

VILNIAUS UNIVERSITETAS  
VALSTYBINIS MOKSLINIŲ TYRIMŲ INSTITUTAS  
GAMTOS TYRIMŲ CENTRAS

Dominykas  
ALEKNAVIČIUS

*Rhagoletis batava* Hering (Diptera,  
Tephritidae) chemoekologijos bruožai

**DAKTARO DISERTACIJA**

Gamtos mokslai,  
Ekologija ir aplinkotyra N 012

---

VILNIUS 2019

Disertacija rengta 2015-2019 metais Gamtos tyrimų centre.

**Mokslinis vadovas:**

Lietuvos mokslų akademijos tikrasis narys, **prof. habil. dr. Vincas Būda** (Gamtos tyrimų centras, gamtos mokslai, ekologija ir aplinkotyra – N 012)

## TURINYS

ĮVADAS.....	6
1. LITERATŪROS APŽVALGA .....	12
1.1. <i>Rhagoletis</i> gyvenimo ciklas.....	12
1.2. <i>Rhagoletis</i> cheminė ekologija .....	20
1.2.1. <i>Rhagoletis</i> genties vabzdžių vidurūšinės sąveikos .....	20
1.2.2. Sąveika su augalu-šeimininku .....	22
1.3. <i>Rhagoletis</i> gaudymas gaudyklėmis .....	26
1.4. Dygliuotasis šaltalankis ( <i>Hippophae rhamnoides</i> L.) .....	27
1.5. Su vaisiais susiję mikroorganizmai .....	27
2. TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODIKA.....	29
3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS .....	42
3.1. <i>Rhagoletis batava</i> elgsenos ypatumai .....	42
3.1.1. <i>Rhagoletis batava</i> sugavimai skirtingų spalvų gaudyklėmis.....	42
3.1.2. <i>Rhagoletis batava</i> sugavimai skirtingų konstrukcijų gaudyklėmis .....	43
3.1.3. <i>Rhagoletis batava</i> sugavimai skirtingų lyčių dygliuotojo šaltalankio krūmuose.....	44
3.1.4. Sezoninė skraidymo dinamika gamtoje.....	45
3.1.5. Aktyvi <i>Rhagoletis batava</i> skraidymo pradžios temperatūra.....	46
3.1.6. Suaugėlių ritimasis .....	47
3.2. <i>Rhagoletis batava</i> sąveika su augalo-šeimininko uogomis .....	48
3.3. <i>Rhagoletis batava</i> sąveika su mielėmis.....	52
3.4. <i>Rhagoletis batava</i> feromonas.....	59
3.4.1. Poravimosi gamtoje dienos ritmas.....	59
3.4.2. Išskyrimas ir olfaktorinis aktyvumas.....	60
3.4.3. <i>Rhagoletis batava</i> uoslės jautrumo (-)- $\delta$ -heptalaktonui lyginamoji analizė.....	62
3.4.4. Elgesinis testas laboratorinėmis sąlygomis .....	62
3.4.5. Elgesinis testas lauko sąlygomis .....	63

3.5. Tyrimo rezultatų apibendrinimas .....	66
IŠVADOS.....	68
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	69
MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS .....	86

## Terminai ir santrumpos

DC – dujų chromatografas

EAG – elektroantenograma

Deterantai – cheminės medžiagos, kurios įprastose organizmų maitinimosi ar kiaušinėlių dėjimo vietose slopina šias funkcijas.

EAD – elektroantogramų detekcija

LJD – liepsnos jonizacinis detektorius (angl. *Flame Ionization Detector*)

LOJ – lakusis organinis junginys

MS – masių spektrometrija

SI – sulaikymo indeksas

## ĮVADAS

### Darbo aktualumas

*Rhagoletis* gentis priklauso Tephritidae (margasparnių) šeimai, Diptera (dvisparnių) būriui. Tephritidae šeimą sudaro apie 500 genčių, kuriose žinoma apie 4000 rūšių. Iš jų *Rhagoletis* genčiai priskiriamos 65 rūšys (White, Elson-Harris, 1992). Dauguma Tephritidae, tame tarpe ir *Rhagoletis*, yra vaisių ir daržovių kenkėjai, paplitę holarktikoje ir neotropikuose (Boller, Prokopy, 1976). Jų lervos dažniausiai yra stenofagės, mintančios kelių giminingų augalų rūšių nokstančių vaisių minkštosiomis dalimis (e.g. Mohamadzade Namin, Rasouljan, 2009). Lervų pažeisti vaisiai praranda savo formą, spalvą, maistinę ir ekonominę vertę. Tai, jog *Rhagoletis* rūšys yra stenofagai, sąlygojo šių vabzdžių suaugėlių kiaušinėlių dėjimo bei lervų mitybines adaptacijas. Jie pradėjo vystytis ne tik vietiniuose, ekonominės reikšmės neturinčiuose augaluose-šeimininkuose, bet svetimkraščiuose – atvežtiniuose augaluose. Ypač tokiuose, kurie auginami dideliais plotais ir tankiu bei yra giminingi vietiniams augalams-šeimininkams (Boller, Prokopy, 1976). Pavyzdžiui, obuolinės margasparnės *Rhagoletis pomonella* Walsh lervos įprastai vystėsi gudobelių *Crataegus* sp. uogose, bet adaptavosi vystytis ir obelių *Malus pumila* Mill vaisuose (e.g., Feder et al., 1993). Vyšninės musės *Rhagoletis cerasi* L. lervos gali vystytis mažiausiai šešiose vyšnių bei trešnių *Prunus* sp. ir sausmedžių *Lonicera* sp. rūšių vaisiuose, kurių ekonominė vertė nėra vienoda. Tarp *R. cerasi* pažeidžiamų kultūriniai augalai: paprastoji vyšnia *Prunus cerasus* L., trešnė *Prunus avium* L., totorinis sausmedis *Lonicera tatarica* L. (Daniel, Grunder, 2012).

Visame pasaulyje aštuonios *Rhagoletis* rūšys (*R. cerasi*, *R. cingulata* Loew, *R. indifferens* Curran, *R. fausta* Osten Sacken, *R. pomonella*, *R. mendax* Curran, *R. completa* Cresson, *R. suavis* Loew) yra laikomos kenkėjais, sukeliančiais ypač didelius ekonominius nuostolius, todėl jų gausumą siekiama efektyviai reguliuoti. Pavyzdžiui, vyšnių ir trešnių uogų rinkoje toleruojama labai maža, vos 2 %, *R. cerasi* pažeistų uogų dalis. Viršijus šią ribą, uogos realizuojamos nebe kaip desertinės, bet už daug mažesnę kainą, kaip žaliava kitų maisto produktų gamybai (Daniel, Grunder, 2012).

Lietuvoje aptinkamos keturios *Rhagoletis* genčiai priklausančios rūšys: jau minėta *R. cerasi*; *R. alternata* Fall., mintanti erškėčio (*Rosa* sp.), *R. meigenii* Loew, mintanti paprastojo raugerškio (*Berberis vulgaris* L.) ir *R. batava* (Hering, 1958), mintanti dygliuotuojojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides* L.) uogomis (Pakalniškis et al., 2000; Stalažs 2014a; Lutovinovas, 2015). Pastarasis augalas ypač vertinamas dėl nederlingo dirvožemio toleravimo ir

didelės uogų paklausos maisto, medicinos ir kosmetikos pramonėje (Li, Schroeder, 1996; Small *et al.*, 2002; Ruan *et al.*, 2007; Bal *et al.*, 2011; Kaur *et al.*, 2017).

Nors *R. batava* nepatenka į globaliai didžiausius ekonominius nuostolius darančių *Rhagoletis* rūšių sąrašą, bet yra potenciali kandidatė jį užimti. Ji aprašyta Europoje (Hering, 1958), bet manoma, jog Sibire, Rusijoje, susiformavo šaltalankinės musės porūšis *R. batava obscuriosa* Kol. (Kolomic, 1970; Stalažs, Balalaikins, 2017), kuris pažeidžia ypač didelius šaltalankio uogų (1 pav.) kiekius ir gali sunaikinti iki 87-100 % viso uogų derliaus (Shalkevich *et al.*, 2015; Shamanskaya, 2015). Pastebėtina, kad netgi esant ir mažesniems pažeidimams, tokios uogos užteršia likusį derlių. Per pastarąjį dešimtmetį *R. batava* pasiekė Pabaltijo šalis (Stalažs, 2014a; b) ir toliau plinta į vakarų ir pietų Europą (Stalažs, Balalaikins, 2017).



1 pav. *Rhagoletis batava* lervų pažeistos (tamsios) ir nepažeistos (oranžinės) dygliuotojo šaltalankio uogos.

Siekiant pagerinti *R. batava* monitoringo ir kontrolės galimybes, būtina geriau pažinti šio vabzdžio biologiją ir ekologiją, įskaitant ir jo sąveikas cheminiais junginiais. Ieškotini junginiai, kurie natūraliai gamtoje gali keisti šių vabzdžių elgseną ir veikti kaip informacijos nešėjai tiek vidurūšiniame, tiek ir tarprūšiniame lygmenyse. Tokie junginiai yra feromonai ir

alelocheminės medžiagos, atsakingos už sėkmingą poravimosi partnerio, maisto šaltinio ar palikuonių vystymosi terpės suradimą. Elgseną veikiančių cheminių junginių panaudojimas galėtų įnešti svarų indėlį kenkėjo kontrolei.

**Darbo tikslas** – ištirti šaltalankinės musės, *Rhagoletis batava* Hering (Diptera), vidurūšines ir tarprūšines sąveikas lakiisiais organiniais junginiais.

**Darbo uždaviniai:**

1. Nustatyti gaudyklės spalvos, tipo ir augalo-šeimininko – dygliuotojo šaltalankio, *Hippophae rhamnoides*, augalų lyties įtaką *R. batava* sugavimams plantacijoje.
2. Nustatyti daugiametę *R. batava* suaugėlių skraidymo sezoninę dinamiką, leidžiančią prognozuoti kenkėjo pasirodymo plantacijose pradžią.
3. Nustatyti dygliuotojo šaltalankio uogų lakiuosius organinius junginius, *R. batava* suaugėliams sukeliančius olfaktorines reakcijas.
4. Nustatyti *R. batava* olfaktoriškai aktyvius lakiuosius organinius junginius, kuriuos į aplinką išskiria mielės, susijusios su dygliuotojo šaltalankio uogomis: *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima* ir *Pichia kudriavzevii* bei įvertinti jų sintetinių analogų poveikį suaugėlių elgsenai.
5. Nustatyti *R. batava* suaugėlių poravimosi dienos ritmą.
6. Nustatyti *R. batava* suaugėlių produkuojamą vidurūšinėms sąveikoms svarbų(-ius) lakų organinį junginį(-us) – feromoną.



## **Darbo mokslinis naujumas**

- ✓ Nustatyta sezoninė *R. batava* suaugėlių skraidymo dinamika Lietuvoje.
- ✓ Nustatytas efektyviausiai *R. batava* priviliojantis spalvinis regimasis stimulus.
- ✓ Įvertintas *R. batava* suaugėlių skraidymo pradžios prognozavimo būdas pagal aktyvių vidutinių dienos temperatūrų sumą Lietuvos klimatinėmis sąlygomis.
- ✓ Aptikta Lietuvos faunai nauja vabzdžių rūšis – parazitoidas *Phygadeuon wiesmanni* Sachtleben (Hymenoptera).
- ✓ Pirmą kartą dygliuotojo šaltalankio uogose nustatyta 20 junginių, kurie šaltalankinei musei, *R. batava*, yra olfaktoriškai aktyvūs.
- ✓ Pirmą kartą parodyta, kad sąveikose tarp *R. batava* musių ir jų mitybinio augalo – dygliuotojo šaltalankio – dalyvauja dar viena organizmų grupė – ant uogų tarpstančios mielės.
- ✓ Nustatyta, jog ant dygliuotojo šaltalankio uogų tarpstančių mielių emisijose yra 10 lakiųjų organinių junginių, kuriuos užuodžia *R. batava* suaugėliai ir šie junginiai sukelia elgesines reakcijas.
- ✓ Pirmą kartą aptiktas *R. batava* suaugėlių elgesinių reakcijų į olfaktorinius stimulus lytinis dimorfizmas.
- ✓ Pirmą kartą *R. batava* rūšiai ir visai *Rhagoletis* genčiai nustatytas agregacinis feromonas, kuris bus naudojamas *R. batava* feromoninėse gaudyklėse.

## **Mokslinė ir praktinė darbo reikšmė**

Darbo rezultatai papildė žinias apie *Rhagoletis* genties dvisparnių sąveikas su augalo-šeimininko vaisiais ir su jais susijusiomis mielėmis, bei vidurūšines sąveikas lakiaisiais organiniais junginiais. Gauti rezultatai gali būti taikomi:

- ✓ vabzdžių uoslės fiziologiniams tyrimams atlikti;
- ✓ *Rhagoletis* genties infocheminių medžiagų paieškai;
- ✓ multitrofinių sąveikų lakiaisiais organiniais junginiais tyrimų plėtrai;
- ✓ kenkėjo pasirodymo šaltalankių plantacijose pradžios nustatymui;
- ✓ kuriant ir optimizuojant *Rhagoletis batava* monitoringo ir aplinkai draugiškos kontrolės priemones.

## **Ginamieji darbo teiginiai**

- ✓ Šaltalankio plantacijose *R. batava* gaudymui efektyviausios yra geltonos spalvos gaudyklės, kabinamos moteriškos lyties krūmuose.
- ✓ *Rhagoletis batava* užuodžia ne mažiau nei 20 lakiųjų organinių junginių esančių šaltalankių uogose.
- ✓ *Rhagoletis batava* užuodžia ne mažiau nei 10 lakiųjų organinių junginių, kuriuos išskiria mielės susijusios su šaltalankio uogomis.
- ✓ *Rhagoletis batava* agregacinis feromonas yra (-)- $\delta$ -heptalaktonas.

## **Darbo aprobavimas ir publikacijos**

Disertacijos medžiaga pristatyta tarptautinėje konferencijoje „Feromonai ir kitos semiocheminės medžiagos integruotoje produkcijoje“ (Jeruzalė, Izraelis, 2015), „33, 34 ir 35 kasmetinėse tarptautinėse Cheminės ekologijos draugijos konferencijose“ (Kijotas, Japonija, 2017; Budapeštas, Vengrija, 2018; Atlanta, JAV, 2019), „Jaunieji mokslininkai - žemės ūkio pažangai“ (Vilnius, 2017). Tyrimų rezultatai paskelbti aštuoniose publikacijose: dviejuose moksliniuose straipsniuose ir šešiose konferencijų tezėse.

## **Disertacijos struktūra**

Disertaciją sudaro šie skyriai: Įvadas, Literatūros apžvalga, Tyrimų metodai, Rezultatai ir jų aptarimas, Išvados, 175 literatūros šaltinių sąrašas, autoriaus mokslinių publikacijų sąrašas. Disertacijos apimtis – 87 puslapiai, 3 lentelės ir 33 paveikslai. Disertacija parašyta lietuvių kalba, o disertacijos santrauka – anglų kalba.

## **Padėkos**

Nuoširdžiai dėkoju mokslinio darbo vadovui Lietuvos mokslų akademijos tikrajam nariui, prof. habil. dr. Vincui Būdai už visokeriopą pagalbą ir patarimus tyrimų ir disertacijos ruošimo metu. Taip pat dėkoju Gamtos tyrimų centro Cheminės ekologijos ir elgsenos bei Genetikos laboratorijų darbuotojams už palaikymą, supratimą ir pagalbą. Išskirtinis ačiū dr. Violetai Apšegaitei taikant chromatografinius metodus. Ačiū dr. Eduardui Budriui, prof. dr. Kees Zwakhals (Nyderlandai) ir Martin Schwarz (Austrija) už ichneumonidų identifikavimą; dr. Seyedeh Noushin Emami (Švedija) už dalies duomenų statistinės analizės atlikimą; dr. Stefan Schulz (Vokietija) už  $\delta$ -heptalaktono sintezę; Povilui Šukiui už leidimą naudotis jo šaltalankių plantacija lauko tyrimų metu; Žilvinui Pūčiui už šaltalankinės musės nuotraukas. Didelis ačiū visiems draugams ir šeimos nariams, ypač žmonai Kristinai Aleknavičienei, už palaikymą ir domėjimąsi mano atliekamu darbu.

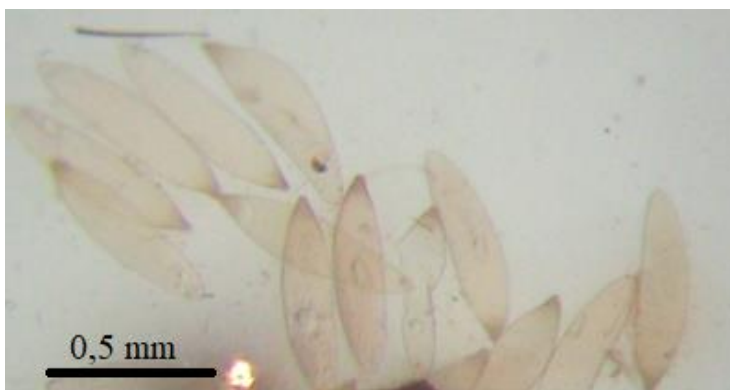
Dėkoju Gamtos tyrimų centro Atviros prieigos centrui už galimybę naudotis jame esančia aparatūra. Taip pat dėkoju Lietuvos Valstybiniam Mokslo ir studijų fondui už suteiktą stipendiją, EU struktūriniams fondams už dalinį tyrimų finansavimą (Nr. 09.3.3-LMT-K-712-01-0099). Vilniaus Universitetui ir Gamtos tyrimų centrui už suteiktą galimybę studijuoti doktorantūroje.

# 1. LITERATŪROS APŽVALGA

## 1.1. *Rhagoletis* gyvenimo ciklas

*Rhagoletis* musėms būdingas pilnos metamorfozės vabzdžių vystymosi ciklas, kuriame praeinamos kiaušinėlio, lervos, netikro kokono – puparijaus – ir suaugėlio vystymosi stadijos.

**Kiaušinėlio stadija.** *Rhagoletis* musių kiaušinėliai (2 pav.) vystosi nokstančių vaisių minkštyme (e.g., Frias-Lasserre *et al.*, 1984; Prokopy, Papaj, 1989). Jų išgyvenamumas vaisiuje gali siekti iki 100 % (Boller, Prokopy, 1976). Jie yra pailgos formos 0,6-0,8 mm ilgio (Yee *et al.*, 2011; Zeynalov, 2018). *Rhagoletis batava* kiaušinėliai taip pat pailgi. Jų ilgis apie 0,6-0,7 mm (Zeynalov, 2018). Kiaušinėlio inkubacijos trukmė tarp rūšių gali skirtis, bet labiausiai ji priklauso nuo aplinkos temperatūros ir varijuoja nuo 2 iki 10 parų (Prokopy, Websyer, 1978; Feder *et al.*, 1993; Henneman, Papaj, 1999; Papaj, 2005; Daniel, Grunder, 2012).



2 pav. *Rhagoletis batava* kiaušinėliai.

**Lervos stadija, virtimas puparijumi.** Išsiritusios lervos pradeda maitintis vaisiaus minkštimu (Christenson, Foote, 1960). Jos graužiasi į vaisiaus vidurį siekdamos tarpti toliau nuo paviršiaus ir taip apsaugoti nuo parazitoidų bei plėšrūnų (Bush, 1992). *Rhagoletis cerasi* graužiasi arčiau vyšnios/trešnės kauliuko. Parazitoidai į *R. cerasi* lervas kiaušinėlius padeda daug dažniau, kada jos vystosi ne vyšniose, o mažesnėse augalų-šeimininkų uogose (Daniel, Grunder, 2012). Dažniausiai lervos vystosi tik tame vaisiuje, į kurį buvo sudėti kiaušinėliai, bet žinoma ir išimčių. Pavyzdžiui, besivystančios *R. pomonella* lervos gali pereiti iš vienos mėlynės uogos į gretimą (Boller, Prokopy, 1976).

Lervų išgyvenamumas priklauso nuo jų rūšies, bei įvairių biotinių ir abiotinių aplinkos sąlygų. Jis varijuoja nuo 100 % mirtingumo (Bush, 1992) iki 100 % išgyvenamumo (Boller, Prokopy, 1976). Nuo aplinkos veiksnių priklauso ir lervų vystymosi trukmė. Lervos vystosi greičiau jeigu vaisius yra minkštas, jame daugiau cukrų, aukštesnis pH, optimali aplinkos temperatūra (Boller, Prokopy, 1976; Bush, 1992; Kasana, AliNiasee, 1994; Daniel, Grunder, 2012). Natūraliomis sąlygomis (gamtoje) ši vystymosi stadija trunka nuo 2 iki 4 savaitių (Boller, Prokopy, 1976; Bush, 1992; Daniel, Grunder, 2012).

Rytais, kuomet oras pakankamai įšyla, subrendusios trečio ūgio lervos prasigrauzia pro vaisiaus žievelę, krenta ant žemės, rausiasi gilyn ir po augalų šeimininku pereina į ramybės stadiją, netikrą kokoną, – puparijų (Christenson, Foote, 1960; Boller, Prokopy, 1976; Daniel, Grunder, 2012). Lervos rausimasis gali trukti iki 24 valandų, lerva gali įsirausti iki 10 cm gylio (Boller, Prokopy, 1976; Cossentine, *et al.*, 2010). Įprastai šis gylis priklauso nuo dirvožemio savybių, pavyzdžiui, nuo jo granulometrinės sudėties (kietumo). Į purų dirvožemį raustis lengviau, todėl įsirausimo gylis yra didesnis, kietuose dirvožemiuose – mažesnis. Taip pat įsirausimo gylis gali priklausyti ir nuo lervos dydžio. Tos pačios rūšies didesnės lervos rausiasi giliau nei mažesnės. Manoma, jog didesniame gylyje diapauzės metu plėšrūnų išvengiama lengviau ir ši adaptacija susijusi su puparijų išgyvenamumu (Davis *et al.*, 2015).

Lervos virtimo puparijumi trukmė tarp rūšių gali skirtis. Vienos užtrunka iki 3 valandų nuo patekimo į dirvą (Daniel, Grunder, 2012), kitos iki 24 valandų (Christenson, Foote, 1960), dar kitos 3-5 parų (Neilson, 1962; Teixeira, Polavarapu, 2002). Besikokonuojančios lervos dažnai žūsta. Jos gali išdžiūti arba tapti plėšrūnų, dažniausiai skruzdėlių, grobiu (Boller, Prokopy, 1976).

*Rhagoletis batava* lervinė stadija trunka 3-4 savaites (Zeynalov, 2018). Lervos maitinasi šaltalankio uogų minkštimu. Uogos žievelė nebūna pažeidžiama iki kol lerva palieka uogą. Lervos užpakalinėje dalyje esančiais siurbtukais ji prisitvirtina prie uogos žievelės vidinės pusės (Shamanskaya, 2015). Tad skirtingai, negu dauguma *Rhagoletis*, kurios graužiasi į vaisiaus centrą (Bush, 1992), ši rūšis vystosi uogos periferinėje srityje ir yra daug geriau pasiekiami parazitoidams negu daugelis kitų *Rhagoletis* rūšių. Priklausomai nuo metų, *Rhagoletis* lervų parazitoidas *Psytalia (Opus) rhagoleticola* Sachtleben sunaikina iki 70 % lervų (Shamanskaya, 2015).

Sunaudojusi uogos mitybinius resursus *R. batava* lerva prasigrauzia pro žievelę ir šliaužia į kitą uogą, kurioje toliau maitinasi ir tęsia vystymąsi. Tokiu

būdu lerva gali pažeisti iki 5 uogų (Shamanskaya, 2015; Zeynalov, 2018). Manoma, kad dėl to kai kurių veislių uogose galima aptikti iki 4 lervų vienoje uogoje (Hohne, 2015). Subrendusios lervos paskutinį kartą prasigraūžia pro uogos žievelę, krenta ant žemės po mitybiniu augalu, įsirausia į paklotę iki 5 cm gylio ir virsta puparijais (Hohne, 2015, Shamanskaya, 2015; Zeynalov, 2018).

**Puparijaus stadija.** Netikras kokonas – puparijus (3 pav.) susidaro sukietėjant lervos kutikulei. Viduje lieka neaktyvi, ramybės stadijoje esanti, ketvirto ūgio *Rhagoletis* lerva (Christenson, Foote, 1960). Ši musės vystymosi stadija trunka ilgiausiai. Jos metu lerva pereina į diapauzės būseną, joje individas žiemoja. Kitų metų šiltuoju sezonu vystymasis tęsiasi (Dambroski, Feder, 2007). Įprastai puparijaus stadija trunka apie 9-10 mėnesių ir suaugėliai ritasi tik kitą pavasarį-vasarą (Daniel, Grunder, 2012). Bet kai kuriuose regionuose dalis saugėlių gali išsiristi ir po 2 mėnesius trukusios puparijaus stadijos (Neilson, 1962). Neretai puparijaus stadija trunka ilgiau nei metus. Nors diapauzė prasidėjus šiltajam sezonui nutrūksta, metamorfozė per šiltąjį sezoną gali nesibaigti. Sumažėjus aplinkos temperatūrai puparijus vėl pereina į diapauzės būseną. Dėl tokiu būdu pailgėjusios metamorfozės puparijus diapauzės būsenoje gali išbūti nuo dviejų iki penkių žiemų. Atitinkamai suaugėliai ritasi antrą – penktą pavasarį. Ši adaptacija populiacijai leidžia išlikti gyvybingai kuomet pirmąjį pavasarį/vasarą, kai ritasi didžioji dalis suaugėlių, suaugėliai neranda tinkamų vaisių kiaušinių dėjimui. Augalų-šeimininkų vaisių nebuvimo priežastis gali būti vėlyvos šalnos pažeidusios augalų-šeimininkų žiedus, ankstyvas derliaus nuėmimas ar kitokie kiaušinėliams dėti tinkamą substratą sunaikinę veiksniai (Christenson, Foote, 1960; Neilson, 1962; Monteith, 1971; Boller, Prokopy, 1976; Daniel, Grunder, 2012).



3 pav. *Rhagoletis batava* puparijai.

Didelė dalis *Rhagoletis* rūšių individų puparijaus stadijoje gali žūti dėl netinkamų klimatinų sąlygų bei plėšrūnų, tokių kaip svirpliai (Monteith, 1971), vorai ar skruzdėlės (Allen, Hagley, 1990). Dėl minėtų veiksnių išgyvena ir išsiritę apie 5-15 % *Rhagoletis cerasi* individų. Daugiausiai individų išsiritę, kai puparijai 180 dienų išbūna mažesnėje nei 5 °C temperatūroje (Daniel, Grunder, 2012).

Laboratoriniai tyrimai, atlikti Vokietijoje, parodo, jog *R. batava* individų mirtingumas puparijaus stadijoje siekia 2 %. Lauko tyrimų metu mirtingumas padidėjo iki 25-44 % (Hohne, 2015).

**Suaugėlis. Suaugėlio ritimasis.** *Rhagoletis* genties suaugėliai (4 pav.) ritasi pavasarį-vasarą puparijaus stadijoje žiemą praleidę dirvožemyje po lervų mitybiniu augalu. Jų ritimosi laikas daugiausiai priklauso nuo vyravusios dirvožemio temperatūros, sąlygojusios metamorfozės greitį (Baker, Miller, 1978; Laing, Heraty, 1984; Teixeira, Polavarapu, 2002). Taip pat nuo dirvožemio drėgnumo. Iš sauso dirvožemio išsirausti sunkiau nei iš drėgno (Yee, 2013b). Bei dirvožemio tipo ir jo padengimo augmenija – išsirausti iš kieto, šaknimis sutvirtinto dirvožemio yra sunkiau nei iš augmenija nepadengto biraus dirvožemio (Stamenkovic et al., 2012). Dažniausiai individai ritasi ryte kylant aplinkos temperatūrai (Boller, Prokopy, 1976; Daniel, 2015). Paprastai suaugėliai ritasi, kuomet augalų-šeimininkų vaisiai pakankamai prinoksta ir yra tinkami kiaušinėlių sudėjimui. Tad suaugėlių ritimosi laikas yra sinchronizuotas su kiaušinėlių dėjimui tinkama augalo-šeimininko vaisių prinokimo stadija (Pickett, Neary, 1940;

Boller *et al.*, 1998). Įprastai patelės ritasi keliomis dienomis anksčiau negu patinai. Tai susiję su aukštesne sumine temperatūra, reikalinga patinų ritimuisi. Lyčių santykis tampa lygus populiacijai pasiekus didžiausią išsiritusių suaugėlių gausumą (Boller, Prokopy, 1976; Stamenkovic *et al.*, 2012). Išsiritusios iš puparijaus musės išsirausia į dirvos paviršių. Išsirausęs, per kurį laiką, sustiprėja sparnai ir vabzdys gali skristi (Boller, Prokopy, 1976). Prasideda suaugėlio prereprodukcinis laikotarpis, kurio metu vyksta gonadų brendimas. Brendimo trukmė priklauso nuo aplinkos temperatūros. Dažniausiai brendimas trunka iki 14 dienų. *R. cerasi* 23 °C temperatūroje lytinę brandą pasiekia per 6 dienas, o 18 °C temperatūroje – per 10 dienų. Taip pat brendimo greičiui reikšmės turi suvartoto maisto kiekis ir kokybė – ypač svarbu, jog jame būtų baltymų (Stamenkovic *et al.*, 2012).



