

Doktori Értekezés Tézisei

Készítette:

Kecskeméti Sándor

Budapest

2022



MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
KERTÉSZETTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

**KÜLÖNBÖZŐ ILLAT- ÉS FÉNYINGEREK FELTÁRÁSA ÉS
HATÁSA *LYCORIELLA INGENUA* GOMBASZÚNYOG FAJRA**

Készítette:
Kecskeméti Sándor
Budapest
2022

A DOKTORI ISKOLA:

Megnevezése: Kertészettudományi Doktori Iskola
Tudományága: Növénytermesztési és Kertészeti Tudományok
Vezetője: Zámboriné Dr. Németh Éva
Tanszékvezető, Egyetemi Tanár, DSc
Kertészettudományi Intézet, Gyógy- és
Aromanövények Tanszék

Témavezetők: Dr. Geösel András
Tanszékvezető, Docens, PhD
Kertészettudományi Intézet, Zöldség- és
Gombatermesztési tanszék

Dr. Fail József
Tanszékvezető, Docens, PhD
Növényvédelmi Intézet, Rovartani Tanszék

.....
Az iskolavezető aláírása

.....
.....
A témavezetők jóváhagyása

I. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, CÉLKITŰZÉSEK

A gombatermesztés világszinten rendkívül fontos részét képezi a kertészeti ágazatoknak. A gombatermesztés mezőgazdasági melléktermékekből állít elő tápláló élelmiszer alapanyagot. A különböző termesztett gombafajok számos pozitív beltartalmi tulajdonságainak köszönhetően könnyen beilleszthetőek az egészséges táplálkozásba.

Mint, ahogy minden mezőgazdasági kultúrának, a gombatermesztésnek is megvannak a sajátos kártevői, amelyek a növényvédelmi eljárások gerincét képezik. A gombaszúnyogok világszerte nehezítik meg a termesztést, jelen helyzetben még nem sikerült hatékony védekezést kidolgozni ellenük. Lárvaik felélik a gombakomposztot, az imágók pedig vektorai a különböző patogén szervezeteknek.

Új készítményre Magyarországon nem számíthatnak a termesztők, valamint az Unió szabályozások is minél kevesebb növényvédőszerhasználatot követelnek meg. Ennek tudatában rendkívül fontosak lesznek az alternatív növényvédelmi eljárások kidolgozása, amely biztosítja a vegyszermentes/csökkentett vegyszerhasználatú termesztést. Az alternatív eljárások részét képezik a különböző mechanizmus alapján működő csapdatípusok. Külföldi kutatások nagy hangsúlyt fektetnek különböző csalétek fejlesztésére, amelyek a célszervezetre specifikusak, valamint nagy számban csalogatja kémiai úton a faj mindkét nemét. A kairomonokat tartalmazó csapdák pontok köré gyűjtik a kártevő fajt, így elég foltszerű kezeléseket végezni, vagy, ha szegélynövényre van kihelyezve a csapda, elegendő a szegélynövényt alávetni növényvédőszeres kezelésnek. További alternatíva a csalétket inszekticiddel keverni, így csak a csalétekből táplálkozó kártevő pusztul el. A kémiai úton működő eljárásokon kívül nem szabad elfeledkezni a vizuális inger kibocsátó csapdákról sem. A leginkább ismert éjszaka működő fénycsapdákon kívül számos egyéb védekezési eljárás létezik, amely a kártevő látását aknázza ki.

A csapdák fejlesztésénél komoly probléma a szelektivitás. A szabadföldön működő kémiai/vizuális csapdába nagy eséllyel nem célfajok is áldozatul esnek. A gombatermesztés ideális körülményeket biztosít ebből a szempontból, mivel mind a csiperke és laska termesztése teljesen zárt létesítményekben történik.

Ugyanakkor a csapdafejlesztés kiindulási pontját a célszervezetre irányuló alapkutatások képezik. Fontos megismerni, hogy a kártevő faj milyen „illatokra” érzékeny, ezek milyen biológiai hatást váltanak ki, milyen „színek” és „erősségű” fényinger csalogatja a kártevőt leginkább. Ezek a kérdések a gombaszúnyogok esetében megválaszolatlanok, rendkívül keveset tudunk mind a kémiai és vizuális ökológiájukról. Értekezésemben az egyik legelterjedtebb kártevő gombaszúnyoggal (*Lycoriella ingenua*) végeztem több elektrofiziológiai és viselkedési kísérleteket, hogy bizonyos kérdésekre választ kapjunk és egy esetleges csapdafejlesztéshez alap-adatokat biztosítsak.

