperimentą maitinantis karklaviju, tiek dumplūnei. Taigi visiškai įmanoma, kad plaukuotoji dumplūnė skleidžia medžiagas, skatinančias *L. bryoniae* patelių kiaušinėlių dėjimą. Ši prielaida galėtų būti patikrinta papildomais bandymais ateityje.

Kadangi lervos vystymosi stadijoje svarbiausios medžiagos – amino rūgštys ir vanduo, nes būtent nuo šių medžiagų priklauso lėliukės dydis (Scheirs et al., 2003), o suaugėliai augalą – šeimininką pasirenka ir pagal jo tinkamumą palikuonių vystymuisi, greičiausiai šiuose skirtinguose augaluose minėtų medžiagų kiekiai skiriasi. Tačiau nereikia pamiršti, kad augalo – šeimininko tinkamumas fitofagų vabzdžių vystymuisi yra siejamas ne tik su maistinių augalo medžiagų balansu, bet ir su cheminėmis apsauginėmis medžiagomis ir apsauginę funkciją atliekančiomis augalo struktūromis.

### **3.1.5. Potencialūs, *L. bryoniae* elgseną lemiantys kairomonai**

Iš aukščiau aptartų rezultatų matyti, kad išrinkti vieną, patraukliausią *L. bryoniae* mitybinį augalą labai sunku. Polifagas mitybinį augalą renkasi priklausomai nuo vabzdžio fiziologinės būklės, nuo mitybinio augalo tinkamumo maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui, nuo vabzdžio įgytos maitinimosi patirties lervos stadijoje. Kairomonų tyrimams buvo pasirinktas pomidoras, *Lycopersicon esculentum*, dėl kelių priežasčių: jis buvo vienas patraukliausių augalų kiaušinėlių dėjimui; pomidoras yra vienas geriausiai chemiškai ištirtų bulvinės lirijomyzos mėgstamų mitybinių augalų (1 priedas), kas palengvina potencialių kairomonų identifikavimą; tai ekonomiškai svarbus augalas labai dažnai kenčiantis nuo minėto kenkėjo antpuolių pramoniniuose šiltnamiuose Lietuvoje (Ostrauskas et al., 2003). Sveiko pomidoro augalo skleidžiamų lakiųjų medžiagų, surinktų iš oro, chromatograma pateikta 3.1.5.1

paveiksle. Naudojant DC-EAD metodiką buvo nustatyti 7 junginiai iš oro surinktame pomidoro skleidžiamų lakiųjų medžiagų mišinyje, kurie sukėlė didžiausius ir pastovius *L. bryoniae* patelių antenų sensilių atsakus (3.1.5.2 pav., 7 lentelė). Daugumos minėtų aktyvių junginių kiekiai buvo labai maži, todėl kol kas identifikuoti tik du iš jų. Tai – metilsalicilatas ir (Z)-3-heksenolis. Identifikuotų junginių masių spektrai pateikti 3.1.5.3 ir 3.1.5.4 paveiksluose. Metilsalicilato biologinis aktyvumas buvo testuojamas tiek lauko, tiek laboratorinėmis sąlygomis. Gauti rezultatai pateikti 3.1.6. skyriuje.

Žinoma, kad „žaliesiems lapo komponentams“ priklausantis 3-heksenolis yra kitos, bulvinei liriomyzai artimos rūšies *Liriomyza sativae* atraktantas (Wei *et al.*, 2005).

7 lentelė. DC-EAD aktyvūs junginiai iš oro surinktame pomidoro lakiųjų medžiagų mišinyje.

Junginiai <sup>a</sup>	EAG atsakas, -mV
1 →(Z)-3-heksenolis	0.35 ± 0.09
2 →neidentifikuotas	0.23 ± 0.01
3 →neidentifikuotas	0.22 ± 0.01
4 →neidentifikuotas	0.15 ± 0.01
5 →metilsalicilatas	0.31 ± 0.01
6 →neidentifikuotas	0.19 ± 0.03
7 →neidentifikuotas	0.23 ± 0.01

<sup>a</sup> Junginiai sunumeruoti remiantis jų DC išėjimo laikais naudojant Elite-wax kolonėlę

Siekiant padidinti pomidoro medžiagų kiekius analizuojamame mišinyje, pastarieji junginiai buvo renkami hidrodistiliacijos metodu. Gautas mišinys taip pat buvo analizuojamas naudojant DC-EAD metodiką. Mišinio,

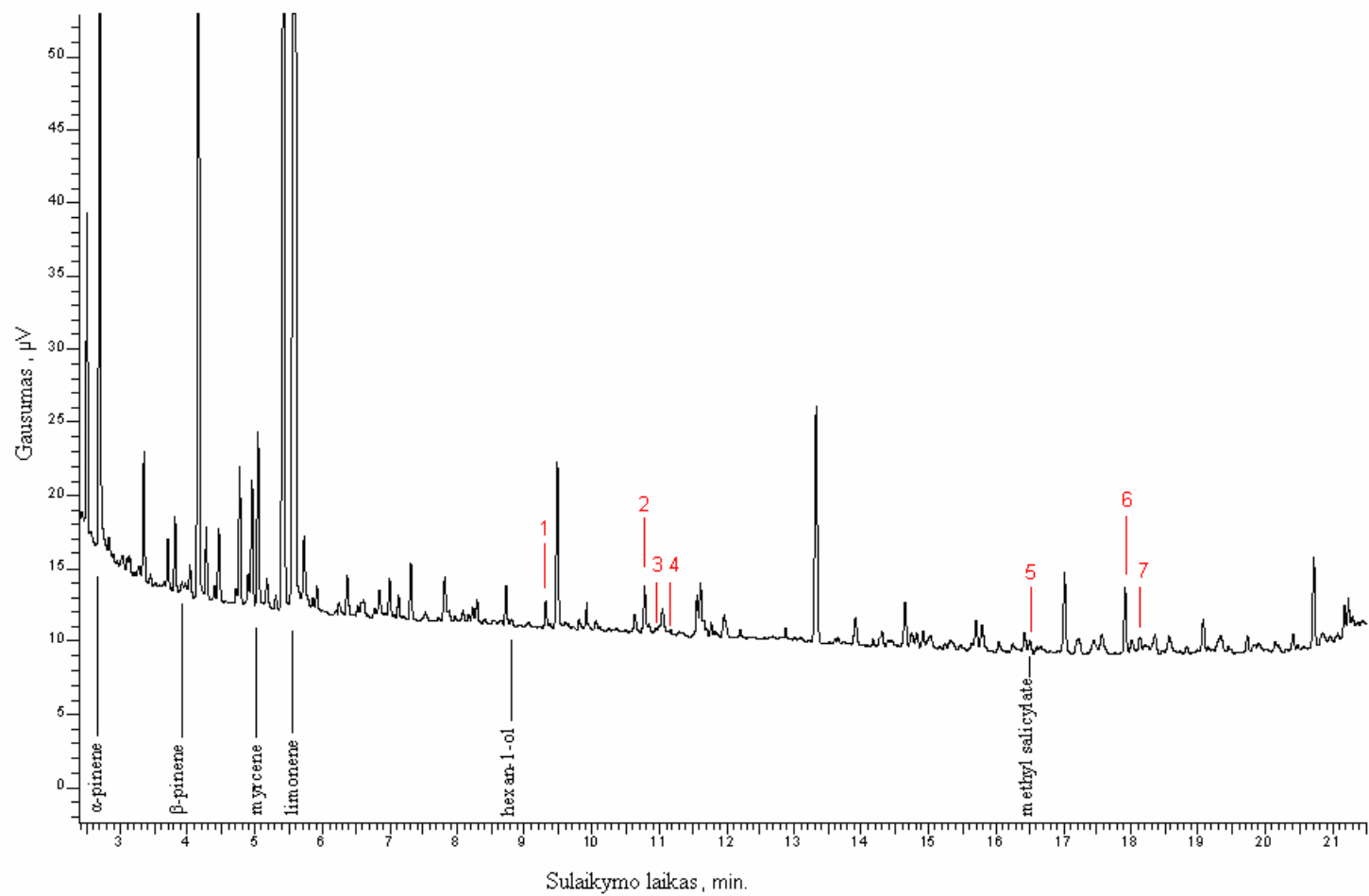
gauto naudojant hidrodistiliacijos metodą, analizės metu nustatytos dar 9 medžiagos, sukėlusios pastovius *L. bryoniae* patelių antenų sensilių atsakus (3.1.5.3 pav.). Taigi iš viso nustatyta 16 pomidoro skleidžiamų medžiagų, kurias užuodžia *L. bryoniae* patelės ir kurios gali būti svarbios aptinkant ir atpažįstant augalą.

Atliekant tokius pat tyrimus su bulvinės lirijomyzos patinėliais, skirtumų tarp jų ir patelių pastebėta nebuvo. Tai yra patinėliai reagavo į tuos pačius pomidoro skleidžiamų medžiagų mišinio junginius kaip ir patelės, tik jų antenų sensilių reakcijos buvo mažesnės. Tai yra pirmas Agromyzidae šeimos atstovo DC-EAD tyrimas, todėl rezultatų palyginti su literatūroje pateikiamais duomenimis nėra galimybės.

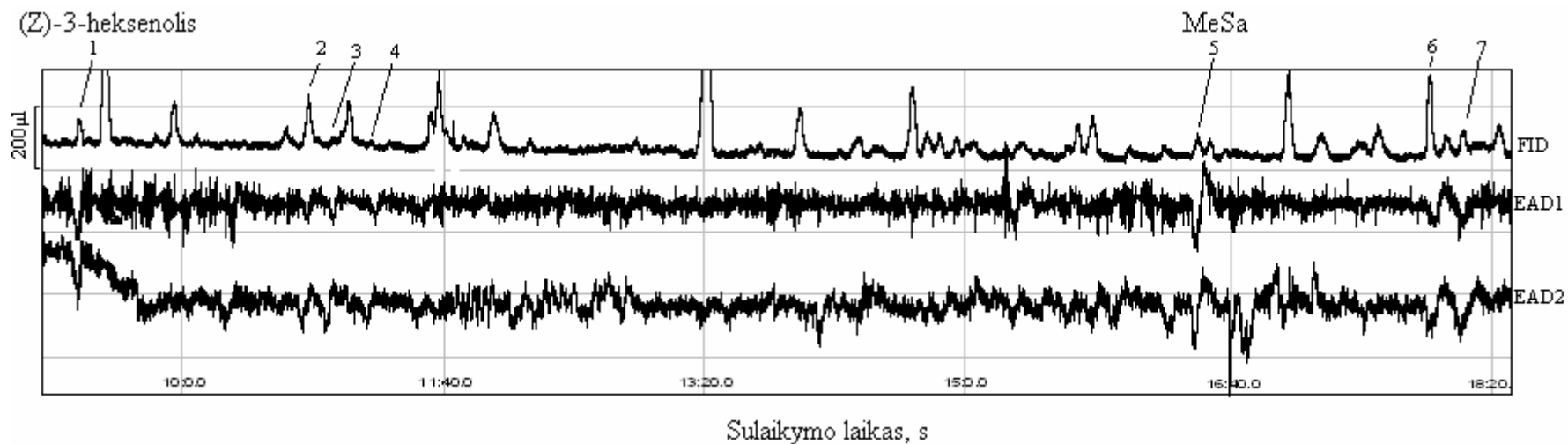
### **3.1.6. Metilsalicilato kairomoninės savybės**

Lauko bandymų pomidorų šiltnamiuose metu nustatyta, kad metilsalicilatas (MeSa) yra atraktyvus *L. bryoniae*. Taip pat nustatyta, kad jo atraktyvumą įtakoja regos stimulai - gaudyklių spalva.

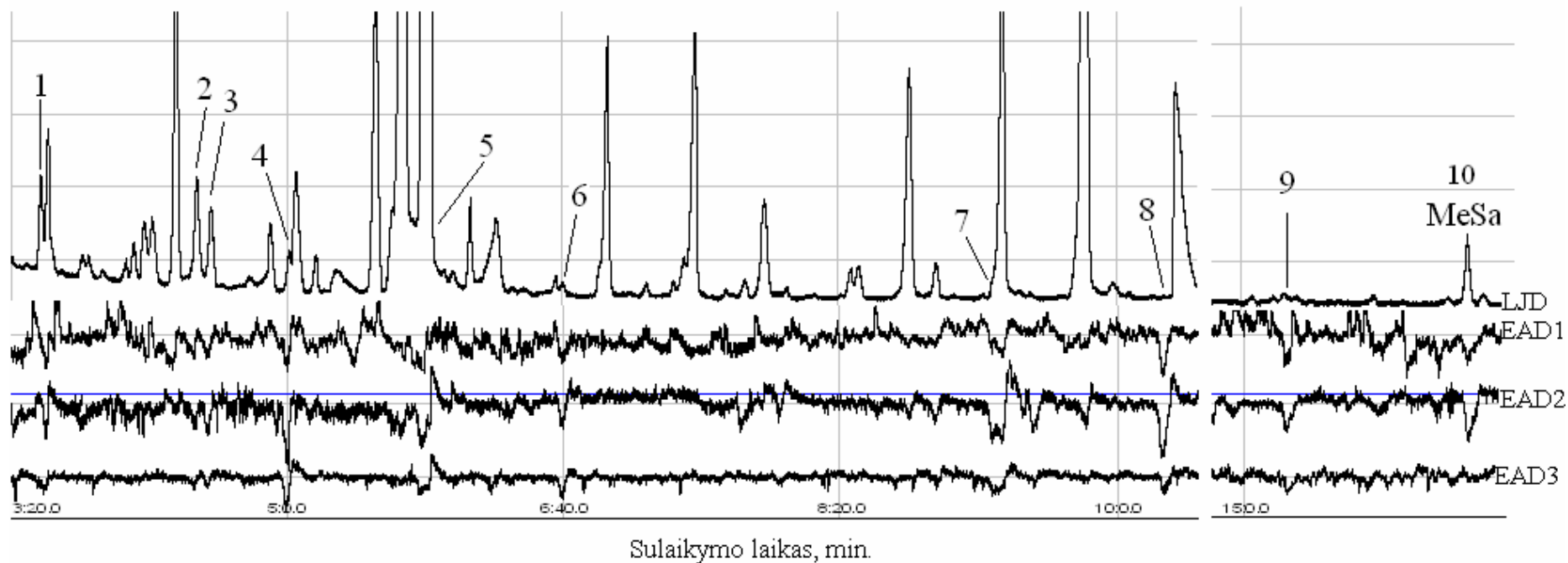
Kadangi dėl palyginti nedidelio pomidorų užkrėstumo *L. bryoniae* (tai yra negausios *L. bryoniae* populiacijos) sugautų individų skaičius geltonose gaudyklėse su įvairiomis MeSa dozėmis (0,25, 0,5 arba 1,0 ml MeSa/gaudyklė) statistiškai patikimai nesiskyrė tarpusavyje, tai leido sujungti rezultatus ir bendrai juos palyginti su rezultatais, gautais naudojant kontrolines gaudykles (be MeSa). Buvo nustatytas statistiškai patikimas skirtumas ir tuo pačiu įrodytas MeSa atraktyvumas bulvinei lirijomyzai (sugautų individų skaičiaus vidurkis MeSa turinčiose gaudyklėse –  $12,3 \pm 0,7$  vabzdžiai/gaudyklė, kontrolinėse gaudyklėse –  $5,5 \pm 1$  vabzdžiai/gaudyklė) ( $H=3,85$ ,  $p=0,049$ ) (3.1.6.1 pav.). Sugavimai kontrolinėse gaudyklėse parodo, kad geltona spalva pati buvo patraukli bulvinei lirijomyzai, tačiau MeSa padidino geltonų gaudyklių patrauklumą beveik 2,2 karto.



3.1.5.1 pav. Pomidoro skleidžiamų lakiųjų cheminių medžiagų (surinktų iš oro) chromatograma. Skaičiai žymi junginius, sukėlusius pastovų *Liriomyza bryoniae* patelių antenų atsaką ( $n \geq 4$ ).

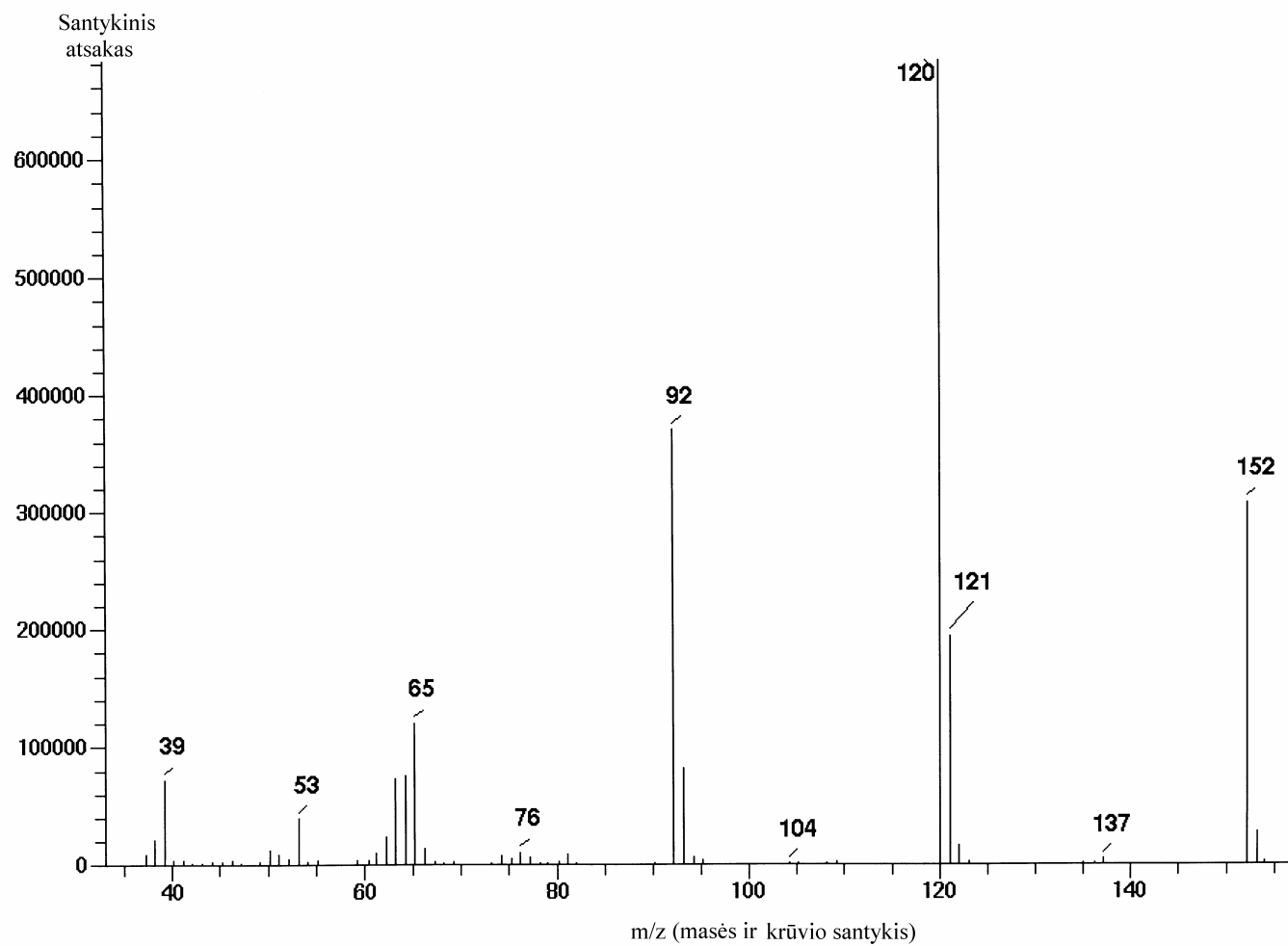


3.1.5.2 pav. Pomidoro skleidžiamų lakiųjų cheminių medžiagų (surinktų iš oro) chromatogramos dalis ir dviejų *Liriomyza bryoniae* patelių antenų atsakai (EAD1, EAD2) į šias medžiagas. Skaičiai žymi junginius, sukėlusius pastovų *L. bryoniae* patelių antenų atsaką.