4 pav. *Rhagoletis batava* suaugėlis ant šaltalankio lapo (Žilvino Pūčio nuotrauka).

**Mityba.** *Rhagoletis* suaugėlių mityba susijusi su jų lervų mitybiniais bei šalia jų esančiais augalais (Prokopy *et al.*, 1972; Boller, Prokopy, 1976; Trisopoulos, 1978; Neilson *et al.*, 1981; Daniel, Grunder, 2012). Žinoma, jog *Rhagoletis* suaugėliai maitinasi augalų lapų išskyromis, amarų lipčiumi, paukščių išmatomis, bakterijų bei grybų kolonijomis ant lapų paviršiaus. Iš šių maisto šaltinių gaunami angliavandeniai, vanduo, baltymai, kurie reikalingi sėkmingam gonadų subrandinimui. (Boller, Prokopy, 1976;



Hendrichs *et al.*, 1993; Daniel, Grunder, 2012). Apie *R. batava* suaugėlių mitybą žinoma labai mažai. Yra stebėti individai kiaušdėčiu praduriantys šaltalankio uogas ir besimaitinantys jų sultimis (Shamanskaya, 2015).

**Poravimasis.** Gonadoms subrendus pasiekama lytinė branda. Prasideda poravimosi procesas. Patinai feromonu vilioja pateles ir jas apvaisina. Kai kurios *Rhagoletis* rūšys sąveikauja ir vizualiai: patinams ir patelėms būdinga elgsena, kuri pasireiškia sparnų virpinimu (*e.g.* Prokopy, Bush, 1973). Manoma, kad tai tuoktuvių ritualas, galimai susijęs su patinų lytinio feromono skleidimu. *Rhagoletis juglandis* Cresson patinai vibruodami sparnus sukelia žemų dažnių virpesius. Tačiau nėra aišku, ar tai akustinis stimulus skirtas patelėms privilioti (Alonso-Pimentel *et al.*, 2000).

Manoma, jog po pirmo poravimosi apvaisintos patelės praranda susidomėjimą patiniais, pradeda jų vengti ir ieško tinkamos uogos ar vaisiaus kiaušinėlių dėjimui. Tuo tarpu patinai siekia poruotis su kuo daugiau patelių, tame tarpe ir su jau apvaisintomis. Patelės yra mažiau atsargios kuomet ieško tinkamų vaisių kiaušinėlių dėjimui. Tada patinai, dažniausiai iš nugaros, užšoka ant patelių ir atlieka pakartotines kopuliacijas (Smith, Prokopy, 1980; 1982; Katsoyannos, 1982). Kadangi *Rhagoletis* musės gali poruotis daug kartų, patinų atliekama pakartotinė kopuliacija yra susijusi su spermos konkurencija. Molekulinių tyrimų metodais įrodyta, jog daugiausiai *R. pomonella* patelės padedamų kiaušinėlių yra apvaisinti paskutinio su ja kopuliavusio patino sperma (Opp *et al.*, 1990). *Rhagoletis juglandis* spermos konkurencijos strategija paremta patinų kopuliacijos trukme. Kuomet aplinkoje esama daugiau patinų, kopuliacija užtrunka daug ilgiau, nei aplinkoje, kurioje yra daugiau patelių (Alonso-Pimentel, Papaj, 1996).

**Kiaušinėlių dėjimas.** Apvaisintos patelės yra pasiruošusios kiaušinėlių dėjimui. Jos augalą-šeimininką suranda ir atpažįsta naudodamos uoslę ir regą. Dauguma *Rhagoletis* rūšių yra stenofagai, kiaušinėlius dedantys į kelių giminingų rūšių vaisius (*e.g.*, Mohamadzade Namin, Rasouljan, 2009), kuomet jie pasiekia tam tikrą prinokimo laipsnį (Frias-Lasserre *et al.*, 1984; Prokopy, Papaj, 1989). Pavyzdžiui, *R. cerasi* kiaušinėlius į vyšnius/trešnes deda tuomet, kai uogų spalva keičiasi iš žalios į geltoną (Stamenkovic *et al.*, 2012). Manoma, kad augalas-šeimininkas randamas regos pagalba, t.y. pagal augalo ir jo lapų formą, spalvą, dydį (Boller, Prokopy, 1976). Taip pat pagal augalo vaisių formą, dydį ir jų spalvos kontrastą fone (Daniel, Grunder, 2012). Be šių vizualinių atpažinimo būdų naudojamas ir olfaktorinis. Dėka augalo-šeimininko kvapo jis atpažįstamas daug tiksliau (*e.g.*, Boller, Prokopy, 1976).

Suradusi potencialų vaisių kiaušinėlių dėjimui *Rhagoletis* patelė vertina jo tinkamumą. Manoma, jog vertinama vaisiaus spalva, forma, dydis, kvapas, vidaus drėgmė (Stadler et al., 1994; Kasana, Aliniaze, 1995). Per mažai prinokusių vaisių žievelė per stora kiaušdėčiu ją pradurti, o pernokę, pūvantys ar nukritę vaisiai kiaušinėliams dėti nebetinkami (Messina et al., 1991). Nepaisant to, laboratoriniais bandymais parodyta, jog kiaušinėlių dėjimui gali būti pasirinkta ir netinkama augalų rūšis. *Rhagoletis pomonella* ir *R. completa* kiaušinėlius deda ir į tokių augalų rūšių vaisius, kuriose lervos nepasiekia paskutinės vystymosi stadijos, o dažnai ir neišsivysto didesnės nei pirmo ūgio (Neilson, 1967; Kasana, Aliniaze, 1995). Manoma jog, *R. batava* yra monofagė kiaušinėlius dedanti tik į dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides*) uogas (e.g., Korneyev et al., 2017) (5 pav).



5 pav. Dygliuotojo šaltalankio, *Hippophae rhamnoides*, uogos. Rodyklės žymi tamsius taškus, indikuojančius *Rhagoletis batava* kiaušinėlio padėjimo vietą.

Dauguma *Rhagoletis* rūšių, tame tarpe ir *R. batava*, į vaisių iškart už jo žievelės padeda vieną-tris kiaušinėlius (dažniausiai vieną) (Averill, Prokopy, 1987a; Prokopy et al., 1988; Shamanskaya, 2015). Išimtis yra kai kurios rūšys kiaušinėlius dedančios į graikinius riešutus. Jos į vieną vaisių padeda apie 15 kiaušinėlių. Per gyvenimą dauguma *Rhagoletis* rūšių, optimaliomis sąlygomis, gali padėti apie 300-400 kiaušinėlių (Boller, Prokopy, 1976).

Žinoma, jog *R. batava* patelės gali padėti daugiau nei 200 kiaušinėlių (Shamanskaya, 2015).

Paros laikas ir aplinkos temperatūra gali turėti poveikį kiaušinėlių dėjimo aktyvumui. Pavyzdžiui, *R. completa* kiaušinėlius gali dėti visą šviesųjį periodą, jeigu oro temperatūra yra tarp 18 ir 39 °C (Christenson, Foote, 1960). Laboratorinėmis sąlygomis ši rūšis daugiausiai kiaušinėlių padėjo esant 24 °C temperatūrai, mažiausiai – 8 °C (Kasana, AliNiazee, 1994). *Rhagoletis cerasi* kiaušinėlius deda ankstyvą popietę saulėtomis dienomis temperatūrai pakilus virš 16 °C (Daniel, Grunder, 2012).

## 1.2. *Rhagoletis* cheminė ekologija

### 1.2.1. *Rhagoletis* genties vabzdžių vidurūšinės sąveikos

#### **Lytinis feromonas**

Lauko bandymais parodyta, kad *R. pomonella* ir *R. cerasi* lytinį feromoną skleidžia patinai. Narvai su skirtingų lyčių neporuotais individais buvo pakabinti augaluose-šeiminukuose. Tiek *R. pomonella*, tiek ir *R. cerasi* atveju patinai prie narvų į šalia esančias gaudykles priviliojo nesiporavusias pateles. Tuo tarpu patinų atraktyvumas patinams nebuvo nustatytas. Taip pat nenustatytas patelių atraktyvumas patelėms; patelių – patinams ar abiejų lyčių – kontroliniams (tuštiems) narvams. Kurį laiką narvai, kuriuose buvo laikyti patinai patelėms išliko atraktyvūs ir tada, kuomet patinai iš jų buvo išimti. Tokiu būdu buvo įrodyta, kad patelės buvo priviliojamos narvuose išliekančiu patinų kvapu, o ne vizualiniu ar akustiniu stimulu (Prokopy, 1975a; Katsoyannos 1976). Panašiais lauko bandymais parodyta, kad *R. cerasi* patelių atraktyvumas patinų išskiriamiems junginiams priklauso nuo dienos laiko ir poravimosi patirties. Susiporavusioms patelėms patinų kvapas elgesinio atsako nebesukėlė. Tuo tarpu laboratorijoje pademonstruota, jog patinai feromoną skleidžia nepriklausomai nuo jų poravimosi patirties (Katsoyannos, 1982).

Vėliau buvo išskirtos *R. cerasi* patinų ekstraktų ir iš jų aplinkos oro surinktų LOJ frakcijos, kurių vienos pateles veikė atraktyviai, o kitos, kaip areštantai. Aktyviose frakcijose nustatyti 75 junginiai iš kurių 27 identifikacija patvirtinta sintetiniais analogais bei patikrintas jų poveikis musių uoslei (EAG). Elgesiniais testais buvo vertinamas šių sintetinių analogų poveikis patelių elgsenai. Bet nė viena pavienė medžiaga pokyčių patelių elgsenoje nesukėlė (Raptopoulos *et al.*, 1995). Kai kurių jų mišiniai buvo testuoti ir lauko sąlygomis. Dviejų metų gaudymo rezultatai parodė, jog mišinys, kurį sudarė 2-heksanonas, 3-heptanonas ir nonanalis privilioja *R. cerasi* suaugėlius, bet tyrimo metu atskirų lyčių sugavimai nebuvo nurodyti, todėl nėra aišku ar šie junginiai privilioja išskirtinai pateles (Macavei *et al.*, 2018).

Graikiniuose riešutuose besivystantys *Rhagoletis boycei* Cresson patinai ištepa riešuto paviršių iš pilvelio išskiriamu skysčiu. Patelės reaguoja į tokį riešuto paženklimą ir kiaušinėlius dažniau deda į pažymėtus riešutus paženklintoje vietoje ar šalia jos, nei į nežymėtus riešutus (Papaj *et al.*, 1996). Su patelėmis, atskridusiomis ant pažymėto riešuto, dažnai buvo poruojamasi pakartotinai. Po kiaušinėlių padėjimo patinai dar kurį laiką juos saugojo – gynė savo teritoriją nuo tos pačios ar kitos rūšies patinų, taip mažindami lervų konkurenciją dėl maisto išteklių ir didindami savo palikuonių išgyvenimo

tikimybę. Į graikinius riešutus kiaušinėlius deda ir *R. juglandis* patelės. Šiai rūšiai būdinga panaši elgsena – patinai taip pat saugo vaisių, į kurių buvo sudėti patelės, su kuria jis poravosi, kiaušinėliai (Papaj, 1994).

*Rhagoletis completa* patinai išskiria  $\delta$ -heksalaktoną ir  $\delta$ -heptalaktoną. Patelės šių junginių neišskiria. Lauko bandymų metu abiejų šių junginių mišinys buvo atraktyvus *R. completa* musėms, bet jo poveikis skirtingos lyties suaugėliams nebuvo nagrinėtas (Sarles *et al.*, 2017).

### **Kiaušinėlių dėjimo deterentas.**

#### *Sąveika patelė – patelė*

*Rhagoletis* patelės pažymi vaisius, į kuriuos sudėjo kiaušinėlius. Tempdamos kiaušdėtį per vaisiaus paviršių, ji ištepa vandenyje tirpiu augalo-šeimininko vaisiaus žymėjimo feromonu (Averill, Prokopy, 1987b). Šis feromonas kitas pateles veikia repelentiškai. Jos vengia kiaušinėlius dėti į pažymėtus vaisius. Taip mažinama lervų konkurencija dėl maisto resursų. Patelės ieško nepažymėtų (be lervų) vaisių kiaušinėliams dėti (Prokopy, 1972). Todėl suaktyvėja dispersinis patelių plitimas, kolonizuojamos naujos teritorijos (Daniel, Grunder, 2012).

Vaisiaus žymėjimo feromonas *Rhagoletis* gentyje identifiкуotas tik *R. cerasi* rūšiai (Sarles *et al.*, 2015) ir įvardintas kaip N[15( $\beta$ -gliukopiranozil)oksi-8-hidroksilpalmitoil]-taurinas. Šis junginys dėl sočiųjų jungčių C-8 ir C-15 vietose gali turėti 4 stereoizomeras (Hurter *et al.*, 1987). Lauko bandymais nustatyta, kad *R. cerasi* mažiau parazituoja vyšnias, kuomet jos paženklinamos šio junginio sintetiniu analogu (Aluja, Boller, 1992). Ne visi stereoizomerai mūsų uoslės receptoriams buvo vienodai aktyvūs. Abu 8*R*, 15*R* ir 8*S*, 15*RS* pasižymi vienodu aktyvumu ir patelių išmatose nustatyti panašia proporcija. Tuo tarpu, 15*S* izomerų aktyvumas apie 13 kartų mažesnis (Stadler *et al.*, 1994).

Manoma, jog be *R. cerasi* dar bent 13 *Rhagoletis* rūšių (*R. completa*, *R. pomonella*, *R. fausta*, *R. cingulata*, *R. cornivora* Bush, *R. indifferens*, *R. mendax*, *R. tabellaria* Fitch, *R. basiola* Osten Sacken, *R. zephyria* Snow, *R. alternata*, *R. conversa* Brethes, *R. brncici* Frias) žymi augalų-šeimininkų vaisius į kuriuos padėjo kiaušinėlius. Šių rūšių stebėjimų metu buvo užregistruota jų augalo-šeimininko vaisiaus žymėjimo elgsena (Silva *et al.*, 2012; Frias-Lasserre, 2015).

### *Sąveika patelė – patinas*

Kai kurioms *Rhagoletis* rūšims pastebėtas patelių uogų žymėjimo infocheminių medžiagų poveikis patinų elgsenai. *Rhagoletis conversa*, *R. brncici*, *R. pomonella* ir *R. cerasi* patinai prie pažymėtų vaisių praleidžia daugiau laiko nei prie nežymėtų. Tad šie junginiai juos veikia kaip areštantai. Galimai tokiu būdu padidėja patinų šansas sutikti kiaušinėlius dėti pasiruošusią patelę ir ją pakartotinai apvaisinti (Prokopy, Bush, 1972; Katsoyannos, 1975; Frias-Lasserre, 2015).

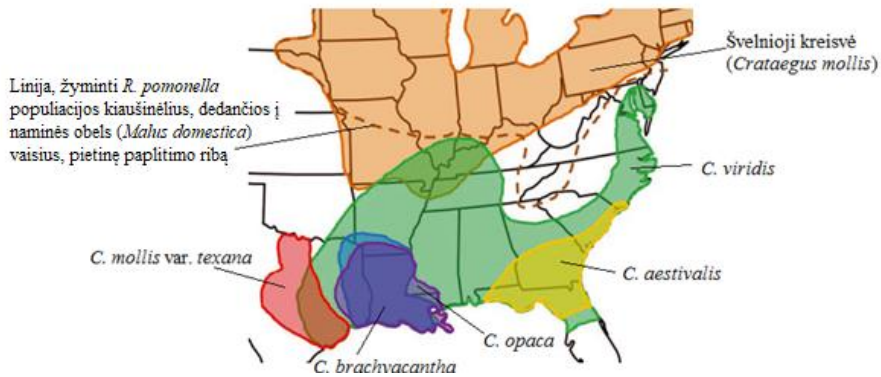
#### 1.2.2. Sąveika su augalu-šeimininku

*Rhagoletis* savo augalo-šeimininko vaisius atpažįsta infocheminių junginių dėka. Tai, jog šiems vabzdžiams jų augalų-šeimininkų vaisių LOJ kvapas atraktyvus buvo pademonstruota lauko bandymais, atliktais su *R. mendax* parazituojančia mėlynės ir *R. cingulata* parazituojančia vyšnios (Pelz-Stelinski et al., 2005). Tyrimo metu gaudyklėmis su mėlynių ir vyšnių uogų ekstraktais jas pažeidžiančių musių pagauta statistiškai reikšmingai daugiau nei kontrolinėmis gaudyklėmis. Taip pat, daugiau musių negu su kontrolinėmis gaudyklėmis pagauta ir tuomet, kada į gaudykles buvo patalpintos augalo-šeimininko uogos. Iš gaudyklių galėjo sklisti uogų kvapas, o uogos musėms nebuvo matomos (Pelz-Stelinski et al., 2005).

Dujų chromatografijos – masių spektrometrijos (DC-MS) metodu identifikuotų graikinio riešutmedžio (*Juglans regia* L.) riešuto 13 lakiųjų organinių junginių sintetinių analogų mišinys laboratorinėmis sąlygomis buvo atraktyvus *R. completa* patinams ir patelėms. Dėl to daroma prielaida, jog šie junginiai yra atsakingi už *R. completa* augalo-šeimininko vaisiaus suradimą (Sarles et al., 2017). Tačiau tyrimas neparodo ar visi 13 junginių *R. completa* yra olfaktoriškai aktyvūs ir vienodai svarbūs infocheminiai junginiai. Tuo tarpu olfaktoriškai aktyvūs ir galintys paveikti vabzdžio elgseną augalo-šeimininko vaisiaus LOJ nustatyti *R. zephyria* (Cha et al., 2017) ir *R. pomonella* (apžvalga: Sarles et al., 2015) rūšims.

*Rhagoletis pomonella* sudaro kompleksą populiacijų, kurios, kaip lervų mitybinę bazę, eksploatuoja skirtingų rūšių gudobelių (*Crataegus*) bei gausiažiedės sedulos (*Cornus florida* L.) uogas ir obuolius. Šios populiacijos vienos nuo kitų atskirtos laike ir erdvėje (6 pav). *Rhagoletis pomonella* populiacijų, kurių augalų-šeimininkų rūšys yra skirtingos, skiriasi ir genomai (Egan et al., 2015). Taip pat skiriasi ir užuodžiami augalų-šeimininkų vaisių LOJ. Priklausomai nuo vaisiaus rūšies *R. pomonella* olfaktoriškai aktyvūs 5-12 vaisiaus LOJ. Bendrai ši rūšis užuodžia ne mažiau kaip 34 augalo-šeimininko vaisių LOJ (1 lentelė). Laboratorinėmis sąlygomis testuojant šių

junginių sintetinių analogų poveikį *R. pomonella* elgsenai nustatyta, jog pavieniai junginiai bei jų mažakomponenčiai (2-3 junginių) mišiniai dažniausiai musėms nėra atraktyvūs (7 pav.). Iki tam tikro kiekio didinant junginių skaičių mišinyje jų poveikis musių elgsenai sinergizuojamas, mišinio atraktyvumas didėja (Fein *et al.*, 1982; Zhang *et al.*, 1999; Nojima *et al.*, 2003a; 2003b; Olsson *et al.*, 2009; Cha *et al.*, 2011a; 2011b; 2012a; 2012b; Powell *et al.*, 2012). Pavyzdžiui, gausiažiedės sedulos ir jos uogas parazituojančių *R. pomonella* atveju buvo 6 musei olfaktoriškai aktyvūs junginiai, kurių mišinys, laboratorinėmis sąlygomis, šiam vabzdžiui sukėlė elgesines reakcijas – buvo atraktyvus. Tokiu pačiu atraktyvumo laipsniu veikė ir 3 junginių (3-metilbutanolis, okten-3-olis,  $\beta$ -kariofilenas), esančių minėtų 6 junginių sudėtyje, mišinys. Bet iš šio 3 junginių mišinio pašalinus bet kurį junginį, naujojo 2 junginių mišinio atraktyvumas sumažėjo perpus arba visai nepasireiškė (Nojima *et al.*, 2003b). Šie rezultatai parodo, jog ne visi *R. pomonella* olfaktoriškai aktyvūs augalo-šeimininko vaisiaus LOJ šio vabzdžio elgseną veikė tokiu pačiu laipsniu ir nebuvo vienodai svarbūs augalo-šeimininko paieškos metu.

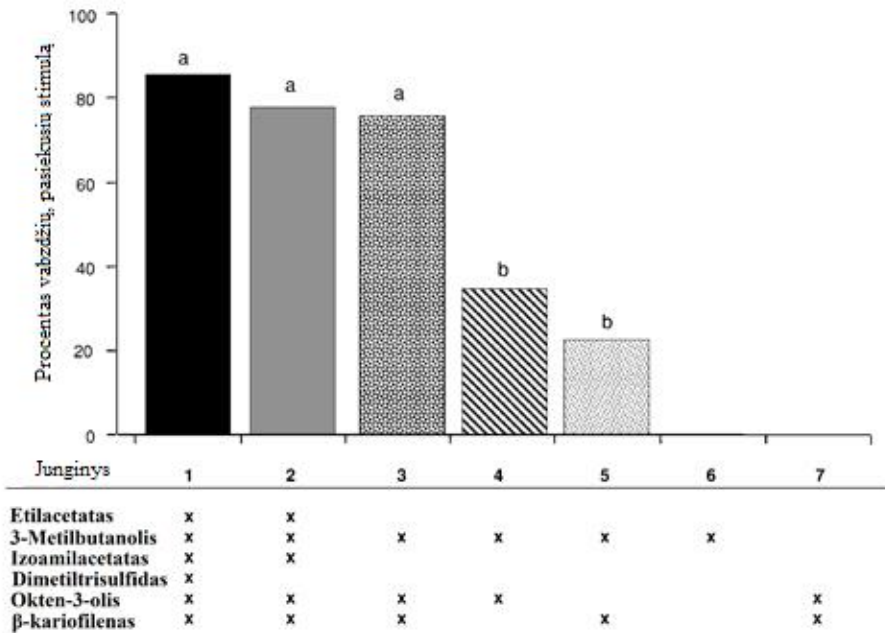


6 pav. Naminės obels (*Malus domestica* Borkh.) ir gudobelių (*Crataegus* spp.) parazituojamų *R. pomonella* paplitimo žemėlapis Jungtinių Amerikos Valstijų rytinėje dalyje (pagal Powell *et al.*, 2012).

1 lentelė. *Rhagoletis* genties suaugėliams olfaktoriskai aktyvūs augalų-šeimininkų vaisių lakieji organiniai junginiai (pagal Nojima *et al.*, 2003a; 2003b; Cha *et al.*, 2011a; 20011b; 2012a; 2012b; Zhang *et al.*, 1999; Powell *et al.*, 2012; Olsson *et al.*, 2009; Fein *et al.*, 1982; Cha *et al.*, 2017).

Eilės nr.	Junginio pavadinimas	Augalas-šeimininkas												
		Gudobelės ( <i>Crataegus</i> spp.)	<i>Crataegus opaca</i>	<i>Crataegus aestivalis</i>	<i>Crataegus rufula</i>	<i>Crataegus viridis</i>	<i>Crataegus brachyacantha</i>	<i>Crataegus mollis</i> var. <i>texana</i>	Švelnioji kreisvė ( <i>Crataegus mollis</i> )	<i>Crataegus douglasii</i>	Vienapistė gudobelė ( <i>Crataegus monogyna</i> )	Causiažiedė sedula ( <i>Cornus florida</i> )	Naminė obelis ( <i>Malus domestica</i> )	Žemioji obelis ( <i>Malus pumila</i> )
1	(E)-2-heksilacetatas											+		
2	(E)-3-4-8-dimetil-1,3,7-nonatrienas					+			+	+	+			+
3	(Z)-3-heksilacetatas								+					
4	2-metilbutil 2-metilbutanoatas											+		
5	3-metilbutanolis	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+
6	4,8-dimetil-1,3(E),7-nonatrienas	+												
7	Butil-2-metilbutanoatas											+		
8	Butilacetatas			+	+		+	+						
9	Butilbutanoatas		+	+	+	+	+	+				+	+	
10	Butilheksanoatas	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+	
11	Butilpropionatas							+						
12	Dekanalis													+
13	Dihidro-β-iononas	+						+	+					
14	Dimeti trisulfidas											+		+
15	D-limonenas								+					
16	Etilacetatas	+							+			+		
17	Etilheptanoatas								+					
18	Heksilacetatas												+	
19	Heksilbutanoatas		+	+	+	+	+	+		+	+		+	+
20	Heksilheksanoatas												+	
21	Heksilzobutanoatas										+			
22	Heksilpropionatas				+					+	+		+	
23	3-Metilbutilacetatas	+							+			+		+
24	3-Metilbutilbutanoatas						+			+				
25	3-Metilbutilheksanoatas						+							
26	3-Metilbutil-2-metilpropionoatas										+			
27	3-Metilbutilpropionatas										+			
28	Linalulas									+				+
29	Mircenas													+
30	Nonanalis									+				+
31	1-Okten-3-olis					+	+					+		+
32	Pentilacetatas		+	+			+						+	
33	Pentilbutanoatas					+	+			+				
34	Pentilheksanoatas			+	+	+		+				+	+	
35	Propilheksanoatas		+	+	+	+		+		+		+	+	
36	β-kariofilenas											+		+





7 pav. Procentinė *R. pomonella* individų dalis vėjo tunelyje nuskridusi iki olfaktorinių stimulų – gausiažiedės sedulos (*Cornus florida*) vaisių 6 LOJ mišinių bei pavienių mišinius sudarančių junginių. Šie junginiai *R. pomonella* suaugėliams yra olfaktoriškai aktyvūs. Skirtingomis raidėmis žymimi mišiniai tarp kurių yra statistiškai patikimi vabzdžių elgesinių reakcijų skirtumai (pagal Nojima *et al.*, 2003b).

Augalo-šeimininko vaisiaus atpažinime svarbūs ne tik kvapo kokybiniai, bet ir kiekybiniai parametrai. Butilheksanoatas yra vienas *R. pomonella* olfaktoriškai aktyvių junginių. Jis aptinkamas tiek gudobelių uogų, tiek ir obuolių LOJ sudėtyje (Linn *et al.*, 2005a). Bet šiuose vaisiuose ženkliai skiriasi butilheksanoato santykinis kiekis. Jis sudaro apie 37 % visų *R. pomonella* olfaktoriškai aktyvių obuolio ir tik <1 % olfaktoriškai aktyvių gudobelės uogų LOJ. Laboratoriniais bandymais parodyta, kad gudobelės parazituojančiai *R. pomonella* olfaktoriškai aktyvių gudobelės LOJ sintetinių analogų mišinys yra atraktyvus, kuomet junginių santykiai yra artimi natūraliems. Bet atraktyvumas sumažėjo apie 3 kartus kuomet butilheksanoato kiekis šiame mišinyje buvo padidintas iki obuoliams būdingo kiekio (Linn *et al.*, 2005a). Lauko sąlygomis testuojant šio junginio poveikį *R. pomonella* elgsenai gudobelių krūmyne, nustatytas repelentiškas poveikis. Tuo tarpu, obelių plantacijoje butilheksanoatas buvo atraktyvus (Forbes *et al.*, 2005).

Lauko sąlygomis, naudojant gaudykles, testuoti *R. pomonella* augalų-šeimininkų vaisių visų olfaktoriškai aktyvių LOJ sintetinių analogų mišiniai. Obelių plantacijose obuolių kvapą imituojantis mišinys *R. pomonella* buvo atraktyvus, o gudobelės krūmynuose gyvenančioms musėms – repelentiškas. Atitinkamai gudobelėlių krūmynuose gudobelės uogų kvapas buvo atraktyvus, o obuolių – repelentiškas (Linn *et al.*, 2003; Forbes *et al.*, 2005).

Tuo tarpu laboratoriniais tyrimais pademonstruota, jog *R. pomonella* populiacijose gali būti individų, kuriuos atraktyviai veikė ne tik vienos rūšies, bet kelių rūšių augalų-šeimininkų vaisių LOJ. Tokių individų gausa populiacijoje gali siekti apie 10-30 % (Linn *et al.*, 2005b).

Apibendrinant, *Rhagoletis* genties musėms elgesinės reakcijos į jų augalų-šeimininkų vaisių olfaktoriškai aktyvius pavienius LOJ ar jų mišinius gali būti sukeltos tiek laboratorinėmis, tiek ir lauko sąlygomis.