Doktori értekezésemben célul tűztem ki hogy:

- megvizsgálom a hazai gombatermesztésben alkalmazott termesztési alapanyagok illatprofilját, illatgyűjtést/elemzést végzek.
- az egyes illatprofilokat elektrofiziológias vizsgálatokban felhasználom és a *Lycoriella ingenua* számára csápválaszt kiváltó (csápakatív) komponenseket detektálok.
- az elektrofiziológiailag aktív vegyületeket azonosítom, validálok.
- a csápakatív komponensek hatását viselkedési kísérletekben vizsgálom meg.

- a *Lycoriella inegna* spektrális érzékenységét elektrofiziológiai módszerek segítségével megvizsgálom.
- a *Lycoriella ingenua* fényhez való vonzódását (fototaxis) viselkedési kísérletekben vizsgálom meg különböző paraméterek mellett.

II. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Olfaktometriás kísérletek

2.1.1. Rovartenyészet fenntartása

Az elektrofiziológias és viselkedési kísérletekhez fajtiszta *L. ingenua* tenyészetet használtam, amelyeket 2016 óta tartottam fenn a MATE Zöldség- és Gombatermesztési tanszékén.

2.1.2. Felhasznált termesztési alapanyagok

A szaglászervi és viselkedési kísérletekhez az alábbi gombatermesztési alapanyagot használtam fel:

- második fázisú csiperkekomposzt
- harmadik fázisú csiperkekomposzt
- takaróföld
- átszövetett takaróföld

2.1.3. Illatanyaggyűjtés

A gombatermesztési anyagok gőzterének illékony komponenseit nyílt rendszerű illatanyag gyűjtési módszerrel végeztem. Az illékony komponenseket aktív szén adszorbensen kötöttük meg. Az aktív szén filteren megkötött vegyületeket 100 µl diklórmetánnal eluáltam, az így kapott extraktumokat mélyfagyaszóban –40 °C-on tároltam.

A III. fázisú komposzt gőzterében lévő csápaktív komponensek arányát és illatanyag profilját DVB/PDMS/CAR bevonatú szilárd fázisú mikroextrakciós (SPME) módszerrel is vizsgáltam.

2.1.4. Elektrofiziológias vizsgálatok (GC-FID/EAD)

Az elektrofiziológián aktív komponensek azonosításához gázkromatográffal (GC-FID) kapcsolt elektroantennográfiás (EAD) vizsgálatokat végeztem.

A mérésekhez 1-3 napos *L. ingenua* nőstények fejét leválasztottam a tornál. A fejet a metszlapnál a Ringer oldattal töltött referencia kapillárisához illesztettem, míg a csápok csúcsi részét a felvételező elektród kapillárisához illesztettem a mikromanipulátorok segítségével. A csáp szaglászőrein keletkezett akciós potenciált és a gázkromatográf szignáljait szimultán rögzítette a GC-EAD szoftver.

2.1.5. Tömegspektrometria

Az összegyűjtött illatanyagokat gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrométerrel (GC-MS) elemeztem. A gázkromatográfot HP-5 UI kapilláris oszloppal használtam.

A vegyületeket az MS könyvtárban (NIST 11 és Wiley) megtalálható tömegspektrumok egyezősége alapján azonosítottam a ChemStation program segítségével. Az elektrofiziológiásan aktív komponensek azonosítását később szintetikus vegyületekkel is igazoltam.

2.1.6. Viselkedési vizsgálatok

A különböző termesztési alapanyagok és csápaktív vegyületek, viselkedésre gyakorolt hatását saját készítésű, statikus elven működő kísérleti arénákban vizsgáltam. Az egyes arénák egy Petri-csészéből és két hozzá illesztett üveg fiolából álltak. Az üvegfiolák fogóedényként működtek, amelyekbe az összehasonlítani kívánt anyagok kerültek, míg a Petri-csésze szolgált központi kamraként, ahova a rovarokat helyeztem. A választási arénák két anyag összehasonlítására alkalmasak. Minden egyes arénába 10 darab 2-3 napos nőtényt helyeztem kísérleti beállításonként. Minden kísérletet ötször ismételtam, így minden kísérleti kombináció vizsgálatánál 500 darab *L. ingenua* nőtény választását jegyeztem fel. Összesen 11 kombinációt vizsgáltam (1. táblázat), így kutatásunk során körülbelül 5500 nőtény választását vizsgáltam.