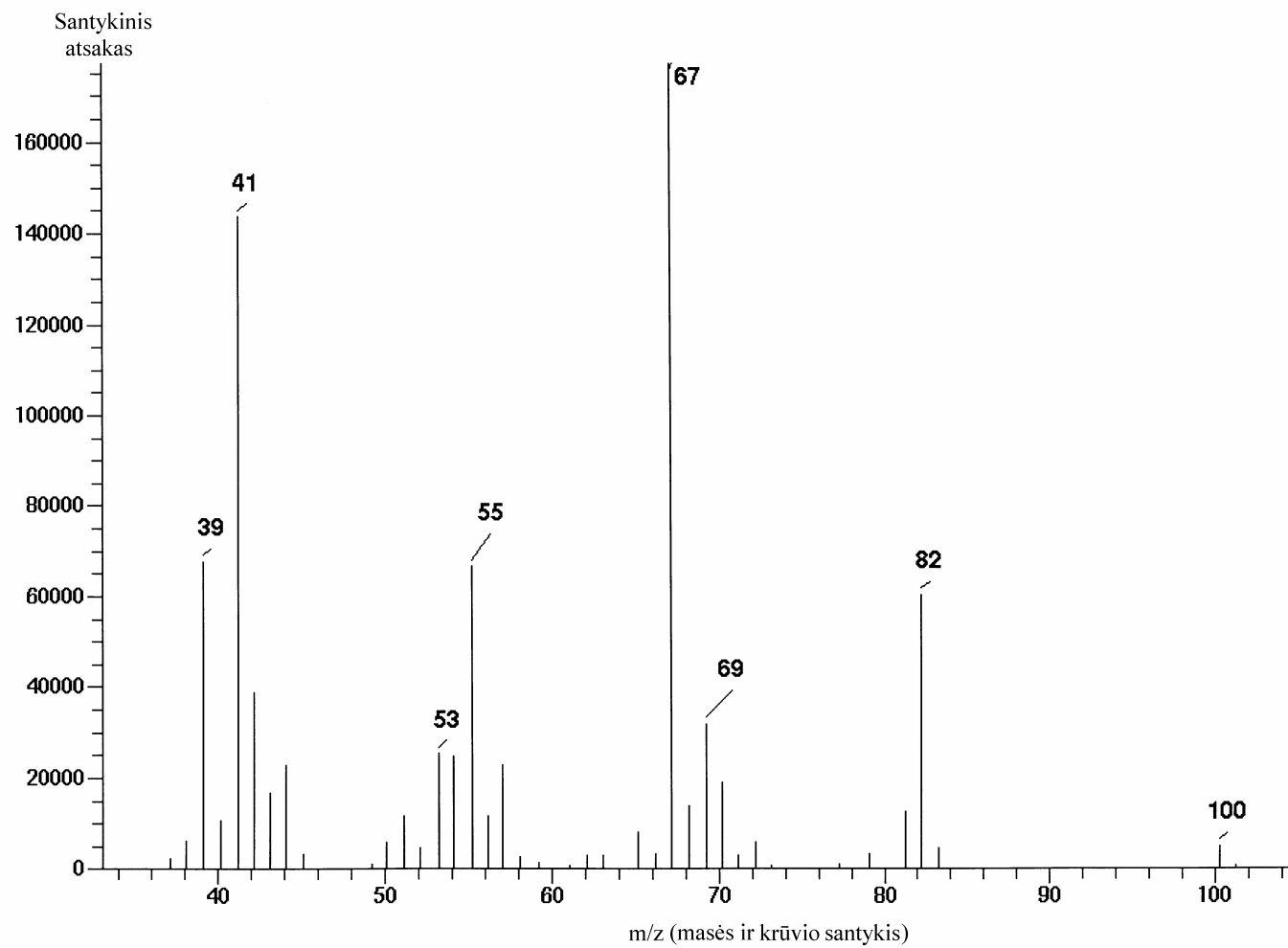


3.1.5.3 pav. Pomodoro skleidžiamų lakiųjų cheminių medžiagų, surinktų hidrodistiliacijos metodu, chromatogramos dalis ir trijų *Liriomyza bryoniae* patelių antenų atsakai į šias medžiagas. Skaičiai žymi junginius, sukėlusius pastovų *L. bryoniae* patelių antenų atsaką.



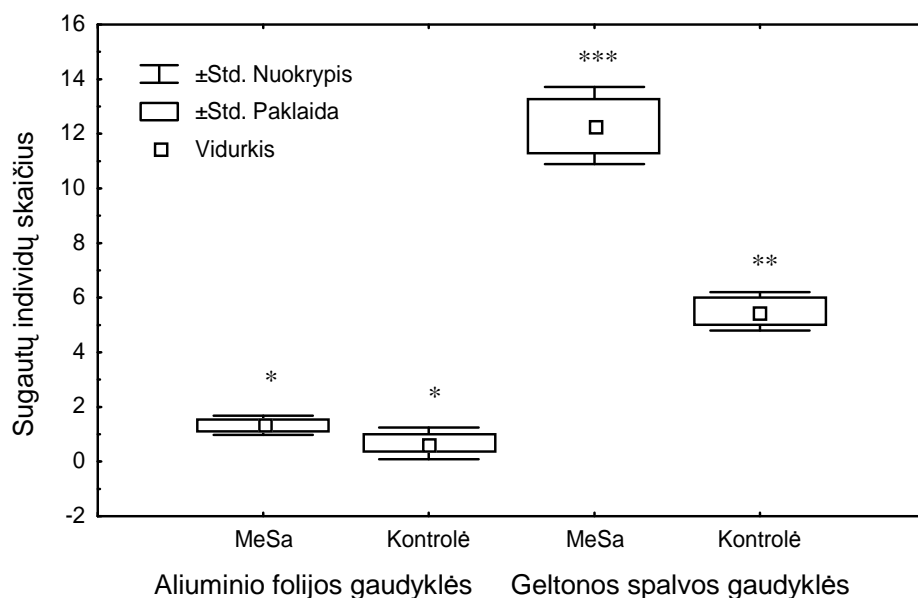


3.1.5.4 pav. Metilsalicilato masių spektras.

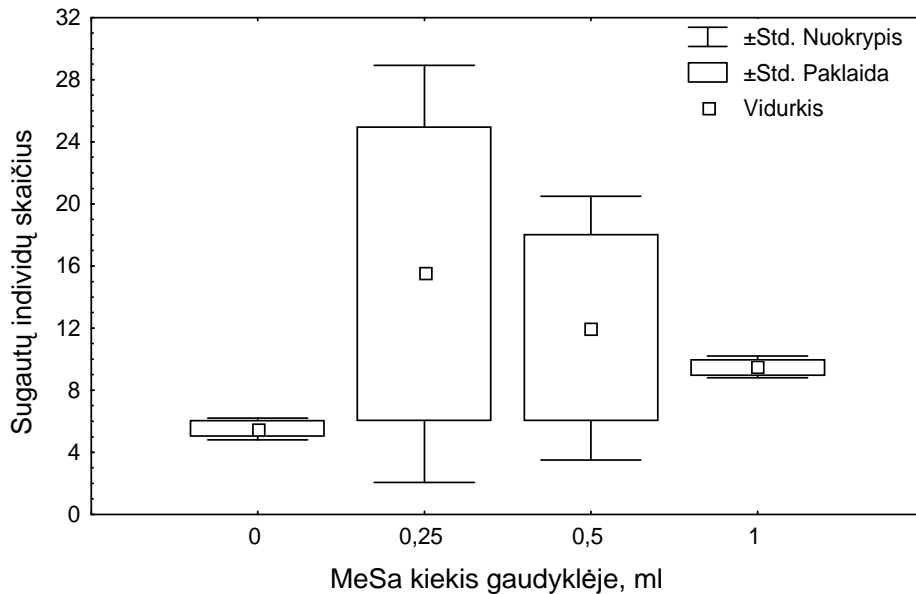


3.1.5.5 pav. (Z)-3-heksenolio masių spektras.

Naudojant skirtingas MeSa dozes buvo stebėta tendencija, kad pati mažiausia dozė (0,25 mL) privilioja daugiausiai individų (3.1.6.2 pav.). Paprastai atsakas į atraktantą didėja, kai didėja atraktanto koncentracija ore (ar dozė garintuve). Tačiau ši taisyklė galioja tik mažoms ir vidutinėms, bet ne didelėms atraktanto koncentracijoms (dozėms). Kai atraktanto koncentracija yra labai didelė, dozės-atsako kreivė gali skirtis. MeSa atraktyvumo mažėjimo polinkis didėjant jo dozei gaudyklėje liudija, kad šiame eksperimente naudota kiek per didelė MeSa dozė. Tai leidžia gaudyklėse naudoti mažesnes dozes, nei mes naudojome ir tokios MeSa dozės turėtų būti pakankamos, kad efektyviai viliotų *L. bryoniae* rūšį.



3.1.6.1 pav. *Liriomyza bryoniae* sugavimų vidurkiai lipniose aliuminio folijos spalvos ir geltonos spalvos gaudyklėse, tiek turinčiose metilsalicilato (MeSa), tiek neturinčiose MeSa (kontrolė). Tyrimas atliktas pomidorų šiltnamyje, 10 dienų bėgyje. Reikšmės, pažymėtos skirtingu žvaigždučių skaičiumi, skiriasi statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) pagal Kruskalio-Voliso ranginį kriterijų nepriklausomoms imtims.



3.1.6.2 pav. *Liriomyza bryoniae* sugavimų vidurkiai lipniose geltonos spalvos gaudyklėse su skirtingomis metilsalicilato (MeSa) dozėmis. Tyrimas atliktas pomidorų šiltnamyje, 10 dienų bėgyje.

Lyginant *L. bryoniae* sugavimus aliuminio folijos spalvos gaudyklėmis, kuriose buvo įvairios MeSa dozės, statistiškai patikimų skirtumų gauta nebuvo. Sujungti visomis gaudyklėmis gauti rezultatai taip pat statistiškai patikimai nesiskyrė nuo rezultatų, gautų naudojant kontrolines gaudykles (sugautų individų skaičiaus vidurkis MeSa turinčiose gaudyklėse –  $1,33 \pm 0,20$  vabzdžiai/gaudyklėj, kontrolinėse gaudyklėse –  $0,66 \pm 0,33$  vabzdžiai/gaudyklėj) ( $H=2,63$ ,  $p=0,104$ ) (3.1.6.1 pav.). Taigi MeSa nėra atraktyvus *L. bryoniae* rūšiai, kuomet naudojamas su aliuminio folijos spalvos gaudyklėmis.

Bulvinės liriomyzos sugavimų skirtumai tarp dviejų kontrolinių gaudyklių grupių buvo gauti dėl skirtingos gaudyklių spalvos: geltonos spalvos kontrolinės gaudyklės buvo kur kas patrauklesnės už aliuminio folijos spalvos kontrolines gaudykles ( $H=4,09$ ,  $p=0,043$ ) (3.1.6.1 pav.). Remiantis šiais lauko bandymų rezultatais galime daryti išvadą, kad MeSa yra atraktyvus *L. bryoniae* suaugėliams, kai yra naudojamas su geltonos spalvos vizualiniu stimulu. Kada MeSa yra naudojamas su aliuminio folijos spalvos stimulu, junginys nėra

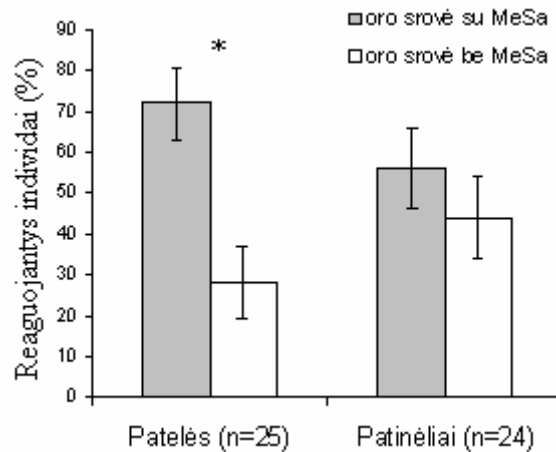
patrauklus minamusėms. Reikėtų pabrėžti, kad tas pats junginys pasižymėjo skirtingomis patrauklumo savybėmis priklausomai nuo gaudyklių spalvos, tai yra *L. bryoniae* elgesinės reakcijos į MeSa labai priklauso nuo vienašio dviejų stimulų – olfaktorinio ir vizualinio – buvimo.

Geltonos spalvos objektų patrauklumas dvisparniams, tame tarpe ir Agromyzidae šeimai, yra gerai žinomas. Naudojantis šia savybe buvo kuriamos komercinės gaudyklės (lipnios kortelės) (Parella, 1987). Literatūroje duomenų apie kombinuotą dviejų stimulų (regimojo ir uodžiamojo) poveikį Agromyzidae elgsenai nebuvo. Šis fenomenas, kada skirtingo modalumo stimulai sąveikauja ir nulemia masalo/gaudyklės patrauklumą vabzdžiams, yra žinomas kitų vabzdžių grupių tarpe, t.y. tarp kai kurių žiedmusių (Diptera) (Laubertie et al., 2006) ir stiklasparnių (Lepidoptera) (Būda, Karalius, 1993).

Gauti duomenys apie MeSa kaip augalinės kilmės atraktantą augalėdžiams vabzdžiams leidžia šį junginį priskirti kairomonams. MeSa *L. bryoniae* suaugėliams signalizuoja apie tinkamą mitybos šaltinį.

Metilsalicilatas yra lakusis augalų hormono - salicilo rūgšties – esteris. Jį išskiria daugelis augalų, pvz., pupelės, pomidorai, bulvės ir kt., kuriuos vienu ar kitu būdu pažeidė vabzdžiai (Dicke, Poecke, 2002). Manoma, kad metilsalicilato išskyrimas padeda augalams apsisaugoti nuo salicilo rūgšties pertekliaus, kurios formavimasis indukuoja vabzdžių pažeidimai (Shulaev et al., 1997). Kaip ir kiti augalėdžių vabzdžių indukuojami augalų lakieji junginiai, MeSa privilioja augalėdžių vabzdžių natūralius priešus. MeSa patrauklumas plėšriosioms rūšims, pvz., smulkiems (mikro) parazitiniams plėviasparniams ar dvisparniams (Empididae), buvo pademonstruotas lauko bandymų metu (James, Price, 2004; James, 2005). MeSa taip pat vilioja daugelį kitų vabzdžių rūšių, priklausančių Heteroptera, Homoptera, Coleoptera, Lepidoptera, Neuroptera ir Thysanoptera būriams (Scutareanu et al., 1997; Raguso and Light, 1998; Ninkovic et al., 2003; De Boer and Dicke, 2004; James and Price, 2004; Martel et al., 2005; Wolde-Hawariat et al., 2005; Tasin et al., 2006). Iš dvisparnių iki šiol buvo žinoma, kad MeSa vilioja tik tris rūšis, kurios visos

priklauso Syrphidae šeimai, o jų plėšrios lervos maitinasi amarais (Molleman et al., 1997).



3.1.6.3 pav. *Liriomyza bryoniae* oro srovės su metilsalicilatu (MeSa) ir be MeSa pasirinkimas Y-olfaktometre. \* - reikšmės tarp grupių esančių poroje skiriasi statistiškai patikimai ( $p < 0.05$ ) pagal  $\chi^2$  kriterijų.

Tiriant MeSa patrauklumą bulvinei liriomyzai laboratorinėmis sąlygomis išryškėjo skirtumai tarp skirtingos lyties individų. Olfaktometrinių bandymų metu buvo nustatyta, kad tik patelės patikimai dažniau renkasi oro srovę su metilsalicilato kvapu ( $\chi^2 = 4,84$ ,  $p = 0,03$ ) (3.1.6.3 pav.). Patinėliams taip pat būdinga tendencija dažniau rinktis oro srovę su metilsalicilato kvapu (pasirinko 56%) nei gryno oro srovę (44%), nors statistiškai patikimo skirtumo nenustatyta ( $\chi^2 = 0,67$ ,  $p = 0,41$ ). Skirtumus tarp patelių ir patinėlių elgesinių reakcijų galėjo lemti tyrimuose naudota MeSa dozė, kuri galėjo būti optimali patelėms, bet ne patinėliams.

MeSa yra pirmas ir vienintelis atraktantas identifikuotas ekonomiškai svarbiai *L. bryoniae* rūšiai. Kaip jau buvo minėta literatūros apžvalgoje, Agromyzidae šeimos tarpe atraktantai identifikuoti tik vienai *L. sativae* rūšiai (Wei et al., 2005). Mūsų gauti rezultatai taip pat papildo ir patikslina literatūroje pateiktus duomenis, kad MeSa yra patrauklus kai kurioms nenustatytoms rūšims, priklausančioms Agromyzidae šeimai (James, 2005).

Gauti rezultatai taip pat svarbūs taikymo aspektu. Šiuo metu geltonos lipnios kortelės yra naudojamos kaip monitoringo priemonė Agromyzidae rūšims tiek mažose, tiek dideliuose pramoniniuose ūkiuose. Remiantis gautais rezultatais galima teigti, kad sintetinis metilsalicilatas gali būti efektyvi papildoma priemonė padidinanti gaudyklių patrauklumą ir taip padidinanti monitoringo priemonių jautrumą.