### 1.3. *Rhagoletis* gaudymas gaudyklėmis

Dauguma *Rhagoletis* musių monitoringo ir biologinės kontrolės programų yra paremtos musių gaudymu lipniomis geltonomis gaudyklėmis. Geltona spalva joms ypač atraktyvi, tad šis spalvinis regimasis stimulus yra dažniausiai naudojamas *Rhagoletis* gaudymo metu (Agee *et al.*, 1982; Yee, Goughnour, 2011; Yee, 2011; 2012; 2013a; Toth *et al.*, 2014). Bet *R. batava* lauko bandymo metu išskirtinio atraktyvumo geltonai spalvai neparodė (Toth *et al.*, 2016). Toks rezultatas yra fenomenalus tarp kitų *Rhagoletis* rūšių ir yra kvestionuotinas. Laboratoriniais tyrimais nustatyta, jog *R. cerasi* geltona spalva buvo geriausiai matoma (Agee *et al.*, 1982). Manoma, jog ši spalva *Rhagoletis* vabzdžiams asocijuojasi su maisto paieška (Prokopy, 1968). Daugiau reprodukcinės stadijos nepasiekusių *Rhagoletis* suaugėlių buvo pagaunama tada, kai geltonos gaudyklės naudotos su maisto kvapą imituojančiu olfaktoriniu stimulu (Koppler *et al.*, 2008) (maistas reikalingas gonadų subrandinimui, t.y. reprodukcinės stadijos pasiekimui).

Gaudyklės dažnai kombinuojamos su musėms atraktyviais lakiaisiais junginiais, kurie joms asocijuojasi su maistu (Oatman, 1964; Yee, 2011; Daniel, 2015). Musėms privilioti naudojami lakieji junginiai yra irstančios žuvies (trimetilaminas) ar mėsos (diaminobutanai) kvapo. Dažniausiai musės viliojamos junginiais, kurių skilimo produktas yra amoniakas, tokiais kaip amonio acetatas. Kuomet nenaudojamos gaudyklės, šie kvapai maišomi su insekticidais (Prokopy, 1975b; Mayer *et al.*, 2000; Barry, Polavarapu, 2004; Pelz-Stelinski *et al.*, 2006; Daniel, 2015).

#### 1.4. Dygliuotasis šaltalankis (*Hippophae rhamnoides* L.)

Šaltalankių gentį (*Hippophae*) sudaro 7 rūšys (Kaur *et al.*, 2017). Iš jų dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides* L.) arealas pats didžiausias. Šio vaiskrūmio uogos ypač vertinamos maisto, kosmetikos ir medicinos pramonėje. Jos yra kiaušinio formos iki 1 cm ilgio. Dygliuotasis šaltalankis – dvinamis augalas, apdulkinamas vėjo pagalba. Krūmai gali pasiekti 2-4 metrų aukštį. Jie vertinami dėl mažo dirvožemio derlingumo toleravimo (Li, Schroeder, 1996; Small *et al.*, 2002; Ruan *et al.*, 2007; Bal *et al.*, 2011; Kaur *et al.*, 2017). Dygliuotasis šaltalankis šaknyse sudaro simbiozę su *Frankia* genties bakterijomis. Šios bakterijos fiksuoja atmosferos azotą ir jį tiekia augalams. Tokia adaptacija dygliuotajam šaltalankiui leidžia plačiai išvystyti šaknų sistemą, dėl ko azotu aprūpinami ir aplinkiniai augalai. Dėl šių savybių dygliuotasis šaltalankis laikomas pionieriniu augalu ir dažnai sodinamas eroduotose, mažo dirvožemio derlingumo vietovėse (Small *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2017).

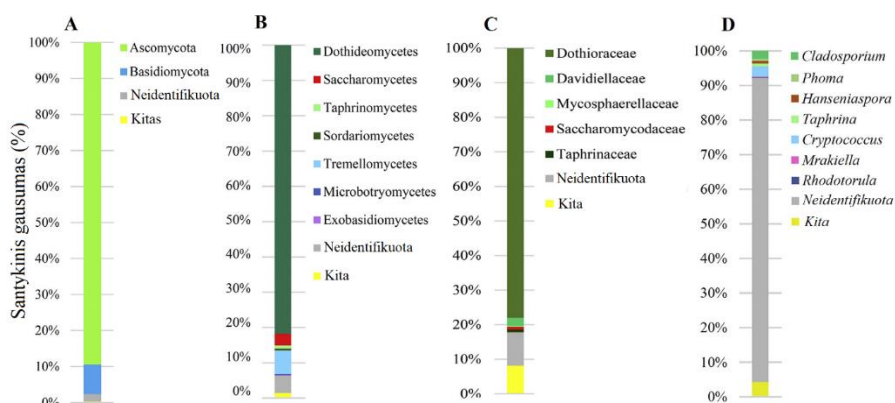
Dygliuotasis šaltalankis paplitęs Eurazijoje bei yra introdukuotas į Šiaurės ir Pietų Ameriką (Ruan *et al.*, 2007). Lietuvoje jis laikomas svetimkrašte rūšimi (Gudžinskas 1998). Šiai rūšiai priklauso apie 8-9 porūšius, kurie vieni nuo kitų izoliuoti geografiškai. Kai kuriems iš jų taksonmistai siūlo suteikti rūšies statusą (Small *et al.*, 2002; Kaur *et al.*, 2017). Natūraliai dygliuotasis šaltalankis yra platinamas paukščių. Jo sėklų daigumas padidėja iki 6 kartų, kuomet jos pereina per paukščio virškinamąjį traktą (Small *et al.*, 2002).

#### 1.5. Su vaisiais susiję mikroorganizmai

Kai kurie fitofagai vabzdžiai augalo-šeimininko paieškai naudoja ne tik augalo, bet su juo susijusių mikroorganizmų skleidžiamus LOJ. Pavyzdžiui, obuoliniam vaisėdžiui (*Cydia pomonella* L.) su obuoliais susijusių fermentuojančių mielių kvapas labai atraktyvus (Witzgall *et al.*, 2012). Taip pat ir *Drosophila melanogaster* Meigen kiaušinėlių dėjimo ir maitinimosi vietų paieškai naudoja fermentuojančių mielių LOJ (Becher *et al.*, 2012). Šie pavyzdžiai parodo, jog ir kitoms su vaisiais susijusioms vabzdžių rūšims fermentuojančių mielių LOJ galėtų būti svarbūs infocheminiai signalai (Quilici *et al.*, 2014). Teoriją palaiko ir tai, jog mielės dažnai įtraukiamos į Tephritidae, tame tarpe ir *Rhagoletis*, lervų ir suaugėlių mitybą laboratorinėmis sąlygomis (Koppler *et al.*, 2009; Sookar *et al.*, 2014; Rempoulakis *et al.*, 2017). Taip pat mielių pagrindu pagaminti preparatai naudojami kaip atraktantai gaudyklėse (e.g., Biasazin *et al.*, 2018). Nors Tephritidae mielės yra atraktyvios, nėra aišku, kokie mielių LOJ suaugėliams

yra juntami uosle ir gali keisti jų elgseną. Baisazin ir bendraautorai, (2018) tyrė kokie mielių pagrindu pagamintų komercinių preparatų LOJ kelioms Tephritidae rūšims yra olfaktoriškai aktyvūs. Gauti rezultatai buvo apibendrinti kartu su ne mielių pagrindu pagamintų atraktantų olfaktoriškai aktyviais junginiais. Todėl, iš pateiktų duomenų nėra aišku, kurie Tephritidae rūšims olfaktoriškai aktyvūs junginiai yra iš mielių, o kurie iš kitų šaltinių (Biasazin *et al.*, 2018).

Ant dygliuotojo šaltalankio uogų aptinkama 108 genčių grybinių mikroorganizmų, priklausančių 58 šeimoms, kurias apjungia 4 tipai (8 pav.). Tarp šių mikroorganizmų yra ir mielių. Ant dygliuotojo šaltalankio uogų didžiausią santykinį gausumą sudaro Ascomycota tipui (90 %), Dothideomycetes klasei (apie 82 %) ir Dothioraceae šeimai (78 %) priskiriami grybiniai mikroorganizmai. Iki genties lygmens dauguma (beveik 88 %) jų nebuvo identifikuota. Tuo tarpu tarp identifikuotų grybinių mikroorganizmų nustatytos *Hanseniaspora*, *Taphrina*, *Cryptococcus*, *Mrakiella*, *Rhodotorula* mielių gentys (Lukša *et al.*, 2018).



8 pav. Grybinių mikroorganizmų bendrijos paplitimas ant dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides*) uogų. Grybinių mikroorganizmų sisteminiai rangai: A – tipas; B – klasė; C – šeima; D – gentis (pagal Lukša *et al.*, 2018).

## 2. TYRIMŲ MEDŽIAGA IR METODIKA

**Lauko bandymų vieta.** Lauko bandymai buvo atlikti ekologinėje dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides*) plantacijoje Stacijavos kaime (55.253383 šiaurės ilgumos, 25,43,9736 rytų platumos), Molėtų rajone, Lietuvoje (9 pav). Plantacija užima apie 24 ha.



9 pav. Dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides*) plantacija Molėtų rajone. Raudona linija žymi plantacijos ribas (pagal [www.maps.lt](http://www.maps.lt))

**Spalvotos gaudyklės** naudotos *R. batava* efektyviausio spalvinio regimojo stimulo nustatymui. Keturkampio formos (10 cm pločio ir 25 cm aukščio) plokščioms lipnioms gaudyklėms pagaminti naudota skaidri dviguba polivinilchlorido plėvelė („Fellowes“, Kinija), kurios storis 300  $\mu\text{m}$ . Pagamintos baltos, mėlynos, juodos, žalios, raudonos, geltonos ir skaidrios (permatomos) gaudyklės (10 pav.). Spalva gaudyklėms buvo suteikiama spalvotą popierių įdedant tarp dviejų plėvelės sluoksnių. Baltoms gaudyklėms naudotas *Universal* („Navigator“, Portugalija) 80 g m<sup>-2</sup> popierius. Mėlynų, juodų, žalių, raudonų ir geltonų gaudyklių gaminimui naudotas *Image Coloration* („Antalis“, Latvija) 80 g m<sup>-2</sup> spalvotas popierius. Gamintojas šias spalvas įvardina, atitinkamai, *clear blue*, *black*, *meadow green*, *scarlet* ir *lemon yellow*. Abi gaudyklės plokštumos buvo padengtos lipniais klizais („PestFix“, Estija), skirtais vabzdžių fiksavimui ant gaudyklės.



10 pav. Kljais nepadengtų gaudyklių, naudotų efektyviausio spalvinio stimulo nustatymui, spalvų pavyzdžiai.

Gaudyklės buvo kabintos grupėmis. Kiekvieną grupę sudarė po 1 visų spalvinių gaudyklę. Viso sudarytos 6 grupės. Atstumas tarp gaudyklių buvo mažiausiai 1,5-2 m. Atstumas tarp grupių buvo ne mažesnis nei 30 m. Trys grupės buvo pakabintos ant moteriškų (su uogomis) dygliuotojo šaltalankio krūmų. Kitos 3 grupės – ant vyriškų (be uogų). Tyrimas buvo atliktas 2016 metų liepos mėnesį. Sugavimai buvo vertinti ir gaudyklės rotuotos kas 3-4 dienas.

**Gaudyklės tipas.** Buvo atliktas tyrimas, kurio metu vertintas gaudyklių konstrukcijos poveikis *R. batava* gaudymų efektyvumui. Naudotos dviejų tipų geltonos gaudyklės: plokščios lipnios (gaminimo metodika aprašyta aukščiau, skyrelyje „Spalvotos gaudyklės“) (11 A pav.) ir *McPhail* („Pherobank“, Nyderlandai) gaudyklės (11 B pav.), kurios yra cilindro formos ir sudarytos iš permatomo viršaus ir geltonos apačios. Pastarosios gaudyklės rekomenduojamos vaisinių musių gaudymui („Pherobank“ katalogas, <https://www.pherobank.com/trap-type/mcp.html>). Sugautiems vabzdžiams fiksuoti buvo naudotas 1 % NaCl vandeninis tirpalas, įpiltas į apatinę gaudyklės dalį.



11 pav. Gaudyklių tipai: plokščia lipni (A) ir *McPhail* (B).

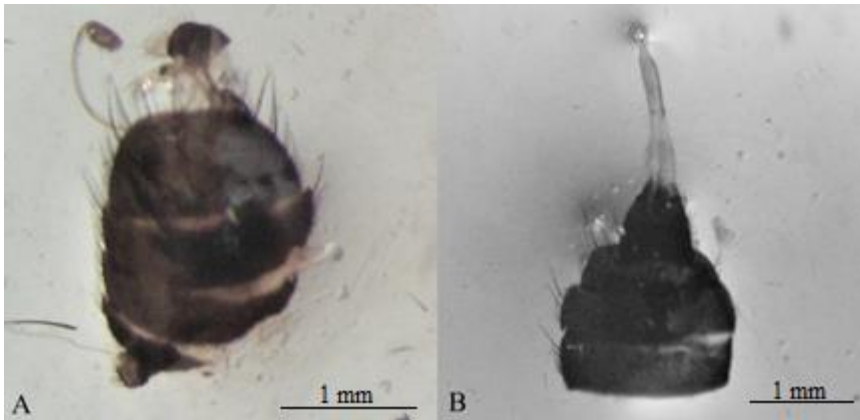
Abiejų tipų gaudyklės buvo pakabintos ant moteriškų dygliuotojo šaltalankio krūmų. Jos suskirstytos į 3 grupes. Kiekvieną grupę sudarė po vieną abiejų tipų gaudyklę. Atstumas tarp gaudyklių buvo ne mažesnis nei 2 m. Atstumas tarp grupių buvo ne mažiau nei 20 m. Gaudyklės buvo tikrinamos ir rotojuamos kas 3-4 dienas. Sugautos musės buvo suskaičiuotos ir identifikuotos kaip *R. batava* (Korneyev *et al.*, 2017). Lipnios gaudyklės pakeistos naujomis kuomet paviršius tapdavo labai aplipęs vabzdžiais ar augalų dalimis. Taip pat buvo papildomas ar pakeičiamas *McPhail* tipo gaudyklių vandeningas tirpalas. Gaudymai buvo atlikti 2016 metų liepos-rugpjūčio mėnesiais. Sugavimai buvo vertinti 11 kartų kas 3-4 dienas.

**Skraidymo sezoninė dinamika** gamtoje. Tyrimo metu vertintas *R. batava* suaugėlių skraidymo laikotarpis ir aktyvumas. Tam nustatyti naudotos *McPhail* gaudyklės (11 B pav.). Duomenys rinkti 2016, 2017, 2018, 2019 metais birželio-rugpjūčio mėnesiais. 2016 ir 2017 metais, šaltalankių plantacijoje, trys gaudyklės buvo pakabintos ant vyriškų dygliuotojo šaltalankio krūmų, o 2018 ir 2019 metais – 5 gaudyklės ant moteriškų. Atstumas tarp gaudyklių buvo ne mažiau nei 20 metrų. Sugavimai vertinti kas 3-4 dienas.

**Vabzdžiai.** Šaltalankinės musės *R. batava*, naudotos laboratoriniuose bandymuose, buvo surinktos kovo-gegužės mėnesiais puparijaus stadijoje. Rinkimai buvo atlikti aukščiau aprašytoje šaltalankių plantacijoje iš dirvožemio, po dygliuotųjų šaltalankių krūmais su *R. batava* lervų pažeistomis



uogomis. Puparijai buvo sudedami po vieną į 14 mL stiklinius buteliukus, į kuriuos įdėtas 3 cm<sup>2</sup> drėgnas filtrinis popierėlis, o buteliukas užkemšamas paraloniniu kamščiu. Buteliukai su puparijais buvo laikomi klimato kameroje *Fitotron* („Weiss Gallenkamp“, Jungtinė Karalystė) kurioje palaikomos 20-24 °C ir 16:8 (šviesos:tamsos) fotoperiodo bei 65-75 % santykinės oro drėgmės klimatinės sąlygos. Siekiant efektyviau palaikyti drėgmę ant filtrinio popierėlio buteliuko viduje 2 kartus per savaitę užlašinama 2-3 lašai vandens. Išsiritę *R. batava* suaugėliai laikyti tuose pačiuose buteliukuose klimato kambaryje, kuriame temperatūra 18-20 °C, natūralus šviesos:tamsos fotoperiodas ir 50-60 % santykinė oro drėgmė. Suaugėliai, kurie buvo naudoti elgesiniuose testuose, maitinti 10 % cukraus vandeniniu tirpalu. *Rhagoletis batava* lytis buvo nustatyta pagal kiaušdėčio buvimą ar nebuvimą (12 pav.).



12 pav. *Rhagoletis batava* pilvelio su genitalijomis preparatai: patino (A) ir patelės (B).

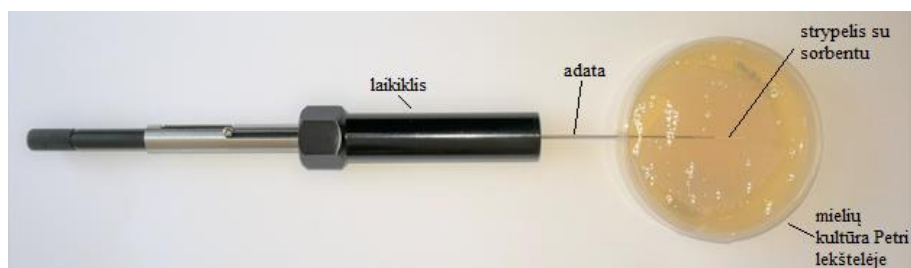
Iš puparijų ritosi ne tik *R. batava*, bet ir šia rūšimi mintantys plėviasparniai (Hymenoptera). Morfologiškai juos apibūdino Martin Schwarz (Austrija). Identifikuotos rūšies tapatumą molekuliniais metodais patvirtino Eduardas Budrys (Gamtos tyrimų centras).

**Šaltalankio uogų ekstraktų paruošimas.** Šaltalankių uogų LOJ ekstraktai buvo naudoti *R. batava* uoslės tyrimams. Ekstrakto ruošimui naudotos uogos surinktos toje pačioje šaltalankių plantacijoje, kurioje atlikti lauko bandymai. Uogų ekstraktai buvo paruošti naudojant hidrodistiliaciją: 30 g uogų homogenizuota, pamerkta į 250 mL vandens 1 valandai ir Klevendžerio aparate virta 2 valandas. Vidutinė žalios uogos masė 0,24 g, prinokusios – 0,31 g. Lakūs junginiai surinkti į 2 mL heksano ir dietileterio (2:1) mišinį. Ekstraktai nusausinti naudojant MgSO<sub>4</sub> ir iki juos naudojant dujų



chromatografijos-elektroantenogramų detekcijos (DC-EAD) ir masių spektrometrijos (MS) tyrimuose laikyti šaldiklyje -18 °C temperatūroje.

**Lakiųjų metabolitų surinkimas iš oro kietafaze mikroekstrakcija.** Šis metodas naudotas siekiant surinkti mielių bei *R. batava* patinų ir patelių LOJ, kurių poveikis *R. batava* uoslei testuotas DC-EAD metodu. Skirtingų rūšių mielių kultūros: *Hanseniaspora uvarum* (kamienas SB-18-31; 99,85% atitinka kultūrą NT-52 GenBank), *Metschnikowia pulcherrima* (kamienas SB-18-34; 100% atitinka kultūrą CBS:9701 GenBank) ir *Pichia kudriavzevii* (kamienas SB-16-15; 100% atitinka kultūrą B-WHX-12-19 GenBank) užsėtos polistireno Petri lėkštelėse (Ø 55 mm x 14 mm) su agaru terpe. Tai atliko Gamtos tyrimų centro Genetikos laboratorijos darbuotojai. Kontroliniams LOJ palyginimams naudotos analogiškos lėkštelės be mielių. Prieš LOJ surinkimą atliekamas strypelio su sorbentu, padengto polidimetilsiloksano-divinilbenzeno (PDMS/DVB) 65 µm sluoksniu („Supelco“, JAV), išvalymas. Išvalymas buvo atliekamas dujų chromatografo injektoriuje 10 min palaikant 240 °C temperatūrą. Iškaitintas adatoje įtrauktas strypelis buvo įkišamas į Petri lėkštelę virš mielių kultūros pro 2 mm skersmens angą lėkštelės šone (13 pav.). Iš adatos buvo išleidžiamas strypelis su sorbentu, kuris mielių viršerdvėje buvo laikomas 60 min kambario temperatūroje. Po šio laiko strypelis su sorbentu buvo sutraukiamas atgal į adatą, kuri perkeliama į dujų chromatografo injektorių. Jame 2 min vykdoma LOJ terminė desorbcija. Taip surinkti LOJ analizuoti DC-EAD ir DC-MS.



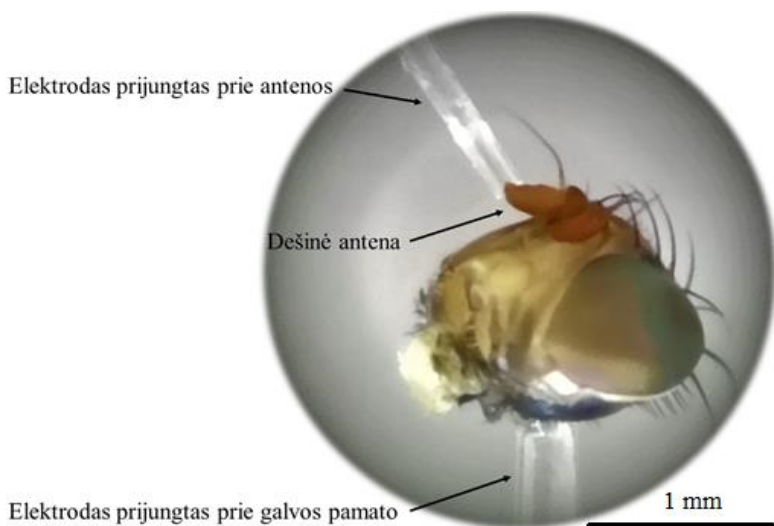
13 pav. Mielių lakiųjų organinių junginių surinkimas (Laimos Blažytės-Čereškienės nuotrauka).

Analogiškas metodas naudotas ir *R. batava* feromono paieškos metu. Tik LOJ buvo renkami ne Petri lėkštelėje, o 50 mL kolboje, uždengtoje aliuminio folija. LOJ rinkimo trukmė apie 24 valandas. LOJ rinkti atskirai arba nuo patinų arba nuo patelių. Vabzdžių skaičius varijavo nuo 8 iki 20.

**Dujų chromatografijos-elektroantenografinė detekcija (DC-EAD).** Dujų chromatografijos-elektroantenogramų detekcija (DC-EAD) yra

chromatografinis metodas plačiai naudojamas tiriant vabzdžiams olfaktoriškai aktyvius LOJ (e.g. Nojima *et al.*, 2003a; Blažytė-Čereškienė *et al.*, 2016). Atliktų tyrimų metu DC-EAD metodas naudotas nustatyti šaltalankio uogų, su šaltalankio uogomis susijusių mielių bei *R. batava* patinų ir patelių LOJ, kurie olfaktoriškai aktyvūs *R. batava* suaugėliams. Metodo taikymui naudota aparatūra buvo sudaryta iš dujų chromatografo (DC) ir elektroantogramos registravimo prietaiso. Prie chromatografo buvo prijungtas papildomas detektorius – vabzdžio uoslės organas – gyva antena. Jos receptorių suminės reakcijos buvo vizualizuojamos elektroantogramos (EAG) pavidalu. Iš kolonėlės išeinančios medžiagos vienodu santykiu buvo padalintos į dvi dalis ir nukreiptos į dujų chromatografo liepsnos jonizacijos detektorių (LJD) ir į vabzdžio anteną. Tai leido realiu laiku, kompiuterio ekrane, stebėti abiejų detektorių registruojamus signalus. Buvo stebimos dvi skirtingų detektorių kreivės: fizikinio detektoriaus (LJD) ir biologinio – antenos (EAD). LJD registravo visus iš kolonėlės išeinančius lakius organinius junginius. Tuo tarpu EAD buvo aktyvūs tik tie junginiai, kuriems jautrių receptorių sukeliančių elektrinį impulsą, buvo antenoje.

EAD reakcijoms registruoti buvo naudoti stikliniai kapiliariniai elektrodai, užpildyti fiziologiniu tirpalu (0,9 % NaCl, „Ilsanta“, Lietuva). Jie buvo tvirtinami tarp dviejų sidabrinų elektrodų. DC-EAD metodo taikymui *R. batava* antenos yra sąlyginai mažos. Geresniam kontaktui tarp antenos ir elektrodų užtikrinti buvo naudotas visos vabzdžio galvos preparatas (14 pav.). Prie vieno iš elektrodų buvo prijungiama pamatinė galvos dalis. Prie kito – vienos iš antenų distalinis galas. Prijungta antena buvo pasukama taip, kad jos vidinė pusė buvo apipučiama iš chromatografo oro srautu link antenos nešamų LOJ. Oro srautas buvo drėkinamas jį praleidžiant pro dejonizuotą vandenį 200 mL talpoje. Oro srauto greitis buvo 0,5 m/s. LOJ sukeltas elektrinis impulsas buvo sustiprinamas stiprintuvu IDAC-232 ir perduotas į kompiuterį, kuriame jis buvo apdorotas kompiuterine programa *Syntech program software* (Nyderlandai). Eksperimentas buvo pradamas tik patikrinus antenos galimybę reaguoti. Tam buvo naudotas prinokusių šaltalankio uogų ekstraktas. Junginys buvo laikomas olfaktoriškai aktyviu, jeigu jo sukelta EAD atsako smailė sutapo su LOJ sukelta liepsnos jonizacijos detektoriaus (LJD) smaile ir šie sutapimai pasikartojo bent 3 pakartojimuose.



14 pav. *Rhagoletis batava* galvos preparatas prijungtas prie elektroantenuogramų detekcijos sistemos. Vaizdas matomas iš chromatografo sklindančio lakiųjų organinių junginių srauto pusės.

Šaltalankio uogų ir mielių lakiųjų organinių junginių (LOJ) analizei buvo naudotas dujų chromatografas *Clarus 500* („Perkin Elmer“, JAV) su liepsnos jonizacijos detektoriumi (LJD) ir *DB-Wax* kolonėle („Agilent Technologies“, JAV), kurios ilgis – 30 m, vidinis diametras – 0,25 mm. Injektoriaus ir detektoriaus temperatūra – 240 °C, dujos nešėjos – vandenilis, 1,5 ml/min. Kolonėlės termostato temperatūra 1 min palaikoma izotermiškai 40 °C. Po to temperatūra kelta 5 °C/min greičiu iki 200 °C ir vėliau 10 °C/min greičiu iki 240 °C. Pasiiekta temperatūra izotermiška laikyta 11 min. Uogų ekstraktų analizės metu į chromatografą suleista 2 μL ekstrakto.

*Rhagoletis batava* lakiųjų junginių analizės metu buvo naudotas aukščiau aprašytas chromatografas su *DB-Wax* kolonėle, bet buvo parinkta kitokia temperatūrinė programa. Nustatyta 240 °C injektoriaus ir detektoriaus temperatūra. Vieną minutę termostato temperatūra buvo palaikyta izotermiškai 40 °C temperatūroje. Po to 5 °C/min greičiu kelta iki 240 °C ir vėl laikyta izotermiškai 13 min. Dujomis nešėjomis naudotas vandenilis, tekantis 1,5 mL/min greičiu. *DB-Wax* kolonėle nebuvo galimybės laike atskirti δ-heptalaktono optinius izomerus. Tad šių junginių sintetinių analogų analizei naudota *RtR-bDEXsm* kolonėlė (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm, „Restek Corporation“, JAV). Injektoriaus ir detektoriaus temperatūra – 230 °C. Pradinė temperatūra – 90 °C, kuri 3 °C/min greičiu kelta iki 200 °C.