A választási idő elteltével feljegyeztem a két fiolában található nőtények számát, valamint a nem választó egyedek számát is. Az egyes alapanyagok csalogatási hatékonyságát a tesztelt állatok választási aránya alapján döntöttem el.

1. Táblázat: A választásos viselkedési vizsgálatok paraméterei

1-es fiola (kezelés 1)	mennyiség (g)	2-es fiola (kezelés 2)	mennyiség (g)	Diszpenzer dózisa (µg)
II. fázis (ph II)	4	III. fázis (ph III)	4	-
II. fázis (ph II)	4	II. fázis + 1-octen-3-ol (ph II + 1octol)	4	100
II. fázis (ph II)	4	II. fázis + 3-octanone (ph II + 3octone)	4	100
II. fázis (ph II)	4	II. fázis + 1-hepten-3-ol (ph II + 1heptol)	4	100
II. fázis (ph II)	4	II. fázis + 1-hepten-3-ol + 1-octen-3-ol + 3-octanone (ph II + syntmix)	4	3+1+96
II. fázis (ph II)	4	Üres fiola (blank)	0	-
III. fázis (ph III)	4	Üres fiola (blank)	0	-
III. fázis (ph III)	4	Steril desztillált víz (dw)	4	-
Üres fiola (blank)	0	Üres fiola (blank)	0	-
Takaró föld (cas)	4	Üres fiola (blank)	0	-
Takaró föld (cas)	4	csiperke micéliuma által kolonizált takaró föld (casmyc)	4	-

2.2. Vizuális kísérletek

Elektroretinográfiás vizsgálatok

A méréseket egy egyedi készítésű elektroretinográf készüléken végeztem.

A mérésekhez a rovarokat méretre vágott pipetta hegyekbe helyeztem, ahonnan csak az állat feji része lógott ki, majd olvasztott paraffin viasszal rögzítettem az állat fejét a tor ízesülésénél. Az állat összetett szemeibe egy-egy wolfram elektródát szúrtam. A mérőelektródát a fényforráshoz közelebb eső szembe, míg a referenciaelektródát a másik összetett szembe helyeztem.

A fényingerek létrehozásához egy egyedi készítésű fényforrást használtam, amely 14 monokromatikus LED-et tartalmazott, amelyek a 346 – 744 nm spektrális tartományt fedték le.

A fotoreceptorok elektromos jeleit egy egyedi készítésű erősítőn keresztül egy átalakított USB hangkártyába vezettem, majd az Audacity 2.2.1 hangfelvevő szoftver használatával rögzítettem veszteségmentes formátumban.

A méréseket sötétadaptált preparátumokon végeztem. Egy mérés során a rovar szemét egy különböző hullámhosszúságú és intenzitású, 0,5 mp hosszú fényingerekből álló stimulus sorozat érte. Adott hullámhosszanként egyre növekvő intenzitású fényingerek következtek 3 mp-es sötét szünetekkel. A hullámhosszak is növekvő sorrendben következtek. Először az első, legkisebb hullámhossz esetén alkalmaztam egyre nagyobb intenzitású fényingereket, majd a következő hullámhossz esetén is egy hasonló növekvő intenzitású sorozat érte a preparátumot. A stimulusok foton fluxusa $2,4 \times 10^{11}$ és $2,4 \times 10^{15}$ foton/cm²/s között változott.

A kiértékelés során a receptorválaszok nagyságának a stimulus első 100 milliszekundumában történő negatív potenciálugrás nagyságát vettem. Egy adott stimulus szekvencia esetén minden hullámhosszra külön-külön ábrázoltam a mért receptorválaszok nagyságát a stimulus logaritmikus skálán vett intenzitásának függvényében, majd egy szigmoid dózis-válasz görbét illesztettem a pontokra. A spektrális érzékenységet úgy számítottam ki, hogy az illesztett szigmoid görbék alapján minden hullámhossz esetére vettük azt a kritikus fényintenzitás értéket, ami egy adott nagyságú (kritikus) receptorválasz kiváltásához szükséges, majd ezeknek a fényintenzitás-értékének vettük a reciprokát.

A viselkedési vizsgálatok

A fototaxis hullámhossz-függését gombaszúnyogok esetében két viselkedési kísérletben vizsgáltam. Az első **(a)** kísérletben a minimális fényintenzitást kerestem (hullámhossztól függően), ami egy mérhető vonzódást vált ki a rovarokból. A második, **(b)** kísérletnél azonos intáztatású, szimultán jelenlévő hullámhosszak csalogató hatását értékeltem egy 6 utas arénában.

a) A fototaxis akcióspektruma

A kísérletben egy egyedi készítésű fényforrást használtam, ami a 368-637 nm-es spektrális tartományt átfedve 11 különböző, monokromatikus stimulust volt képes előállítani.