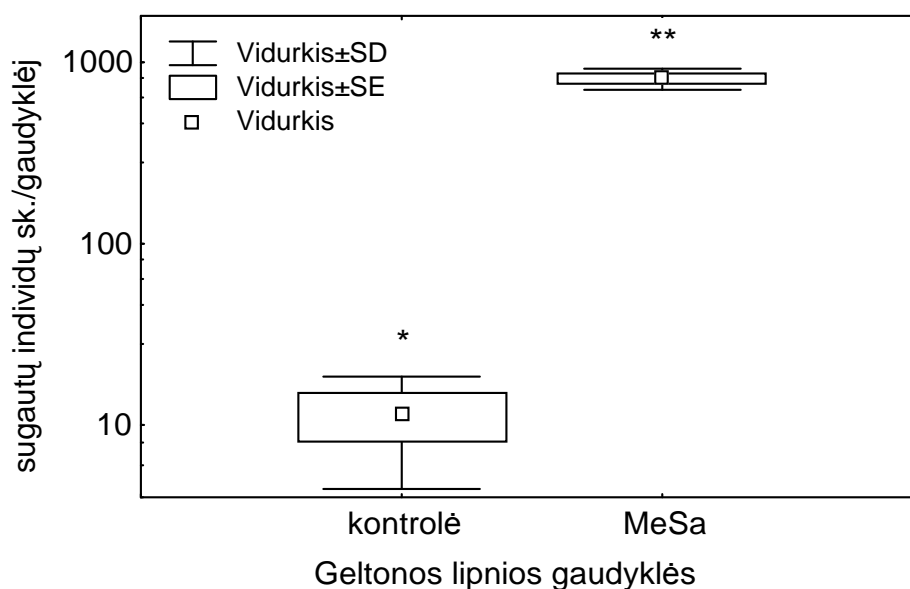
Lauko bandymų, vykusių prieskoninių augalų ir salotų šiltnamiuose (Sakalai, Šalčininkų raj.) metu *L. bryoniae* pagauti nepavyko nei su kontrolinėmis geltonomis gaudyklėmis, nei su gaudyklėmis turinčiomis MeSa. Patikrinus augalus ant jų neradome ir lervučių išgraužtų minų, todėl konstatavome, kad *L. bryoniae* šiuose šiltnamiuose nebuvo. Tačiau bandymų metu buvo nustatytos dar dvi dvisparnių rūšys, kurioms MeSa buvo patrauklus. Tai *Drosophila busckii* Coquillett (Drosophilidae) ir *Pollenia rudis* Fabricius (Calliphoridae). Bendras pagautų rūšių skaičius geltonomis gaudyklėmis su MeSa buvo 3255 *D. busckii* ir 166 *P. rudis*. Kontrolinėse geltonose gaudyklėse atitinkamai buvo pagauta 46 ir 51 šių dvisparnių rūšių.

*D. busckii* sugavimų vidurkis geltonomis, MeSa turinčiomis gaudyklėmis ( $814 \pm 55$  vabzdžiai/gaudyklėj) statistiškai patikimai skyrėsi nuo sugavimų vidurkio kontrolinėmis gaudyklėmis be MeSa ( $12 \pm 4$  vabzdžiai/gaudyklėj) ( $H=5,33$ ,  $p=0,02$ ). Sugavimai kontrolinėse gaudyklėse parodo, kad geltona spalva pati buvo patraukli vaisinėms muselėms, tačiau MeSa žymiai padidino jų patrauklumą (net 67,8 kartus) (3.1.6.4 pav.).

Yra labai mažai žinoma apie cheminius junginius, veikiančius *D. busckii* elgseną. Nustatyti du junginiai ((S) – 2 – pentadecil acetatas ir 2 – pentadekanonas), sukeliančys šių muselių agregacijos reakciją (Schaner et al., 1989). MeSa yra pirmas šiai rūšiai identifikuotas atraktantas.

*D. busckii* kaip ir visas vaisines museles traukia pūvanti augalinė medžiaga (ypatingai vaisiai ir daržovės), kurioje gausu įvairių bakterijų ir mielių. Skrisdami nuo vieno pūvančio objekto ant kito suaugėliai perneša puvinį sukeliančius mikroorganizmus. Taigi nors vaisinės muselės yra saprofitai, jos gali pridaryti daug žalos pernešdamos puvinį. Taip pat buvo

nustatyta, kad *D. busckii* perneša vaisių puviną sukeliančius grybus *Aspergillus niger* gan dideliais kiekiais, ir siekiant sumažinti puvinio paplitimą ieškoma neinsekticidinių priemonių šių muselių kontrolei (Saxena, Saxena, 1990).



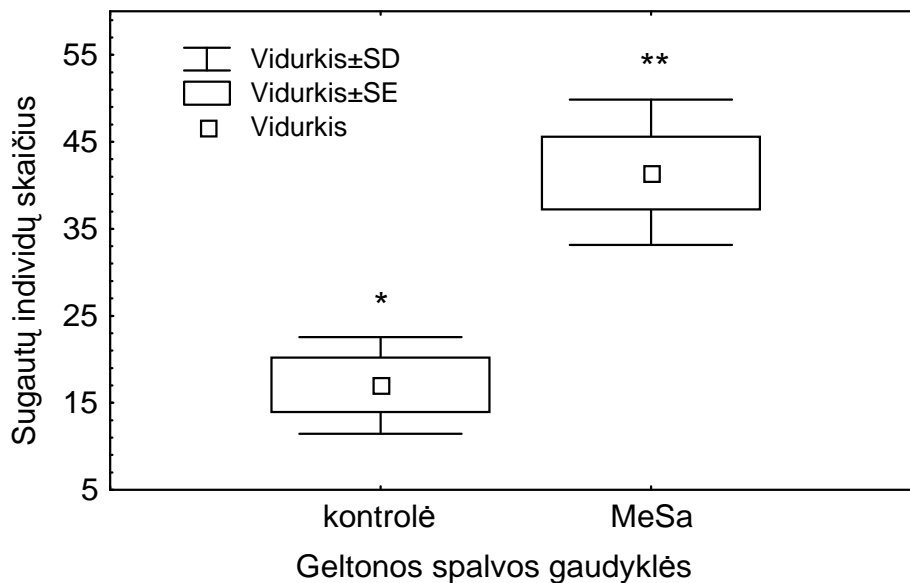
3.1.6.4 pav. *Drosophila busckii* sugavimų vidurkiai (logaritminėje skalėje) naudojant geltonos spalvos lipnias gaudykles su metilsalicilatu (MeSa) ir be MeSa (kontrolė). Reikšmės, pažymėtos skirtingu žvaigždučių skaičiumi, skiriasi statistiškai patikimai ( $H=5,33$ ,  $p=0,02$ ) pagal Kruskalio-Voliso ranginį kriterijų nepriklausomoms imtims.

Remiantis duomenimis apie *D. busckii* elgseną, galime daryti išvadą, kad museles gali privilioti bakterijų, grybų ir mielių arba puvinio pažeistų augalinių substratų išskiriami junginiai. Žinoma, kad MeSa yra svarbi daugumos vaisių kvapo sudedamoji dalis (Goff, Klee, 2006). Taip pat ji gali išskirti bakterijų ar grybų pažeisti augalai (Cardoza et al., 2002; Cardoza, Tumlinson, 2006). Tokiu atveju MeSa gali būti priskiriamas *D. busckii* kairomoniniams atraktantams. MeSa galėtų būti naudojamas kaip priemonė, didinanti *D. busckii* monitoringo efektyvumą. Ar šis atraktantas gali būti panaudojamas kartu su geltonomis lipniomis gaudyklėmis efektyviam



masiniam *D. busckii* gaudymui uždaroje sistemoje (pvz., šiltnamiuose, vaisių sandeliuose) turi būti įvertinta ateityje.

*P. rudis* sugavimų vidurkis geltonomis, MeSa turinčiomis gaudyklėmis ( $42 \pm 4$  vabzdžiai/gaudyklėj) daugiau nei tris kartus ir taip pat statistiškai patikimai skyrėsi nuo sugavimų vidurkio geltonomis kontrolinėmis gaudyklėmis be MeSa ( $13 \pm 4$  vabzdžiai/gaudyklėj) ( $H=5,39$ ,  $p=0,02$ ). Nors geltona spalva pati buvo patraukli šiai rūšiai, MeSa statistiškai patikimai padidino gaudyklių patrauklumą, todėl gali būti priskiriamas *P. rudis* atraktantams (3.1.6.5 pav.). Tai yra antras atraktantas, nustatytas šiai rūšiai. Iki šiol buvo žinoma, kad *P. rudis* vilioja metil eugenolis (Kido et al., 1996).



3.1.6.5 pav. *Pollenia rudis* sugavimų vidurkiai naudojant geltonos spalvos lipnias gaudykles su metilsalicilatu (MeSa) ir be MeSa (kontrolė). Reikšmės, pažymėtos skirtingu žvaigždučių skaičiumi, skiriasi statistiškai patikimai ( $H=5,39$ ,  $p=0,02$ ) pagal Kruskalio-Voliso ranginį kriterijų nepriklausomoms imtims.

*P. rudis* suaugėlio stadijoje maitinasi gėlių nektaru ir yra svarbi kai kurių augalų rūšių apdulkinėja (Lumer, Yost, 1995). Daugumos augalų žiedai skleidžia MeSa kaip įprastą gėlių kvapo junginį (Knudsen et al., 2006). Tokiu

būdų MeSa *P. rudis* suaugėliams gali signalizuoti apie tinkamą mitybos šaltinį, todėl šis junginys gali būti klasifikuojamas kaip atraktantas, ir kaip sinomonas (junginys naudingas tiek jo gavėjui, tiek pačiam siuntėjui).

Tačiau *P. rudis* suaugėliai dažnai priskiriami ir nepageidaujamoms rūšims tiek dėl savo įkyrumo, tiek dėl sancaupų pastatuose vėlyvos vasaros ar ankstyvo rudens metu, kur ši rūšis žiemoja. Be to, jei ši rūšis būriuojasi lignoninėse ar naminių gyvulių ūkiuose, ji gali būti priskiriama net kenkėjams, nes platina ligas, pernešdama ligas sukeliančias bakterijas. Tokiu atveju prieš šią rūšį naudojamos tiek biologinės kovos priemonės, pvz., entomofiliniai nematodai (Barson et al., 1986), tiek cheminiai insekticidai (Faulde et al., 2001). Kombinuotų (esamų biologinės kovos būdų ir nustatytų atraktantų) priemonių naudojimas galėtų žymiai padidinti kontrolės šiais metodais efektyvumą.

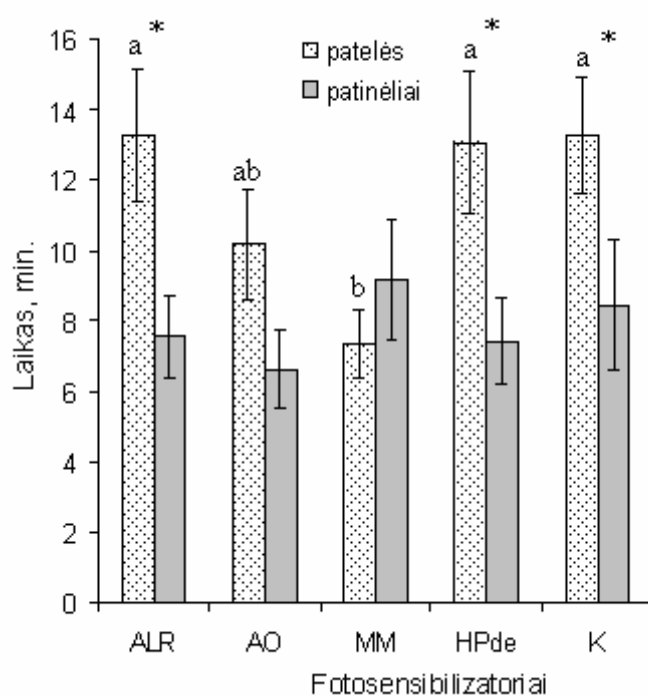
## **3.2. Fotoinsekticidų paieška: įvairių fotosensibilizatorių poveikis bulvinei lirijomyzai *L. bryoniae***

### **3.2.1. *L. bryoniae* mitybos masalu su skirtingais fotosensibilizatoriais aktyvumas**

Lyginamajai analizei buvo pasirinkti fotosensibilizatoriai, reprezentuojantys skirtingas cheminių junginių grupes: akridinus (akridino oranžas, AO), fenotiazinus (metileno mėlis, MM), porfirinus (hematoporfirino dimetilo eteris, Hpde) ir amino rūgštis (5-amino levulino rūgštis, ALR, endogeninio protoporfirino pirmtakas).

Tyrimo metu buvo nustatyta, kad bulvinės lirijomyzos mitybos aktyvumas tiek masalu, į kurio sudėtį įėjo skirtingi fotosensibilizuojantys junginiai, tiek kontroliniu masalu be fotosensibilizatoriaus priklauso nuo vabzdžio lyties. 30 minučių trukusio stebėjimo metu patelės 1,5 karto ilgiau maitinosi kontroliniu masalu nei patinėliai: patelių vidutinė maitinimosi trukmė

– 13,25 min., o patinėlių – 8,45 min. ( $Z=2,21$ ,  $p=0,027$ ) (3.2.2.1 pav.). Šį skirtumą galėjo lemti tiek skirtingos lyties vabzdžių kūno dydžių skirtumai (patelės stambesnės už patinėlius), tiek patelių biologinis aktyvumas. Tokios pačios maitinimosi trukmės proporcijos buvo registruotos minamusėms maitinantis masalu, į kurio sudėtį įėjo Hpde arba ALR: maitinantis masalu su Hpde patelių vidutinė maitinimosi trukmė buvo 13,06 min., o patinėlių – 7,42 min. ( $Z=2,10$ ,  $p=0,03$ ), maitinantis masalu su ALR atitinkamai 13,26 min. ir 7,55 min. ( $Z=2,21$ ,  $p=0,027$ ).



3.2.2.1 pav. *Liriomyza bryoniae* maitinimosi masalu su skirtingais fotosensibilizatoriais laikas. ALR - 5 aminolevulino rūgštis, AO - akridino oranžas, MM - metileno mėlis, HPde - hematoporfirino dimetileteris, K - kontrolė. Skirtingos raidės virš stulpelių - maitinimosi laiko skirtumų statistinis patikimumas tarp tos pačios lyties individų ( $p<0,05$ , Vilkoksono ženklų kriterijus priklausomoms imtims), \*- statistinis patikimumas tarp skirtingos lyties individų ( $p<0,05$ , Vilkoksono ženklų kriterijus priklausomoms imtims).

Lyginamoji vabzdžių maitinimosi analizė parodė, kad HPde ir ALR priklauso junginiams, kurie neatgraso *L. bryoniae* patelių nuo maitinimosi lyginant šias dvi medžiagas su kontrole ir/ar metileno mėliu. Tuo tarpu metileno mėlis pasižymi deterento savybėmis, kadangi žymiai sutrumpina (1,8 kartus) patelių maitinimosi masalu laiką ( $Z=2,27$ ,  $p=0,023$ ). Patinėlių maitinimosi masalu su MM trukmė patikimai nesiskyrė nuo kontrolės. Akridino oranžas pagal deterentiškumą *L. bryoniae* patelėms laipsniškai priklauso tarpiniams junginiams. Patelėms ir patinėliams maitinantis masalu su minėta fotoaktyvia medžiaga mitybos aktyvumo skirtumai tarp lyčių sumažėjo ( $Z=1,135$ ,  $p=0,255$ ).

Apibendrinant vabzdžių mitybos elgesio rezultatus galima teigti, kad patelės kur kas jautriau reaguoja į masalo sudėtį nei patinėliai, kadangi tik patelių maitinimosi masalu aktyvumas keitėsi priklausomai nuo to, koks fotosensibilizatorius buvo ištirpintas masale. Fotoaktyvių junginių kaip pesticidų efektyvumas priklauso nuo vabzdžių maitinimosi jais aktyvumo, tai yra nuo praryto ir patekusio į vabzdžio organizmą fotosensibilizatoriaus kiekio (Mangan, Moreno, 2001). Šiame kontekste mūsų bandymo metu nustatyti mitybos aktyvumo skirtumai tarp patelių ir patinėlių yra labai svarbūs, kadangi tik patelės atsakingos už kenkėjų plitimo spartą (pasirenka mitybinius augalus ir deda kiaušinėlius) bei mitybiniais augalams daromą žalą (geba pradurti lapo paviršių maitinimosi metu).

### **3.2.2. Šviesos aktyvuotų fotosensibilizatorių poveikis *L. bryoniae* išgyvenamumui**

Fotosensibilizatorių poveiko bulvinei lirijomyzai efektyvumo tyrimams buvo pasirinkti tie fotoaktyvūs junginiai, kurie vabzdžių mitybos aktyvumo bandymuose statistiškai patikimai nesiskyrė nuo kontrolės, tai HPde, ALR ir AO. Iš visų minėtų fotosensibilizatorių, porfirinų tipo junginys - HPde – būtų vienas potencialiausių fotoinsekticidų prieš bulvinę lirijomyzą, kadangi šie

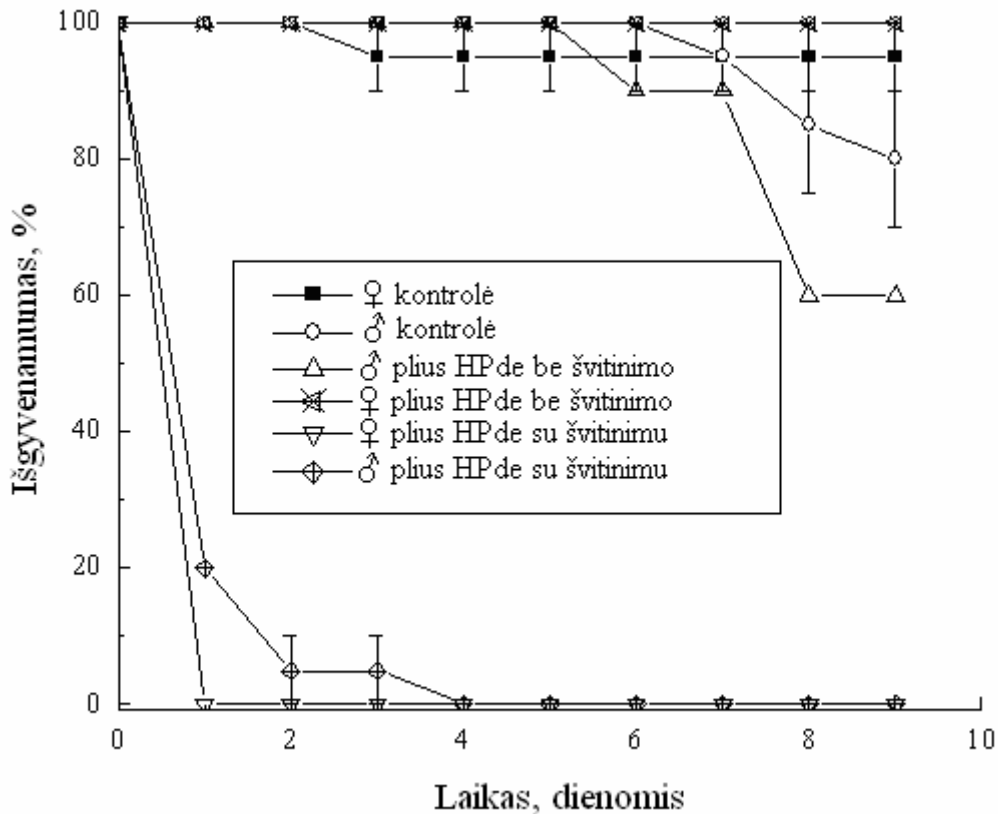
junginiai geba sugerti beveik visų ilgių artimos UV-regimosios šviesos spektro bangas (Lukšienė, 2003).