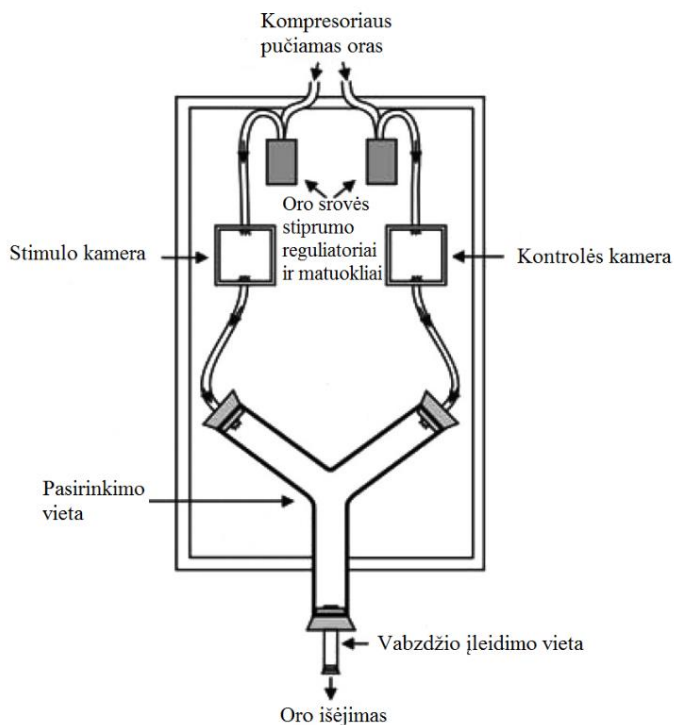
**Uoslės jautrumo vertinimas** atliktas naudojant elektroantogramų (EAG) registravimo metodą, siekiant nustatyti priklausomybę tarp (-)- $\delta$ -heptalaktono dozės ir *R. batava* olfaktorinių reakcijų į šį junginį dydžio. Olfaktorinių reakcijų amplitudžių registravimui ir matavimui antenos buvo paruoštos pagal anksčiau aprašytą metodiką (žiūrėti skyrelyje Dujų chromatografijos-elektroantografinė detekcija (DC-EAD)). Testuojamo junginio dozė (-5, -4, -3 arba -2 lg( $\mu$ L)) buvo užnešama ant filtrinio popierėlio („Watman 1“, Jungtinė Karalystė) juostelės (20 mm x 5 mm). Nugarinus tirpiklį (heksaną) juostelė buvo dedama į Pastero pipetę, pro kurią oras 0,5 s laiko pučiamas į pastovų oro srautą tekantį 48 mL/s greičiu, kuriuo nuolatos apipučiama antena. Vamzdelio vidinis diametras 7,5 mm. Kontrolinui stimului naudotos tokios pat filtrinio popieriaus juostelės, ant kurių buvo užnešama 10  $\mu$ L tirpiklio, kuris nugarinamas, kaip ir testuojamas stimulus. Pirmiausiai antena veikiama kontroliniu stimuliu. Po to – skirtingomis dozėmis nuo mažiausios iki didžiausios ir užbaigiama kontrole. Laiko intervalas tarp stimuliacijų 1 min. EAG signalai registruoti programine įranga EAG200 („Syntech“, Olandija). Reakcijų dydis matuotas mV, kuris nustatomas pagal potencialo nuokrypio didžiausią reakcijos nuo nulinės linijos vertę. Foninis antenos aktyvumas įvertinamas antenos atsakų į kontrolinius apipūtimus dydžio vidurkiu. Foninio aktyvumo vertė yra atimama iš kiekvieno atsako į dozę vertės, taip gaunant antenos reakciją į testuojamą LOJ be reakcijos į jį nešančią oro srauto komponento. Testuota po 6 abiejų lyčių tiriamuosius objektus.

**Dujų chromatografija – masių spektrometrija (DC-MS)** buvo taikyta siekiant identifikuoti *R. batava* olfaktoriškai aktyvius LOJ. Šią analizę atliko Violeta Apšegaitė naudodama dujų chromatografą GC 2010 su masėms selektyviu detektoriumi GCMS-QP 2010 Plus („Shimadzu“, Japonija). Chromatografo kolonėlė polinė kapiliarinė Stabil-Wax (Bellefonte, JAV). Jos ilgis – 30 m; vidinis diametras – 0,25 mm, sorbento sluoksnio storis – 0,25  $\mu$ m. Kolonėlės termostato temperatūrinė programa tokia pati, kaip aprašyta GC-EAD bandyme. Skirtumas tik toks, jog kaip nešančiosios dujos buvo naudojamas helis, tekantis 1,5 mL/min. Masių spektrometro jonizacijos energija 70 eV, jonų srauto temperatūra 250 °C. Komponentai buvo identifikuojami palyginant jų sulaikymo laikus ir masių spektrus su autentiškų sintetinių standartų sulaikymo laikais ir/ar palyginant sulaikymo indeksus (SI) ir masių spektrus su referuojamais kompiuterinėje masių spektrų bibliotekoje (NIST08).

Sintetiniai standartai tokie kaip: etil-2-metilbutanoatas (grynumas  $\geq 99$  %), (Z)-3-heksenalis (grynumas  $\geq 99$  %), etil-3-metil-2-butenooatas (grynumas  $\geq 98$  %).

%), 3-metilbutil-3-metilbutanoatas (grynumas 98 %), propilheksanoatas (grynumas  $\geq 99$  %), etiloktanoatas (grynumas  $\geq 99$  %), 1-okten-3-olis (grynumas 98 %), 3-metilbutilheksanoatas (grynumas  $\geq 98$  %), (Z)-3-heksenil-2-metilbutanoatas (grynumas  $\geq 97$  %), etilbenzoatas (grynumas  $\geq 99$  %), (E,E)- $\alpha$ -farnezenas (grynumas  $\geq 99$  %), 3-metilbutilpropionatas (grynumas  $\geq 99$  %), 3-metilbutan-1-olis (grynumas  $\geq 99$  %), etiloktanoatas (grynumas  $\geq 99$  %), 2-feniletilacetatas (grynumas  $\geq 99$  %), 2-feniletanolis (grynumas  $\geq 99$  %) gamintojas „Sigma-Aldrich“ (JAV). Kitų standartų: etilbutanoatas (grynumas  $\geq 99$  %), etil-3-metilbutanoatas (grynumas  $\geq 98$  %), etilheksanoatas (grynumas 99 %), etilpropionatas (grynumas 99 %), 3-metilbutilacetatas (grynumas 99 %), 3-metilbutil-2-metilbutanoatas (grynumas  $\geq 98$  %), etilheksanoatas (grynumas 99 %) etilheptanoatas (grynumas  $\geq 98$  %) gamintojas „Alfa Aesar“ (JAV). Etilacetatas (grynumas  $\geq 99$  %) ir heksanas (grynumas  $\geq 99$  %), kuris buvo naudojamas kaip tirpiklis, pagaminti „Carl Roth“ (Vokietija). (-)- $\delta$ -heptalaktonas (grynumas  $\geq 92$  %) ir (+)- $\delta$ -heptalaktonas (grynumas  $\geq 92$  %) susintetinti Stefan Schulz („Technische Universität Braunschweig“, Vokietija).

**Elgesinis testas laboratorinėmis sąlygomis.** *Rhagoletis batava* elgesinės reakcijos į sintetinius junginius testuotos laboratorinėmis sąlygomis Y formos olfaktometru (Hare, 2000) (15 pav.). Jo konstrukciniai elementai: pagrindinis vamzdelis – 14,5 cm ilgio, atšakos – 10 cm ilgio, kampas tarp atšakų –  $130^\circ$ , vidinis skersmuo – 0,9 cm. Olfaktometras buvo pastatytas dėžėje, kurios viduryje – ekranas, sudarytas iš keturių 18 W cilindro formos lempų (T8/840, *Colourlux plus*, „NARVA“, Vokietija), kurios uždengtos baltu, matiniu gaubtu (65 cm ilgio, 42 cm pločio). Atstumas tarp olfaktometro distalinės Y dalies ir ekrano – 23 cm. *Rhagoletis batava* būdingas teigiamas fototaksis, tad šviesa juos skatina judėti link jos. Ant laikiklio olfaktometro Y dalis nuo plokštumos pasvirusi aukšty 10° kampu. Abi olfaktometro atšakos prijungtos prie stiklinių vamzdelių, kuriuose buvo talpinamas olfaktorinis stimulus arba kontrolinis (sorbentas su nugarintu tirpikliu). Oro padavimo sistema *CADS-4CPP* („Sigma Scientific LLC“, JAV) į kiekvieną atšaką švarus oras tekėjo 0,5 L/min greičiu.



15 pav. Principinė Y formos olfaktometro schema (pagal Cross, Jackson, 2010).

Šis testas buvo skirtas įvertinti *R. batava* olfaktoriškai aktyvių LOJ sintetinių analogų poveikį šių vabzdžių elgsenai. Testuota (-)- $\delta$ -heptalaktono bei mielių 9 LOJ mišinio, sudaryto iš: etilacetato, etilpropionato, 3-metilbutilacetato, 3-metilbutilpropionato, 3-metilbutanolio, etilheksanoato, etiloktanoato, 2-feniletacetato ir 2-feniletanolio, kurių tarpusavio santykis, atitinkamai, 42:2:30:1:8:1:4:5:7, poveikis. Šie santykiai yra paremti olfaktoriškai aktyvių junginių kiekiais, kurie buvo surinkti mielės *Pichia kudriavzevii* viršerdvėje. Testuoti skirtingų koncentracijų mišiniai ( $1 \mu\text{L}/\text{mL}$  ir  $0,1 \mu\text{L}/\text{mL}$ ), kurie buvo užnešami ant filtrinio popierėlio juostelės ( $5 \times 40 \text{ mm}$ ) po  $10 \mu\text{L}$ . Taip buvo paruoštos ir trys (-)- $\delta$ -heptalaktono koncentracijos ( $0,09 \mu\text{L mL}^{-1}$ ,  $0,05 \mu\text{L mL}^{-1}$  ir  $0,01 \mu\text{L mL}^{-1}$ ). Po 0,5 min, per kurią buvo nugarinamas tirpiklis, filtrinio popierėlio juostelė buvo patalpinama į stiklinį vamzdelį sujungtą su viena iš olfaktometro atšakų. Ant tokio pat dydžio filtrinio popierėlio užnešama  $10 \mu\text{L}$  tirpiklio – heksano. Tirpikliui nugaravus, popierėlio juostelė patalpinama į vamzdelį, prijungtą prie kitos olfaktometro atšakos. Po eksperimento olfaktometras išardomas. Stiklinės dalys išplaunamos heksanu ir per naktį mirkomos dejonizuotame vandenyje, po to

2 valandas džiovinamos termostate temperatūrą keliant iki 200 °C. Tuo tarpu silikoninės olfaktometro dalys išplaunamos heksanu, pamerkiamos dejonizuotame vandenyje per naktį ir padžiaunamos kol visiškai išdžius. Arba silikoninės dalys po kiekvieno bandymo pakeičiamos kitomis.

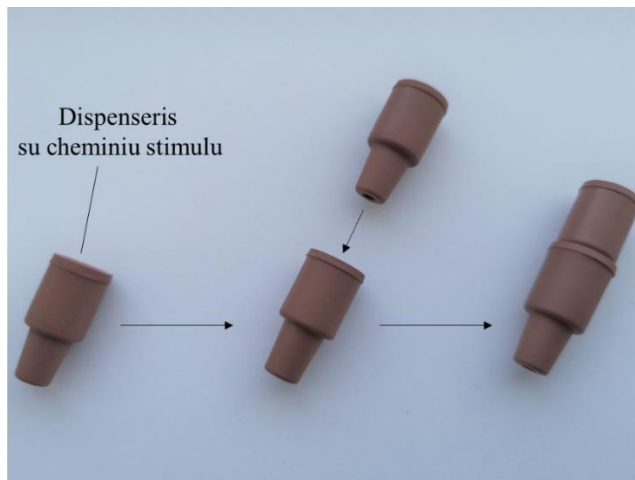
Eksperimente naudoti 2-5 dienų amžiaus *R. batava* patinai ir patelės. Pro vabzdžio įleidimo vietą (distalinį vamzdelio galą) į olfaktometrą įleidžiamas vienas *R. batava* suaugėlis. Testo trukmė – 15 min. Vertinta, kad musė padarė pasirinkimą, kai ji nueidavo į vieną iš vamzdelių: su kontroliniu stimulu arba su testuojamu LOJ stimulu. Jeigu per 15 min musė nepasiekdavo nei vieno iš vamzdelių, ji buvo vertinta kaip nepadariusi pasirinkimo. Olfaktometras reguliariai buvo apverčiamas, stimulų puses sukeičiant vietomis. Bandymo metu kiekvienas vabzdys naudotas tik po 1 kartą. Bandymai buvo atlikti esant 25±2 °C, 60 % santykinei drėgmei, tarp 10 val. ir 17 val. vietos laiku.

Mišinys testuotas su 106 vabzdžiais, iš kurių 11 (visos jos patelės) neatliko pasirinkimo (10,4 %). Testuojant (-)-δ-heptalaktoną naudota 133 vabzdžiai, iš kurių 11 (8 patelės ir 3 patinai) pasirinkimo neatliko (8,3 %).

**Poravimosi dienos ritmas.** Poravimosi dienos ritmas nustatinėtas siekiant sužinoti, kuriuo dienos metu *R. batava* poruojasi. Tam vykdyta kopuliuojančių *R. batava* porų apskaita 50 m ilgio transekteje, šaltalankių plantacijoje. Kopuliuojančios *R. batava* poros buvo registruojamos ant krūmų ir žolės transektą praeinant per 15 min. Stebėjimai pradėti 9 valandą ir 1 valandos intervalais tęsti iki 20 valandos. Tokiu principu kopuliuojančios poros registruotos 7 dienas birželio-liepos mėnesiais 3-4 dienų intervalais 2015 metais. Registravimo dienomis nebuvo kritulių, o valandinė oro temperatūra svyravo nuo 18 °C iki 24 °C (duomenys iš Lietuvos hidrometeorologijos tarnybos, Molėtų stoties, esančios 55,235230 šiaurės platumos, 25,416350 rytų ilgumos).

**Elgesinis testas lauko sąlygomis.** Šiuo testu vertintas (-)-δ-heptalaktono poveikis *R. batava* elgsenai lauko sąlygomis. Kvapo sklaidimui naudoti raudonos gumos dispenseriai, kurių vidinis diametras 7,1 mm (*Empty red rubber sleeve stopper 5 x 11*, „Pherobank“, Nyderlandai), į kuriuos buvo įpilama 25 µL gryno (-)-δ-heptalaktono. Tolygiam (-)-δ-heptalaktono paskleidimui ant dispenserio šulinėlio vidinių sienelių atlikti įpilama 50 µL heksano (tirpiklio). Per 20 min tirpikliui leidžiama išgaruoti. Tuomet šulinėlis užkemšamas kitu dispenseriu juos suneriant vieną į kitą (16 pav.), tokiu būdu buvo mažinamas junginio garavimo greitis. Analogiškai paruošiami kontroliniai dispenseriai, į kuriuos buvo įpilama toks pat kiekis tirpiklio. Tą pačią dieną dispenseriai buvo patalpinami į *McPhail* („Pherobank“, Nyderlandai) tipo gaudykles (11 pav. B), kurios pakabintos šaltalankių

plantacijoje. Taip buvo paruoštos trys gaudyklių poros. Atstumas tarp gaudyklių plantacijoje – ne mažesnis nei 4 metrai. Atstumas tarp porų – ne mažesnis nei 50 metrų. Eksperimentas pradėtas 2019 metų liepos 30 d. Gaudymo duomenys, gauti vertinant 2016-2018 metų *R. batava* skraidymo dinamiką, parodė, jog rugpjūtis yra *R. batava* suaugėlių skraidymo pabaiga. Todėl eksperimentas baigtas rugpjūčio 20 d. Sugavimai pradėti registruoti po 3 dienų nuo eksperimento pradžios ir vertinti kas 3-4 dienas. Tuo metu papildomas arba pakeičiamas vabzdžių fiksavimui gaudyklėse skirtas 1 % NaCl vandeninis tirpalas, toje pačioje poroje esančios gaudyklės tarpusavyje rotuojamos.



16 pav. Dispenserių paruošimo principinė schema.

**Statistinė analizė.** Visi *R. batava* sugavimai gaudyklėmis buvo įvertinti ir perskaičiuoti į vienos dienos sugavimus. Sugavimai buvo transformuoti pagal formulę  $(x+0,5)^{1/2}$  ir analizuoti Dunkano (angl. *Duncan's test*) (ANOVA, *Post-hoc*) testu (Bewick *et al.*, 2004).

Skraidymo ir poravimosi dinamika vertinta lyginant statistinius skirtumus tarp gretimų duomenų taškų naudojant Fišerio LSD (angl. *Fisher LSD*) (ANOVA, *Post-hoc*) testą (Čekanavičius, Murauskas, 2008).

Puparijų inkubacijos trukmės skirtumai vertinti t-testu (angl. *t-test*) nepriklausomoms imtims (Čekanavičius, Murauskas, 2008).

Mano-Vitnio kriterijus (angl. *Mann-Whithney U test*) (Čekanavičius, Murauskas, 2008) buvo naudotas lyginant LOJ surinktų nuo skirtingų substratų kiekybinius skirtumus bei vertinant olfaktorinių reakcijų dydžių tarpytinius skirtumus.



Olfaktorinės reakcijos dydžio priklausomybė nuo dozės vertinta Kruskalo-Voliso kriterijumi nepriklausomoms imtims (angl. *Kruskal-Wallis test*) (Čėkanavičius, Murauskas, 2008).

Visi šie testai atlikti programine įranga *Statistica*, versija 8.0 (*StatSoft Inc.*, JAV).

Musių pasirinkimai tarp skirtingų olfaktometro šakų (-)- $\delta$ -heptalaktono poveikio elgsenai testavimo metu vertinti G-testu (angl. *G-test*) (Sokal, Rohlf, 1995), kuris skaičiuotas *MS Office Professional Excel 2016* (*Microsoft*, JAV).

Vertinant mielių kvapo poveikį *R. batava* suaugėlių elgsenai olfaktometre, pasirinkimai analizuoti apibendrinto mišraus tiesinio modelio logistine regresija su binominiu pasiskirstymu priklausomiems kintamiesiems (angl. *generalised linear mixed model (GLMM), logistic regression (GLMER) with binomial distribution of dependent variable*) (Bolker *et al.*, 2009) (musės pasirinkimas: 0, 1). Ši analizė naudota nustatyti ar nepriklausomos imtys, tokios kaip vabzdžio pasirinkimas (faktorialas: kontrolė ir stimulus) ir lytis (faktorialas: patinas ir patelė) yra statistiškai reikšmingos. Kitaip tariant, buvo vertinamausių stimulo pasirinkimo olfaktometre priklausomybė nuo jų lyties. Stimulo koncentracijos poveikis vertintas tik patelėms. Visuose modeliuose eksperimentiniai pakartojimai buvo vertinami kaip atsitiktiniai kintamieji. Skaičiavimams naudota programa *R*, versija 3.5.1 ir *RStudio* versija 1.1.463 („R Core Team, 2017“; „RStudio Team“, 2018). Juos atliko Seyedeh Noushin Emami (Stokholmo universitetas).

Visuose naudotuose testuose statistiniai skirtumai reikšmingais buvo laikomi tada, kai  $P \leq 0,05$ .

*Rhagoletis batava* suaugėlių skraidymo pradžios efektyvių temperatūrų suma buvo apskaičiuota naudojant formulę  $\Sigma(t-10 \text{ }^\circ\text{C})$ , kur  $t$  – vidutinė paros temperatūra  $\geq 10 \text{ }^\circ\text{C}$ .

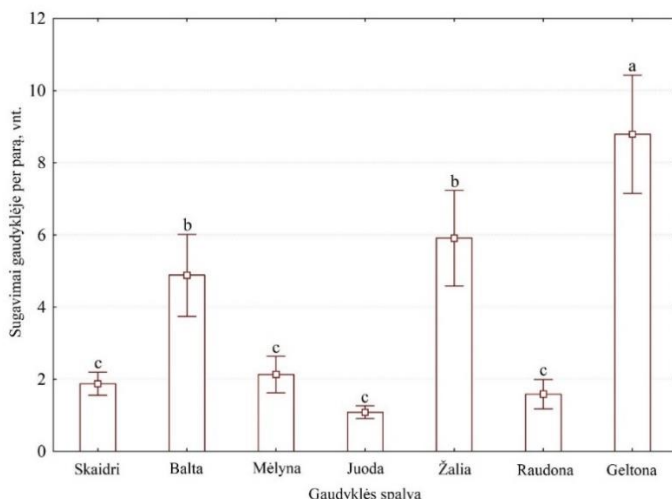
### 3. TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

#### 3.1. *Rhagoletis batava* elgsenos ypatumai

##### 3.1.1. *Rhagoletis batava* sugavimai skirtingų spalvų gaudyklėmis

Sugavimai skirtingų spalvų gaudyklėmis parodė, jog *R. batava* suaugėlių atraktivumas skirtingoms spalvoms skiriasi (Dunkano testas,  $P < 0,05$ ). Pagal sugavimų skirtumų statistinį patikimumą testuotas spalvas galima suskirstyti į tris grupes. Spalvų grupė, kurią sudarė: mėlynos, raudonos, juodos ir skaidrios gaudyklės buvo mažiausiai atraktyvi. Vidutiniškai 2,4-5,3 karto atraktyvesnės buvo žalios ir baltos spalvų gaudyklės. Geltonos spalvos gaudyklės sugavo daugiausiai *R. batava* musių ir buvo atraktyviausios. Lyginant su pirmąja grupe (mėlynos, raudonos, juodos ir skaidrios) geltonos gaudyklės pagavo 4,3-7,8 kartus daugiau musių (17 pav.). Šie tyrimo duomenys parodė, jog *R. batava* taip pat ypač atraktyvi geltonai spalvai kaip ir kitos *Rhagoletis* rūšys (Agee *et al.*, 1982; Yee, 2011). Verta paminėti, jog balta ir žalia spalvos, kurios mažiau atraktyvios nei geltona, savo spektruose turi geltonos spalvos komponentą. Tai galėtų paaiškinti šių dviejų spalvų santykinai didesnę sugavimų efektyvumą, palyginti su likusių (bet ne geltonų) spalvų gaudyklėmis, kurios buvo mažiau patrauklios.

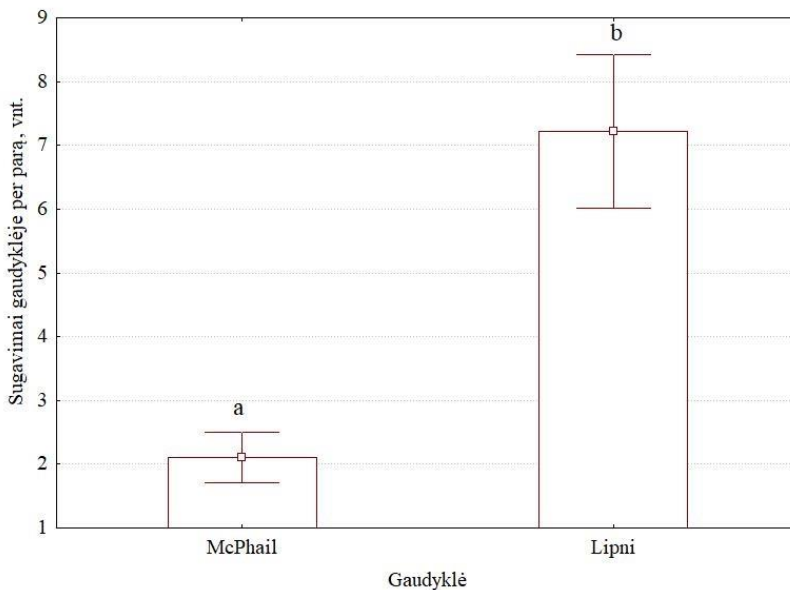
Taigi, geltonos spalvos gaudyklės yra tinkamiausios efektyviam *R. batava* gaudymui.



17 pav. *Rhagoletis batava* sugavimai skirtingų spalvų gaudyklėmis. Skirtingos raidės žymi statistiškai patikimus skirtumus (Dunkano testas,  $P < 0,05$ ); intervalai iliustruoja vidurkių standartines paklaidas.

### 3.1.2. *Rhagoletis batava* sugavimai skirtingų konstrukcijų gaudyklėmis

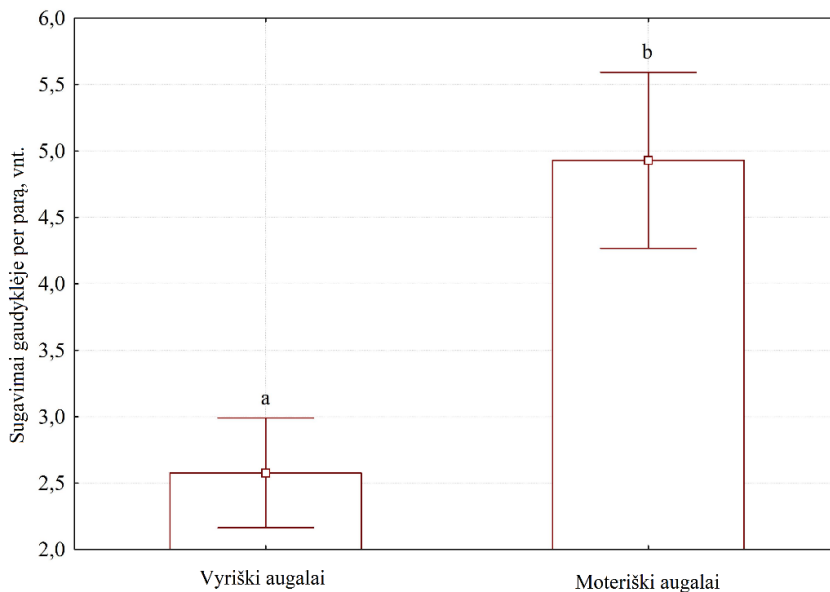
Lipnia gaudykle vidutiniškai per dieną buvo pagauta  $7,2 \pm 1,2$  musės, o *McPhail* gaudykle –  $2,1 \pm 0,4$  (18 pav.). Šių sugavimų dydžiai tarpusavyje statistiškai patikimai skiriasi (Dunkano testas,  $P < 0,001$ ). Taigi, lipnių gaudyklių efektyvumas, lyginant su *McPhail* gaudyklių efektyvumu buvo didesnis daugiau nei 2,9 karto. Šių abiejų tipų gaudyklių naudojimo lauko sąlygomis praktika parodė, jog lipnių gaudyklių efektyvumas kinta, kuomet jos pasidengia dulkėmis, vabzdžiais ir augalų dalimis. Mažėja ne tik gaudyklės lipnumas, bet ir matomumas iš tolimos distancijos (Navarro-Llopis, Vacas, 2014). Taigi, lipnias gaudykles naudojant sąlyginai ilgą laiką, jų nepakeičiant naujomis, efektyvumas nukrinta iki minimalaus, o aukšto efektyvumo palaikymas reikalauja papildomų išlaidų. Tuo tarpu *McPhail* gaudyklių efektyvumas išlieka praktiškai nepakitęs daug ilgesnį laiką. Jos leidžia naudotojui įvertinti sugavimus ir pakeisti jose vandenį (vandeninį tirpalą) didesniais laiko intervalais lyginant su lipnių gaudyklių priežiūra.



18 pav. *Rhagoletis batava* sugavimai skirtingų konstrukcijų geltonomis gaudyklėmis. Skirtingos raidės žymi statistiškai patikimus skirtumus (Dunkano testas,  $P < 0,001$ ); intervalai iliustruoja vidurkių standartines paklaidas.

### 3.1.3. *Rhagoletis batava* sugavimai skirtingų lyčių dygliuotojo šaltalankio krūmuose

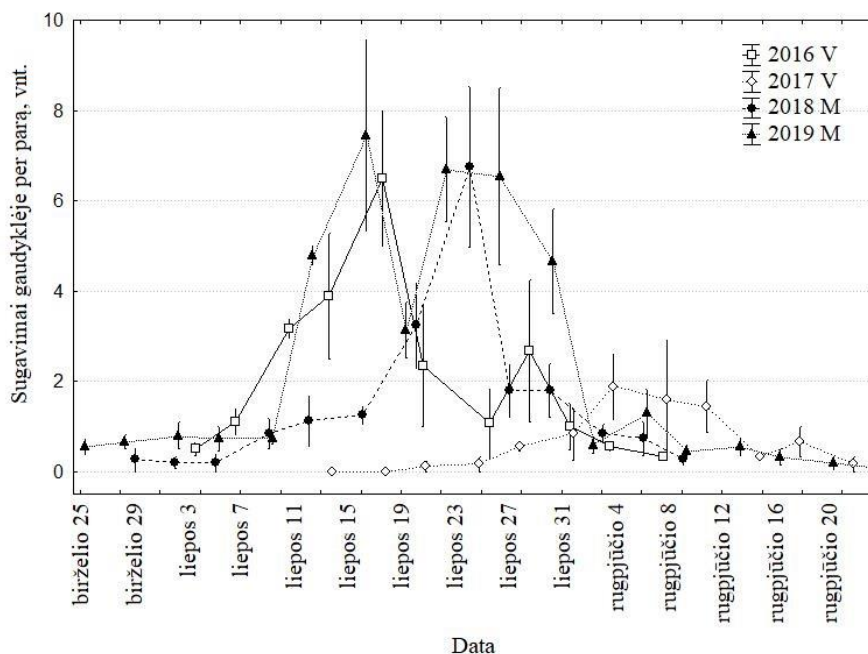
*Rhagoletis batava* sugavimai lipniomis gaudyklėmis pakabintomis ant moteriškų ir vyriškų šaltalankio krūmų skyrėsi beveik dvigubai, o šie skirtumai buvo statistiškai patikimi (Dunkano testas,  $P < 0,001$ ) – ant moteriškų krūmų suaugėlių buvo pagaunama daugiau nei ant vyriškų (19 pav.). Šio sugavimų skirtumo priežastimi galėjo būti nevienodas lervų ir puparijų, o vėliau ir iš jų išsiritančių suaugėlių pasiskirstymas plantacijoje. Bet *Rhagoletis* yra sąlyginai geri skrajūnai, galintys nuskristi iki 500 metrų (e.g., Daniel, Grunder, 2012) ir jų išplitimas po plantaciją gali įvykti iškart po išsiritimo. Dėl to manoma, jog skirtingų lyčių dygliuotojo šaltalankio krūmai *R. batava* yra nevienodai atraktyvūs, o skirtingą atraktyvumą lemianti priežastis yra tikrintina ir testuotina.