A rovarok egy farostlemezbe vájt, fekete kartonnan bélelt mélyedésben (továbbiakban aréna) helyezkedtek el a vizsgálat ideje alatt. A fényforrás az arénától 19 cm-re volt elhelyezve, amely az aréna közepére irányult. Az arénában a rovarok mozgását egy infravörösben érzékeny webkamerával rögzítettem, amihez a háttérvilágítást 940 nm-es fény szolgáltatta.

Az arénába 30-44 sötétadaptált rovarot helyeztem. A 30 mp hosszú stimulusokat 3 perces szünetek választották el. A tesztelt hullámhosszak véletlenszerűen következtek, ugyanakkor egy hullámhossz esetén növekvő intenzitású stimulusokat alkalmaztam.

A kamerafelvételek elemzése után minden egyes stimulus esetére meghatároztam a rovarok sűrpontjának Δx eltolódását az aréna közepétől a stimulus legelején és legvégén. Összesen 50 kísérletet végeztem el 1834 darab *L. ingenua* gombaszúnyogon. A stimulusok foton fluxusa $7,51 \times 10^2$ és $1,53 \times 10^{13}$ foton/cm²/s között változott, hullámhossztól függően.

b) Több hullámhossz csalogató hatása azonos fényintenzitás mellett

A második viselkedési kísérletet egy habkartonból készült, 6 utas aréna segítségével végeztem. Az aréna egy központi és az ezt körülvevő külső egységből állt:

A központi egység egy hatszög alapú üreges hasáb volt, amelynek minden egyes oldalához 1-1 üvegfiola volt illesztve. Az üreges hasádba helyeztem a tesztelni kívánt rovarokat, míg az üvegfiolák fogódénként szolgáltak a különböző kísérleti beállításoknál. A kamrából a fiolákba való átjárást szilikoncsődarabok biztosították. A kamra belső felületét fekete színű, matt kartonnal béleltem ki, ezzel csökkentve a kamrában jelentkező esetleges fényvisszaverődés zavaró hatását. A kísérletek kezdetéig a központi kamrában sötétség volt.

A külső egység is egy hatszög alapú hasáb volt, amelyet válaszfalakkal hat azonos kamrára osztottam és matt alufóliával béleltem ki. A központi egységet úgy lehetett belehelyezni a külső egységbe, hogy minden egyes üvegfiola egy saját kamrába került. A külső egységet is egy hatszögletű fedéllel zártam le. A fedélhez különböző spektrumú, tetszőlegesen cserélhető LED szalagokat (ultraibolya (UV), kék, zöld, piros, meleg fehér) tudtam illeszteni, amik a kamrákat felülről világították meg.

A kísérletek ideje alatt, a központi egységben elhelyezkedő rovarok, az üvegfiolán, valamint az azt összekötő szilikoncsőveken beáramló fényingerek közül választhattak. A csőveken átszűrődő fény foton fluxusa mindegyik fényinger esetében azonos volt ($(2,7 \times 10^{13}$ foton/cm²/s ($\pm 6.9\%$)).

A LED szalagok beállítása után 50 sötétadaptált gombaszúnyogot helyeztem a mérőállomás központi kamrájába, majd 45 perc elteltével feljegyeztük a megvilágított kamrákhoz tartozó üvegfiolákban rekedt gombaszúnyogok számát.

A kísérleteinket több típuskísérletre osztottam fel. Az **1. típuskísérletben** a mérőállomás 6 kamrája közül 5 minden esetben meg volt világítva a rendelkezésemre álló LED szalagok valamelyikével, míg egy kamra minden esetben sötét volt, amely kontrolként szolgált. A **2. típuskísérletben** az UV fényt kivettük a választási lehetőségek közül, ebben a kísérletsorozatban kettő kontrolkamrát alkalmaztam. A **3. típuskísérletben** csak kettő fényinger közül választhattak a gombaszúnyogok (a maradék négy kamra sötét kontrol kamraként szolgált). A két stimulus közül a zöld szín állandó választási lehetőség volt, míg a második választható lehetőség a fennmaradó ingerek valamelyike volt. Az 1. és 2.

típuskísérletnél a fényingerek elrendezése minden ismétlésnél véletlenszerű volt, míg a 3. típuskísérletben a két stimulus egymással szemben helyezkedett el.