Šviesos aktyvuotų fotosensibilizatorių poveikio *L. bryoniae* išgyvenamumui tyrimų metu tik HPde statistiškai patikimai sumažino minamusių išgyvenamumą. ALR ir AO nebuvo tokie efektyvūs kaip HPde ir nesukėlė *L. bryoniae* suaugėlių mirtingumo.

Tiriant HPde poveikį bulvinei liriomyzai, vabzdžiai buvo maitinami masalu su HPde ir švitinami dirbtiniu šviesos šaltiniu. Jau švitinimo eksperimentų metu žuvo 50% bulvinės minamosės patinėlių. Likusieji išgyveno iki 3 parų (3.2.2.1. pav.). Tuo tarpu kontrolinės vabzdžių grupės, kuri buvo maitinama masalu be HPde, išgyvenamumas (išgyveno iki 25 parų) statistiškai patikimai skyrėsi nuo testuojamosios grupės vabzdžių išgyvenamumo ( $F=5,038$ ,  $p=0,0003$ ) (3.2.2.2. pav.). Taip pat nebuvo stebėta testuojamų vabzdžių išgyvenamumo sumažėjimo tarpe minamusių, kurios buvo švitinamos tokiomis pačiomis sąlygomis, tačiau kurios buvo maitinamos masalu be HPde. Tyrimų metu taipogi nustatyta kad HPde nėra toksiškas *L. bryoniae* patinėliams tamsoje: patinėlių išgyvenamumo sumažėjimas nebuvo stebimas po jų maitinimo masalu su HPde be švitinimo ( $F=1,71$ ,  $p=0,117$ ).

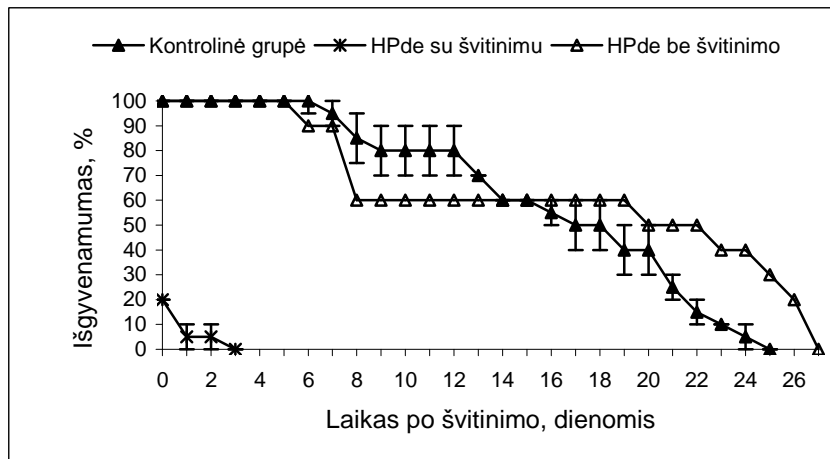
Bulvinės liriomyzos patelių jautrumas HPde pateiktas 3.2.2.1. paveiksle. Kontrolinė patelių grupė išgyveno iki 27 dienų (3.2.2.3 pav.). Nebuvo pastebėta jokio žymaus bulvinės liriomyzos patelių išgyvenamumo sumažėjimo ir po jų maitinimo masalu su HPde nesant švitinimui: maitinimas masalu su HPde net pailgino jų išgyvenamumą ( $F=2,62$ ,  $p=0,018$ ) (3.2.2.3 pav.).

Kai bulvinės liriomyzos patelės buvo maitinamos masalu be HPde, jų švitinimas matoma šviesa (54J) jokio poveikio nesukėlė. Tas rodo, kad pati šviesa neturi jokio poveikio patelių mirtingumui (kaip ir patinėlių) esant mūsų eksperimento sąlygoms. Tačiau maksimalus ir labai greitas *L. bryoniae* patelių mirtingumas buvo pasiektas joms maitinantis masalu su HPde ir po to patekus į šviesą: 100% patelių žuvo švitinimo metu, per 30 min.

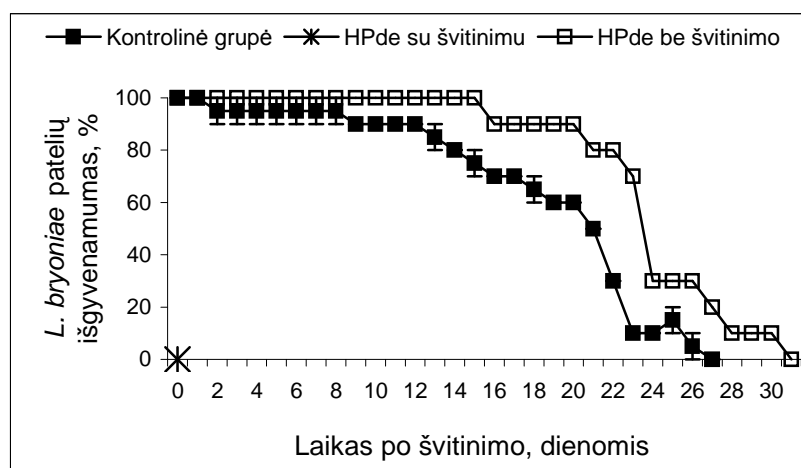


3.2.2.1 pav. *Liriomyza bryoniae* išgyvenamumas po fotosensibilizacijos naudojant hematoporfirino dimetileterį (HPde) 9 dienų laikotarpyje: vabzdžiai buvo maitinami masalu, turinčiu 150  $\mu\text{L}$   $2.5 \times 10^{-2}$  M HPde, po to 30 min švitinami plataus spektro matoma šviesa, 30  $\text{mW}/\text{cm}^2$ .

Taigi bulvinė liriomyza *L. bryoniae* jautri fotosensibilizacijai naudojant HPde. Pastaraisiais metais labai padidėjo dėmesys fotosensibilizacijos galimybėms naudojant porfirinų klasės junginius. Įvairiais tyrimais nustatyta, kad kai kurie vabzdžiai (*Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera, Tephritidae), *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera, Tephritidae), *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae)) ir netgi pirmuonių parazitas *Colpoda inflata* (Stokes) (Protista, Ciliophora, Colpodea) yra jautrūs fotosensibilizacijai naudojant porfirinų tipo junginius ir veikiant šviesai (Ben Amor et al., 1998a; Ben Amor et al., 2000; Kasab et al., 2002). To priežastis - ypatinga porfirinų savybė sugerti iš esmės visų ilgių artimos UV ir regimosios saulės šviesos bangas.



3.2.2.2 pav. *Liriomyza bryoniae* patinėlių išgyvenamumas po fotosensibilizacijos naudojant hematoporfirino dimetilerį (HPde): vabzdžiai buvo maitinami masalu, turinčiu 150  $\mu\text{L}$   $2.5 \times 10^{-2}$  M HPde, po to 30 min švitinami plataus spektro matoma šviesa, 30  $\text{mW}/\text{cm}^2$ .

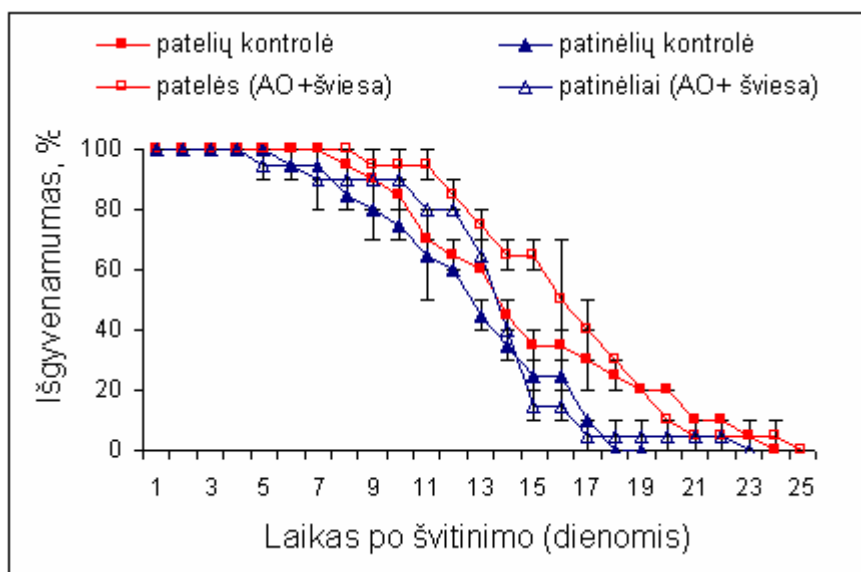


3.2.2.3 pav. *Liriomyza bryoniae* patelių išgyvenamumas po fotosensibilizacijos naudojant hematoporfirino dimetilerį (HPde): vabzdžiai buvo maitinami masalu, turinčiu 150  $\mu\text{L}$   $2.5 \times 10^{-2}$  M HPde, po to 30 min švitinami plataus spektro matoma šviesa, 30  $\text{mW}/\text{cm}^2$ .

Taip pat porfirinai yra natūralūs junginiai, nesukeliantys jokių pastebimų citotoksinių reakcijų nesant šviesos šaltiniui (Lukšienė et al., 2004b; Lukšienė et al., 2005, 2006). Galiausiai, porfirinų struktūra gali būti lengvai

modifikuojama esant specifiniams poreikiams, kas leidžia dar labiau padidinti šių junginių kaupimąsi vabzdžių organizmuose (Ben Amor, Jori, 2000).

Tiriant AO ir šviesos poveikį bulvinei liriomyzai panašaus fotosensibilizacijos poveikio, koks buvo stebėtas naudojant HPde, nustatyta nebuvo. Tiek kontrolinės, tiek testuojamosios vabzdžių grupių išgyvenamumas buvo panašus. Kontrolinė patelių grupė išgyveno iki 24d., o testuojamoji iki 25d. ( $F=1,15$ ,  $p=0,37$ ), patinėlių – atitinkamai iki 18d. ir iki 23d. ( $F=1,17$ ,  $p=0,36$ ) (3.2.2.4 pav.).

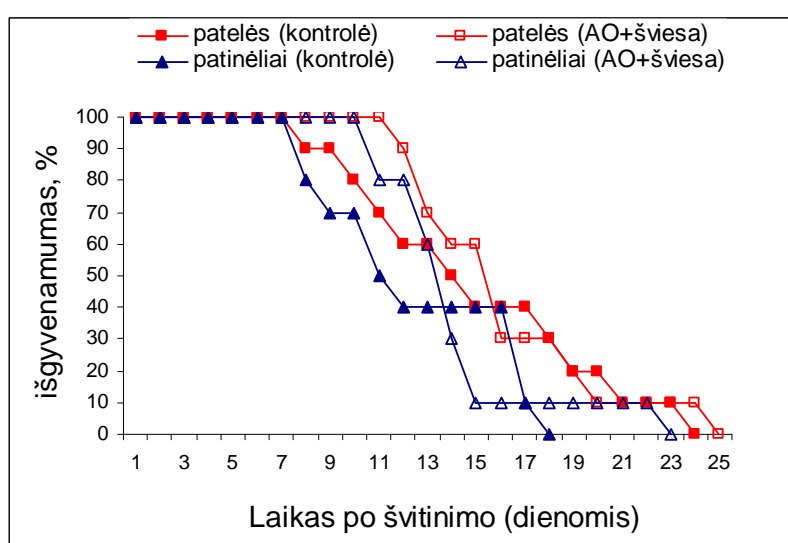


3.2.2.4 pav. *Liriomyza bryoniae* patelių ir patinėlių išgyvenamumas po fotosensibilizacijos naudojant akridino oranžą (AO): vabzdžiai buvo maitinami masalu, turinčiu  $150 \mu\text{L}$   $2.5 \times 10^{-2}$  M AO, po to 30 min švitinami plataus spektro matoma šviesa,  $30 \text{ mW}/\text{cm}^2$ .

AO efektyvumą buvo bandoma didinti ilginant švitinimo laiką, bei keičiant švitinimo metu naudojamos šviesos bangos ilgį nuo 600 nm iki 400 nm (siekiant padidinti šviesos sugerties efektyvumą), tačiau rezultatai išliko nepakitę (3.2.2.5 pav.). Tai rodo, kad bulvinė liriomyza nėra jautri fotosensibilizacijai naudojant akridino oranžą kaip fotosensibilizuojančią medžiagą.



Keliose publikacijose nurodomas akridino oranžo toksiškumas dvisparniams be šviesos poveikio. Pavyzdžiui, labai didelis kambarinių musių *Musca domestica* L. lervų mirtingumas pasiekiamas jas maitinant masalu su AO (0.75-1%) (Khan et al., 1982). Naudojant mažesnes AO dozes (0.25-0.5%), registruojamas sulėtėjęs lervų augimas, sumažėjęs lėliukių svoris ir neigiamas poveikis dauginimuisi. Tyrimuose su vaisinėmis muselėmis, *Drosophila melanogaster* ir *D. simulans* (Diptera, Drosophilidae), nustatytas ne tik toksiškas AO poveikis lervoms, bet ir suaugėliams (Alba et al., 1983).



3.2.2.5 pav. *Liriomyza bryoniae* patelių ir patinėlių išgyvenamumas po fotosensibilizacijos naudojant akridino oranžą (AO): vabzdžiai buvo maitinami masalu, turinčiu  $150 \mu\text{L } 2.5 \times 10^{-2} \text{ M AO}$ , po to 50 min švitinami šviesa, kurios bangos ilgis buvo 400 nm (bandymas atliktas be pakartojimų).

Tačiau taip pat nustatyta, kad šis AO poveikis priklauso nuo rūšies ir vabzdžių vystymosi stadijos. Be to, abiejų *Drosophila* genties rūšių patinėliai daug jautresni nei patelės. Remiantis literatūros duomenimis ir bandymo su *L. bryoniae* metu gautais rezultatais galima teigti, kad fotosensibilizacijos efektyvumas priklauso ne tik nuo naudojamo fotosensibilizatoriaus, bet ir nuo vabzdžio rūšies, kuriems taikomas fotosensibilizacijos procesas, tų vabzdžių vystymosi stadijos ir net suaugėlių lyties.

Mūsų atliktose fotosensibilizacijos bandymuose su 5-amino levulino rūgštimi, minėtos medžiagos sukeliama letalaus poveikio *L. bryoniae* taip pat nebuvo pastebėta (3.2.2.6 pav.). To priežastimi galėjo būti per mažas ALR kiekis maitinimosi metu patekęs į vabzdžio organizmą. Literatūroje nurodoma, kad paprastai fotosensibilizacijai sukelti reikia gan didelių ALR kiekių (kelių šimtų miligramų) (Ben Amor, Jori, 2000). Siekiant padidinti maitinimosi metu į bulvinės lirijomzos organizmą patenkančius ALR kiekius, buvo ilginamas vabzdžių maitinimosi masalu su šia medžiaga laikas iki 40 val. Kartu buvo ilginamas ir švitinimo laikas (iki 1 val.) vabzdžių fotojautrumui padidinti. Tačiau ir pakeitus bandymo parametrus pastebimo ALR poveikio bulvinės lirijomyzos išgyvenamumui stebėta nebuvo (3.2.2.7 pav.). 5-amino levulino rūgštis yra metabolinis hemo (hemoproteinų prostetinė grupė, įeinanti į kvėpavimo pigmentų, pvz.: hemoglobino, hemocianino sudėtį) pirmtakas (Rebeiz et al., 1990b). ALR perteklius inhibuoja paskutines reakcijas porfirino-hemo biosintezės kelyje, to pasekoje vabzdžio organizme susikaupia dideli protoporfirino IX (kuris yra fotodinaminis agentas) kiekiai. Galiausiai protoporfirino prikaupusios ląstelės tampa jautrios šviesai, ypač jų mitochondrijos, kur vyksta hemo biosintezė. Dažniausiai jautrumas šviesai atsiranda po 3-4 val., nuo ALR patekimo į vabzdžio organizmą maitinimosi metu. Protoporfirinų kaupimosi mastas gali būti padidintas naudojant geležį sulaikančius agentus, pvz., desferoksaminą ar fenantroliną (Rebeiz et al., 1990a). Bandymo su bulvine lirijomyza ir ALR metu taip pat buvo bandyta padidinti protopofirinų kaupimąsi vabzdžių organizme naudojant geležį sulaikantį agentą – 1,10 – fenantroliną (1,10Ph). Buvo nustatyta, kad minėta medžiaga pati yra šiek tiek toksiška vabzdžiams, tiek patinėliams, tiek patelėms (3.2.2.8 pav.) netgi be švitinimo. Šie mūsų rezultatai neprieštaruoja literatūroje pateiktiems duomenims, kad geležį sulaikantis agentas 1,10 – fenantrolinas inicijuoja protoporfirinų kaupimąsi vabzdžio organizme, ko pasekoje vabzdžiai žūva tamsoje dėl kol kas neištirtų mechanizmų, o šviesoje – dėl singletinio deguonies susiformavimo (Rebeiz et al., 1990a). Vabzdžiams maitinantis masalu su ALR ir 1,10Ph, amino levulino rūgšties kiekis patekęs

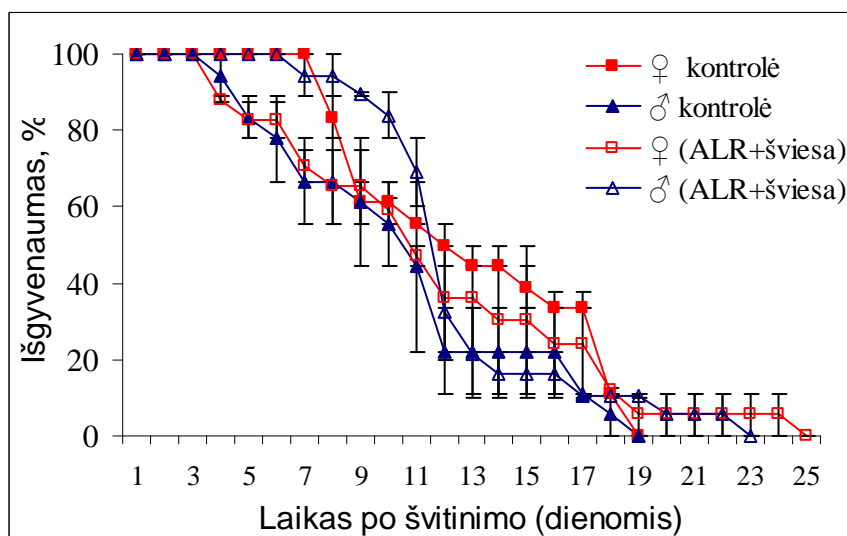
maitinimosi metu į vabzdžio organizmą dar labiau padidina protoporfirinų kiekį, todėl sinergistinis ALR ir 1,10Ph poveikis vabzdžių išgyvenamumui yra stipresnis nei vieno 1,10Ph. Šie skirtumai ypač gerai išryškėjo bandyme su bulvinės lirijomyzos patelėmis: patelių maitintų masalu su 1,10Ph išgyvenamumas statistiškai patikimai nesiskyrė nuo kontrolinės grupės patelių išgyvenamumo ( $F=1,53$ ,  $p=0,17$ ), tuo tarpu patelių maitintų masalu su 1,10Ph+ALR išgyvenamumas statistiškai patikimai buvo mažesnis už kontrolinės grupės patelių išgyvenamumą ( $F=2,204$ ,  $p=0,04$ ) (3.2.2.8 pav.). Patinėlių atveju tokių ryškių skirtumų tarp 1,10Ph ir ALR+1,10Ph poveikių nustatyta nebuvo greičiausiai dėl per mažo ALR kiekio, patekusio patinėlių maitinimosi metu. Priminsime, kad maitinimo masalu su skirtingais fotosensibilizatoriais bandyme buvo nustatyta, kad patinėliai masalu su ALR maitinosi 1,5 karto trumpiau nei patelės (3.2.2.1 pav.).