19 pav. *Rhagoletis batava* sugavimai lipniomis gaudyklėmis pakabintomis ant skirtingų lyčių šaltalankio krūmų. Skirtingos raidės žymi statistiškai patikimus skirtumus (Dunkano testas,  $P < 0,001$ ); intervalai iliustruoja vidurkių standartines paklaidas.

### 3.1.4. Sezoninė skraidymo dinamika gamtoje

2016 metais nuo birželio 30 d. iki rugpjūčio 8 d. vidutiniškai gaudyklėje buvo sugauti 82 *R. batava* individai. Didžiausias skraidymo aktyvumas registruotas liepos 14-18 dienomis (Fišerio LSD testas,  $P < 0,05$ ) (20 pav.). 2017 metais gaudymai pradėti liepos 11 d. ir pabaigti rugpjūčio 22 d., bet musės buvo pagaunamos tik nuo liepos 21 d. Iš viso tais metais vidutiniškai gaudyklėje pagauti 26,3 *R. batava* individai. Didžiausias skraidymo aktyvumas nebuvo aiškiai išreikštas ir, remiantis statistine analize (Fišerio LSD testas,  $P < 0,05$ ), buvo liepos 28 d.-rugpjūčio 18 d. 2018 metais nuo birželio 26 d. iki rugpjūčio 9 d. vidutiniškai gaudyklėje pagauta 71 *R. batava* musė, o didžiausias skraidymo aktyvumas registruotas nuo liepos 20 d. iki 24 d. (Fišerio LSD testas,  $P < 0,05$ ). 2019 metais gaudymai pradėti birželio 21 d., o paskutinės musės sugautos rugpjūčio 23 d. Šiuo laikotarpiu vidutiniškai gaudyklėje pagautos 143,8 musės. Didžiausias skraidymo aktyvumas nustatytas liepos 12-30 dienomis (Fišerio LSD testas,  $P < 0,05$ ).



20 pav. *Rhagoletis batava* sugavimų sezoninė dinamika. Intervalai iliustruoja vidurkių standartinės paklaidas; V – gaudyklės pakabintos ant vyriškų krūmų, M – ant moteriškų krūmų.

Iš 4 metų gaudymo rezultatų matyti, jog *R. batava* sugavimų gausumas tarp metų gali skirtis daugiau nei 5 kartus. Tam įtakos galėjo turėti ir tai, jog

gaudyklės 2016-2017 buvo kabintos ant vyriškų, o 2018-2019 metais ant moteriškų dygliuotojo šaltalankio krūmų. Nepaisant to, daroma prielaida, jog tarp metų esama pačios *R. batava* populiacijos gausumo svyravimų. Tai patvirtina sugavimų skaičius gaudyklėmis, kabėjusiomis ant tos pačios lyties krūmų, kuris tarp metų skiriasi apie 2-3 kartus.

Lietuvoje *R. batava* suaugėlių skraidymo sezonas gali trukti beveik 2 mėnesius. 2016 metais šios musės pradėjo skraidyti liepos pradžioje ir baigė pirmoje rugpjūčio dekadėje. 2017 metais pradžia buvo liepos antroje dekadėje, o pabaiga rugpjūčio pabaigoje. 2018 metų skraidymo dinamika panaši į 2016 metų. Musės pradėjo skraidyti birželio pabaigoje ir baigė rugpjūčio pirmoje dekadėje. 2019 metais musių gausa buvo ypač didelė, ilgas skraidymo laikotarpis. Jos pradėjo skraidyti birželio pabaigoje ir baigė rugpjūčio pabaigoje. Apibendrinus keturių metų tyrimų duomenis matyti, jog *R. batava* pradeda skraidyti nuo birželio pabaigos ir skraido iki rugpjūčio pabaigos. Didžiausias skraidymo aktyvumas pasiekiamas liepos viduryje ir tęsiasi iki rugpjūčio. Tokie skraidymo sezono svyravimai daugiausiai priklauso nuo temperatūros bei kitų orų sąlygų.

Ši *R. batava* skraidymo dinamika yra panaši į nustatytą Vokietijoje (Toth et al., 2016), bet skiriasi nuo Mongolijos ir Sibiro, kur skraidymo sezonas prasideda 2-3 savaitėmis anksčiau (Shamanskaya, 2015; Zhao et al., 2017).

### 3.1.5. Aktyvi *Rhagoletis batava* skraidymo pradžios temperatūra

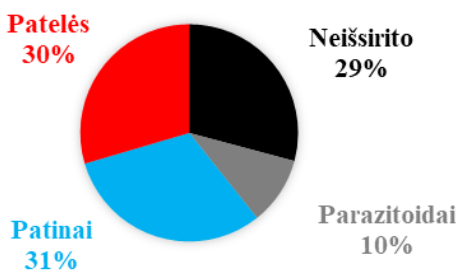
Remiantis *R. batava* skraidymo dinamikos gamtoje duomenimis vertinta suaugėlių aktyvi skraidymo pradžios temperatūra. 2016 metais *R. batava* pradėjo skraidyti 62 dienų aktyvios oro temperatūros sumai pasiekus 349,6 °C. 2017 metais ji buvo lygi 353,2 °C, ir buvo pasiekta per 75 dienas. 2018 metais 396,6 °C per 69 dienas ir 2019 metais 411,4 °C per 58 dienas. Pastarieji metai yra išskirtiniai tuo, kad per mažiausią dienų skaičių susidarė didžiausia aktyvių temperatūrų suma. 2016 ir 2017 metų rezultatai gali būti palyginti su gautais Rusijoje, kur aktyvi *R. batava* skraidymo pradžios temperatūra buvo, atitinkamai, 252,1 °C ir 319 °C (Zeynalov, 2018), o tai yra mažiau nei nustatyta Lietuvoje.

Apibendrinant šių keturių metų duomenis, Lietuvoje, priklausimai nuo metų, *R. batava* pradeda skraidyti aktyviai oro temperatūrų sumai vidutiniškai esant apie 377,7±15,5 °C, kuri pasiekama per 66±3,8 dienas. Šie parametrai gali būti pritaikomi ateityje prognozuojant *R. batava* skraidymo pradžią, kurios numatymas yra svarbus efektyviam monitoringo ar kontrolės atlikimui.

### 3.1.6. Suaugėlių ritimasis

*Rhagoletis batava* puparijai buvo inkubuojami sudarant dirbtines kontroliuojamas sąlygas laboratorijoje. Minėti vabzdžiai yra laukinės populiacijos, dalį vystymosi ciklo praleidę natūralioje aplinkoje. Tad su jų inkubacija susijusių tyrimų rezultatai atspindi natūralius procesus vykstančius gamtoje. Tyrimas atliktas siekiant nustatyti patinų ir patelių santykį gamtinėje *R. batava* populiacijoje bei nustatyti puparijų inkubacijos trukmės lytinį dimorfizmą.

2016-2018 metais buvo inkubuota 1789 *R. batava* puparijai. Iš 29,2 % puparijų niekas neišsiritė (jie buvo negyvybingi arba užsitęsusios diapauzės). Iš likusių 70,8 % puparijų ritosi *R. batava* patinai, patelės bei jų parazitoidai (21 pav).

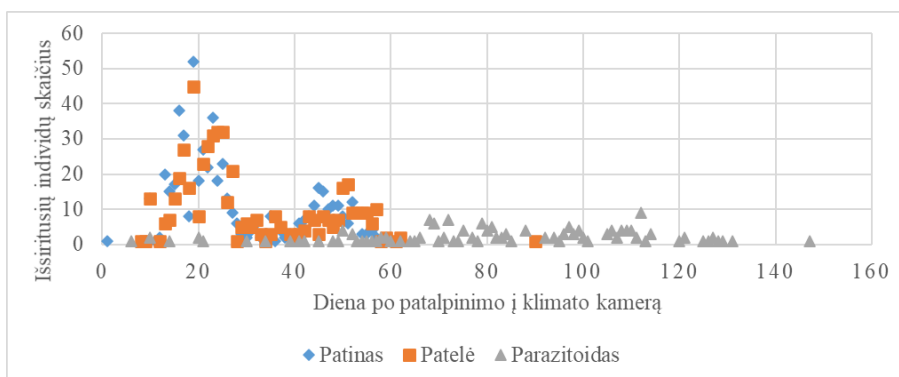


21 pav. 2016-2018 metais klimato kameroje inkubuoti *Rhagoletis batava* puparijai ir iš jų išsiritę suaugėliai.

Tris metus rinkti duomenys parodė, jog *R. batava* patinų ir patelių išsiritančių iš puparijų santykis yra artimas 1:1. Parazitoidai sunaikina ne mažiau nei 10,1 % puparijaus stadiją pasiekiančių individų, o tokia procentinė dalis yra artima 10 % taisyklei (Lindeman, 1991). Šie parazitoidai buvo identifikuoti kaip – *Phygadeuon wiesmanni* Sachtleben (Hymenoptera) ir jo seserinės rūšys (angl. *sibling species*). *Phygadeuon wiesmanni* yra generalistas parazitoidas kiaušinėlius dedantis į įvairių *Rhagoletis* rūšių puparijus (Daniel, 2015). Tikėtina, jog dalis neišsiritusių puparijų taip pat buvo pažeisti parazitoidų lervų, kurioms nepavyko pasiekti suaugėlio stadijos, o pats *R. batava* individas pernelyg pažeistas sėkmingai metamorfozei užbaigti. Dėl šios priežasties parazitoidų nužudoma *R. batava* puparijų dalis turėtų būti didesnė nei 10,1 %. Pavyzdžiui, parazitoidai ritasi iš 12,8 % *R. completa* puparijų, bet kokia tiksliai puparijų procentinė dalis buvo užkrėsta taip pat nenustatyta (Rull *et al.*, 2019). Lietuvoje žinomos penkios *Phygadeuon* genties rūšys, bet tarp jų *P. wiesmanni* nebuvo (Jonaitis, 1991;

Ivinskis *et al.*, 2004) todėl galima daryti prielaidą, jog ši rūšis Lietuvoje aptikta pirmą kartą ir yra nauja šalies faunos sąrašė.

Iš puparijų, patalpintų į klimato kamerą, *R. batava* patinai ritosi vidutiniškai po  $27,7 \pm 0,6$  dienų (22 pav.). Patelės – po  $29,9 \pm 0,6$  dienų. Šie skirtumai yra statistiškai reikšmingi (t-testas,  $t = -2,61295$ ,  $df = 1082$ ,  $P = 0,009$ ). Tad galima daryti prielaidą, jog ir natūraliomis sąlygomis (gamtoje) patelės išsirita vėliau nei patinai. Šie duomenys nesutampa su kitų *Rhagoletis* genties rūšių tyrimų duomenimis. Kitose tirtose *Rhagoletis* rūšyse pirmiau patinų išsirita patelės ir toks reiškinys pagrindžiamas tuo, jog patinams išsiristi reikalinga didesnė suminė temperatūra (Stamenkovic *et al.*, 2012). Tuo tarpu *P. wiesmanni* vabzdžiai analogiškoms sąlygomis ritasi daug vėliau nei *R. batava* (t-testas,  $t = -40,3801$ ,  $df = 1248$ ,  $P < 0,000$ ) ir vidutiniškai užtrunka  $82,9 \pm 2,1$  dienas. Tokia vėlesnio ritimosi adaptacija yra susijusi su parazitoido suaugėlių skraidymo laikotarpio sinchronizavimu su tam tikra aukos vystymosi stadija kurią parazituoti rūšis specializuojasi (Ovruski *et al.* 2007, Forbes *et al.* 2009, Rull *et al.* 2009).



22 pav. Iš 2016-2018 metais klimato kameroje inkubuotų *Rhagoletis batava* puparijų išsiritę vabzdžiai laiko skalėje.

### 3.2. *Rhagoletis batava* sąveika su augalo-šeimininko uogomis

DC-MS analizė parodė, jog žaliose šaltalankio uogose yra ne mažiau kaip 78 lakūs organiniai junginiai (LOJ). Prinokusiose uogose kai kurių žalių uogų LOJ emisijų nebeliko arba jos buvo žemesnės nei detektavimo riba. Taip pat prinokusiose uogose buvo detektuoti žaliose uogose nenustatyti LOJ. Bendras LOJ skaičius prinokusiose uogose padidėjo iki 85. Socaci (2013) su kolegomis yra nustatę 12 dygliuotojo šaltalankio veislių prinokusių uogų viršerdvėje esančius LOJ. Bendrai nustatyti 46 junginiai, bet atskirose veislėse jų kiekis

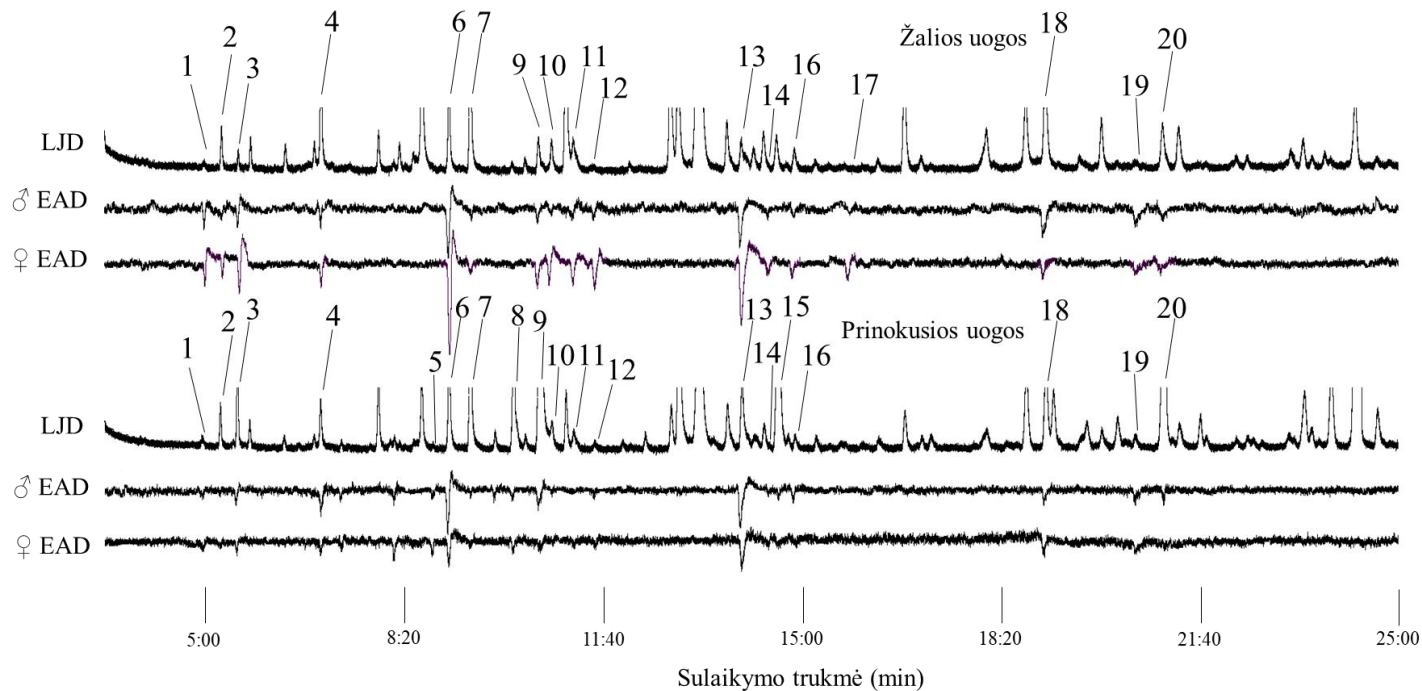


svyruoja tarp 15 ir 31 (Socaci et al., 2012). Tai parodė, jog hidrodistiliacijos metodu surenkama ženkliai daugiau LOJ nei uogų viršerdvėje.

Viso iš dygliuotojo šaltalankio uogų nustatyta 20 *R. batava* olfaktoriškai aktyvių LOJ (23 pav., 2 lentelė). Didžiąją olfaktoriškai aktyvių lakių junginių dalį uogų ekstraktuose sudarė nešakotų ir šakotų alkoholių bei nešakotų ir šakotų rūgščių esteriai. Skirtingo sunokimo uogų ekstraktuose olfaktoriškai aktyvių LOJ skaičius skyrėsi. Žalių uogų ekstraktuose buvo nustatyta 17 biologiškai aktyvių LOJ, o prinokusių uogų – 19. Prinokusių uogų ekstrakte nustatytas vienas olfaktoriškai aktyvus junginys (etil-3-metil-2-butenooatas (7 smailė 23 pav.)), kurio nebuvo ar jo kiekis buvo mažesnis nei detektavimo riba žalių uogų ekstrakte. Šio olfaktoriškai aktyvaus LOJ kiekis prinokusių uogų ekstrakte buvo sąlyginai nedidelis. Atitinkamai junginys, nežinomas (17 smailė 25 pav.), nustatytas tik žalių uogų ekstrakte ir neaptiktas tarp prinokusių uogų junginių. Skirtingo prinokimo uogų ekstraktuose išskiriami olfaktoriškai aktyvių LOJ kiekiai taip pat skyrėsi. Apie 1,5-7 kartus olfaktoriškai aktyvių LOJ (etil-2-metilbutanoatas (2 smailė 23 pav.), etilheksanoatas (6 smailė 23 pav.), *Z*- $\beta$ -ocimenas (7 smailė 23 pav.), etilheptanoatas (12 smailė 23 pav.), etiloktanoatas (13 smailė 23 pav.), etilbenzoatas (18 smailė 23 pav.)) kiekiai buvo didesni prinokusių uogų ekstraktuose nei žalių uogų ekstraktuose (Mano-Vitnio kriterijus,  $P < 0,05$ ). Penkių olfaktoriškai aktyvių LOJ (etil-3-metilbutanoatas (3 smailė 23 pav.), 3-metilbutil 2-metilbutanoatas (8 smailė 23 pav.), 3-metilbutil-3-metilbutanoatas (9 smailė 23 pav.), 3-metilbutilheksanoatas (15 smailė 23 pav.) ir (*E,E*)- $\alpha$ -farnezenas (20 smailė 23 pav.)) kiekiai padidėjo nuo 10 iki 40 kartų prinokusių uogų ekstraktuose lyginant su žalių uogų ekstraktais. Pavyzdžiui, 3-metilbutil-2-metilbutanoatas (8 smailė 23 pav.), 3-metilbutil-3-metilbutanoatas (9 smailė 23 pav.) kiekiai apytikriai 42 kartus didesni prinokusių nei žalių uogų ekstrakte. Trijų LOJ (etilbutanoato (1 smailė 23 pav.), (*Z*)-3-heksenalio (4 smailė 23 pav.), nenustatytas (10 smailė 23 pav.)) kiekis sumažėja prinokusių uogų ekstraktuose lyginant su žalių uogų ekstraktais (Mano-Vitnio kriterijus,  $P < 0,05$ ). Likusių LOJ (propilheksanoatas (11 smailė 23 pav.), 1-okten-3-olis (14 smailė 23 pav.), nežinomas (16 smailė 23 pav.)) kiekiai skirtingo sunokimo uogų ekstraktuose statistiškai patikimai nesiskyrė (Mano-Vitnio kriterijus,  $P > 0,05$ ).

Kokybiniai skirtumai tarp *R. batava* patinams ir patelėms užuodžiamų junginių yra maži. Olfaktorinis aktyvumas etil-3-metil-2-butenooatui (5 smailė 23 pav.) ir 3-metilbutil-2-metilbutanoatui (8 smailė 23 pav.) nustatytas tik patinams. Patelių reakcijos į šiuos junginius nenustatytos. Likę 18 junginių olfaktoriškai aktyvūs tiek patinams, tiek ir patelėms.

Palyginus olfaktoriškai aktyvius augalo-šeimininko uogų junginius tarp *R. batava* ir kitų *Rhagoletis* genties rūšių pastebėtina, jog *R. pomonella* ir *R. zephyria* atvejais skirtinguose augalo-šeimininko rūšių vaisiuose nustatyta nuo 5 iki 12 olfaktoriškai aktyvių junginių. Tuo tarpu *R. batava* juntamų junginių skaičius tiek žaliuose, tiek ir prinokusiose uogose buvo didesnis. Bet šie skirtumai turėtų būti traktuojami kaip preliminarūs dėl junginių surinkimo metodinių skirtumų (Fein *et al.*, 1982; Zhang *et al.*, 1999; Nojima *et al.*, 2003a; 2003b; Olsson *et al.*, 2009; Cha *et al.*, 2011a; 2011b; 2012a; 2012b; 2017; Powell *et al.*, 2012 ). Tarp šių 3 *Rhagoletis* genties rūšių esama ir olfaktorinių panašumų – galima išskirti 5 junginius, kurie užuodžiami *R. batava* ir *R. pomonella*. Tai 3-metilbutil-2-metilbutanoatas (8 smailė 23 pav.); propilheksanoatas (11 smailė 23 pav.); etilheptanoatas (12 smailė 23 pav.); 3-metilbutilheksanoatas (15 smailė 23 pav.) ir 1-okten-3-olis (14 smailė 23 pav.). Pastarasis (1-okten-3-olis) olfaktoriškai aktyvus ir *R. zephyria* musėms (Fein *et al.*, 1982; Zhang *et al.*, 1999; Nojima *et al.*, 2003a; 2003b; Olsson *et al.*, 2009; Cha *et al.*, 2011a; 2011b; 2012a; 2012b; 2017; Powell *et al.*, 2012).



23 pav. *Rhagoletis batava* patinų ir patelių olfaktorinės reakcijos, registruojamos dujų chromatografijos-elektroantenogramų detekcijos (DC-EAD) metodu, gautos į dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides*) žalių ir prinokusių uogų LOJ, registruojamus liepsnos jonizacijos detektoriumi (LJD). Olfaktoriškai aktyvūs junginiai pažymėti skaičiais, numeracija atitinka eiliškumą 2 lentelėje.

2 lentelė. *Rhagoletis batava* patinams ir patelėms olfaktoriškai aktyvūs žalių ir prinokusių šaltalankio (*Hippophae rhamnoides*) uogų junginiai.

Smailelės Nr.	SI	Junginys	Kiekis, vidurkis ± SP, ngg <sup>-1</sup> žalios masės		EAD atsakai			
			Žalios	Prinokusios	Žalios		Prinokusios	
					♂	♀	♂	♀
1	1045	Etilbutanoatas	4.26 ± 1.00	2.34 ± 0.14	4 (4)	4 (2)	3 (2)	3 (3)
2	1062	Etil-2-metilbutanoatas	48.87 ± 1.52	84.94 ± 8.15	4 (3)	4 (1)	3 (2)	3 (2)
3	1077	Etil-3-metilbutanoatas	14.95 ± 2.37	156.1 ± 20.13	4 (4)	4 (2)	3 (2)	3 (3)
4	1144	(Z)-3-heksenalis	189.76 ± 7.44	107.5 ± 1.47	4 (3)	4 (4)	3 (2)	3 (2)
5	1223	Etil-3-metil-2-butenaoatas	-	7.7 ± 0.69			3 (3)	
6	1235	Etilheksanoatas	130.95 ± 17.59	246.9 ± 27.29	4 (4)	4 (4)	3 (3)	3 (3)
7	1249	Z-β-ocimenas	243.95 ± 24.90	432.39 ± 39.78	4 (3)	4 (3)	3 (2)	3 (3)
8	1278	3-Metilbutil-2-metilbutanoatas	8.33 ± 1.49	352.67 ± 31.9			3 (3)	
9	1295	3-Metilbutil-3-metilbutanoatas	45.04 ± 2.23	1883.18 ± 318.67	4 (4)	4 (4)	3 (3)	3 (3)
10	1301	Nenustatytas	51.40 ± 4.41	31.31 ± 1.16	4 (3)	4 (3)	3 (2)	3 (3)
11	1317	Propilheksanoatas	68.06 ± 12.49	49.4 ± 3.42	4 (3)	4 (3)		3 (2)
12	1332	Etilheptanoatas	2.84 ± 0.95	12.41 ± 1.34	4 (4)	4 (3)	3 (2)	3 (2)
13	1431	Etiloktanoatas	28.09 ± 4.56	193.84 ± 0.99	4 (4)	4 (4)	3 (3)	3 (2)
14	1450	1-Okten-3-olis	2.12 ± 0.13	4.31 ± 1.05	4 (3)	4 (3)	3 (3)	3 (1)
15	1456	3-Metilbutilheksanoatas	59.57 ± 14.82	1136.3 ± 84.79			3 (3)	3 (2)
16	1467	Nenustatytas	38.62 ± 3.38	38.32 ± 0.12	4 (3)	4 (4)	3 (2)	3 (1)
17	1489	Nenustatytas	3.71 ± 0.04	-	4 (2)	4 (4)		
18	1646	Etilbenzoatas	232.47 ± 20.98	364.31 ± 3.34	4 (4)	4 (4)	3 (2)	3 (1)
19	1713	Nenustatytas	2.32 ± 0.18	3.27 ± 0.05	4 (4)	4 (4)	3 (3)	3 (1)
20	1736	(E,E)-α-famezenas	112.1 ± 4.15	1202.8 ± 65.32	4 (3)	4 (4)	3 (2)	

Skaičiai prie skliaustų žymi EAD pakartojimų (įrašų) skaičių, skaičiai skliaustuose – reakcijų skaičių. SI – sulaikymo indeksas. Statistiškai reikšmingi olfaktoriškai aktyvių junginių kiekybiniai skirtumai tarp žalių ir prinokusių uogų (Mano-Vitnio kriterijus, P<0,05) žymimi **paryškintai**.

### 3.3. *Rhagoletis batava* sąveika su mielėmis

DC-EAD metodu buvo analizuota trijų su šaltalankio uogomis susijusių mielių (*Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Pichia kudriavzevii*) ir *R. batava* sąveika LOJ (24 pav., 3 lentelė). Viso nustatyta 10 aktyvių junginių. Kai kurie iš jų buvo aptikti ir kontrolinėse lėkštelėse. Bet visų šių junginių kiekiai buvo labai maži ir statistiškai reikšmingai skyrėsi nuo kiekių, nustatytų lėkštelėse su mielių kultūromis, kuriose jų kiekiai buvo didesni (Mano-Vitnio kriterijus, P<0,05). Dėl to daroma prielaida, jog visi 10 olfaktoriškai aktyvių junginių pagrindinis šaltinis buvo mielių kultūra, o ne jų augimo terpė. Šie junginiai (3 lentelė), kaip tiriamų mielių rūšių metabolitai, buvo nustatyti pirmą kartą. Iš ankstesnių šių mielių, mokslinėje literatūroje aprašomų, LOJ tyrimų nebuvo aišku kurių LOJ šaltinis buvo pati mielė, o kurių – jos fermentuojamos terpės. Minėtų tyrimų metu analizuotas kompleksinis – mielių kultūros ir jos fermentuojamos terpės (pavyzdžiui,

vyno) kvapas (van Rijswijck *et al.*, 2015; Varela *et al.*, 2016; Zheng *et al.*, 2017; Hu *et al.*, 2018).

*Hanseniaspora uvarum* DC-EAD tyrimo metu (n=6) buvo nustatyti 8 junginiai olfaktoriškai aktyvūs *R. batava* patinams ir patelėms. Trijų pakartojimų, atliktų su patelėmis, metu 3-metilbutanolis elektrofiziologinę reakciją sužadino tik vieną kartą, o etilbutanoatas – 2 kartus. Likusieji 6 junginiai patelėms reakcijas sukėlė visų pakartojimų metu. Tuo tarpu patinai į visus 8 junginius reagavo visų pakartojimų metu.