A viselkedési kísérletekben körülbelül 4000 egyedet használtam fel.

III. EREDMÉNYEK

3.1. Olfaktometriás kísérletek

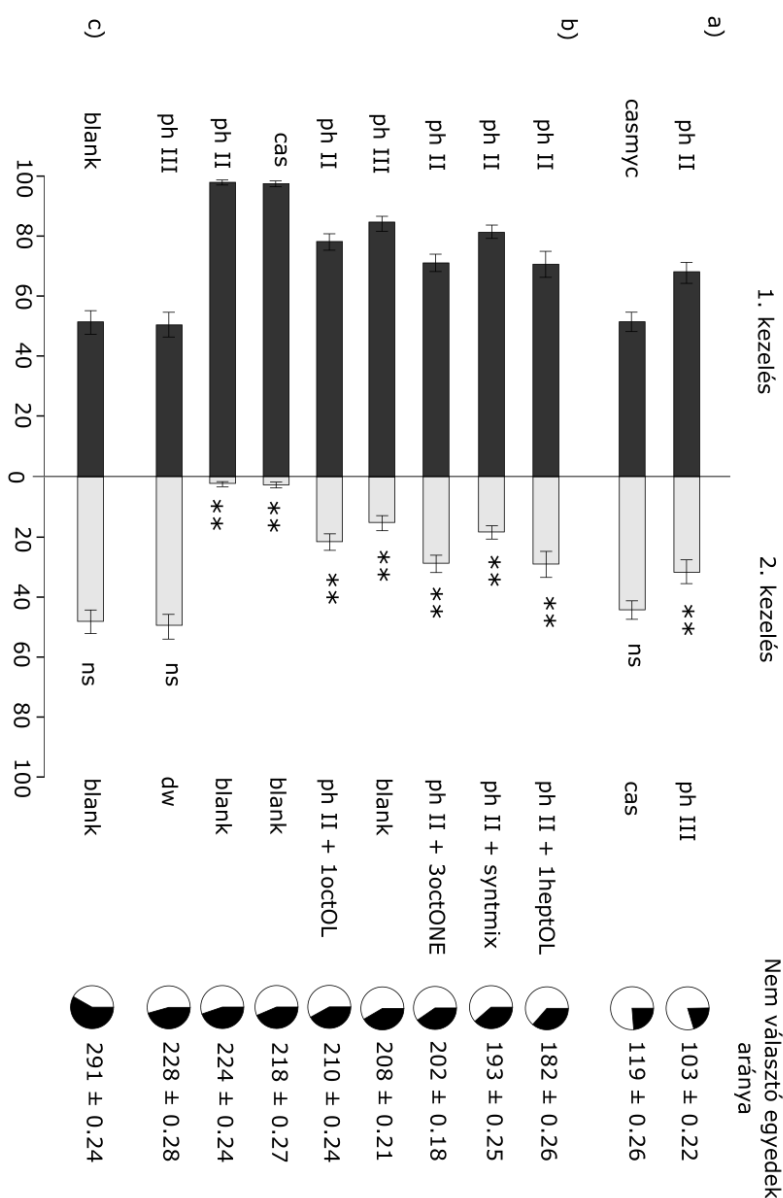
3.1.1. Elektrofiziológia és kémiai azonosítás (GC-FID/EAD és GC-MS)

A III. fázisú csiperkekomposzt gőzteréből gyűjtött komponensek közül 3 vegyület váltott ki konzekvens és erőteljes válaszokat a nőstény *L. ingenua* csápjaiból. A GC-MS alapján előzetesen 1-hepten-3-ol (CAS 4938-52-7), 1-octen-3-ol (CAS 3391-86-4) és 3-octanone (CAS 106-68-3) vegyületeként lettek azonosítva, amelyeket szintetikus standardokkal is igazoltam. A II. és III. komposztfázis, takaró föld és kolonizált takaró föld illatanyag profilját a 2. Táblázat foglalja össze.