Taigi bulvinės lirijomyzos suaugėliai nėra jautrūs fotosensibilizacijai naudojant vieną ALR. Tačiau ALR naudojant kartu su geležį sulaikančiu agentu 1,10 – fenantrolinu, *L. bryoniae* mirtingumas pastebimai padidėja. Visgi šių medžiagų sinergistinis poveikis bulvinei lirijomyzai nėra toks efektyvus kaip vieno HPde. HPde iš visų tirtų fotoaktyvių medžiagų efektyviausiai sumažina *L. bryoniae* išgyvenamumą.

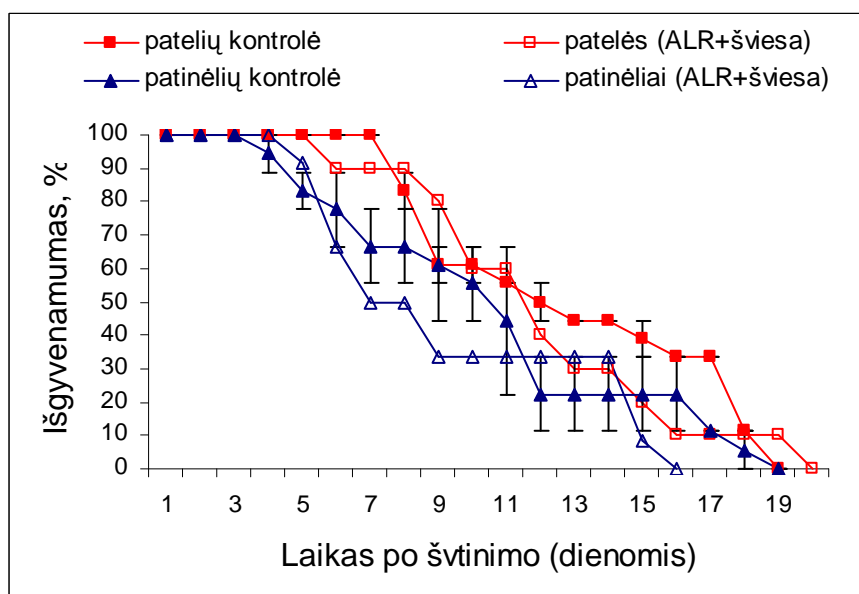
### **3.2.3. Hematoporfirino dimetileterio kiekis ir veikimo trukmė *L.bryoniae* organizme**

Farmakokinetikos tyrimams buvo pasirinktas fotosensibilizatorius HPde, kaip efektyviausias bulvinei lirijomyzai iš tirtų fotoinsekticidų.

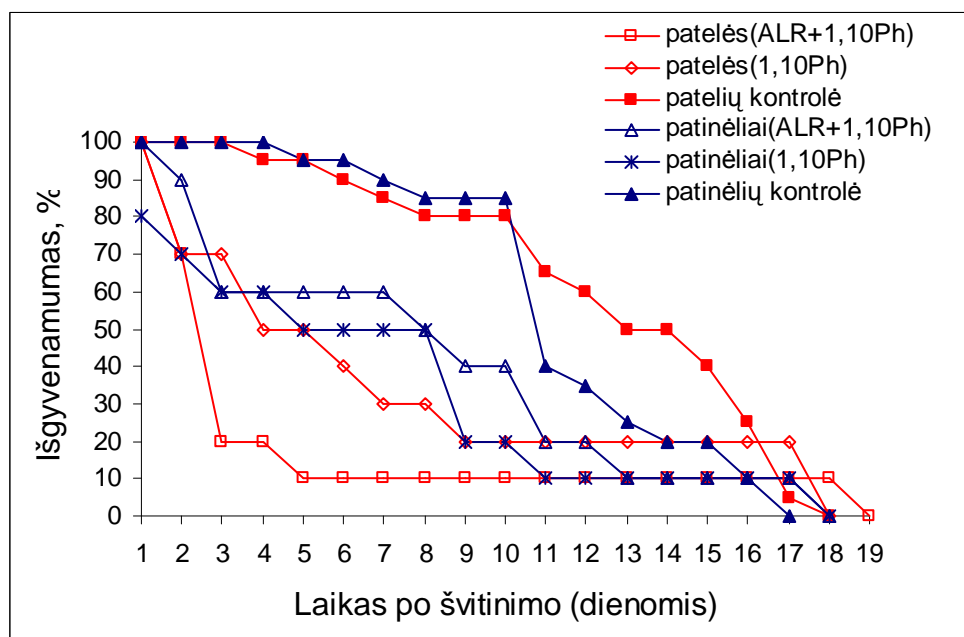
Gerai žinoma, kad porfirininių darinių molekulės geba agreguotis vandeniniuose tirpaluose (Andreoni, Cubeddu, 1984; Maiti et al., 1995). Nustatant ar HPde molekulės fiziologiniame tirpale yra monomerinėje ar agreguotoje formoje į tirpalą buvo dedama TritonX-100 medžiagos. Triton X-100 sudarydamas mices neleidžia formuotis agregatams.



3.2.2.6 pav. *Liriomyza bryoniae* išgyvenamumas po fotosensibilizacijos naudojant 5-amino levulino rūgštį (ALR): vabzdžiai buvo maitinami masalu, turinčiu 150  $\mu\text{L}$   $2.5 \times 10^{-2}$  M ALR, po to 30 min švitinami plataus spektro matoma šviesa, 30  $\text{mW}/\text{cm}^2$ .



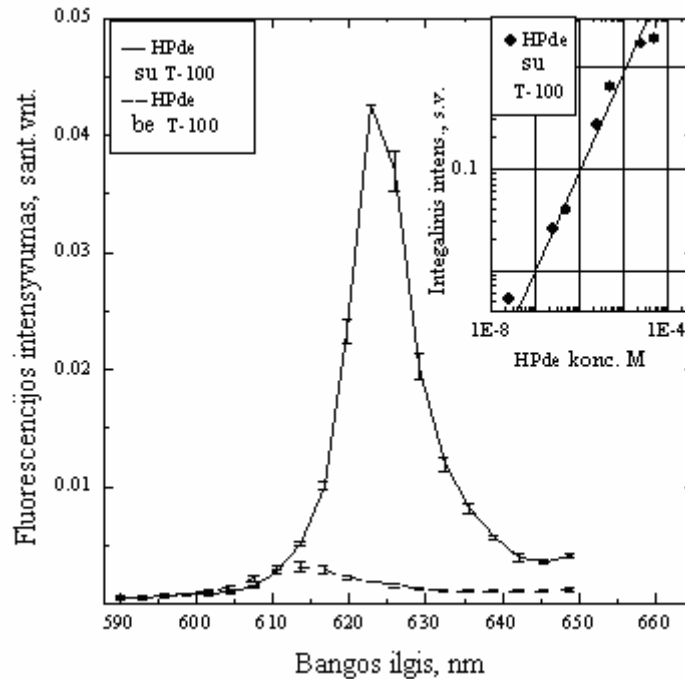
3.2.2.7 pav. *Liriomyza bryoniae* išgyvenamumas po fotosensibilizacijos naudojant 5-amino levulino rūgštį (ALR): vabzdžiai 40 val. buvo maitinami masalu, turinčiu 150  $\mu\text{L}$   $2.5 \times 10^{-2}$  M ALR, po to 1 val. švitinami plataus spektro matoma šviesa, 30  $\text{mW}/\text{cm}^2$  (bandymas atliktas be pakartojimų).



3.2.2.8 pav. *Liriomyza bryoniae* išgyvenamumas po vabzdžių maitinimo (20 val.) masalu su 150  $\mu\text{L}$   $2.5 \times 10^{-2}$  M 5-amino levulino rūgštimi (ALR) ir 114  $\mu\text{L}$  1,10-fenantrolino (1,10Ph) (bandymas atliktas be pakartojimų,  $n = 20$ ).

Fluorescenciniai spektrai  $10^6$  M HPde fiziologiniame tirpale (agreguotoje formoje) ir  $10^6$  M HPde fiziologiniame tirpale, kuriame yra 1% Triton X-100 (monomerinėje formoje) parodyti 3.2.3.1 paveiksle. HPde monomerinėje formoje (su 1% Triton X-100) intensyviausiai fluorescuoja esant 623 nm bangos ilgiui, tuo tarpu agreguotoje formoje – esant 614 nm bangos ilgiui. Linijinė priklausomybė tarp monomerinės formos fluorescencijos intensyvumo ir fotosensibilizatoriaus koncentracijos gali padėti įvertinti HPde kiekį vabzdžio organizme.

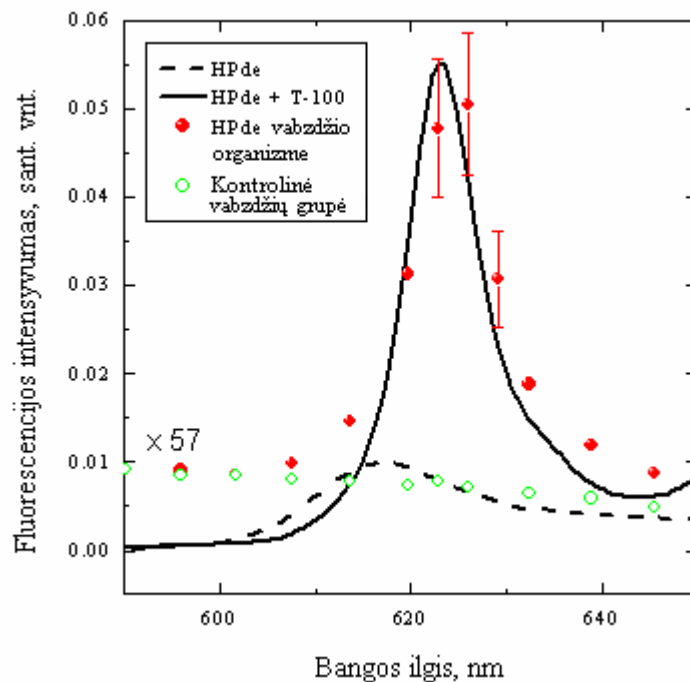
Pirmiausia buvo įvertinta HPde fizinė būklė masale, paruoštame *L. bryoniae* maitinimui. Masalo fluorescencijos spektras pateiktas 3.2.3.2 paveiksle. HPde fluorescencijos cukraus tirpalo masale intensyvumas buvo didžiausias esant 617 nm bangos ilgiui (3.2.3.2 pav.), panašiai kaip ir HPde, esančio agreguotoje formoje (žiūr. 3.2.3.1 pav.). Įdėjus į masalą Triton X-100 HPde fluorescencija intensyviausia buvo 623 nm bangos ilgio ruože. Tai rodo, kad HPde cukraus tirpalo masale yra agreguotoje formoje.



3.2.3.1 pav. Hematoporfirino dimetileterio (HPde) ( $10^6$  M ) be Triton X-100 (brūkšninė linija) ir su Triton X-100 (ištisinė linija) fluorescencijos spektrai; HPde su Triton X-100 fluorescencijos intensyvumo priklausomybė nuo fotosensibilizatoriaus koncentracijos (įdėtinis grafikas).

Taip pat buvo vertinama ir HPde akumuliacija bulvinės lirijomyzos organizme. *L. bryoniae* patinėlių, kurie maitinasi masalu turinčiu HPde, fluorescencijos spektrai pateikti 3.2.3.2 paveiksle. Ryškiai išreikšta liuminescencija esant 623 nm bangos ilgiui parodo HPde akumuliaciją vabzdžio organizme. Akumuluoto pigmento emisijos spektras sutampa su HPde monomerinės formos spektru. *L. bryoniae* patinėliai, kurie maitinasi masalu be fotosensibilizatoriaus susekamos liuminescencijos neskleidė (3.2.3.3 pav.).

Vertinant HPde farmakokinetiką bulvinės lirijomyzos organizme buvo tiriamas HPde fluorescencijos intensyvumas užšaldytuose po maitinimo vabzdžiuose. Fluorescencijos spektrai buvo užrašomi nuo kiekvieno atskiro individo 590-650 nm bangos ilgių ruože.

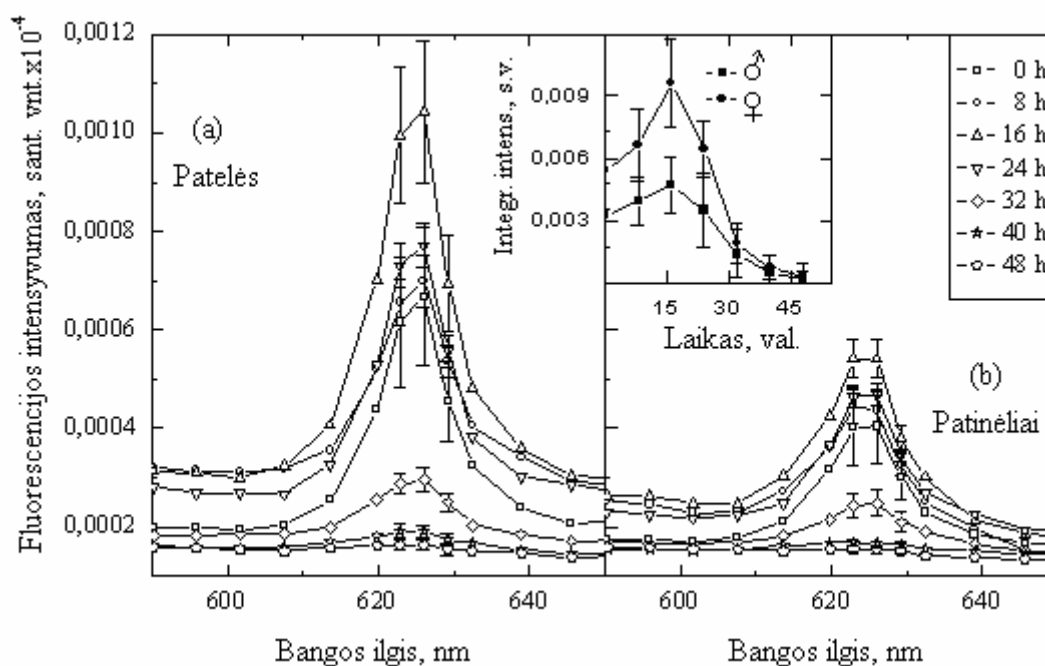


3.2.3.2 pav. Fluorescencijos spektrai masalo, turinčio hematoporfirino dimetileterio (HPde): agreguotoje formoje (brūkšninė linija) ir fluorescuojančioje monomerinėje formoje (su Triton X-100 priemaiša, ištisinė linija). *Liriomyza bryoniae* patinėlių, maitintų masalu su HPde ir masalu be HPde liuminescencijos spektrai, atitinkamai pilnaviduriai ir tuščiaviduriai taškai. Vabzdžių liuminescencijos intensyvumas padidintas 57 kartus.



3.2.3.3 pav. *Liriomyza bryoniae* liuminescencija (spalvos skirtumai pilvelio zonoje): maitinta masalu be hematoporfirino dimetileterio (HPde) (kairėje); maitinta masalu su HPde (dešinėje).

Kadangi vabzdžių dydis buvo 1 - 2 mm, buvo nustatoma HPde fluorescencija nuo viso vabzdžio kūno. Pažymėtina, jog gautieji duomenys rodo, kad santykinis HPde kiekis, susikaupęs bulvinės liriomyzos patelės organizme yra daug didesnis už HPde kiekį patinėlio organizme (3.2.3.4 pav.). Įdėtinis grafikas 3.2.3.4 paveiksle rodo, kad HPde akumuliacija *L. bryoniae* organizme kinta priklausomai nuo laiko. Didžiausias HPde kiekis tiek patelės, tiek patino organizme būna praėjus 16 val. po vabzdžių maitinimo masalu su HPde. Praėjus 48 val. po HPde patekimo su maistu tiek į patelių, tiek į patinėlių organizmą, jokių susekamų fotosensibilizatoriaus kiekių vabzdžiuose rasta nebuvo. Šie rezultatai neprieštarauja kitų mokslininkų skelbtiems duomenims, kad vabzdžių (*Ceratinis capitata*, *Bactrocera oleae*) su maistu gavusių porfirino junginių fotojautrumas išlieka apie 48 val. (Ben Amor et al., 1998a).