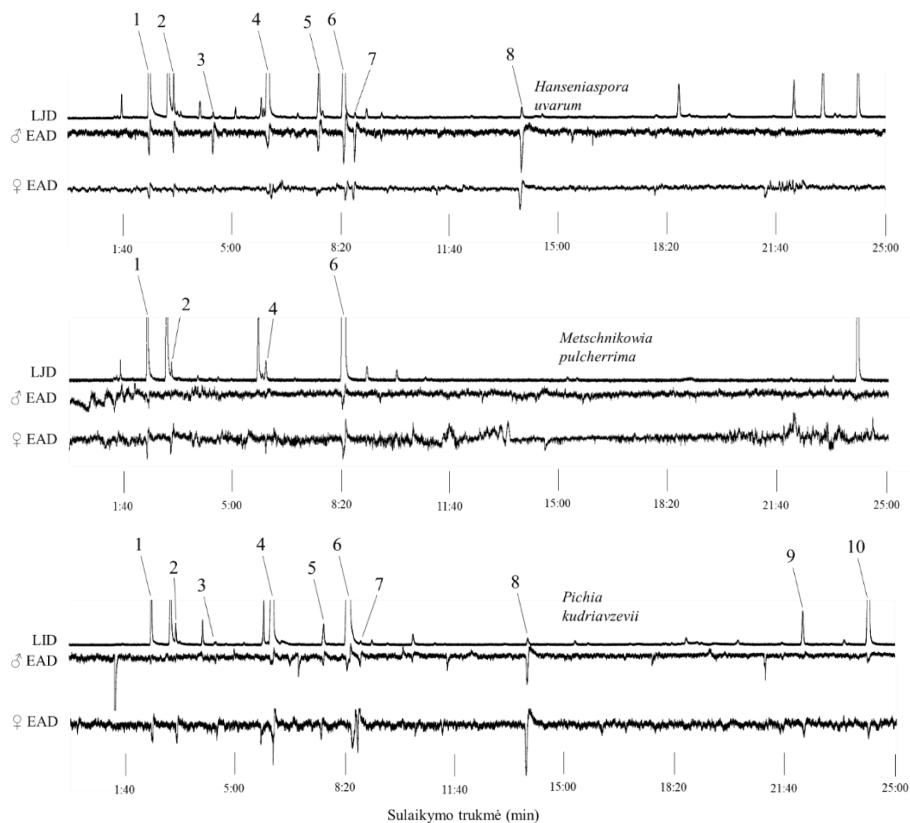
*Metschnikowia pulcherrima* į aplinką išskyrė LOJ, iš kurių DC-EAD analizės metu (n=10) *R. batava* olfaktoriškai aktyvūs buvo 4. Tai mažiausias junginių skaičius lyginant su kitomis dviem tirtomis rūšimis. Kokybinių skirtumų, tarp *R. batava* patinams ir patelėms olfaktoriškai aktyvių *M. pulcherrima* junginių nebuvo nustatyta. Iš visų atliktų analizės pakartojimų etilpropionatas po kartą nebuvo aktyvus abiejų lyčių musėms. 3-metilbutilacetatas patinams aktyvus buvo 2 pakartojimų metu, o patelėms aktyvus buvo visų pakartojimų metu.

*Pichia kudriavzevii*. Liepsnos jonizacijos detektorius (LJD) detektavo 39 junginius surinktus *P. kudriavzevii* viršerdvėje. Dešimt iš šių junginių, taikant DC-EAD analizę (n=10), *R. batava* jautė savo antenomis (24 pav.). Tai didžiausias junginių kiekis iš visų trijų tirtų mielių rūšių. Šios mielės *R. batava* olfaktoriškai aktyvių junginių sudėtyje buvo nustatyti junginiai buvę ir kitose dviejose tirtų mielių rūšių kultūrose. Dėl to, *P. kudriavzevii* sąveika su *R. batava* tirta ir aprašyta išsamiau.

Tyrimo metu nebuvo nustatyta jokių kokybinių skirtumų tarp patinų ir patelių EAD atsakų. Junginių cheminės struktūros ir EAD aktyvumo palyginimas parodė, kad visi 10 olfaktoriškai aktyvūs junginiai buvo juntami tiek patinams, tiek ir patelėms beveik visuose atliktuose antenų įrašuose. Išskyrus 2 aromatinius junginius: 2-feniletilacetatą ir 2-feniletanolį, kurie, atitinkamai, buvo aktyvūs 2 iš 5 patinų ir 3 iš 5 patelių antenų įrašų. Tarp įrašų neatsikartojančios olfaktorinės reakcijos galėjo būti eksperimentatoriaus žmogiškojo faktoriaus pasekmė. Vabzdžio anteną prijungiant prie elektrodų galimi antenos pasukimo kampo nuokrypiai. Šie nuokrypiai gali turėti įtakos iš chromatografo sklindančiais LOJ apipučiamų olfaktorinių sensilių skaičiui, nuo kurių priklausai regsitruojamos EAG reakcijos dydis. Olfaktorinė reakcija

nesukeliama jeigu konkrečiam junginiui jautrios sensilės yra nusuktos nuo LOJ srauto.

Uoslė yra esminis jutimo būdas vabzdžių naudojamas ieškant tinkamų maisto šaltinių, kiaušinėlių dėjimo vietų ir poravimosi partnerių (Louis *et al.*, 2005). Tai jog *R. batava* užuodžia 10 *P. kudriavzevii* išskiriamų junginių rodo, jog šios mielės gali veikti musės elgseną jai ieškant maitinimosi, poravimosi ar kiaušinėlių dėjimo vietų. Mielių LOJ aktyvumas EAD metodu yra gerai ištirtas Drosophilidae šeimos musėms (Cha *et al.*, 2012c; Date *et al.*, 2013; Versace *et al.*, 2016; Crowley-Gall *et al.*, 2016). Tyrimai parodė, jog mielių rūšių kompleksai yra specifiniai drozofilų lervų vystymosi terpėms ir augalų-šeimininkų uogų nokimo stadijoms, kurios gali būti nustatytos vien analizuojant jų skleidžiamus lakiuosius komponentus (Arguello *et al.*, 2013; Scheidler *et al.*, 2015), o tai suteikia pagrindo stebėti tam tikrus šeimininkų-mielių kompleksus, paveikiančius muses. Vabzdžio pirmenybės teikimas tam tikriems šeimininko-mielių kompleksams padeda nulemti vabzdžio specializaciją ir nišos siaurėjimą. Tai daro įtaką tų kvapų sensorinei specializacijai, kurie efektyviausiai padeda aptikti tinkamą buveinę (Date *et al.*, 2013; Scheidler *et al.*, 2015; Versace *et al.*, 2016). Uoslės chemosensorika susijusi su Tephritidae suaugėliais, įskaitant ir *Rhagoletis* genties atstovus, yra daug mažiau tirta, nors *Rhagoletis* musės yra tiesioginiai ekonominius nuostolius sukeliantys kenkėjai (Scheidler *et al.*, 2015).



24 pav. *Rhagoletis batava* patinų ir patelių olfaktorinės reakcijos, registruojamos dujų chromatografijos-elektroantenogramų detekcijos (DC-EAD) metodu, gautos į trijų mielių rūšių LOJ, registruojamus liepsnos jonizacijos detektoriumi (LJD). Olfaktoriškai aktyvūs junginiai pažymėti skaičiais, numeracija atitinka eiliškumą 3 lentelėje.

3 lentelė. *Rhagoletis batava* patinams ir patelėms olfaktoriškai aktyvūs trijų mielių rūšių lakūs organiniai junginiai.

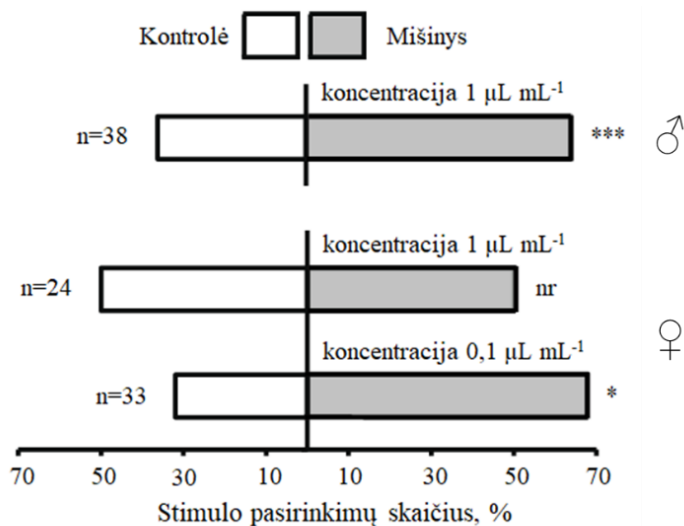
Nr.	SI	Junginys	Mielės rūšis									Kontrolė
			<i>Hanseniaspora uvarum</i>			<i>Metschnikowia pulcherrima</i>			<i>Pichia kudriavzevii</i>			
			EAD		Kiekis	EAD		Kiekis	EAD		Kiekis	
			♂	♀		♂	♀		♂	♀		
1	898	Etilacetatas	3 (3)	3 (3)	26,26 ± 4,63	5 (5)	5 (5)	8,98 ± 0,28	5 (4)	5 (4)	11,17±6,09	0,06±0,02*
2	915	Etilpropionatas	3 (3)	3 (3)	1,00 ± 0,05	5 (4)	5 (4)	0,24 ± 0,01	5 (5)	5 (5)	1,07±0,09	0,01±0,00*
3	1013	Etilbutanoatas	3 (3)	3 (2)	0,05 ± 0,03				5 (5)	5 (4)	0,14±0,03	-
4	1105	3-Metilbutilacetatas	3 (3)	3 (3)	13,28 ± 0,48	5 (2)	5 (5)	0,40 ± 0,02	5 (4)	5 (5)	9,04±2,55	0,10±0,07*
5	1176	3-Metilbutilpropionatas	3 (3)	3 (3)	0,62 ± 0,09				5 (4)	5 (5)	0,22±0,01	-
6	1213	3-Metilbutan-1-olis	3 (3)	3 (1)	3,28 ± 0,37	5 (5)	5 (5)	5,95 ± 0,56	5 (5)	5 (5)	20,11±1,49	0,21±0,11*
7	1224	Etilheksanoatas	3 (3)	3 (3)	0,02 ± 0,005				5 (5)	5 (5)	0,26±0,07	-
8	1430	Etiloktanoatas	3 (3)	3 (3)	0,12 ± 0,01				5 (5)	5 (5)	0,45±0,09	-
9	1795	2-Feniletilacetatas			3,52 ± 0,64				5 (2)	5 (4)	1,71±1,1	-
10	1894	2-Feniletanolis			3,60 ± 0,26				5 (4)	5 (3)	15,44±2,22	0,03±0,01*

Skaičiai prie skliaustų žymi pakartojimų (įrašų) skaičių, skaičiai skliaustuose – reakcijų skaičių. SI – sulaikymo indeksas. Statistiškai reikšmingi olfaktoriškai aktyvių junginių kiekybiniai skirtumai tarp mielių kultūros ir jų augimo terpės (Mano-Vitnio kriterijus,  $P < 0,05$ ) žymimi \*.



Elgesiniu dviejų pasirinkimų testu Y formos olfaktometre buvo vertintas *P. kudriavzevii* mielių olfaktoriškai aktyvių junginių sintetinių analogų mišinio poveikis *R. batava* elgsenai. Mišinys sudarytas iš 9 junginių: etilacetato, etilpropionato, 3-metilbutilacetato, 3-metilbutilpropionato, 3-metilbutanolio, etilheksanoato, etiloktanoato, 2-feniletilacetato ir 2-feniletanolio. Vienas iš *R. batava* olfaktoriškai aktyvių *P. kudriavzevii* LOJ – etilbutanoatas – šio elgesinio tyrimo metu dar nebuvo identifikuotas, todėl jo nebuvo testuoto mišinio sudėtyje. *Pichia kudriavzevii* viršerdvėje etilbutanoato kiekis buvo pats mažiausias, lyginant su kitais *R. batava* olfaktoriškai aktyviais junginiais. Mažas junginio kiekis apsunkino jo identifikavimą.

Eksperymėte *R. batava* patinai dažniau rinkosi 9 junginių mišinį lyginant su kontrole (remiantis apibendrinto mišraus tiesinio modelio logistine regresija su binominiu pasiskirstymu priklausomiems kintamiesiems,  $P=0,001$ ). Tuo tarpu patelėms šis mišinys esant  $1 \mu\text{L mL}^{-1}$  koncentracijai nebuvo atraktyvus ( $P=0,758$ ), bet atraktyvumas pasireiškė esant mažesnei  $0,1 \mu\text{L mL}^{-1}$  koncentracijai ( $P=0,026$ ) (25 pav.).



25 pav. *Rhagoletis batava* patinų ir patelių pasirinkimai tarp sintetinių junginių mišinio ir kontrolės. \*\*\*  $P < 0,001$ ; \*  $P < 0,05$ , nr – nėra reikšminga remiantis apibendrinto mišraus tiesinio modelio logistine regresija su binominiu pasiskirstymu priklausomiems kintamiesiems.

Paleontologiniai ir molekuliniai evoliucinės biologijos duomenys rodo, jog mielės ir vabzdžiai kartu egzistavo jau prieš 300-400 milijonus metų (Rolland, Dujon, 2011; Nel *et al.*, 2013), o tai yra daug anksčiau nei atsirado žiediniai augalai, kas įvyko prieš 125-150 milijonų metų (Clarke *et al.*, 2011). Ilgai besitęsiantis mielių ir vabzdžių koegzistavimas sąlygojo įvairių ekologinių saitų tarp šių organizmų grupių susidarymą: nuo patogeninių ir parazitinių iki mutualistinių. Mutualistinės sąveikos daugiausiai paremtos mielių, kaip vabzdžių maisto, bei vabzdžių kaip mielių plitimo vektoriaus principu (Ganter, 2006; Janson *et al.*, 2008; Christiaens *et al.*, 2014). Mielės gamina įvairius kvapus (Ebert *et al.*, 2017) ir ženkliai prisideda prie buveinės kvapo cheminės sudėties padedančios vabzdžiams aptikti ieškomus išteklius (Becher *et al.*, 2012).

Mielių išskiriamų LOJ savybė keisti vabzdžių elgseną buvo tirta keliose vabzdžių grupėse (Ganter, 2006; Witzgall *et al.*, 2012; Six 2013; Madden *et al.*, 2018; Tasin *et al.*, 2018). Tuo tarpu uogos ir mielės komplekso kvapo poveikis vabzdžių elgsenai daugiausiai tirtas dvisparniuose sutelkiant dėmesį į *Drosophilla* gentį (Ganter, 2006; Becher *et al.*, 2012; Crowley-Gall *et al.*, 2016; Versace *et al.*, 2016) ir daug mažiau žinių yra apie Tephritidae šeimos muses (Leblanc *et al.*, 2010; Piper *et al.*, 2017; Mesquita *et al.*, 2018).

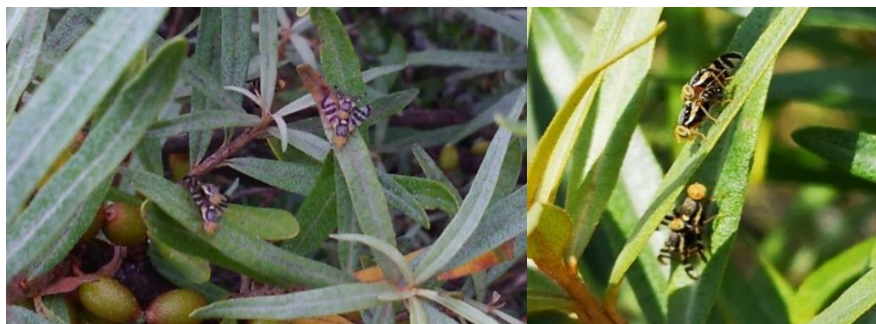
Šio darbo rezultatai parodė, jog laboratorinėmis sąlygomis dviejų pasirinkimų teste patinai ir patelės teigiamai reaguoja į devynių olfaktoriškai aktyvių junginių mišinį. Pastebėtina, jog patelėms, lyginant su patiniais, buvo atraktyvus mažesnės koncentracijos kvapų mišinys. Galimai taip yra dėl skirtingų asociacijų, kurias šis kvapas patinams ir patelėms sukelia. Abiems jis suteikia informacijos apie potencialaus maisto šaltinio vietą, o patelėms dar ir apie vietos kiaušinėlių dėjimui tinkamumą. *Pichia kudriavzevii* yra fermentuojančios mielės (Sharma *et al.*, 2012; Nyanga *et al.*, 2013), kurios dažniau aptinkamos ant pažeistų, nei ant nepažeistų vynuogių uogų (Nemcova *et al.*, 2015). Dėl to daroma prielaida, jog *P. kudriavzevii* kvapas musėms gali asocijuotis su galimybe lengvai patekti į uogą, kuri, dėl mielių buvimo, yra ypač maistinga, bet mažiau tinkama lervos vystymuisi. Kvapų sąlygojama sąveika tarp vabzdžio ir mielių yra kompleksiška. Ji varijuoja nuo atraktyvios iki repelentiškos, priklausomai, ar sąveika mutualistinė, ar kenksmingos mielės kolonizuoja substratą. Esama eksperimentinių pavyzdžių, kuriais parodoma, jog mielių lakūs junginiai naudojami integruotoje kenkėjų kontrolėje (Hamby, Becher, 2016; Holighaus, Rohlf, 2016; Mori *et al.*, 2017). Šis tyrimas parodė, jog laboratorinėmis sąlygomis devynių

olfaktoriškai aktyvių mielių lakių junginių mišinio kvapas yra atraktyvus *R. batava* musėms. O toks rezultatas sudaro pagrindą tolimesniems tyrimams, įskaitant kvapo optimizavimą ir jo panaudojimą kuriant atraktantą gaudyklėms skirtoms *R. batava* monitoringui ir kontrolei *H. rhamnoides* plantacijose.

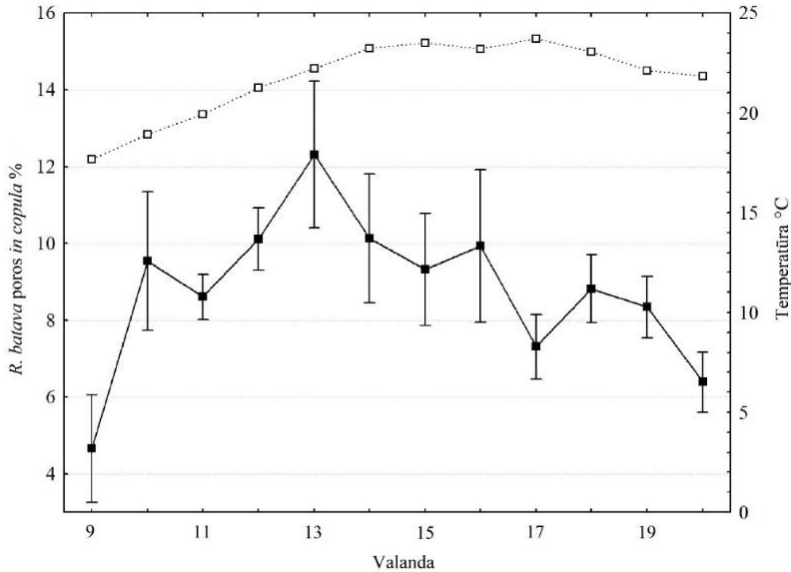
### 3.4. *Rhagoletis batava* feromonas

#### 3.4.1. Poravimosi gamtoje dienos ritmas

Vabzdžių rūšyje tiriant su dauginimusi susijusias tarplytines sąveikas LOJ tikslinga žinoti, kokių paros metu tos rūšies vabzdžiai poruojasi. Poravimosi laikas yra potencialus poravimosi skatinančio feromono skleidimo laikas. *Rhagoletis batava* poravimasis (26 pav.) buvo registruojamas 2015 metais šviesiu paros metu nuo 9 val. iki 20 val. Iš viso *in copula* užregistruotos 1847 poros. Didžiausias poravimosi aktyvumas registruotas 10-19 valandomis (Fišerio LSD testas,  $P < 0,05$ ) (27 pav.). Statistiškai patikimai mažiau kopuliuojančių porų registruota 9 ir 20 valandomis. Registravimų metu oro temperatūra svyravo tarp 18-24 °C (27 pav.), jos poveikis poravimosi dinamikai nenustatytas. Šiuos duomenis palyginus su anksčiau surinktais Mongolijos *R. batava* populiacijos duomenimis (Zhao *et al.*, 2017) pastebima panašumų ir skirtumų.



26 pav. Ant dygliuotojo šaltalankio (*Hippophae rhamnoides*) krūmų kopuliuojančios *Rhagoletis batava* poros.



27 pav. *Rhagoletis batava* poravimosi dienos ritmas. Intervalai iliustruoja vidurkių standartinės paklaidas; juodi kvadratai žymi poras; balti kvadratai žymi oro temperatūrą.

Mongolijoje nustatyta poravimosi trukmė (Zhao *et al.*, 2017) sutampa su nustatyta Lietuvoje. Bet Mongolijos *R. batava* populiacijoje dienoje užregistruoti du poravimosi suaktyvėjimai, kas nesutampa su Lietuvoje gautais duomenimis. Tačiau, Mongolijoje surinktiems duomenims nebuvo atlikta statistinė analizė. Dėl to teigiama, jog *R. batava* poruojasi visu šviesiu paros metu. Nors didžiausias poravimosi aktyvumas nėra aiškiai išreikštas, tačiau poravimosi aktyvumo svyravimams gamtoje įtakos gali turėti orų sąlygų pasikeitimai. Tam tikromis dienomis ir valandomis poravimosi aktyvumas gali būti išreikštas stipriai.

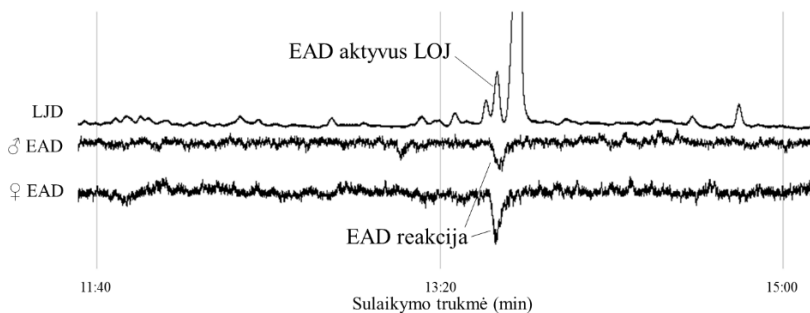
Šie rezultatai parodo, jog tariamas poravimuisi svarbus feromonas ieškotinas visu šviesiu dienos metu.

### 3.4.2. Išskyrimas ir olfaktorinis aktyvumas

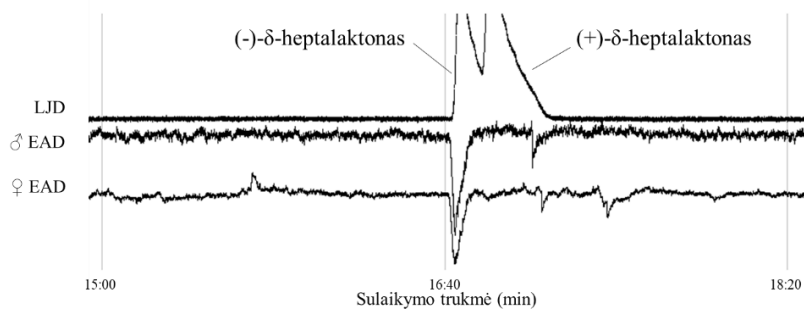
DC-EAD analizė parodė, jog *R. batava* patinai į orą išskiria junginį, kuris olfaktoriskai aktyvus šios rūšies ir patinams, ir patelėms (28 pav.). Patelės išskirtų olfaktoriskai aktyvių junginių nebuvo aptikta.

Minėtas uoslės receptorių reakcijas sukeliantis junginys, naudojant DC-MS, identifikuotas kaip  $\delta$ -heptalaktonas. Yra galimi du šio junginio optiniai

izomerai: (-)- $\delta$ -heptalaktonas ir (+)- $\delta$ -heptalaktonas. Palyginus šių izomerų sintetinių analogų ir patinų išskiriamo  $\delta$ -heptalaktono sulaikymo trukmės nustatyta, kad patinai išskiria optinį izomerą (-)- $\delta$ -heptalaktoną. DC-EAD analizė su šių medžiagų sintetiniais analogais parodė, jog abiejų lyčių musėms olfaktoriškai aktyvus tik (-)- $\delta$ -heptalaktonas, o (+)- $\delta$ -heptalaktonas nėra aktyvus (29 pav.). Apibendrinus gautus duomenis galima teigti, jog *R. batava* patinų išskiriamas (-)- $\delta$ -heptalaktonas gali veikti patinų ir patelių elgseną, o (+)- $\delta$ -heptalaktonas nėra biologiškai svarbus. Po šios analizės (-)- $\delta$ -heptalaktono poveikis *R. batava* elgsenai buvo testuotas laboratorinėmis ir lauko sąlygomis.



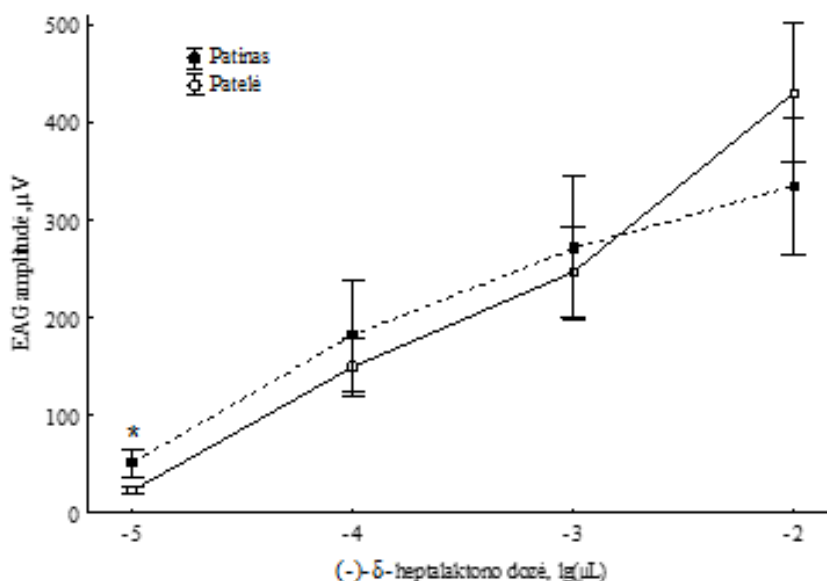
28 pav. *Rhagoletis batava* patinų ir patelių olfaktorinės reakcijos, registruojamos dujų chromatografijos-elektroantenogramų detekcijos (DC-EAD) metodu, gautos į patinų LOJ, registruojamus liepsnos jonizacijos detektoriumi (LJD)



29 pav. *Rhagoletis batava* patinų ir patelių dujų chromatografijos-elektroantenogramų detekcijos (DC-EAD) metodu gautos reakcijos į  $\delta$ -heptalaktono izomerų sintetinius analogus. Olfaktoriškai aktyvus tik (-)- $\delta$ -heptalaktonas.

### 3.4.3. *Rhagoletis batava* uoslės jautrumo (-)- $\delta$ -heptalaktonui lyginamoji analizė

Gauti duomenys parodė, jog (-)- $\delta$ -heptalaktono poveikis *R. batava* patinų ir patelių uoslei priklauso nuo jo dozės (30 pav.). Mažiausios dozės sukėlė mažiausias reakcijas, o dozę didinant reakcijos didėjo (Kruskalo-Voliso kriterijus nepriklausomoms imtims,  $P < 0,05$ ). Patinų ir patelių uoslės jautrumas mažiausiai testuotai dozei skyrėsi – patinai už pateles buvo jautresni (Mano-Vitnio kriterijus,  $P = 0,037$ ). Tarplytiniai uoslės skirtumai didesnėms dozėms, tirtame intervale, nebuvo nustatyti (Mano-Vitnio kriterijus,  $P > 0,05$ ).

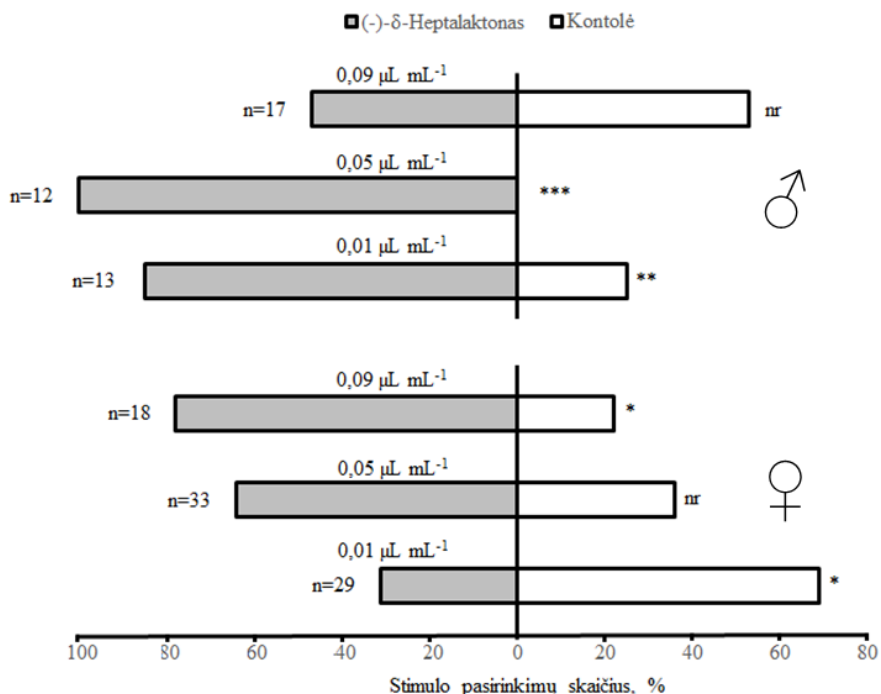


30 pav. *Rhagoletis batava* vidutinės EAG reakcijos ( $\pm$  standartinė paklaida) į skirtingas (-)- $\delta$ -heptalaktono dozes. Intervalai iliustruoja vidurkių standartinės paklaidas; statistškai patikimi lytinio olfaktorinio dimorfizmo skirtumai žymimi \* (Mano-Vitnio kriterijus,  $P = 0,037$ ).