2. Táblázat: Illékony komponensek a III. komposztfázis (ph III), II. komposztfázis (ph II), átszövetett takaró föld (casmyc) és takaró föld (cas) mintákban

#	Retenció Idő Nist	Vegyületek	CAS - szám	Ph III	Ph II	Casmyc	Cas
				Area %	Area %	Area %	Area %
1	875	m-xylene	108-38-3	0.38	17.06	0.20	0.00
2	890	2,6-dimethylpyridine	108-48-5	0.38	0.00	0.72	0.00
3	892	1-hepten-3-ol	106-35-4	0.65	0.00	0.00	0.00
4	987	1-octen-3-ol	3391-86-4	18.94	8.49	20.93	0.00
5	993	3-octanone	106-68-3	66.84	0.00	64.40	0.00
6	1000	3-octanol	589-98-0	3.25	0.00	2.34	0.00
7	1034	2-ethylhexanol	104-76-7	0.63	20.80	4.72	100.00
8	1037	limonene	138-86-3	0.44	7.92	0.13	0.00
9	1082	(Z)-linalool oxide	5989-33-3	1.57	1.68	0.00	0.00
10	1092	3-nonanone	925-78-0	0.52	0.00	0.06	0.00
11	1097	(E)-linalool oxide	34995-77-2	0.48	0.00	0.00	0.00
12	1106	linalool	78-70-6	1.22	4.65	5.80	0.00
13	1127	unknown 1	-	0.27	0.00	0.00	0.00
14	1286	unknown 2	-	0.23	7.27	0.00	0.00
15	1332	unknown 3	-	0.22	7.96	0.00	0.00
16	1469	β-barbatene	53060-59-6	1.99	5.50	0.71	0.00
17	1482	2,6-di-tert-butylquinone	719-22-2	1.46	10.79	0.00	0.00
18	1487	α-cedrene	469-61-4	0.35	1.47	0.00	0.00
19	1579	unknown 4	-	0.00	6.42	0.00	0.00
20	1745	unknown 5	-	0.18	0.00	0.00	0.00
Sum				100.00	100.00	100.00	100.00

3.1.2. Viselkedési kísérletek

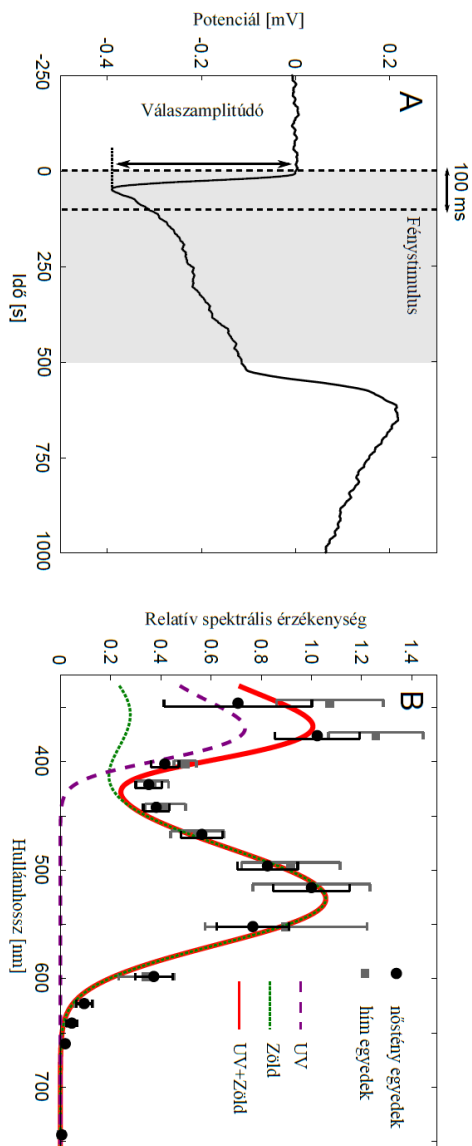


Az egyes kezelések csalogató hatása *Lycoriella ingenua* nőstényekre, két választásos statikus olfaktométerben (százalék $\pm$ SEM). Minden vízszintes oszlop a válaszoló rovarok arányát mutatja, míg a kördiagrammok a nem választó egyedek számát ($\pm$ SEM), valamint a válaszoló egyedekhez (fehér körcikkek) képesti arányát mutatja (fekete körcikkek). A csillagok a kezeléspárok közötti szignifikáns különbséget mutatja (Games-Howell; * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$); a kiskapitális betűk pedig a válaszolási ráta csoportokat mutatja a nem választó egyedek alapján (Tukey, $p < 0,05$).