3.2.3.4 pav. Minamusių, maitintų masalu su hematoporfirino dimetileteriu (HPde) fluorescencijos spektrai: (a) vienos patelės organizme esančio HPde fluorescencijos spektrai 48 val. laikotarpyje; (b) vieno patinėlio organizme esančio HPde fluorescencijos spektrai 48 val. laikotarpyje. Kreivės atspindi HPde akumuliaciją ir pašalinimą *Liriomyza bryoniae* patelės ir patinėlio organizmuose.



Remiantis fluorimetriniais tyrimais buvo apskaičiuotas HPde kiekis minamusėse, sukėlęs jų mirtingumą minėtų išgyvenamumo eksperimentų metu. Tai –  $1,2 \times 10^{-5}$  g/vabzdžiui.

### 3.3. Apibendrinimas

Darbo metu gauti rezultatai praplėtė žinias apie ekonomiškai svarbaus kenkėjo, bulvinės lirijomyzos *L. bryoniae* ekologiją. Pirmą kartą buvo nustatyta, kad šio polifago mitybinio augalo pasirinkimą lemia daugelis veiksnių: augalo antriniai metabolitai, vabzdžių maitinimasis lervos ir ankstyvojoje suaugėlio stadijose, mitybinio augalo tinkamumas kiaušinėlių dėjimui. Pirmą kartą naudojant DC-EAD metodiką buvo nustatyta 16 pomidoro skleidžiamų cheminių medžiagų (potencialių kairomonų), kurios yra svarbios pastarojo mitybinio augalo atpažinimui ir aptikimui. Dvi iš šių medžiagų buvo identifikuotos (metilsalicilatas (MeSa) ir (Z)-3-heksenolis). Metilsalicilato patrauklumas bulvinei lirijomyzai įrodytas tiek laboratorinėmis, tiek ir lauko sąlygomis ir tai leido šį junginį priskirti kairomonams. Ir nors MeSa nėra specifinis *L. bryoniae* atraktantas, o jo patrauklumas suaugėliams priklauso nuo jų lyties (vilioja pateles), vis dėlto MeSa gali būti efektyvia, papildoma priemone, padidinančia gaudyklų atraktyvumą monitoringo ar kenkėjo gausumo reguliavimo tikslais uždaroje sistemoje (pvz., šiltnamiuose).

(Z)-3-heksenolio patrauklumas *L. bryoniae* nebuvo tirtas, tačiau (Z)-3-heksenolis sukėlė vienas didžiausių patelių antenų sensilių reakcijas, be to, ši medžiaga yra gana dažna augalų skleidžiamų lakiųjų junginių tarpe, ją skleidžia ir daugelis *L. bryoniae* mitybinių augalų (1 priedas). Todėl labai tikėtina, kad ši medžiaga bus priskirta *L. bryoniae* elgseną veikiantiems kairomonams, o ne repelentams.

Naujų, ekologiškai saugių augalų apsaugos priemonių nuo vabzdžių kenkėjų paieška išlieka iki šiol aktuali. Todėl kairomonų ir netoksinių, nemutageninių ir ekologiškai neutralių fotoaktyvių organinių junginių

(fotosensibilizatorių) kombinacijos panaudojimas augalų apsaugai galėtų būti viena realių perspektyvų.

Rezultatai, pateikti 3.2.1, 3.2.2 ir 3.2.3 skyriuose parodo, kad ekonomiškai svarbus kenkėjas *L. bryoniae* yra jautriausias fotosensibilizacijai naudojant HPde fotosensibilizatorių. Be to patelės daug jautresnės už patinėlius ir veikiant šviesai žūsta greičiau. Iš gautų rezultatų matyti, kad fotosensibilizacijos efektyvumas labai priklauso nuo naudojamo fotosensibilizatoriaus. Pavyzdžiui, tyrimuose naudotas akridinams priklausantis junginys – akridino oranžas – nepasižymi fotoinseticidiniu aktyvumu prieš bulvinę lirijomyzą, nors jo toksiškumas įrodytas tyrimuose su kitais dvisparniais. Fotosensibilizacija naudojant vieną ALR taip pat nėra efektyvi, lyginant su HPde. Metileno mėlis nėra tinkamas fotosensibilizatorius prieš bulvinę lirijomyzą dėl deterentiškumo patelėms. Apibendrinus duomenis galima teigti, kad HPde kaip ir kiti įvairių autorių tirti porfirinų junginiai turi keleta teigiamų savybių: nėra deterentiški, sugeba kauptis vabzdžių organizme, pasižymi efektyviu fotoinseticidiniu aktyvumu prieš *L. bryoniae*. Šios HPde savybės duoda pagrindą tolimesniems jo panaudojimo tyrimams.

Darbe panaudota metodologija bei gauti rezultatai yra geras pagrindas naujos kartos pesticidų prieš *L. bryoniae* kūrimui, kurie būtų ne tik efektyvūs, bet ir nemutageniški, saugūs žmogui, draugiški aplinkai bei rentabilūs.

## 4. IŠVADOS

1. Polifago *L. bryoniae* patelėms būdingas maitinimosi paros ritmas: patelės perforuoja mitybinio augalo lapus tik šviesiuoju paros metu, apie 11% intensyviau fotofazės pradžioje (4 val. po saulėtekio) nei fotofazės pabaigoje (1val. iki saulėlydžio).
2. *L. bryoniae* suaugėliai maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui renkasi skirtingus augalus: nuo 2,5 iki 9,5 kartų intensyviau maitinasi karklaviju (*Solanum dulcamara*) nei pomidoru (*Lycopersicon esculentum*), dumplūne (*Physalis pubescens*), notrele (*Lamium album*), balanda (*Chenopodium album*), o kiaušinėlius deda nuo 4,3 kartų daugiau ant dumplūnės nei karklavijo.
3. *L. bryoniae* ♀♀ ir ♂♂ uoslės receptorių didžiausias reakcijas (EAG) sukelia dumplūnės išskiriamos lakiosios medžiagos:  $0,62 \pm 0,08$  mV patelėms ir  $0,84 \pm 0,11$  mV patinams. Notrelės medžiagos sukelia tokias pat reakcijas patelėms  $0,66 \pm 0,08$  mV, tačiau kur kas mažesnes patinams  $0,47 \pm 0,04$  mV ( $p=0,055$ ).
4. *L. bryoniae* elgesines reakcijas į mitybinio augalo kvapą įtakoja lervos maitinimasis: ♂♂ ir ♀♀ užauginti ant karklavijo, šio augalo kvapą renkasi statistiškai patikimai dažniau nei pomidoro; ♂♂ ir ♀♀ užauginti ant pupos karklavijo kvapą renkasi taip pat dažnai kaip ir pomidoro. *L. bryoniae* patelių elgesinės reakcijos į mitybinio augalo kvapą priklauso ir nuo augalo, kuriuo maitinasi ankstyvojoje suaugėlio stadijoje.
5. Pomidoro į aplinką skleidžiamų medžiagų mišinyje yra ne mažiau kaip 16 cheminių junginių, į kurias reaguoja *L. bryoniae*. Iš jų identifikuotos dvi: metilsalicilatas ir (Z)-3-heksenolis. Metilsalicilatas (MeSa) yra patrauklus *L. bryoniae* patelėms laboratorijos sąlygomis. Lauko sąlygomis ši medžiaga atraktyvi veikdama kartu su geltonos spalvos regimuoju stimulu. MeSa *L. bryoniae* minamusėms yra kairomonas.
6. Į *L. bryoniae* suaugėlių organizmą patekęs fotosensibilizatorius hematoporfirino dimetileteris (HPde) per 5 min. sukelia letalius efektus

vabzdžiams patekus į saulės šviesą. Patelės žūsta greičiau nei patinėliai: per 30 min. patelės, per 3 paras patinėliai. HPde *L. bryoniae* ♀♀ ir ♂♂ maitinimosi neįtakoja.

7. Efektyvaus fotosensibilizatoriaus hematoporfirino dimetileterio per 48 val. bulvinės liriomyzos organizme nelieka. Jis pašalinamas arba suskyla.

## 5. LITERATŪRA

- Abdel I.**, Ismail K., 1999. Impact of glucosinolate in relation to leafminer, *Liriomyza brassicae* Riley (Diptera: Agromyzidae) infestation in crucifers. J. Pest. Sci., 72: 104-106.
- Alba P.**, Ferres N., Xamena A., Creus A., Marcos R. 1983. Differences between *Drosophila melanogaster* and its sibling species *D. simulans* in sensitivity to acridine orange treatment. Experientia, 39: 300-301.
- Andreoni A.**, Cubeddu R., 1984. Photophysical properties of photofrin II in different solvents. Chem. Phys. Lett., 108: 141–144.
- Armitage B.**, 1998. Photocleavage of nucleic acids. Chem. Rev., 98: 1171-1200.
- Barson G.**, Renn N., Richardson P.N. 1986. Controlling insects with entomophilic nematodes. GB Patent #GB2174907.
- Bartlet E.**, Blight M.M., Hick A.J., Williams I.H., 1993. The responses of the cabbage seed weevil (*Ceutorhynchus assimilis*) to the odour of oilseed rape (*Brassica napus*) and to some volatile isothiocyanates. Entomol. Exp. Appl., 68: 295-302.
- 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. Entomol. Exp. Appl., 85: 257-262.
- Ben Amor T.**, Bortolotto L., Jori G., 1998b. Porphyrins and related compounds as photoactivatable insecticides. 2. Phototoxic activity of meso-substituted porphyrins. Photochem. Photobiol., 68: 314-318.
- Ben Amor T.**, Bortolotto L., Jori G., 2000. Porphyrins and related compounds as photoactivatable insecticides. 3. Laboratory and field studies. Photochem. Photobiol., 71: 124–128.
- Ben Amor T.**, Jori G., 2000. Sunlight- activated insecticides: historical background and mechanisms of phototoxic activity. Insect Biochem. Mol. Biol., 30: 915–925.

- Ben Amor T.**, Trochin M., Bortolotto L., Verdiglione R., Jori G., 1998a. Porphyrins and related compounds as photoactivatable insecticides. 1. Phototoxic activity of hematoporphyrin toward *Ceratitis capitata* and *Bactrocera oleae*. *Photochem. Photobiol.*, 67: 206–211.
- Berenbaum M.R.**, 1995. Turnabout is fair play: Secondary roles for primary compounds. *J. Chem. Ecol.*, 7: 925-940.
- Beri S.K.**, 1974. Biology of a leaf miner *Liriomyza brassicae* (Riley) (Diptera: Agromyzidae). *J. Nat. Hist.*, 8: 143-151.
- Bethke J.A.**, Parrella M.P., 1985. Leaf puncturing, feeding and oviposition behavior of *Liriomyza trifolii*. *Entomol. Exp. Appl.*, 39: 149-154.
- Birkett M.A.**, Chamberlain, K., Guerrieri, E., Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Yasuda, T., 2003. Volatiles from whitefly-infested plants elicit a host-locating response in the parasitoid, *Encarsia formosa*. *J. Chem. Ecol.*, 29(7): 1589-1600.
- Bonnett R.**, Berenbaum M., 1989. Porphyrins as photosensitizers. In: Bock G., Harnett S. (Eds.), *Photosensitizing Compounds: their Chemistry, Biology and Clinical use*. Wiley, Chichester, pp. 40-59.
- Bosca F.**, Miranda M.A., 1998. Photosensitizing drugs containing the benzophenone chromophore. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, 43: 1-26.
- Bradfield M.**, Stamp N., 2004. Effect of nighttime temperature on tomato plant defensive chemistry. *J. Chem. Ecol.*, 30 (9): 1713-1721.
- Briviba K.**, Klotz L.O., Sies H., 1997. Toxic and signaling effects of photochemically or chemically generated singlet oxygen in biological systems. *Biol. Chem.*, 378: 1259-1265.
- Būda V.**, 2006. *Cheminė ekologija*. Vilniaus Universiteto leidykla, Vilnius. p. 128–136.
- Būda V.**, Karalius V., 1993. Chemical communication in the clearwing *Synanthedon tipuliformis* Cl. (Lepidoptera: Sesiidae) and its modulation by visual input. In: *Sensory Systems of Arthropods* (Wiese K., Gribakin F.G., Popov A.V., and Renninger G., eds.). Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin, pp. 441-447.

- Cardoza** Y.J., Alborn H.T., Tumlinson J.H., 2002. *In vivo* volatile emissions from peanut plants induced by simultaneous fungal infection and insect damage. *J. Chem. Ecol.*, 28: 161-174.
- Cardoza** Y.J., Tumlinson J.H., 2006. Compatible and incompatible *Xanthomonas* infections differentially affect herbivore-induced volatile emission by pepper plants. *J. Chem. Ecol.*, 32: 1755-1768.
- Carpenter** T.L., Heitz J.R., 1981. Light-dependent and independent toxicity of erythrosin B to *Culex pipiensquinquefasciatus*. *Environ. Entomol.*, 10: 972-976.
- Carpenter** T.L., Mundie T.G., Ross J.H., Heitz J.R., 1981. Synergistic effect of fluorescein on rose bengal-induced, light-dependent toxicity. *Environ. Entomol.*, 10: 953-957.
- Carpenter** T.L., Respicio N.C., Heitz J.R., 1984. Comparative phototoxicity of soluble and insoluble forms of xanthene dyes against *Culex mosquito* larvae. *Environ. Entomol.*, 13: 1366-1370.
- Carrier** Y., McNeil J.N., 1988. Observations on the mating behaviour of the alfalfa blotch leafminer *Agromyza frontella* (Rondani) (Diptera: Agromyzidae), and evidence of a female sex pheromone. *J. Insect Behav.*, 1: 291-301.
- Carriere** Y., McNeil J.N., 1990. Effect of age and mating status on the mating behaviour and pheromone titre in alfalfa blotch leafminer females *Agromyza frontella* (Diptera: Agromyzidae). *J. Insect Physiol.*, 36(7): 457-461.
- Carriere** Y., Millar J.G., McNeil J.N., Miller D., Underhill E.W., 1988. Identification of sex pheromone in alfalfa blotch leafminer, *Agromyza frontella* (Rondani) (Diptera: Agromyzidae). *J. Chem. Ecol.*, 14(3): 947-956
- Charlton** C.A., Allen W.W., 1981. The biology of *Liriomyza trifolii* on beans and chrysanthemums. In: Proc. IFAS – Ind. Conf. Biol. Cont. *Liriomyza* Leafminers. Ed. by D.J. Schuster, Lake Buena Vista, Florida, pp. 42-49.
- Courtney** S.P., Kibota T.T., 1989. Mother doesn't know best: Selection of hosts by ovipositing insects, pp. 161-188, in E.A. Bernays (ed.). *Insect-Plant Interactions*, Vol. II CRC Press, Boca Raton, Florida.

- Cunat P.**, Primo E., Sanz I., Sarcera N.D., March N.A., Bowers W.S., Martinez Prado A., 1990. Biocidal activity of some Spanish Mediterranean plants. *J. Agric. Food Chem.*, 38: 497-500.
- De Boer J.G.**, Dicke M., 2004. Experience with methyl salicylate affects behavioural responses of a predatory mite to blends of herbivore-induced plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.*, 110: 181-189.
- Dekebo A.**, Kashiwagi T., Tebayashi S.I., Kim, C.S., 2007. Nitrogenous ovipositional deterrents in the leaves of sweet pepper (*Capsicum annuum*) at the mature stage against the leafminer, *Liriomyza trifolii* (Burgess). *Biosci. Biotech. Biochem.*, 71: 421–426.
- Dicke M.**, Minkenberg, O.P.J.M., 1991. Role of volatile infochemicals in foraging behavior of the leafminer parasitoid *Dacnusa sibirica* Telenga. *J. Insect Behav.*, 4: 489-500.
- Dicke M.**, van Poecke R.M.P., 2002. Signaling in plant-insect interactions: signal transduction in direct and indirect plant defence. In: *Plant Signal Transduction* (Scheel D. and Wasternack C., eds.). Oxford University Press, Oxford, pp. 289-316.
- Durairaj C.**, Shobanadevi R., Suresh S., Natrajan S., 2007. A non-chemical method for the management of leafminer *Liriomyza trifolii* and whitefly *Bemisia tabaci* in brinjal. *Acta Horticulture*, 752: 527-529.
- European Pharmacopoeia**, 3rd ed., 1996. Directorate for the Quality of medicines of the council of Europe (eDQm). Strasbourg, France, p. 121–122.
- Facknath S.**, Lalljee B., 2005. Effect of soil-applied complex fertiliser on an insect-host plant relationship: *Liriomyza trifolii* on *Solanum tuberosum*. *Entomol. Exp. Appl.*, 115: 67-77.
- Facknath S.**, Wright D. J., 2007. Is host selection in leafminer adults influenced by pre-imaginal or early adult experience? *J. Appl. Entomol.*, 131(8): 505-512.
- Fagoonee I.**, Toory V., 1984. Contribution to the study of the biology and ecology of the leafminer *Liriomyza trifolii* and its control by Neem. *Insect Sci. Appl.*, 5(1): 23-30.



- Fairbrother** T.E., Essig H.W., Combs R.L., Heitz J.R., 1981. Toxic effects of rose bengal and erythrosin B on three life stages of the face fly *Musca autumnalis*. *Environ. Entomol.*, 10: 506-510.
- Farag** M.A., Pare P.W., 2002. C6-Green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emissions in tomato. *Phytochemistry*, 61: 545–554.
- Faraji** F., Janssen A., Sabelis M.W., 2000. Physiological state and associative learning determine response of predatory mite to food-related and oviposition-related volatiles. Abstract Book I, XXI – International Congress of Entomology, Brazil, August 20-26, p. 167.
- Faulde** M., Sobe D., Burghardt H., Wermter R., 2001. Hospital infestation by the cluster fly, *Pollenia rudis sensu stricto* Fabricius 1794 (Diptera: Calliphoridae), and its possible role in transmission of bacterial pathogens in Germany. *Int. J. Hyg. Environ. Heal.*, 203: 201-204.
- Finidori-Logli** V., Bagneres A.G., Clement J.L., 1996. Role of plant volatiles in the search for a host by parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). *J. Chem. Ecol.*, 22(3): 541-558
- Fondren** J.E., Heitz J.R., 1978. Light intensity as a critical parameter in the dye-sensitized photooxidation of the house fly, *Musca domestica*. *Environ. Entomol.*, 7: 891-894.
- Fondren** J.E., Norment B.R., Heitz J.R., 1979. Dye sensitized house fly toxicity produced as a function of variable light sources. *Environ. Entomol.*, 8: 432-436.
- Fraser** A.M., Mechaber W.L., Hildebrand J.G., 2003. Electroantennographic and behavioral responses of the sphinx moth *Manduca Sexta* to host plant headspace volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 29(8): 1813-1833.
- Galande** S.M., Ghorpade S.A, 2007. Use of yellow sticky trap for mass trapping of adults of serpentine leafminer, *Liriomyza trifolii* in tomato. *J. Ecobiol.*, 20(2): 189-193.
- Goff** S.A., Klee H.J., 2006. Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value? *Science*, 311: 815-819.