### 3.4.4. Elgesinis testas laboratorinėmis sąlygomis

Laboratorijoje atliktas testas parodė, jog *R. batava* patinų ir patelių elgesinės reakcijos į vienodas (-)- $\delta$ -heptalaktono koncentracijas skiriasi (31 pav.). Didžiausia naudota koncentracija ( $0,09 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) patinų elgsenos neveikė (G-testas,  $P = 0,808$ ), tuo tarpu patelėms toks junginio kiekis buvo atraktyvus (G-testas,  $P = 0,015$ ). Atitinkamai,  $0,05 \mu\text{L mL}^{-1}$  koncentracija patinams buvo

atraktyviausia (G-testas,  $P < 0,001$ ), o patelių elgsenos neveikė (G-testas,  $P = 0,115$ ). Mažiausia testuota koncentracija ( $0,01 \mu\text{L mL}^{-1}$ ) patinus taip pat veikė atraktyviai (G-testas,  $P = 0,009$ ), bet patelėms ji buvo repelentiška (G-testas,  $P = 0,039$ ). Šie rezultatai parodė, jog patinams atraktyvios mažos (-)- $\delta$ -heptalaktono koncentracijos, o patelėms, priešingai – didelės. Toks į olfaktorinius stimulus pasireiškiantis elgesinis lytinis dimorfizmas *Rhagoletis* gentyje stebimas pirmą kartą.

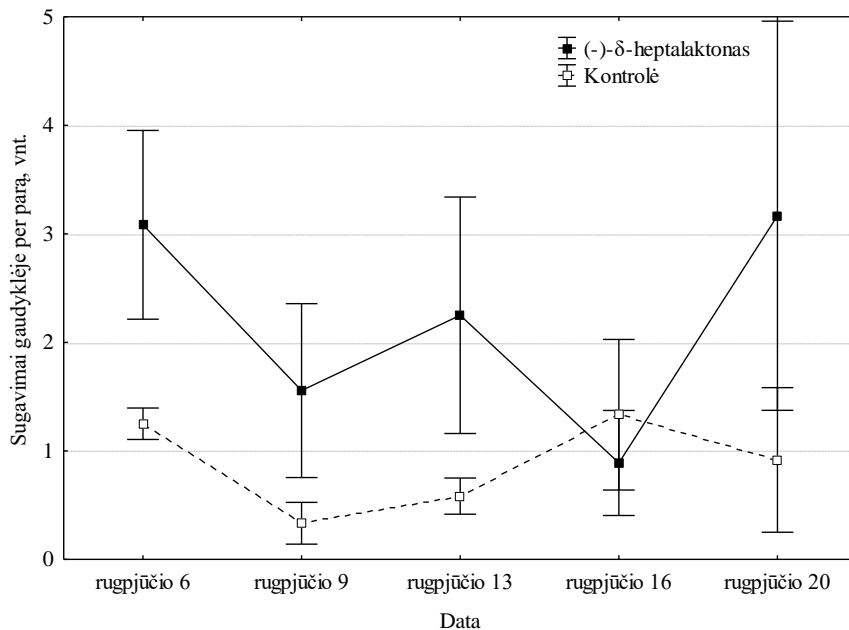


31 pav. *Rhagoletis batava* patinų ir patelių pasirinkimai tarp (-)- $\delta$ -heptalaktono ir kontrolės. \*\*\*  $P < 0,001$ ; \*\*  $P < 0,01$ , \*  $P < 0,05$ , nr – nėra reikšminga remiantis G-testu.

### 3.4.5. Elgesinis testas lauko sąlygomis

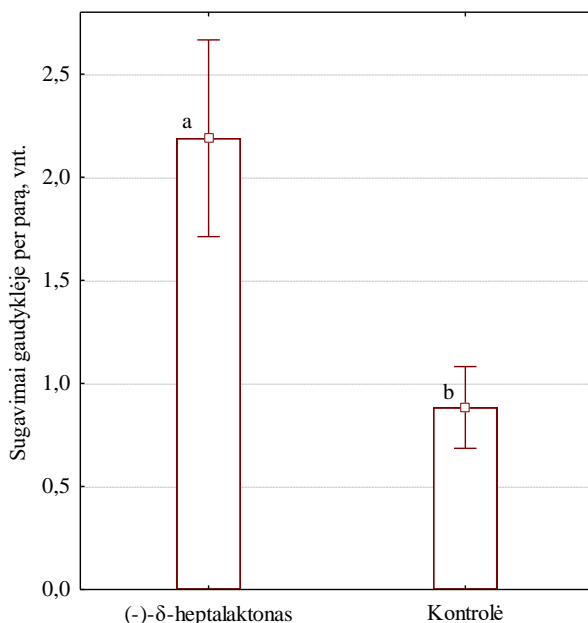
Gaudyklėmis su (-)- $\delta$ -heptalaktonu, buvo pagauti *R. batava* patinai ir patelės (32, 33 pav.). Šie sugavimai 2,5 karto didesni už sugavimus kontrolinėmis gaudyklėmis, o skirtumai statistiškai reikšmingi (Dunkano testas,  $P = 0,018$ ). Tai, jog *R. batava* patinų išskiriamas junginys lauko sąlygomis buvo atraktyvus abiemis musės lytims leidžia daryti išvadą, jog (-)- $\delta$ -heptalaktonas yra *R. batava* agregacinis feromonas. Agregacijos feromonai vabzdžius

skatina sudaryti grupes, kuriose poruojamasi, lengviau išvengiama plėšrūnų, maitinamasi ar visiems kartu lengviau įveikiamas augalo-šeimininko atsparumas (e.g. Ginzl, 2010).



32 pav. *Rhagoletis batava* sugavimų kontrolinėmis gaudyklėmis ir gaudyklėmis su (-)-δ-heptalaktonu dinamika. Intervalai iliustruoja vidurkių standartines paklaidas.





33 pav. *Rhagoletis batava* suminiai sugavimai. Skirtingos raidės žymi statistiškai patikimus skirtumus (Dunkano testas,  $P=0,018$ ); intervalai iliustruoja vidurkių standartines paklaidas.

Bendrai laktonais vadinami cikliniai hidroksirūgšties esteriai. Jie turi deguonies atomą dvigubuoju ryšiu prijungtą prie anglies atomo. Pastarasis anglies atomas yra prijungtas prie kito deguonies atomo, kuris yra uždaros žiedinės struktūros dalis (e.g. Buckle, 2015). Laktonus, kaip semiochemines medžiagas naudoja stuburiniai, nariuotakojai bei bakterijos. Nariuotakojų tarpe žinomi bent 436 pavyzdžiai, kuomet feromonų funkciją atlieka laktonai (Schulz, Hotling, 2015). Tephritidae šeimoje apie cheminę sąveiką laktonais duomenų žinoma iš *Rhagoletis* ir *Anastrepha* genčių. *Rhagoletis completa* patinų išskiriamų  $\delta$ -heptalaktono ir  $\delta$ -heksalaktono mišinys atraktyvus tos pačios rūšies vabzdžiams. Deja, nėra aišku ar abu ar tik vienas iš šių junginių bei visi jų optiniai izomerai yra olfaktoriškai aktyvūs ir vienodai veikia *R. completa* elgseną. Kadangi, lauko bandymais atlikto mišinio atraktyvumo testavimo metu, nebuvo vertinama vabzdžių lytis (Sarles *et al.*, 2017), negalima įvardinti ar šie junginiai yra lytinio, ar agregacinio feromono komponentai. *Anastrepha fraterculus* Wiedemann, *A. ludens* Leow ir *A. suspensa* Leow patinai išskiria laktonus (Battiste *et al.*, 1983; Stokes *et al.*,

1983; Mori, Nakazono, 1988; Nation, 1990; Baker, Heath, 1993; Lima *et al.*, 2001), kuriais patelės priviliojamos prie stimulo skleidimo šaltinio. Manoma, jog patelės priviliojus lytiniu feromonu tolimesnei sąveikai tarp abiejų lyčių naudojami vizualiniai ir akustiniai stimulai. Be minėtų trijų *Anastrepha* rūšių, dar keliose stebėta patinams pasireiškianti feromono skleidimo elgsena. Visų šių tyrimų metu feromonas veikiantis patinų elgseną nebuvo išskirtas ir nustatytas (Tan *et al.*, 2014).

### 3.5. Tyrimo rezultatų apibendrinimas

Šių tyrimų rezultatai praplėtė žinias apie ekonomiškai svarbaus dygliuotojo šaltalankio uogų kenkėjo šaltalankinės musės ekologiją, bei gaudyklų šios rūšies suaugėliams efektyvumo didinimo ypatumus.

Tyrimo metu nustatyta, kad *R. batava* musėms svarbi gaudyklės spalva. Efektyviausia – geltona. Jomis šio kenkėjo pagauta 1,5-7,8 karto daugiau nei kitų testuotų spalvų gaudyklėmis. *McPhail* tipo gaudyklėmis *R. batava* suaugėlių pagaunama apie 3 kartus mažiau nei lipniomis plokštelės formos gaudyklėmis. *Rhagoletis batava* suaugėlių šaltalankio moteriškuose krūmuose pagaunama apie 50 % daugiau nei vyriškuose.

Lietuvoje *R. batava* skraidymo laikotarpis prasideda kuomet aktyvių vidutinių oro temperatūrų suma pasiekia vidutiniškai apie 377 °C, kas paprastai įvyksta birželio pabaigoje-liepos pradžioje. Skraidymo laikotarpis gali tęstis 8 savaites. Jis baigiasi rugpjūčio pabaigoje.

*Rhagoletis batava* užuodžia savo augalo-šeimininko uogas. Viso ne mažiau kaip 20 junginių: žaliose uogose jų yra ne mažiau kaip 17, prinokusiose – ne mažiau kaip 19 tokių junginių. Musių uosle juntami ir su šiomis uogomis susijusių mielių LOJ. Priklausomai nuo mielių rūšies užuodžiamų junginių gali būti nuo 4 iki 10. Šių junginių sintetinių analogų mišinio poveikis elgsenai priklauso nuo koncentracijos: jis gali būti atraktyvus arba poveikio elgsenai nesukelti.

*Rhagoletis batava* poruojasi visu šviesiuoju paros metu, be ryškaus aktyviausio poravimosi laikotarpio. Tyrimų metu nerasta patelių išskiriamų junginių, veikiančių tos pačios rūšies vabzdžių uoslę. LOJ, veikiantį *R. batava* vidurūšinėje sąveikoje, išskiria patinai. Jį užuodžia abiejų lyčių musės ir šis junginys identifiкуotas kaip (-)-δ-heptalaktonas. Jo optinio izomero – (+)-δ-heptalaktono – musės neužuodžia. (-)-δ-Heptalaktono poveikis *R. batava* elgsenai nustatytas laboratorinėmis ir lauko sąlygomis. Laboratorinių biotestų metu musių elgesinės reakcijos priklausė nuo musių lyties ir junginio

kocentracijos. Stebėtos tiek atraktyvios, tiek ir repelentinės reakcijos. Lauko bandymų metu (-)- $\delta$ -heptalaktonas į gaudykles priviliojo abiejų lyčių *R. Batava* suaugėlius, o sugavimai 2,5 karto didesni nei kontrolinėmis gaudyklėmis. Tai, jog vabzdžio išskiriamas junginys yra užuodžiamas ir atraktyvus abiejų lyčių individams, atitinka agregacinio feromono sampratą, todėl (-)- $\delta$ -heptalaktonas yra *R. batava* agregacinis feromonas. Tai perspektyvus *R. batava* rūšiai olfaktorinis atraktantas, kadangi yra selektyvus (selektyvumu pasižymi visi feromonai) ir gali pagerinti šių vabzdžių monitoringo ir kontrolės, atliekamos gaudyklėmis, galimybes. Šio tyrimo rezultatai sudaro tvirtą pamatą tolimesniems tyrimams, tokiems kaip didžiausią atraktyvumą sukeliančios dozės nustatymas, atraktyvumo laipsnio priklausomybė nuo poravimosi patirties ar galimo sinergetinio atraktyvumo poveikio sukėlimas junginį naudojant kartu su kitais olfaktoriniais stimulais, reikalingų augalų apsaugos nuo kenkėjų praktinių uždavinių sprendimui.

## IŠVADOS

1. *Rhagoletis batava* Hering (Diptera) sugavimai gaudyklėmis priklauso nuo gaudyklių spalvos, konstrukcijos ir augalo-šeimininko lyties: atraktyviausia – geltona spalva, kuri privilioja nuo 1,5 iki 7,8 karto daugiau suaugėlių nei kitos 6 tirtos spalvos; lipnios plokščios gaudyklės yra apie 3 kartus efektyvesnės už McPhail konstrukcijos gaudykles; moteriškuose augalo-šeimininko krūmuose sugavimai 2 kartus didesni nei vyriškuose.

2. *Rhagoletis batava* suaugėlių skraidymo sezoninei dinamikai būdinga: trukmė – apie 8 savaitės (nuo birželio pabaigos iki rugpjūčio pabaigos), didžiausias aktyvumas vidutiniškai trunka apie 12 dienų (nuo liepos vidurio iki rugpjūčio pradžios).

3. *Rhagoletis batava* suaugėliai pradeda skraidyti Lietuvos klimato sąlygomis, kai efektyvių temperatūrų (vidutinė paros temperatūra virš +10 °C) suma pasiekia 377,7±5,5 °C.

4. *Rhagoletis batava* suaugėliai užuodžia ne mažiau kaip 20 augalo-šeimininko (dygliuotojo šaltalankio, *Hippophae rhamnoides*), uogų lakiųjų organinių junginių: žaliose uogose yra ne mažiau kaip 17, prinokusiose – ne mažiau kaip 19 tokių junginių.

5. *Rhagoletis batava* suaugėliai užuodžia su šaltalankio uogomis susijusių mielių lakiuosius organinius junginius: mielių *Hanseniaspora uvarum* – 8, *Metschnikowia pulcherrima* – 4, *Pichia kudriavzevii* – 10 junginių.

6. Su šaltalankio uogomis susijusių mielių 9 lakiųjų junginių (etilacetatas, etilpropionatas, 3-metilbutilacetatas, 3-metilbutilpropionatas, 3-metilbutanolis, etilheksanoatas, etiloktanoatas, 2-feniletilacetatas ir 2-feniletanolis) mišinys *R. batava* suaugėliams yra atraktyvus.

7. *Rhagoletis batava* poruojasi šviesiuoju paros metu be ryškaus aktyviausiojo laiko tarpsnio.

8. *Rhagoletis batava* patinai į orą išskiria (-)-δ-heptalaktoną, kuris sukelia olfaktorinių receptorių bei elgesines reakcijas abiejų lyčių individams ir yra atraktyvus, t.y. veikia kaip agregacinis feromonas.

## LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Agee H. R., Boller E., Remund U., Davis Dr. J. C., Chambers D. L. 1982. Spectral sensitivities and visual attractant studies on the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), olive fly, *Dacus oleae* (Gmelin), and the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* (L.) (Diptera, Tephritidae). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 93, 1-5: 403-412.
2. Allen W. R., Hagley E. A. C. 1990. Epigeal Arthropods as Predators of Mature Larvae and Pupae of the Apple Maggot (Diptera: Tephritidae). *Environmental Entomology*, 19, 2: 309-312.
3. Alonso-Pimentel H., Papaj D. J. 1996. Operational sex ratio versus gender density as determinants of copulation duration in the walnut fly, *Rhagoletis juglandis* (Diptera: Tephritidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39, 3: 171-180.
4. Alonso-Pimentel H., Spangler H. G., Rogers R., Papaj D. R. 2000. Acoustic Component and Social Context of the Wing Display of the Walnut Fly *Rhagoletis juglandis*. *Journal of Insects Behavior*, 13, 4: 511-524.
5. Aluja M., Boller E. F. 1992. Host marking pheromone of *Rhagoletis cerasi*: Foraging behavior in response to synthetic pheromonal isomers. *Journal of Chemical Ecology*, 18, 8: 1299-1311.
6. Arguello J. R., Sellanes C., Lou Y. R., Raguso R. A. 2013. Can yeast (*S. cerevisiae*) metabolic volatiles provide polymorphic signaling? *Plos One*, 8: e70219.
7. Averill A. L., Prokopy R. J. 1987a. Intraspecific Competition in the Tephritid Fruit Fly *Rhagoletis pomonella*. *Ecology*, 64, 4: 878-886.
8. Averill A. L., Prokopy R. J. 1987b. Residual activity of oviposition-detering pheromone in *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) and female response to infested fruit. *Journal of Chemical Ecology*, 13, 1: 167-177.
9. Baker C. R. B., Miller G. W. 1978. The effect of temperature on the post-diapause development of four geographical populations of the European cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi*). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 23, 1: 1-13.
10. Baker J. D., Heath R. R. 1993. NMR spectral assignment of lactone pheromone components emitted by Caribbean and Mexican fruit flies. *Journal of Chemical Ecology*, 19, 7: 1511-1519.

11. Bal L. M., Meda V., Naik S. N., Satya S. 2011. Sea buckthorn berries: a potential source of valuable nutrients for nutraceuticals and cosmeceuticals. *Food Research International*, 44 (7): 1718-1727.
12. Barry J. D., Polavarapu S. 2004. Feeding Activity and Attraction of Blueberry Maggot (Diptera: Tephritidae) to Protein Baits, Ammonium Acetate, and Sucrose. *Journal of Economic Entomology*, 97, 4: 1269-1277.
13. Battiste M. A., Streckowski L., Vanderbilt D. P., Visnick M., King R. W. 1983. Anastrephin and epianastrephin, novel lactone components isolated from the sex pheromone blend of male Caribbean and Mexican fruit flies. *Tetrahedron Letters*, 24, 26: 2611-2614.
14. Becher P. G., Flick G., Rozpedowska E., Schmidt A., Hagman A., Lebreton S., Larsson M. C., Hansson B. S., Puškur J., Witzgall P., Bengtsson M. 2012. Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. *Functional Ecology*, 26: 822-828.
15. Bewick V., Cheek L., Ball J. 2004. Statistics review 9: one-way analysis of variance. *Critical Care*, 8: 130-136.
16. Biasazin T. D., Chernet H. T., Herrera S. L., Bengtsson M., Karlsson M. F., Lemmen-Lechelt J., Dekker T. 2018. Deception of volatile constituents from food lures by Tephritid fruit flies. *Insects*, 9, 119:
17. Blažytė-Čereškienė L., Apšegaitė V., Radžiutė S., Mozūraitis R., Būda V., Pečiulytė D. 2016. Electrophysiological and behavioural responses of *Ips typographus* (L.) to trans-4-thujanol – a host tree volatile compound. *Annals of Forest Science*, 73: 247-256.
18. Bolker B. M., Brook M. E., Clark C. J., Geange S. W., Poulsen J. R., Stevens M. H. H., White J.-S. S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution, 24, 3: 127-135.
19. Boller E. F., Katsoyannos B. I., Hippe C. 1998. Host races of *Rhagoletis cerasi* L. (Dipt., Tephritidae): Effect of prior adult experience on oviposition site preference. *Journal of Applied Entomology*, 122, 1-5: 231-237.
20. Boller E. F., Prokopy R. J. 1976. Bionomics and management of *Rhagoletis*. *Annual review of entomology*, 21: 223-246.
21. Buckle J. 2015. Basic Plant Taxonomy, Basic Essential Oil Chemistry, Extraction, Biosynthesis, and Analysis. *Clinical Aromatherapy Essential Oils in Healthcare* (3<sup>rd</sup> Edition). London: Elsevier, p. 37-72.

22. Bush. G. L. 1992. Host Race Formation and Sympatric Speciation in *Rhagoletis* Fruit Flies (Diptera: Tephritidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 99, 4: 335-357.
23. Čekanavičius V., Murauskas G. 2008. *Statistika ir jos taikymas II*.
24. Cha D. H., Olsson S. B., Yee W. L., Goughnour R. B., Hood G. R., Mattsson M., Schwarz D., Feder J. R., Linn Jr C. E. 2017. Identification of Host Fruit Volatiles from Snowberry (*Symphoricarpos albus*), Attractive to *Rhagoletis zephyria* Flies from the Western United States. *Journal of Chemical Ecology*, 43, 2:188-197.
25. Cha D. H., Adams T., Rogg H., Landolt P. J. 2012c. Identification and field evaluation of fermentation volatiles from wine and vinegar that mediate attraction of Spotted Wing Drosophila, *Drosophila suzukii*. *Journal of Chemical Ecology*, 38: 1419-1431.
26. Cha D. H., Powell T. H. Q., Feder J. L., Linn Jr C. E. 2011a. Identification of Host Fruit Volatiles from Three Mayhaw Species (*Crataegus* Series *Aestivales*) Attractive to Mayhaw-Origin *Rhagoletis pomonella* Flies in the Southern United States. *Journal of Chemical Ecology*, 37, 9: 961-973.
27. Cha D. H., Powell T. H. Q., Feder J. L., Linn Jr C. E. 2011b. Identification of Fruit Volatiles from Green Hawthorn (*Crataegus viridis*) and Blueberry Hawthorn (*Crataegus brachyacantha*) Host Plants Attractive to Different Phenotypes of *Rhagoletis pomonella* Flies in the Southern United States. *Journal of Chemical Ecology*, 37, 9: 974-983.
28. Cha D. H., Powell T. H. Q., Feder J. L., Linn Jr C. E. 2012a. Geographic variation in fruit volatiles emitted by the hawthorn *Crataegus mollis* and its consequences for host race formation in the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 143: 254-268.
29. Cha D. H., Tee W. L., Goughnour R. B., Sim S. B., Powell T. H., Feder J. L., Linn Jr C. E. 2012b. Identification of Host Fruit Volatiles from Domestic Apple (*Malus domestica*), Native Black Hawthorn (*Crataegus douglasii*) and Introduced Ornamental Hawthorn (*C. monogyna*) Attractive to *Rhagoletis pomonella* Flies from the Western United States. *Journal of Chemical Ecology*, 28: 319-329.
30. Christenson L. D., Foote R. 1960. Biology of fruit flies. Annual review of entomology, 5: 171-192.
31. Christiaens J. F., Franco L. M., Cools T. L., De Meester L., Michiels J., Wenseleers T., Hassan B. A., Yaksi E., Verstrepen K. J. 2014. The fungal

aroma gene ATF1 promotes dispersal of yeast cells through insect vectors. *Cell Reports*, 9: 425-32.

32. Clarke J. T., Warnock R. C. M., Donoghue P. C. J. 2011. Establishing a time-scale for plant evolution. *New Phytologist*, 192: 266-301.

33. Cossentine J., Thislewood H., Goettel M., Jaronski S. 2010. Susceptibility of preimaginal western cherry fruit fly, *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) to *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin Clavicipitaceae (Hypocreales). *Journal of Invertebrate Pathology*, 104, 2:105-109.

34. Crowley-Gall A., Date P., Han C., Rhodes N., Andolfatto P., Layne J. E., Rollmann S. M. 2016. Population differences in olfaction accompany host shift in *Drosophila mojavensis*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283: e20161562.

35. Dambroski H. R., Feder J. L. 2007. Host plant and latitude-related diapause variation in *Rhagoletis pomonella*: a test for multifaceted life history adaptation on different stages of diapause development. *Journal of Evolutionary Biology*, 20: 2101-2112.

36. Daniel C., Grunder J. 2012. Integrated Management of European Cherry Fruit Fly *Rhagoletis cerasi* (L.): Situation in Switzerland and Europe. *Insects*, 3: 956-988.

37. Daniel. C. 2015. Experiences of integrated management of European Cherry Fruit Fly (*Rhagoletis cerasi*) and how to utilize this knowledge for Sea Buckthorn Fly (*Rhagoletis batava*). Producing Sea Buckthorn of High Quality. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> European Workshop on Sea Buckthorn EuroWorkS2014. Finland, Helsinki, Natural Resources Institute.

38. Date P., Dweck H. K. M., Stensmyr M. C., Shann J., Hansson B. S., Rollmann S. M. 2013. Divergence in olfactory host plant preference in *D. mojavensis* in response to cactus host use. *Plos One*, 8: e70027.

39. Davis J. M., Coogan L. E., Papaj D. R. 2015. Big maggots dig deeper: size-dependent larval dispersal in flies. *Oecologia*, 179, 1: 55-62.

40. Ebert B. E., Halbfeld C., Blank L. M. 2017. Exploration and exploitation of the yeast volatilome. *Current Metabolomics*, 205: 102-108.

41. Egan S. P., Ragland G. J., Assour L., Powell T. H. Q., Hood G. R., Emrich S., Nosil P., Feder J. L. 2015. Experimental evidence of genome-wide impact of ecological selection during early stages of speciation-with-gene-flow. *Ecology Letters*, 18: 817-825.



42. Feder J. L., Hunt T. A., Bush L. 1993. The effects of climate, host plant phenology and host fidelity on the genetics of apple and hawthorn infesting races of *Rhagoletis pomonella*. *Entomologi Experimentalis et Applicata*, 69, 2: 117-135.
43. Fein B. L., Reissig W. H., Rollofs W. L. 1982. Identification of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 8, 12: 1473-1487.
44. Forbes A. A., Fisher J., Feder J. L. 2005. Habitat avoidance: overlooking an important aspect of host-specific mating and sympatric speciation? *Evolution*, 59, 7: 1552-1559.
45. Forbes A. A., Powell T. H., Stelinski L. L., Smith J. J., Feder J. L. 2009. Sequential sympatric speciation across trophic levels. *Science*, 323, 5915: 776-779.
46. Frias-Lasserre D. 2015. Effects of Female fruit-marking Pheromones on Oviposition, Mating, and Male Behavior in the Neotropical Species *Rhagoletis conversa* Brethes and *Rhagoletis brincki* Frias (Diptera: Tephritidae). *Neotropical Entomology*, 44, 6: 560-564.
47. Frias-Lasserre D., Malavasi A., Mormante J. 1984. Field Observations of Distribution and Activities of *Rhagoletis conversa* (Diptera: Tephritidae) on Two Hosts in Nature. *Annals of the Entomological Society of America*, 77, 5: 548-551.
48. Ganter P. F. 2006. Yeast and invertebrate associations. Augusto R. C, Gábor P (redact.). *Biodiversity and ecophysiology of yeasts*. Berlin: Springer, p. 303-70.
49. Gudžinskas Z. 1998. Conspectus of alien plant species of Lithuania. 8. *Aceraceae, Balsaminaceae, Elaeagnaceae, Geraniaceae, Hippocastanaceae, Linaceae, Lythraceae, Onagraceae, Oxalidaceae, Rutaceae, and Vitaceae*. *Botanica Lithuanica*, 4, 4:363-377.
50. Hamby K. A., Becher P. G. 2016. Current knowledge of interactions between *Drosophila suzukii* and microbes, and their potential utility for pest management. *Journal of Pest Science*, 89: 621-630.
51. Hare D. J. 2000. Bioassay methods with terrestrial invertebrates. Millar J. G, Haynes K. F (eds) *Methods in chemical ecology: bioassay methods*.
52. Hendrichs J., Lauzon C. R., Cooley S. S., Prokopy R. J. 1993. Contribution of Natural Food Sources to Adult Longevity and Fecundity of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 86, 3: 250-264.

53. Henneman M. L., Papaj D. R. 1999. Role of host fruit color in the behavior of the walnut fly *Rhagoletis juglandis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 93: 249-258.
54. Hering E. M. 1958. Zwei neue palaarktische *Rhagoletis* (Dipt., Trypet.). *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde*, 7:1-4.
55. Hohne F. 2015. Producing Sea Buckthorn of High Quality. *Proceedings of the 3rd European Workshop on Sea Buckthorn EuroWorkS2014*. Finland, Helsinki, Natural Resources Institute.
56. Holighaus G, Rohlf M. 2016. Fungal allelochemicals in insect pest management. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100: 5681-5689.
57. Hu K., Jin G.-J., Xu Y.-H., Tao Y.-S. 2018. Wine aroma response to different participation of selected *Hanseniaspora uvarum* in mixed fermentation with *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Research International*, 10.1016/j.foodres.2018.03.037.
58. Hurter J., Boller E. F., Stadler E., Blattmann B., Buser H.R., Bosshard N. U., Damn L., Kozłowski M. W., Schoni R., Raschdorf F., Dahinden R., Schlumpf E., Fritz H., Richter W. J., Schreiber J. 1987. Oviposition-detering pheromone in *Rhagoletis cerasi* L.: Purification and determination of the chemical constitution. *Experientia*, 43: 157-164.
59. Ivinskis P., Jonaitis V., Rimšaitė J., Ferenca R. 2004. Neris regioninio parko vabzdžių įvairovė ir apsauga [Species diversity and protection of insects in Neris regional park. 10-oji mokslinė konferencija "Žmogaus ir gamtos sauga", Kaunas, Lietuva, gegužės 20-22: 163-166.
60. Janson E. M., Stireman J. O., Singer M. S., Abbot P. 2008. Phytophagous insect-microbe mutualisms and adaptive evolutionary diversification. *Evolution*, 62: 997-1012.
61. Jonaitis V. 1991. 110 ichneumonid (Hymenoptera, Ichneumonidae) species to Lithuania found in 1990. New and Rare for Lithuania Insect Species, 11: 30-41.
62. Kasana A., AliNiazee M. T. 1994. Effect of constant temperatures on development of the walnut husk fly, *Rhagoletis completa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 73, 3: 247-254.
63. Kasana A., Aliniabee M. T. 1995. Ovipositional preferences of the walnut husk fly, *Rhagoletis completa* (Diptera: Tephritidae) on various fruits, vegetables and varieties of walnuts. *Journal of the Entomological Society of British Columbia*, 92: 3-7.