3.2. Vizuális kísérletek

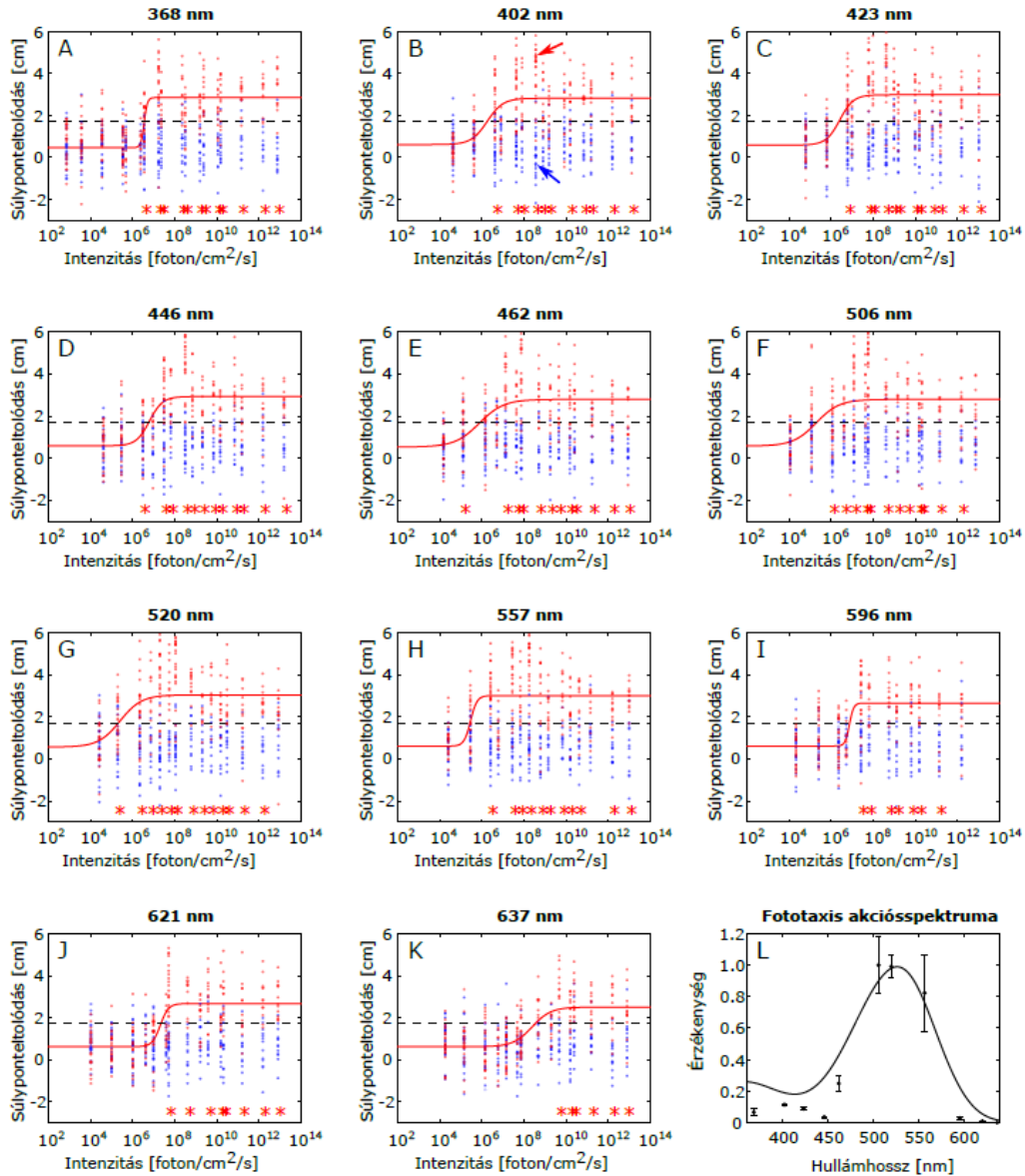
3.2.1. Elektoretinográfiás vizsgálatok

Lycoriella ingenua elektoretinogramja. **A):** Egy nőstény összetett szemén mért tipikus receptorpotenciál időbeli lefutása. A szűrke terület jelzi az 500 ms hosszúságú fénystimulust. B): 12 nőstény és 4 hím *L. ingenua* szempreparátumon mért átlagos relatív spektrális érzékenység; függőleges vonalak a mért adatok szórásait (SD) jelzik nemenként. A piros folytonos görbe az illesztett, két A1-vitamin alapú látópigment elnyelési spektrumának az összegét ábrázolja, amelynek csúcsai az $\lambda_{\max,UV} = 370.1$ nm (szaggatott lila görbe), valamint $\lambda_{\max,G} = 526.3$ nm tartományban vannak.