- Grunin** K.Ya., 1970. Family Calliphoridae. In: Key to the Insects of the European Part of the USSR, Vol. 5(2) (Bei-Bienko G.Ya., ed.). Nauka, Leningrad, pp. 607-624 (in Russian).
- Guerin** P.M., Städler E., Buser H.R., 1983. Identification of host plant attractants for the carrot fly, *Psila rosae*. J. Chem. Ecol., 9: 844-861.
- Guillet** G., Harmatha J., Waddell T.G., Philogne Bernard J.R., Arnason J.T., 2000. Synergistic insecticidal mode of action between sesquiterpene lactones and a phototoxin,  $\alpha$ -terthienyl. Photochem. Photobiol., 71: 115-122.
- GuoHui** Y., Ping Ch., DeXiang G., GuRen Z., 2008a. Influence of host leaf extractions on the olfactory memory of female adults of the vegetable leafminer, *Liriomyza sativae* (Diptera : Agromyzidae). Acta Entomologica Sinica, 51(6): 659-664.
- GuoHui** Y., Ping Ch., DeXiang G., WenQing Z., 2008. Influence of exposure to common host plant leaf volatile in pupal stage on the olfactory orientation of adults of *Liriomyza sativae* reared on different hosts. Chin. Bull. Entomol., 45(5): 775-779.
- Hawthorne** D.J., Shapiro J.A., Tingey W.M., Mutschler M.A., 1992. Trichome-borne and artificially applied acylsugars of wild tomato deter feeding and oviposition of the leafminer *Liriomyza trifolii*. Entomol. Exp. Appl., 65: 65-67.
- Heitz** J.R., 1987. Development of photoactivated compounds as pesticides. In: Heitz J.R., Downum K.R. (Eds.), Light activated pesticides. ACS, Washington DC, pp. 1-21. ACS Symposium Series 339.
- Heitz** J.R., 1997. Historical perspectives of xanthene dyes as pesticides. Photochem. Photobiol. 65S, Abstract TPM-D1.
- Hendrikse** A., Zucchi R., Lenteren J.C.Van, Woets J., 1980. *Dacnusa sibirica* Telenga and *Opius pallipes* Wesmael (Hym., Braconidae) in the control of the tomato leafminer *Liriomyza bryoniae* Kalt. IOBC/WPRS Bull., 3(3): 83-98.
- Hill** R.L., Wittenberg R., Gourlay A.H., 2001. Biology and host range of *Phytomyza vitalbae* and its establishment for the biological control of *Clematis vitalba* in New Zealand. Biocon. Sci. Technol., 11: 459-473.

**Holopainen J.K.**, 2004. Multiple functions of inducible plant volatiles. Trends in Plant Science, 9(11): 529-533.

**Ivinskis P.**, Pakalniškis S., Puplėsis R., 1985. Augalus minuojantys vabzdžiai. Vilnius.

**James D.G.**, 2005. Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects. J. Chem. Ecol., 31(3): 481-495.

**James D.G.**, Price T.S., 2004. Field testing of methyl salicylate for recruitment and retention of beneficial insects in grapes and hops. J. Chem. Ecol., 30: 1613-1628.

**Jones V.P.**, Parrella, M.P., 1986. The movement and dispersal of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) in a chrysanthemum greenhouse. Ann. Appl. Biol., 109(1): 33-39.

**Jordan M.J.**, Shaw P.E., Goodner K.L., 2001. Volatile components in aqueous essence and fresh fruit of *Cucumis melo* cv. Athena (muskmelon) by GC - MS and GC - O. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(12): 5929-33.

**Jori G.**, 1996. Photosensitizers: approaches to enhance the selectivity and efficiency of photodynamic action. J. Photochem. Photobiol., B: Biol., 36: 87-93.

**Jori G.**, Reddi E., 1991. Second generation photosensitizers for the photodynamic therapy of tumours. In: Douglas R.H., Moan J., Ronto G. (Eds.), Light in biology and medicine. Plenum Press, London, pp. 253-266.

**Jori G.**, Reddi E., 1993. The role of lipoproteins in the delivery of tumour-targeting photosensitizers. Int. J. Biochem., 25: 1369-1375.

**Jun-ping G.**, Bao-ping P., Rui-xia M., et al., 2007. Relationships between host preference of *Liriomyza huidobrensis* (Blanchard) and nutrient and chlorophyll contents in host foliage. Yingyong Shengtai Xuebao, 18 (3): 701-704.

**Kamm J.A.**, Buttery R.G., 1986. Response of the alfalfa and clover seed chalcids (Hymenoptera: Eurytomidae) to host plant components. Environ. Entomol., 15: 1244-1249.

- Kang L.**, Chen B., Wei J.N., Liu T.X., 2009. Roles of thermal adaptation and chemical ecology in *Liriomyza* distribution and control. *Annu. Rev. Entomol.*, 54: 127-145.
- Kashiwagi T.**, Horibata Y., Mekuria D.B., Tebayashi S., Kim C.S., 2005. Ovipositional deterrent in the sweet pepper, *Capsicum annuum*, at the mature stage against *Liriomyza trifolii* (Burgess). *Biosci. Biotech. Biochem.*, 69: 1831–1835.
- Kassab K.**, Ben Amor T., Jori, G., Coppelloti, O., 2002. Photosensitization of *Colpoda inflata* cysts by meso-substituted cationic porphyrins. *Photochem. Photobiol.*, 1: 560-564.
- Khan B.A.**, Mohiuddin S., Qureshi S.A., 1982. Growth inhibiting effect of acridine orange in the house fly *Musca domestica* L. *Folia Biol.*, 30: 37-43.
- Kido M.H.**, Asquith A., Vargas R.I., 1996. Nontarget insect attraction to methyl eugenol traps used in male annihilation of the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Riparian Hawaiian stream habitat. *Environ. Entomol.*, 25: 1279-1289.
- Knudsen J.T.**, Eriksson R., Gershenzon J., Stahl B., 2006. Diversity and distribution of floral scent. *Bot. Rev.*, 72: 1-120.
- Krips O.E.**, Willems P.E.L., Gols R., Posthumus M.A., Gort G., Dicke M., 2001. Comparison of cultivars of ornamental crop *Gerbera jamesonii* on production of spider mite-induced volatiles, and their attractiveness to the predator *Phytoseiulus persimilis*. *J. Chem. Ecol.*, 27(7): 1355-1372.
- Lamikanra O.**, Richard O. A., Parker A., 2002. Ultraviolet induced stress response in fresh cut cantaloupe. *Phytochemistry*, 60 (1): 27-32.
- Laubertie E.A.**, Wratten S.D., Sedcole J.R., 2006. The role of odour and visual cues in the pan-trap catching of hoverflies (Diptera: Syrphidae). *Ann. Appl. Biol.*, 148: 173-178.
- Lavialle M.**, Dumortier B., 1978. Effect photodynamique du bleu de methylene sur les larves de *Pieris brassicae*. *C. R. Acad. Sci., Ser. D*, 287: 875-878.

- Leibee** G.L., 1984. Influence of temperature on development and fecundity of *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae) on celery. *Environ. Entomol.*, 13(2): 497-501.
- Lenke** L.A., Koehler P.G., Patterson R.S., Feger M.B., Eickhoff A., 1987. Field development of photooxidative dyes as insecticides. In: Heitz J.R., Downum K.R. (Eds.), *Light activated pesticides*. ACS, Washington DC, pp. 156-167. ACS Symposium Series 339.
- Luksiene** Z., Astrauskas J., Kabbara I., 2004a. LED-based light source for photodynamic inactivation of leukemia cells *in vitro*. *SPIE*, 5610: 306-311.
- Luksiene** Z., Labeikyte D., Juodka B., Moan J., 2006. On the mechanism of radiosensitization by porphyrins. *J. Environ. Toxicol. Pathol. Oncol.*, 25(1,2): 293-306.
- Luksiene** Z., Maroziene A., Kliukiene R., Firantas H., Cenas N., 2004b. Effects of photosensitized and ionizing irradiation on the activities of antioxidant and phase II enzymes in EAT cells. *Biology*, 1: 23–25.
- Luksiene** Z., Peciulyte D., Jurkoniene S., Puras R., 2005. Inactivation of possible fungal food contaminants by photosensitization. *Food Technol. Biotechnol.*, 43: 335-341.
- Lukšienė** Ž., 2003. Photodynamic therapy: mechanism of action and ways to improve the efficiency of treatment. *Medicina*, 12: 1137-1150.
- Lumer** C., Yost S.E., 1995. The reproductive biology of *Vincetoxicum nigrum* (L.) Moench (Asclepiadaceae), a Mediterranean weed in New York State. *B. Torrey Bot. Club*, 122: 15–23.
- Maiti** N.C., Ravikanth M., Mazumdar S., Periasamy N., 1995. Fluorescence dynamics of non-covalently linked porphyrin dimer and aggregates. *J. Phys. Chem.*, 99: 17192-17197.
- Mangan** R.L., Moreno, D.S., 2001. Photoactive dye insecticide formulations: adjuvants increase toxicity to Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.*, 94: 150-156.
- Marcacci** A., 1888. Sur l'action des alcaloides dans le règne végétale et animal. *Arch. Ital. Biol.*, 9: 2-4.

- Martel** J.W., Alford A.R., Dickens J.C., 2005. Laboratory and greenhouse evaluation of a synthetic host volatile attractant for Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Agric. Forest Entomol.*, 7: 71-78.
- Mattiacci** L., Dicke M., Posthumus M.A., 1994. Induction of parasitoid attracting synomone in brussels sprouts plants by feeding of *Pieris brassicae* larvae: role of mechanical damage and herbivore elicitor. *J. Chem. Ecol.*, 20: 2229-2247.
- McNeil** J.N., Quiring, D.T., 1983. Evidence for an oviposition-detering pheromone in the alfalfa blotch leafminer *Agromyza frontella* (Rond.) (Diptera: Agromyzidae). *Environmental Entomology*, 12 (3): 990-993.
- Mekuria** D.B., Kashiwagi T., Tebayashi S.I., Kim C.S., 2005. Cucurbitane triterpenoid oviposition deterrent from *Momordica charantia* to the leafminer, *Liriomyza trifolii*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 69: 1706–1710.
- Miller** G.W., Isgler M.B., 1985. Effects of temperature on the development of *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera: Agromyzidae). *Bull. ent. Res.*, 75: 321-328.
- Miller** R.S., 1967. Pattern and process in competition. *Adv. Ecol. Res.*, 4: 1-74.
- Minkenberg** O.P.J.M., Ottenheim J.J.G.W., 1990. Effect of leaf nitrogen content of tomato plants on preference and performance of a leafmining fly. *Oecologia*, 83: 291–298.
- Minkenberg** O.P.J.M., van Lenteren J.C., 1986. The leafminers *Liriomyza bryoniae* and *L. trifolii* (Diptera: Agromyzidae), their parasites and host plants: a review. *Agric. Univ. Wageningen Papers*, 86(2): 1-50.
- Molleman** F., Drukker B., Blommers L., 1997. A trap for monitoring pear psylla predators using dispensers with the synomone methylsalicylate. *Proc. Exp. Appl. Entomol.*, 8: 177-182.
- Murphy** S.T., LaSalle J., 1999. Balancing biological control strategies in the IPM of New World invasive *Liriomyza* leafminers in field vegetable crops. *BiocontrolNews Inform.*, 20(3): 91-104.

- Nečajeva** L., Mackevičius J., Grigaliūnas J., Taluntytė L., 2003. Augalų apsauga. Vilnius, Spauda, p. 18.
- Ninkovic** V., Ahmed E., Glinwood R., Pettersson J., 2003. Effects of two types of semiochemical on population development of the bird cherry oat aphid *Rhopalosiphum padi* in a barley crop. *Agric. Forest Entomol.*, 5: 27-33.
- Oatman** E.R., Michelbacher A.E., 1958. The melon leafminer, *Liriomyza pictella* (Thomson) (Diptera: Agromyzidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 51(6): 557-66.
- Oetting** R.D., 1983. The influence of selected substrates on *Liriomyza trifolii* emergence. *J. Ga. Entomol. Soc.*, 18(1): 120-124.
- Ostrauskas** H., Pakalniškis S., Taluntytė L. 2003. The species composition of plant mining dipterous (Insecta: Diptera) of greenhouse surroundings in Lithuania. *Ekologija*, 3: 3-11.
- Ostrauskas** H., Pakalniškis S., Taluntytė L., 2005. Dipteran leafminers in the vicinity of glasshouses and plant markets in Lithuania. *OEPP/EPPO Bulletin*, 35: 73-77.
- Pakalniškis** S., Ostrauskas H., Taluntytė L., 2005. Dvisparniai vabzdžiai – šiltnamio ir daržo kultūrinių augalų minuotojai. Vilnius, p. 4–9.
- Pare** P.W., Tumlinson J.H., 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiol.*, 121: 325–331.
- Parrella** M.P., 1983. Intraspecific competition among larvae of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae): Effects on colony production. *Environ. Entomol.*, 12(5): 1412-1414.
- Parrella** M.P., 1984. Effect of temperature on oviposition, feeding and longevity of *Liriomyza trifolii* (Diptera:Agromyzidae). *Can. Ent.*, 116: 85-92.
- Parrella** M.P., 1987. Biology of *Liriomyza*. *Ann. Rev. Entomol.*, 32: 201-224.
- Parrella** M.P., Robb K.L., Bethke J.A., 1983. Influence of selected host plants on the biology of *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 76(1): 112-115.

- Pimprikar** G.D., Noe B.L., Norment B.R., Heitz J.R., 1980. Ovicidal, larvicidal and biotic effects of xanthene derivatives in the house fly *Musca domestica*. Environ. Entomol., 9: 785-788.
- Pivnick** K.A., Jarvis B.J., Slater G.P., 1994. Identification of olfactory cues used in host plant finding by diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). J. Chem. Ecol., 20: 1407-1427.
- Prieto** M., Chaco de Ulloa P., 1982. Biología y ecología de *Liriomyza trifolii* Burgess (Diptera: Agromyzidae) minador del crisantemo en el departamento del Valle del Cauca. Rev. Colombia Entomol., 6(3,4): 77-84.
- Quiring** D. T., McNeil J. N., 1984c. Intraspecific competition between different aged larvae of *Agromyza frontella* (Rondani) (Diptera: Agromyzidae): advantages of an oviposition-detering pheromone. Can. J. Zool., 62(11): 2192-2196.
- Quiring** D.T., McNeil J.N., 1984a. Influence of intraspecific larval competition and mating on the longevity and reproductive performance of females of the leaf miner *Agromyza frontella* (Rondani) (Diptera: Agromyzidae). Can. J. Zool., 62(11): 2197-2200.
- Quiring** D.T., McNeil J.N., 1984b. Exploitation and interference intraspecific larval competition in the dipteran leaf miner, *Agromyza frontella* (Rondani). Can. J. Zool., 62(3): 421-427.
- Quiring** D.T., McNeil J.N., 1984d. Intraspecific larval competition reduces efficacy of oviposition-detering pheromone in the alfalfa blotch leafminer, *Agromyza frontella* (Diptera: Agromyzidae). Environ. Entomol., 13:675-678.
- Quiring** D.T., McNeil J.N., 1987. Daily patterns of abundance and temporal distributions of feeding, mating and oviposition of the dipteran leaf miner, *Agromyza frontella*. Entomol. Exp. Appl., 45: 73-79.
- Raguso** R.A., Light D.M., 1998. Electroantennogram responses of male *Sphinx perelegans* hawkmoths to floral and "green-leaf volatiles". Entomol. Exp. Appl., 86: 287-293.
- Rebeiz** C.A., 1992. Porphyrin insecticides. J. Photochem. Photobiol., B: Biol., 18: 97-114.



- Rebeiz** C.A., Juvik J.A., Rebeiz C.C. Bouton C.E., Gut L.J., 1990a. Porphyrin insecticides. 2. 1,10-Phenanthroline, a potent porphyrin insecticide modulator. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 36: 201-207.
- Rebeiz** C.A., Juvik J.A., Rebeiz C.C., 1988. Porphyrin insecticides. 1. Concepts and phenomenology. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 30: 11-27.
- Rebeiz** C.A., Nandihalli U.B., Reddy K.N., 1991. Tetrapyrrole dependent photodynamic herbicides and chlorophyll biosynthesis modulators. In: Baker N.R., Percival M.B. (Eds.), *Herbicides*. Elsevier, Amsterdam, pp. 173-208.
- Rebeiz** C.A., Reddy K.N., Nandihalli U.B., Velu J., 1990b. Tetrapyrrole dependent photodynamic herbicides. *Photochem. Photobiol.*, 52: 1099-1117.
- Respicio** N.C., Heitz J.R., 1985. Cross resistance of erythrosine B-resistant house flies to different pesticides. *J. Econ. Entomol.*, 79: 315-317.
- Ricchelli** F., Gobbo S., Jori G., Moreno G., Salet C., 1995. Temperature-induced changes in fluorescence properties as a probe of porphyrin microenvironment in lipid membranes. I. The partition of protoporphyrin and haematoporphyrin in liposomes. *Eur. J. Biochem.*, 233: 159-164.
- Robinson** J.R., 1983. Photodynamic insecticides: a review of studies on photosensitizing dyes as insect control agents, their practical application, hazards and residues. In: Heitz J.R. (Ed.). *Residue Reviews* 88. Springer Verlag, Berlin, pp. 69-100.
- Robinson** J.R., Beatson E.P., 1985. Effect of selected antioxidants on the phototoxicity of erythrosin B toward house fly larvae. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 24: 375-383.
- Rotomskis** R., Streckyte G., Bagdonas S., 1997. Phototransformations of photosensitizers. 2. Photoproducts formed in aqueous solution of porphyrins. *J. Photochem. Photobiol., B: Biol.*, 39: 172-175.
- Ruther** J., Thieman K., 1997. Response of the pollen beetle *Meligethes aeneus* to volatiles emitted by intact plants and conspecifics. *Entomol. Exp. Appl.*, 183-188.