64. Katsoyannos B. I. 1975. Oviposition-detering, Male-arresting, Fruit-marking Pheromone in *Rhagoletis cerasi*. Environmental Entomology 4, 5: 801-807.
65. Katsoyannos B. I. 1976. Female Attraction to Males in *Rhagoletis cerasi*. Environmental Entomology, 5, 3: 474-476.
66. Katsoyannos B. I. 1982. Male sex pheromone of *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera, Tephritidae): Factors affecting release and response and its role in the mating behavior. Zeitschrift fur Angewandte Entomologie, 94, 1-5: 187-198.
67. Kaur T., Singh G., Kapoor D. N. 2017. A review on pharmacognostic, phytochemical and pharmacological data of various species of *Hippophae* (Sea buckthorn). International Journal of Green Pharmacy, 11, 1: s62.
68. Kolomic N. G. 1970. New subspecies of *Rhagoletis batava* Hg. (Diptera, Tephritidae) from Siberia. Novye i maloizvestnye vidy fauny Sibiri, 3: 40-52.
69. Koppler K., Kaffer T. Vogt H. 2008. Bait sprays against the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi*: Status Quo & Perspectives. Ecofruit - 13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference from 18th February to 20th February 2008 at Weinsberg/Germany: 102-108.
70. Koppler K., Kaffer T., Vigt H. 2009. Substantial progress made in the rearing of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*. Entomologia Experimentalis et Applicata 132: 283-288.
71. Korneyev V. A., Mishustin R. I., Korneyev S. V. 2017. The Carpomyini fruit flies (Diptera: Tephritidae) of Europe, Caucasus, and Middle East: new records of pests, with improved keys. Vestnik zoologii, 51 ,6: 453-470.
72. Laing J. E., Heraty J. M. 1984. The use of degree-days to predict emergence of the apple maggot, *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae), in Ontario. The Canadian Entomologist, 116, 8: 1123-1129.
73. Leblanc L., Vargas R.I., Rubinoff D. 2010. Captures of pest fruit flies (Diptera: Tephritidae) and nontarget insects in biolure and torula yeast traps in Hawaii. Environmental Entomology, 39: 1626-1630.
74. Li T. S. C., Schroeder W. R. 1996. Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.): a multipurpose plant. HortTechnology, 6, 4: 370-380.
75. Lima I. S., House P. E., do Nascimento R. R. 2001. Volatile Substances from Male *Anastrepha fraterculus* Wied. (Diptera: Tephritidae):

Identification and Behavioural Activity. Journal of the Brazilian Chemical Society, 12, 2: 196-201.

76. Lindeman R. L., 1991. The trophic-dynamic aspect of ecology. Bulletin of Mathematical Biology, 53:167-191.

77. Linn Jr C. E., Dambroski H., Nojima S., Feder J. L., Berlocher S. H., Roelofs W. L. 2005b. Variability in response specificity of apple, hawthorn, and flowering dogwood-infesting *Rhagoletis* flies to host volatile blends: implications for sympatric host shifts. Entomologia Experimentalis et Applicata 116: 55-64.

78. Linn Jr C. E., Feder J. L., Nojima S., Dambroski H. R., Berlocher S. H., Roelofs W. 2003. Fruit odor discrimination and sympatric host race formation in *Rhagoletis*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 100, 20: 11490-11493.

79. Linn Jr C. E., Nojima S., Roelofs W. 2005a. Antagonist effects of non-host fruit volatiles on discrimination of host fruit by *Rhagoletis* flies infesting apple (*Malus pumila*), hawthorn (*Crataegus* spp.), and flowering dogwood (*Cornus florida*). Entomologia Experimentalis et Applicata 114: 97-105.

80. Louis M., Schoonhoven L. M, van Loon J. J. A., Dicke M. 2005. Insect-Plant Biology. USA, Oxford University Press.

81. Lukša J., Vepštaitė-Monstavičė I., Yurchenko V., Serva S., Servienė E. 2018. High content analysis of sea buckthorn, black chokeberry, red and white currants microbiota – A pilot study. Food Research International, 111: 597-606.

82. Lutovinovas E. 2015. New data on the fruit flies in Lithuania (Diptera: Tephritidae). New and rare for Lithuania insect species, 26: 62-72.

83. Macavei L. I., Oltean I., Vasian I., Florian T., Varga M., Baetan R., Mitre V., Maistrello L. 2018. Potential for Attractive Semiochemical Lures in *Rhagoletis cerasi* (L.) Management: A Field Study. Journal of the Entomological Research Society 20, 1: 1-9.

84. Madden A. A., Epps M. J., Fukami T., Irwin R. E., Sheppard J., Sorger D. M., Dunn R. R. 2018. The ecology of insect-yeast relationships and its relevance to human industry. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 285: e20172733.

85. Mayer D. F., Long L. E., Smith T. J., Olsen J., Riedl H., Heath R. R., Leskey T. C., Prokopy R. J. 2000. Attraction of Adult *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) to Unbaited and Odor-baited Red Spheres and Yellow Rectangles. Journal of Economic Entomology, 93, 2: 347-351.

86. Mesquita P. R. R., Magalhaes-Junior J. T., Cruz M. A., Novais H. O., Santos J. R. J., Carvalho S. L., Rodrigues F. M., Barbosa C. J., Bravo I. S. J., Nascimento A. S. 2018. Sources of protein as food baits for *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae): tests in a wind tunnel and the field. *Florida Entomologist*, 101: 20-24.
87. Messina F. J., Alston D. G., Jones V. P. 1991. Oviposition by the Western Cherry Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) in Relation to Host Development. *Journal of the Kansas Entomological Society*, 64, 2: 197-208.
88. Mohamadzade Namin S., Rasoulian G. R. 2009. A review of fruit flies of the genus *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae) of Iran and bordering countries, with the key to species. *Vestnik zoologii*, 43, 1: e-25-e-30.
89. Monteith L. G. 1971. Crickets as predators of the apple maggot, *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *The Canadian Entomologist*, 103, 1: 52-58.
90. Mori B. A., Whitener A. B., Leinweber Y., Revadi S., Beers E. H., Witzgall P., Becher P. G. 2017. Enhanced yeast feeding following mating facilitates control of the invasive fruit pest *Drosophila suzukii*. *Journal of Applied Ecology*, 54: 170-177.
91. Mori K., Nakazono Y. 1988. Pheromone synthesis, CV. Synthesis of Lactone Components of the Pheromone of *Anastrepha suspensa*, Suspensolide, and the Enantiomers of Anastrephin and Epianastrephin. *Liebigs Annalen der Chemie*: 167-174
92. Nation J. L. 1990. Biology of pheromone release by male Caribbean fruit flies, *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Chemical Ecology*, 16, 2: 553-572.
93. Navarro-Llopis V., Vacas S. 2014. Mass trapping for fruit fly control. Shelly T. et al. (eds). *Trapping and the detection, control, and regulation of tephritid fruit flies*. Springer, p. 513-555.
94. Neilson W. T. A. 1962. Effects of Temperature on Development of Overwintering Pupae of the Apple Maggot, *Rhagoletis pomonella* (Walsh). *The Canadian Entomologist*, 94, 9: 924-928.
95. Neilson W. T. A. 1967. Development and mortality of the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*, in crab apples. *The Canadian Entomologist*, 99, 2: 217-219.
96. Neilson W. T. A., Knowlton A. D., McRae K. B. 1981. Preoviposition and oviposition periods of the apple maggot *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). *The Canadian Entomologist*, 113, 12: 1061-1067.

97. Nel A., Roques P., Nel P., Prokin A. A., Bourgoïn T., Prokop J., Szwedó J., Azar D., Desutter-Grandcolas L., Wappler T., Garrouste R., Coty D., Huang D., Engel S. M., Kirejtshuk A. G. 2013. The earliest known holometabolous insects. *Nature*, 503: 257-261
98. Nemcova K., Breietová E., Vadkertiova R., Molnarova J. 2015. The diversity of yeasts associated with grapes and musts of the Strekov winegrowing region, Slovakia. *Folia Microbiologica*, 60, 2: 103-109.
99. Nojima S., Linn Jr C., Morris B., Zang A., Roelofs W. 2003a. Identification of Host Fruit Volatiles from Hawthorn (*Crataegus* spp.) Attractive to Hawthorn-Origin *Rhagoletis pomonella* Flies. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 2: 321-336.
100. Nojima S., Linn Jr C., Roelofs W. 2003b. Identification of Host Fruit Volatiles from Flowering Dogwood (*Cornus florida*) Attractive to Dogwood-Origin *Rhagoletis pomonella* Flies. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 10: 2347-2357.
101. Nyanga L. K., Nout M. J. R., Smid E. J., Boekhout T., Zwietering M. H. 2013. Fermentation characteristics of yeasts isolated from traditionally fermented masau (*Ziziphus mauritiana*) fruits. *International Journal of Food Microbiology*, 166: 426-32.
102. Oatman E. R. 1964. Apple Maggot Trap and Attractant Studies. *Journal of Economical Entomology*, 57, 4: 529-531.
103. Olsson S. B., Linn Jr C. E., Feder J. L., Michel A., Dambroski H. R., Berlocher S. H., Roelofs W. L. 2009. Comparing Peripheral Olfactory Coding with Host Preference in the *Rhagoletis* Species Complex. *Chemical Senses*, 34, 1: 37-48.
104. Opp S. B., Ziegner J., Bui N., Prokopy R. J. 1990. Factors Influencing Estimates of Sperm Competition in *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 83, 3: 521-526.
105. Ovruski S. M., Wharton R. A., Rull J., Guillen L. 2007. *Aganaspis alujai* (Hymenoptera: Figitidae: Eucoilinae), a New Species Attacking *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae) in the Neotropical Region. *Florida Entomologist*, 90, 4: 626-634.
106. Pakalniškis S., Rimšaitė J., Sprangauskaitė-Bernotienė R., Butautaitė R., Podėnas S. 2000. Checklist of Lithuania Diptera. *Acta Zoologica Lituonica*, 10, 1: 3-58.

107. Papaj D. R. 1994. Oviposition site guarding by male walnut flies and its possible consequences for mating success. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 34: 187-195.
108. Papaj D. R. 2005. Ovarian dynamics in relation to host quality in the Walnut-infesting Fly, *Rhagoletis juglandis*. *Functional Ecology*, 19: 396-404.
109. Papaj D. R., Garcia J. M., Alonso-Primentel H. 1996 Marking of Host Fruit by Male *Rhagoletis boycei* Cresson Flies (Diptera: Tephritidae) and Its Effect on Egg-Laying. *Journal of Insect Behavior*, 9, 4: 585-598.
110. Pelz-Stelinski K. S., Gut L. J., Isaacs R. 2006. Behavioral Responses of *Rhagoletis cingulata* (Diptera: Tephritidae) to GF-120 Insecticidal Bait Enhanced with Ammonium Acetate. *Journal of Economic Entomology*, 99, 4: 1316-1320.
111. Pelz-Stelinski K. S., Gut L. J., Soelinski L. L., Liburd O. E., Issacs R. 2005. Captures of *Rhagoletis mendax* and *R. cingulata* (Diptera: Tephritidae) on Sticky Traps Are Influenced by Adjacent Host Fruit and Fruit Juice Concentrates. *Environmental Entomology*, 34, 5: 1013-1018.
112. Pickett A. D., Neary M. E. 1940. Further Studies on *Rhagoletis pomonella* (Walsh). *Scientific Agriculture*, 20, 10: 551-556.
113. Piper A. M., Farnier K., Linder T., Speight R., Cunningham J. P. 2017. Two gut-associated yeasts in a tephritid fruit fly have contrasting effects on adult attraction and larval survival. *Journal of Chemical Ecology*, 43: 891-901.
114. Powell T. H. Q., Cha D. H., Linn Jr C. E., Feder J. L. 2012. On the scent of standing variation for speciation: behavioral evidence for native sympatric host races of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) in the southern United States. *Evolution*, 66, 9: 2739-2756.
115. Prokopy R. J. 1972. Evidence for a Marking Pheromone Detering Repeated Oviposition in Apple Maggot Flies. *Environmental Entomology*, 1, 3: 326-332.
116. Prokopy R. J. 1975a. Mating behavior in *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae): V. Virgin female attraction to male odor. *The Canadian Entomologist*, 107, 8: 905-908.
117. Prokopy R. J. 1975b. Selective New Trap for *Rhagoletis cingulata* and *R. pomonella* Flies. *Environmental Entomology*, 4, 3: 420-424.
118. Prokopy R. J., Bennett E. W., Bush G. L. 1972. Mating behavior in *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae): II. Temporal organization. *The Canadian Entomologist*, 104, 1: 97-104.

119. Prokopy R. J., Bush G. L. 1972. Mating behavior in *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae): IV. Male aggregation in response to an arrestant. *The Canadian Entomologist*, 104: 275-283.
120. Prokopy R. J., Bush G. L. 1973. Mating behavior in *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae): IV. Courtship. *The Canadian Entomologist*, 105, 6: 873-891.
121. Prokopy R. J., Diehl S. R., Cooley S. S. 1988. Behavioral evidence for host races in *Rhagoletis pomonella* flies. *Oecologia*, 76: 138-147.
122. Prokopy R. J., Papaj D. R. 1989. Can Ovipositing *Rhagoletis pomonella* Females (Diptera: Tephritidae) Learn to Discriminate among Different Ripeness Stages of the Same Host Biotype? *The Florida Entomologist*, 72, 3: 489-494.
123. Prokopy R. J., Websyer R. P. 1978. Oviposition-detering pheromone of *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 4, 4: 481-494.
124. Prokopy, R. J. 1968. Orientation of the apple maggot flies *Rhagoletis pomonella* (Walsh) and European cherry fruit flies *R. cerasi* L. (Diptera: Tephritidae) to visual stimuli. In *Proceedings of the 13 International Congress of Entomology*, 2-9 August, Moscow, Russia, 34-35.
125. Quilici S., Atiama-Nurbel T., Brevault T. 2014. Plant odors as fruit fly attractant. Shelly T et al. (ed) *Trapping and the detection, control and regulation of Tephritid fruit flies*.
126. Raptopoulos D., Haniotakis G., Koutsaftikis A., Kelly D., Mavraganis V. 1995. Biological activity of chemicals identified from extracts and volatiles of male. *Journal of Chemical Ecology*, 21, 9: 1287-1297.
127. Rempoulakis P., Sela (Saldinger S., Nemny-Lavy E., Pinto R., Birke A., Nestel D. 2017. Microbial composition affects the performance of an artificial Tephritid larval diet. *Bulletin of Entomological Research*, 108, 4: 434-441.
128. Rolland T, Dujon B. 2011. Yeasty clocks: Dating genomic changes in yeasts. *Comptes Rendus Biologies*, 334: 620-628.
129. Ruan C.-J., da Silva J. A. T., Jin H., Li H., Li D.-Q. 2007. Research and biotechnology in sea buckthorn (*Hippophae* spp.). *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 1, 1: 47-60.
130. Rull J., Lasa R., Guillen L., Aluja M. 2019. The Effect of Winter Length on Duration of Dormancy and Survival of *Rhagoletis completa* (Diptera: Tephritidae) and Associated Parasitoids from Northeastern Mexico. *Journal of Insect Science*, 19, 3: 7; 1-7.



131. Rull J., Wharton R., Feder J. L., Guillen L., Sivinski J., Forbes A., Aluja M. 2009. Latitudinal Variation in Parasitoid Guild Composition and Parasitism Rates of North American Hawthorn Infesting *Rhagoletis*. *Environmental Entomology*, 38, 3: 588-599.
132. Sarles L., Boullis A., Fassotte B., Lognay G., Verhaeghe A., Francis F., Verheggen F. J. 2017. Identification of walnut husk (*Juglans regia* L.) volatiles and the behavioural response of the invasive Walnut Husk Fly, *Rhagoletis complete* Cresson. *Pest Management Science*, 73, 10: 2100-2104.
133. Sarles L., Verhaeghe A., Francis F., Verheggen F. J. 2015. Semiochemicals of *Rhagoletis* fruit flies: Potential for integrated pest management. *Crop Protection*, 78: 114-118.
134. Scheidler N. H., Liu C., Hamby K. A., Zalom F. G., Syed Z. 2015. Volatile codes: Correlation of olfactory signals and reception in Drosophila-yeast chemical communication. *Scientific Reports*, 5: e14059.
135. Schulz S., Hotling S. 2015. The use of the lactone motif in chemical communication. *Natural Product Reports*, 32: 1042-1066.
136. Shalkevich M. S., Koltun N. Y., Pleskatsevich R. I. 2015. Producing Sea Buckthorn of High Quality. *Proceedings of the 3rd European Workshop on Sea Buckthorn EuroWorkS2014*. Finland, Helsinki, Natural Resources Institute.
137. Shamanskaya L. D. 2015. Bioecology of the sea-buckthorn fly (*Rhagoletis batava obscuriosa* Kol.) and pest control treatment in Altai. *Producing Sea Buckthorn of High Quality. Proceedings of the 3rd European Workshop on Sea Buckthorn EuroWorkS2014*. Finland, Helsinki, Natural Resources Institute.
138. Sharma A. K., Singh P. N., Sawant S. D. 2012. Evaluation of fermentation efficiency of yeast strains and their effect on quality of young wines. *Indian Journal of Microbiology*, 52: 495-499.
139. Silva M. A., Bezerra-Silva G. C. D., Mastrangelo T. 2012. The Host Marking Pheromone Application on the Management of Fruit Flies - A Review. *Brazilian Archives of biology and technology*, 55, 6: 835-842.
140. Six D. L. 2013. The bark beetle holobiont: why microbes matter. *Journal of Chemical Ecology*, 39: 989-1002.
141. Small E., Catling P. M., Li T. S. C. 2002. Blossoming treasures of biodiversity: 5, Sea Buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) – an ancient crop with modern virtues. *Biodiversity*, 3, 2: 25-27.

142. Smith D. C., Prokopy R. J. 1980. Mating behavior of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae). VI. Site of early-season encounters. The Canadian Entomologist, 112, 6: 585-590.
143. Smith D. C., Prokopy R. J. 1982. Mating Behavior of *Rhagoletis mendax* (Diptera: Tephritidae) Flies in Nature). Annals of the Entomological Society of America, 75, 4: 388-392.
144. Socaci S. A., Socaciu C., Tofana M., Rati I. V., Pinte A. 2013. In-tube Extraction and GC-MS Analysis of Volatile Components from Wild and Cultivated sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *Carpatica*) Berry Varieties and Juice. Phytochemical Analysis, 24: 319-328.
145. Sokal, R. R. and Rohlf, F. J. 1995. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research.
146. Sookar P., Alleck M., Ahseek N., Permilloo S., Bhagwant S., Chang C. L. 2014. Artificial rearing of the peach fruit fly *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae). International Journal of Tropical Insect Science, 34, S1: S99-S107.
147. sscroF. R., Jackson R. R. 2010. Olfactory search-image use a mosquito-eating predator. Proceeding of The Royal Society B, 277: 3173-3178.
148. Stadler E., Ernst B., Hurter J., Boller E. 1994. Tarsal contact chemoreceptor for the host marking pheromone of the cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*: responses to natural and synthetic compounds. Physiological Entomology, 19, 2: 139-151.
149. Stalažs A. 2014a. New records of some dipterans (Diptera: Cecidomyiidae, Tephritidae) in north-eastern Lithuania. Zoology and Ecology, 24, 1: 55-57.
150. Stalažs A. 2014b. New records of Tephritoidea (Diptera: Brachycera) for the fauna of Latvia. Zoology and Ecology, 24, 4: 347-351.
151. Stalažs A., Balalaikins M. 2017. Country checklist of *Rhagoletis* Loew (Diptera: Tephritidae) for Europe, with focus on *R. batava* and its recent range expansion. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, 71, 3: 103-110.
152. Stamenkovic S., Peric P., Milošević D. 2012. *Rhagoletis cerasi* Loew (Diptera: Tephritidae) – Biological Characteristics, Harmfulness and Control. Pesticides and Phytomedicine, 27, 4: 269-281.
153. Stokes J. S., Uebel E. C., Warthen J. D., Jacobson Jr. M., Flippen-Anderson J. L., Gilari R., Spishakoff L. M., Wilzer K. R. 1983. Isolation and

Identification of Novel Lactones from Male Mexican Fruit Flies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31: 1162-1167.

154. Tan K. H., Nishida R., Jang E. B., Shelly T. E. 2014. Pheromones, male lures, and Trapping of Tephritid fruit flies. Shelly T et al. (ed) *Trapping and the detection, control and regulation of Tephritid fruit flies*.

155. Tasin M., Herrera S. L., Knight A. L., Barros-Parada W., Contreras E. F., Pertot I. 2018. Volatiles of grape inoculated with microorganisms: modulation of grapevine moth oviposition and field attraction. *Microbial Ecology*, 76: 751-761.

156. Teixeira L. A. F., Polavarapu S. 2002. Phenological Differences Between Populations of *Rhagoletis mendax* (Diptera: Tephritidae). *Environmental Entomology*, 31, 6: 1103-1109.

157. Toth M., Lerche S., Holz U., Kerber A., Henning R., Voigt E., Kelemen D. 2016. Addition of synthetic feeding attractant increases catches of *Rhagoletis batava* Hering and *Carpomyia schineri* Loew. in fluorescent yellow sticky traps. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 51, 1: 69-76.

158. Toth M., Voigt E., Baric B., Pajac I., Subic M., Baufeld P., Lerche S. 2014. Importance of application of synthetic food lures in trapping of *Rhagoletis* spp. and *Strauzia longipennis* Wiedemann. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 49, 1: 25-35.

159. Trisopoulos G. J. 1978. Holidic diets and nutritional requirements for survival and reproduction of the adult walnut husk fly. *Journal of Insect Physiology*, 24, 3: 239-242.

160. van Rijswijck I. M. H., Dijksterhuis J., Wolkers-Rooijackers C. M., Abee T., Smid E. J., 2015. Nutrient limitation leads to penetrative growth into agar and affects aroma formation in *Pichia fabianii*, *P. kudriavzevii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 31: 89-101.

161. Varela C., Sengler F., Solomon M., Curtin C. 2016. Volatile flavour profile of reduced alcohol wines fermented with the non-conventional yeast species *Metschnikowia pulcherrima* and *Saccharomyces uvarum*. *Food Chemistry*, 209: 57-64.

162. Versace E., Eriksson A., Rocchi F., Castellan I., Sgado P., Haase A. 2016. Physiological and behavioral responses in *Drosophila melanogaster* to odorants present at different plant maturation stages. *Physiology & Behavior*, 163: 322-331.

163. White I. M., Elson-Harris M. M. 1992. Fruit Flies of Economic Significance: Their Identification and Bionomics. London, CAB International.
164. Witzgall P., Proffit M., Rozpedoeska E., Becher P. G., Andreadis S., Coracini M., Lindblom T. U. T., Ream L. J., Hagman A., Bengtsson M., Kurtzman C. P., Piskur J., Knight A. 2012. “This is not an Apple”–Yeast Mutualism in Codling Moth. *Journal of chemical ecology*, 38, 8: 949-957.
165. Yee W. L. 2011. Evaluation of yellow rectangle traps coated with hot melt pressure sensitive adhesive and sticky gel against *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economical Entomology*, 104, 3: 909-919.
166. Yee W. L. 2012. Preferences by *Rhagoletis indifferens* (Diptera, Tephritidae) for rectangles of various yellow colours and fluorescence. *Journal of Applied Entomology*, 137, 3: 225-233.
167. Yee W. L. 2013a. Captures of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) and nontarget insects on red spheres versus yellow spheres and panels. *Journal of Economic Entomology*, 106, 5: 2109-2117.
168. Yee W. L. 2013b. Soil moisture and relative humidity effects during postdiapause on the emergence of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae). *The Canadian Entomologist*, 145, 3: 317-326.
169. Yee W. L., Goughnour R. B. 2011. Differential captures of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) on four fluorescent yellow rectangle traps. *The Florida Entomologist*, 94,4: 998-1009.
170. Yee W. L., Goughnour R. B., Feder J. L. 2011. Differences in Body Size and Egg Loads of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) From Introduced and Native Cherries. *Environmental Entomology*, 40, 6:1353-1362.
171. Zeynalov A. S. 2018. Features of Bioecology of Sea Buckthorn Flies *Rhagoletis batava* Hering in the Central Non-Chernozem Region of Russia. *Russian Agricultural Sciences*, 44, 4: 335-339.
172. Zhang A., Linn Jr C., Wright S., Prokopy R., Reissing W., Roelofs W. 1999. Identification of a new blend of apple volatiles attractive to the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 6: 1221-1232.
173. Zhao B., Su Z., Li Sh., Men J., Cheng T., Wei J. 2017. Biological characteristics of *Rhagoletis batava boseuriosa* (Diptera: Tephritidae). *Forest Research*, 30, 4: 576-581.

174. Zheng X., Li K., Shi X., Ni Y., Li B., Zhuge B. 2017. Potential characterization of yeasts isolated from Kazak artisanal cheese to produce flavoring compounds. *MikrobiologyOpen*, 7, 1: e00533.

175. Zhou X., Tian L., Zhang J. F., Ma L. N., Li X. J., Tian C. J. 2017. Rhizospheric fungi and their link with the nitrogen-fixing *Frankia* harbored in host plant *Hippophae rhamnoides* L. *Journal of Basic Microbiology*, 57: 1055-1064.

## MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS

1. **Aleknavičius D.**, Būda V. 2019. Trapping peculiarities, flight and mating dynamics of sea buckthorn fruit fly (*Rhagoletis batava*) in Lithuania. *Zemdirbyste-Agriculture*, 106, 1: 81-86.

2. Mozūraitis R., **Aleknavičius D.**, Vepšaitė-Monstavičė I., Stanevičienė R., Noushin Emami S., Apšegaitė V., Radžiutė S., Blažytė-Čereškienė L., Servienė E., Būda V. 2019. *Hippophae rhamnoides* berry related *Pichia kudriavzevii* yeast volatiles modify behaviour of *Rhagoletis batava* flies, *Journal of Advanced Research*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.08.001>

## KONFERENCIJŲ TEZĖS

Būda V., Baužienė V., **Aleknavičius D.**, Butkienė R. 2015. Sea buckthorn volatiles involved in host plant choice by *Rhagoletis batava* females. *Pheromones and Other Semio-Chemicals in Integrated Production*. Jeruzalė, Izraelis, lapkričio 8-13: 47.

**Aleknavičius D.**, Apšegaitė V., Butkienė R., Būda V. 2017. Identification of host fruit volatiles from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) EAG active to sea buckthorn fly (*Rhagoletis batava*). The 33th annual meeting of the International Society of Chemical Ecology. Kiotas, Japonija, rugpjūčio 23-27: 189.

**Aleknavičius D.**, Apšegaitė V., Butkienė R., Būda V. 2017. What volatiles are used by *Rhagoletis batava*, a pest of sea buckthorn, in searching for host plant *Hippophae rhamnoides* berries? *Young scientists for advance agriculture*. Vilnius, Lietuva: 28.

**Aleknavičius D.**, Apšegaitė V., Vepšaitė-Monstavičė I., Stanevičienė R., Servienė E., Būda V. 2018. Fruit flies *Rhagoletis batava* perceive odours emitted by yeasts from their host plant. The 34th annual meeting of the International Society of Chemical Ecology. Vengrija, Budapeštas, rugpjūčio 12-17: 45.

Būda V., **Aleknavičius D.**, Apšegaitė V., Radžiutė S., Blažytė-Čereškienė L., Servienė E., Butkienė R. 2019. Is buckthorn and fruit fly interaction mediated by yeast? The 35th annual meeting of the International Society of Chemical Ecology. Atlanta, JAV, birželio 2-6: poster presentations, 15.

Mozūraitis R. **Aleknavičius D.**, Radžiutė S., Blažytė-Čereškienė L., Servienė E., Būda V. 2019. Effect of the volatiles released by yeast related to sea buckthorn *Hippophae rhamnoides* berries on behavior of *Rhagoletis batava* flies. The 35th annual meeting of the International Society of Chemical Ecology. Atlanta, JAV, birželio 2-6: poster presentations, 66.

Vilniaus universiteto leidykla  
Saulėtekio al. 9, LT-10222 Vilnius

El. p. [info@leidykla.vu.lt](mailto:info@leidykla.vu.lt),  
[www.leidykla.vu.lt](http://www.leidykla.vu.lt)

Tiražas 20 egz.