- Sakurai H.**, Heitz J.R., 1982. Growth inhibition and photooxidative toxicity in the house fly *Musca domestica*, caused by xanthene dyes in larval growth medium and after injection. *Environ. Entomol.*, 11: 467-470.
- Saxena P.**, Saxena S.K., 1990. Effect of treating tomatoes with leaf extract of argemone-mexicana on the development of fruit rot caused by *Aspergillus niger* in the presence of *Drosophila busckii*. *Natl. Acad. Sci. Lett.-India*, 13: 333-335.
- Schaner A.M.**, Tanico Hogan L.D., Jackson L.L., 1989. (S)-2-Pentadecyl acetate and 2-pentadecanone, components of aggregation pheromone of *Drosophila busckii*. *J. Chem. Ecol.* 15: 2577-2588.
- Scheirs J.**, Bruyn L., Verhagen R., 2003. Host nutritive quality and host plant choice in two grass miners: primary roles for primary compounds? *J. Chem. Ecol.*, 29(6): 1373-1389.
- Scheirs J.**, De Bruyn L., 2002. Integrating optimal foraging and optimal oviposition theory in plant-insect research. *Oikos*, 96: 187-191.
- Scutareanu P.**, Drukker B., Bruin J., Posthumus M.A., Sabelis M.W., 1997. Volatiles from psylla-infested pear trees and their possible involvement in attraction of anthocorid predators. *J. Chem. Ecol.*, 23: 2241-2260.
- Sehgal V.K.**, 1971. Biology and host plant relationships of an oligophagous leafminer *Phytomyza matricariae* Hendel (Diptera: Agromyzidae). *Quaest. Entomol.*, 7: 255-280.
- Shepard B.M.**, Samsudin, Braun A.R., 1998. Seasonal incidence of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and its parasitoids on vegetables in Indonesia. *Int. J. Pest Management*, 44(1): 43-47.
- Shtakelberg A.A.**, 1970. Family Drosophilidae. In: *Key to the Insects of the European Part of the USSR*, Vol. 5(2) (Bei-Bienko G.Ya., ed.). Nauka, Leningrad, pp. 390-399 (in Russian).
- Shulaev V.**, Silverman P., Raskin I., 1997. Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, 385: 718-721.

- Smith** R.M., Marshall J.A., Davey M.R., Lowe K.C., Power J.B., 1996. Comparison of volatiles and waxes in leaves of genetically engineered tomatoes. *Phytochemistry*, 43: 753-758.
- Spencer** K.A., 1965. The species-host relationship in the Agromyzidae (Diptera) as an aid to taxonomy. Proc. 12th Int. Congr. Entomol., London, 1964, 1:101-102. London: R. Entomol. Soc. London.
- Spencer** K.A., 1973. Agromyzidae (Diptera) of economic importance. Series Entomologica, 9. The Hague, W. Junk.
- Spencer** K.A., 1976. The Agromyzidae (Diptera) of Fennoscandia and Denmark. *Fauna Entomol. Scand.*, 5: 1-606.
- Spencer** K.A., 1990. Host specialization in the world Agromyzidae (Diptera). Series Entomologica, 45. Kluwer, Dordrecht (NL).
- Spikes** J.D., 1992. Quantum yield and kinetics of the photobleaching of haematoporphyrin, Photofrin II, tetra(4-sulfonatophenyl) porphine and uroporphyrin. *Photochem. Photobiol.*, 55: 797-808.
- Svaasand** L.O., Martinelli E., Gomer G.J., Profio A.E., 1990. Optical characteristics of tumours in the visible and near-infrared. *Proc. SPIE*, 1203: 2-21.
- Takabayashi** J., Dicke M., Takahashi S., Posthumus M.A., van Beek T.A., 1994. Leaf age affects composition of herbivore-induced synomones and attraction of predatory mites. *J. Chem. Ecol.*, 20: 373-386.
- Tasin** M., Bäckman A.-C., Bengtsson M., Ioriatti C., Witzgall P., 2006. Essential host plant cues in the grapevine moth. *Naturwissenschaften*, 93: 141-144.
- Tavormina** S.J., 1982. Sympatric genetic divergence in the leaf-mining insect *Liriomyza brassicae* (Diptera: Agromyzidae). *Evolution*, 36(3): 523-534.
- Visser** J.H., Ave D.A., 1978. General green leaf volatiles in the olfactory orientation of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomol. Exp. Appl.*, 24: 538-549.
- Wade** M.J., 1980. Group selection, population growth rate, and competitive ability in the flour beetles *Tribolium* spp. *Ecology*, 61: 1056-1064.

- Wasserman** H.H., Murray R.W., 1989. Singlet Oxygen. Academic Press, New York.
- Weaver** J.E., Butler L., Yoho T.P., 1976. Photodynamic action in insects: volumetric change in the hemolymph and crop contents of dye-treated, light-exposed cockroaches. *Environ. Entomol.*, 5: 840-843.
- Wei** J.N., Kang L., 2006. Electrophysiological and behavioral responses of parasitic wasp to plant volatiles induced by two leaf miner species. *Chem. Senses*, 31: 467-477.
- Wei** M., Deng X., Du J., 2005. Analysis and identification of *Liriomyza sativae*-attractants from cowpea and kidney bean volatiles. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 16: 907-910.
- Weissbecker** B., Van Loon J.J.A., Dicke M., 1999. Electroantennogram responses of a predator, *Perillus bioculatus*, and its prey, *Leptinotarsa decemlineata*, to plant volatiles. *J. Chem. Ecol.*, 25(10): 2313-2325.
- Williams** E.C., Walters K.F.A., 2000. Foliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* against leafminers on vegetables. *Biocon. Sci. Technol.*, 10: 61-70.
- Wolde-Hawariat** Y., Seyoum E., Jembere B., Hillbur Y., Hansson B.S., 2005. Behavioral and electrophysiological response of sorghum chafer, *Pachnoda interrupta*, to natural and synthetic plant odors. 21<sup>st</sup> Int. Soc. Chem. Ecol. Ann. Meeting. Book of Abstracts, Washington, USA, p. 140.
- Zehnder** G.W., Trumble J.T., 1984. Spatial and diel activity of *Liriomyza* species (Diptera: Agromyzidae) in fresh market tomatoes. *Environ. Ent.*, 13: 1411-1416.
- Zhao** Y.X., Kang L., 2002. Role of plant volatiles in host plant location of the leafminer, *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). *Physiol. Entomol.*, 27: 103-111.
- Zhao** Y.X., Kang L., 2003. Olfactory responses of the leafminer *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) to the odours of host and non-host plants. *J. Appl. Ent.*, 127: 80-84.

**Zoebisch** T.G., Schuster D.J., Gilreath J.P., 1984. *Liriomyza trifolii*: oviposition and development in foliage of tomato and common weed hosts. Fla. Entomol., 67(2): 250-254.

## 6. MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS

1. Lukšienė Ž., Būda V., **Radžiutė S.** 2005. Effects of visible-light-activated hematoporphyrin dimethyl ether on the survival of leafminer *Liriomyza bryoniae*. *Ekologija* 3: 17-21.
2. Būda V., Lukšienė Ž., **Radžiutė S.**, Kurilčik N., Juršėnas S. 2006. Search for photoinsecticides: effect of hematoporphyrin dimethyl ether on leafmining pest *Liriomyza bryoniae* (Diptera: Agromyzidae). *Agronomy research* 4 (special issue): 141-146.
3. Lukšienė Ž., Kurilčik N., Juršėnas S., **Radžiutė S.**, Būda V. 2007. Towards environmentally and human friendly insect pest control technologies: Photosensitization of leafminer flies *Liriomyza bryoniae*. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology* 89(1): 15-21.
4. Būda V., **Radžiutė S.** 2008. Kairomone attractant for the leafmining fly, *Liriomyza bryoniae* (Diptera, Agromyzidae). *Zeitschrift für Naturforschung* 63c: 615-618.
5. Būda V., **Radžiutė S.**, Lutovinovas E. 2009. Attractant for Vinegar Fly, *Drosophila busckii*, and Cluster Fly, *Pollenia rudis* (Diptera: Drosophilidae et Calliphoridae). *Zeitschrift für Naturforschung* 64c: 267-270.

## KONFERENCIJŲ TEZĖS

1. **Radžiutė S.**, Būda V. 2006. Ольфакторная (ЭФГ и поведенческая) реакция полифага *Liriomyza bryoniae* (Diptera, Agromyzidae) на летучие вещества кормовых растений. 'Химическая коммуникация животных. Фундаментальные проблемы', *Материалы конференции. 29 Ноября - 1 Декабря, Москва, Россия, с. 17.*
2. Būda V., **Radžiutė S.** 2008. Reaction of leafminer *Liriomyza bryoniae* to plant volatiles. *The 25<sup>th</sup> ISCE Anniversary Meeting Overview. 17-22 August, Pennsylvania, USA, p. 155.*

3. **Radžiutė S.**, Apšegaitė V., Butkienė R., Būda V. 2009. GC-EAD responses of tomato leafminer *Liriomyza bryoniae* (Diptera, Agromyzidae) females to tomato headspace volatiles. *The 25<sup>th</sup> ISCE Annual Meeting. Meeting Overview, 23-27 August, Neuchatel, Switzerland*, p. 264.

## 1 PRIEDAS

### *Liriomyza bryoniae* mitybinių augalų skleidžiamos cheminės medžiagos

Augalas	Cheminės medžiagos	Literaūra
<i>Solanum tuberosum</i> (bulvė)	(Z) – 3 – heksenilacetatas (E) – 2 – heksenalis (Z) – 3 – heksen – 1 – olis (E) – 2 – heksen – 1 – olis	Visser, Ave, 1978
	(R) – (+) – Limonenas dekanalis nonanalis linalolis 4,8 – dimetil – 1,3(E),7 – nonatrienas 2 – feniletanolis β – kariofilenas β – selinenas	Weissbecker et al., 1999
	metilsalicilatas	Martel et al., 2005
<i>Phaseolus vulgaris</i> (pupelė)	2 – butenalis kamfenas dodecenas 1 – pentanolis <i>n</i> – tridekanas 4 – hidroksi – metilas 2 – pentanonas Propanal 2 – metiloksimas 3 – oktanolis 1 – okten – 3 olis (tik <i>L. trifolii</i> minuotam lape) 2,4 – heptadienalis 4,8 – dimetiltetradekanas 5 – okta – 1,5 – dien – 3 – olis	Finidori-Logli et al., 1996
	(Z) – 3 – heksen – 1 – olis (E) – 3 – heksen – 1 – olis	Zhao, Kang, 2002



	<p>limonenas  3 – metil – 1 – butanolis  (E) – 2 – heksenalis  (E) – ocimenas  3 – oktanonas  oktanalis  4,8 – dimetil – 1,3,7 –  nonatrienas  (Z) – 3 – heksenilacetatas  6 – metil – 5 – hepten – 2 –  onas  (Z) – 3 – heksenil <i>iso</i> –  butiratas  nonanalis  (Z) – 3 – heksenil <i>n</i> –  butiratas  (Z) – 3 – heksenil 2 –  metilbutiratas  (Z) – 3 – heksenil 3 –  metilbutiratas  dekanalis  linalolis  benzaldehydas  acetofenonas  <math>\alpha</math> - humulenenas  (E,E) – <math>\alpha</math> – farnezenas  metilsalicilatas  geranilacetonas</p>	Birkett et al., 2003
<p><i>Lycopersicon  esculentum</i>  (pomidoras)</p>	<p>eugenolis  limonenas  <math>\alpha</math> – felandrenas  <math>\beta</math> – felandrenas  <math>\alpha</math>-terpinolenas  heks – 2 – enalis  kariofilenas  2 – karenas  3,7-dimetil-1,3,6-oktatrienas  tridekan-2-onas (et.aliejus)  undekan-2-onas(et.aliejus)  dodecan-2onas (<i>L.hirsutum</i>)  (et.aliejus)</p>	Smith et al., 1996

	$\alpha$ – terpinenas metilsalicilatas (E) – $\beta$ – ocimenas benzilalkoholis dekanalis nonanalis fenilacetaldehidas geranilacetonas $\beta$ – mircenas 1,8 – cineolas (Z) – 3 - heksenilacetatas (Z) – 3 - heksenilpropionatas linalolis (E) - nerolidolis (Z) – 3 – heksenilbenzoatas indolas	Fraser et al., 2003
	(Z) – 3 - heksenalis (Z) – 3 – hexen – 1 – olis $\alpha$ – humulenas $\alpha$ - pinenas $\delta$ – elemenas (E,E) - 4,8,12 – trimetil - 1,3,7,11 -tridekatetraenas	Farag et al., 2002
	rutinas chlorogeninė rūgštis	Bradfield, Stamp, 2004
<i>Capsicum annuum</i> (paprika)	metilsalicilatas (E) – $\beta$ – ocimenas benzilalkoholis dekanalis nonanalis fenilacetaldehidas geranilacetonas (Z) – 3 - heksenilacetatas (Z) – 3 - heksenilpropionatas linalolis (E) - nerolidolis (Z) – 3 – heksenilbenzoatas indolas	Fraser et al., 2003
<i>Gerbera sp.</i> (gerbera)	nonanalis dekanalis heksanalis 1 – butanolis 1 – heksanolis 2 – metil – 1 – propanolis	Krips et al., 2001

	(Z) – 3 – heksen – 1 – olis (E) – 2 – heksen – 1 – olis sabinenas mircenas limonenas 4,8 – dimetil – 1,3(E),7 – nonatrienas 4,8 – dimetil – 1,3(Z),7 – nonatrienas linalolis cis – $\alpha$ – bergamotenas trans – $\alpha$ – bergamotenas (E) – $\beta$ – ocimenas $\beta$ – kariofilenas (E,E) – $\alpha$ – farnezenas	
<i>Brassica napus</i>	3 – butenil IC 4 – pentenil IC	Bartlet et al., 1993
	alilizotiocianatas	Pivnick et al., 1994
	izotiocianatai metilsalicilatas	Ruther, Thieman, 1997
	Fenilacetonitrilas 4 – pentennitrilas 5 – heksennitrilas (Z) – 3 – heksen – 1 – olis	Bartlet et al., 1997
<i>Daucus carota</i> (morka)	trans – metilzoeugenolis trans – azaronas heksanalis (E) – 2 – heksenalis heptanalis linalolis kariofilenas	Guerin et al., 1983
<i>Medicago sp.</i> (liucerna)	(Z) – 3 – heksenilacetatas (Z) – 3 – heksen – 1 – olis 1 – penten – 3 – olis (E) – 2 – heksenalis Oktan – 3 – 1 – (E) – $\beta$ – farnezenas 1 – okten – 3 – olis $\alpha$ – kopenas $\gamma$ – murolenas (E) – 2 – heksenalis	Kamm, Buttery, 1986

<i>Cucumis melo</i> (melionas)	2 - metil-3 - buten - 2 – olis 2,3 - butandiolis metil 3 - fenilpropionatas etil 3 - fenilpropionatas etil 3 - (metiltio) - propionatas terpinilacetatas geranilacetatas	Jordan et al., 2001
	$\beta$ -jononas sabinenas 1,8 - cineolis linalolis $\alpha$ - farnezenas	Lamikanra et al., 2002
<i>Cucumis sativus</i> (agurkas)	pentanalis 2-pentanalis linalolis dekanalis 2-heksenalis heksanalis 1-penten-3-olis 1 - heksanolis (Z) – 3 – heksen – 1 - olis (E) – 3 – heksen – 1 - olis 1 – penten – 3 - onas 1 - butanolis 1 - pentanolis 3-oktanonas nonanalis benzilalkoholis limonenas butilacetatas heksilacetatas (Z)-3-heksen-1-il acetatas $\beta$ -ocimenas $\alpha$ -farnezenas	Takabayashi et al., 1994

## 2 PRIEDAS

### *Liriomyza bryoniae* tinkamo augalo maitinimuisi ir kiaušinėlių dėjimui pasirinkimas

**1 lentelė.** *Liriomyza bryoniae* padarytų pažeidimų ir kiaušinėlių skaičius ant pomidoro ir karklavijo augalų lapų.

Pažeidimų skaičius (vnt.)		Kiaušinėlių skaičius (vnt.)	
Pomidoras	Karklavijas	Pomidoras	Karklavijas
328	2898	6	9
324	2904	13	13
488	862	0	1
690	1279	2	6
1955	2401	14	4
1157	2234	16	1
<b>Vidurkis ± Std. paklaida:</b> 824 ± 259,3	2096 ± 346,3	9 ± 2,7	6 ± 1,9

**2 lentelė.** *Liriomyza bryoniae* padarytų pažeidimų ir kiaušinėlių skaičius ant plaukuotosios dumplūnės ir karklavijo augalų lapų.

Pažeidimų skaičius (vnt.)		Kiaušinėlių skaičius (vnt.)	
Plaukuotoji dumplūnė	Karklavijas	Plaukuotoji dumplūnė	Karklavijas
449	710	5	0
578	1291	5	7
613	648	27	7
470	700	16	1
325	831	11	0
533	812	20	4
336	4659	0	5
198	1642	13	8
551	1015	21	8
1162	1580	54	4
744	974	36	11
477	1823	39	2
<b>Vidurkis± Std. paklaida:</b> 536,33 ± 70,56	1390,42 ± 319	20,58 ± 4,62	4,8 ± 1,02

**3 lentelė.** *Liriomyza bryoniae* padarytų pažeidimų ir kiaušinėlių skaičius ant baltažiedės notrelės ir karklavijo augalų lapų.

Pažeidimų skaičius (vnt.)		Kiaušinėlių skaičius (vnt.)	
Baltažiedė notrelė	Karklavijas	Baltažiedė notrelė	Karklavijas
28	72	4	11
81	2580	0	20
375	2350	0	6
218	2504	0	5
666	644	6	3
177	1031	2	5
187	501	6	12
77	204	0	5
220	1534	0	10
68	3033	25	32
1016	1449	8	25
81	1014	1	0
997	2455	25	32
377	1997	6	12
247	278	0	5
94	2186	0	10
254	1804	8	25
791	710	8	4
<b>Vidurkis± Std. paklaida:</b> 330,78 ± 75,19	1463,67 ± 221,20	5,3 ± 1,9	12,3 ± 2,4

**4 lentelė.** *Liriomyza bryoniae* padarytų pažeidimų ir kiaušinėlių skaičius ant baltosios balandos ir karklavijo augalų lapų.

Pažeidimų skaičius (vnt.)		Kiaušinėlių skaičius (vnt.)	
Baltoji balanda	Karklavijas	Baltoji balanda	Karklavijas
191	2354	20	34
154	1536	14	13
47	1641	3	17
3	721	0	11
58	1551	5	17
75	781	0	4
42	2089	1	22
53	1995	4	12
159	1465	11	14

43	1654	10	4
501	716	7	8
560	1326	19	21
<b>Vidurkis± Std. paklaida:</b>			
157 ± 53	1486 ± 154	7,8 ± 2	14,8 ± 2,4