4.2.2. Gombaszúnyogok fototaxisa különböző hullámhosszú megvilágítás esetén

1. viselkedési kísérletek

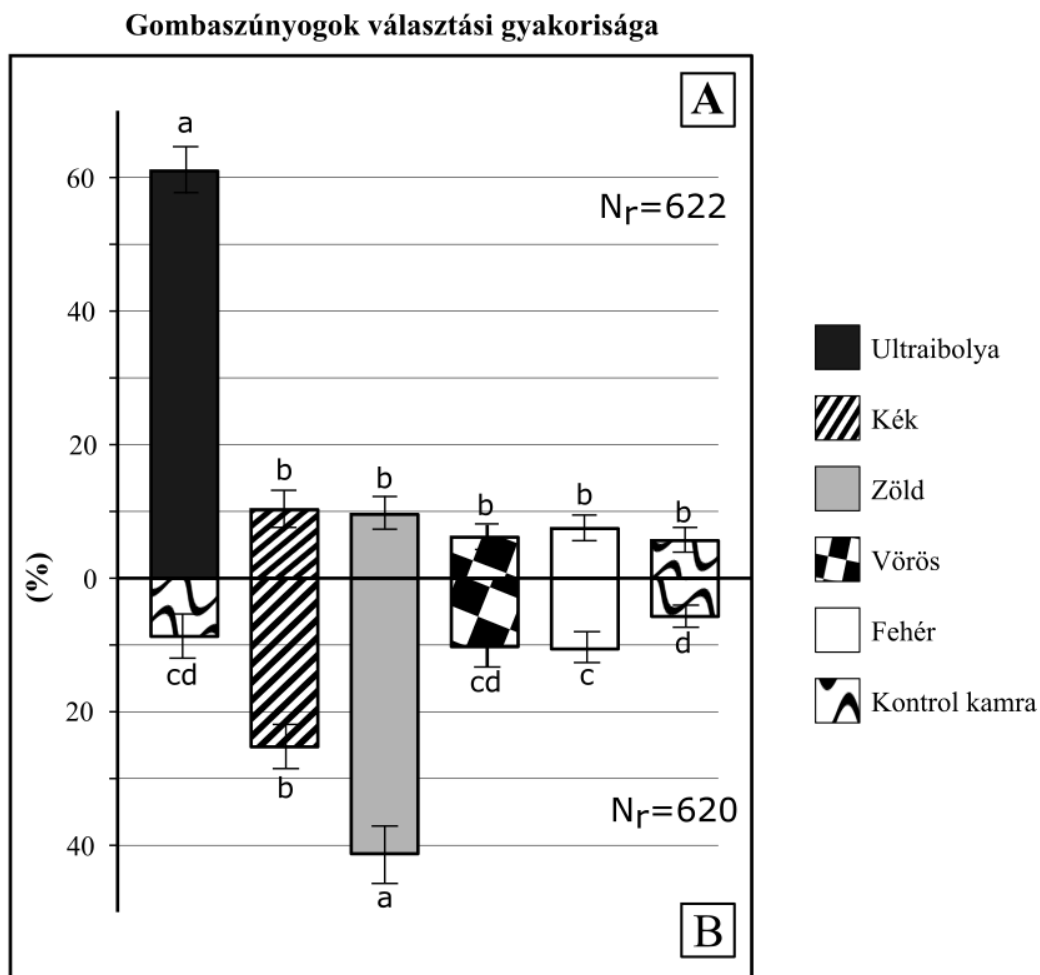


A *Lycoriella ingenua* fajjal végzett 1. viselkedési kísérlet eredményei. (A-K): A mért viselkedésválaszok (súlyponteltolódás) és a rájuk illesztett szigmoid görbék a 11 hullámhossz esetében. A kék és piros pontok jelzik a súlypont eltolódás értékeit (Δx), amelyeket egy adott fénystimulus elején és végén mértünk. A szaggatott vonal jelzi a kritikus súlypont eltolódás nagyságát ($\Delta x_c = 17.0$ mm). A csillagok jelzik, hogy a rovarok fénystimulus végén mért Δx eloszlása (piros pontok egy adott intenzitásánál) szignifikánsan különbözik-e a fénystimulus elején mért kezdeti Δx eloszlástól (kék pontok ugyanannál a stimulusnál); $\alpha = 0.005$. L): A fototaxis számított akciósspektruma (95%-os konfidencia

intervallumokkal jelölve). A görbe egy illesztett, A1-vitamin alapú látópigment elnyelési spektrumát mutatja ($\lambda_{\max} = 526.6 \text{ nm}$).

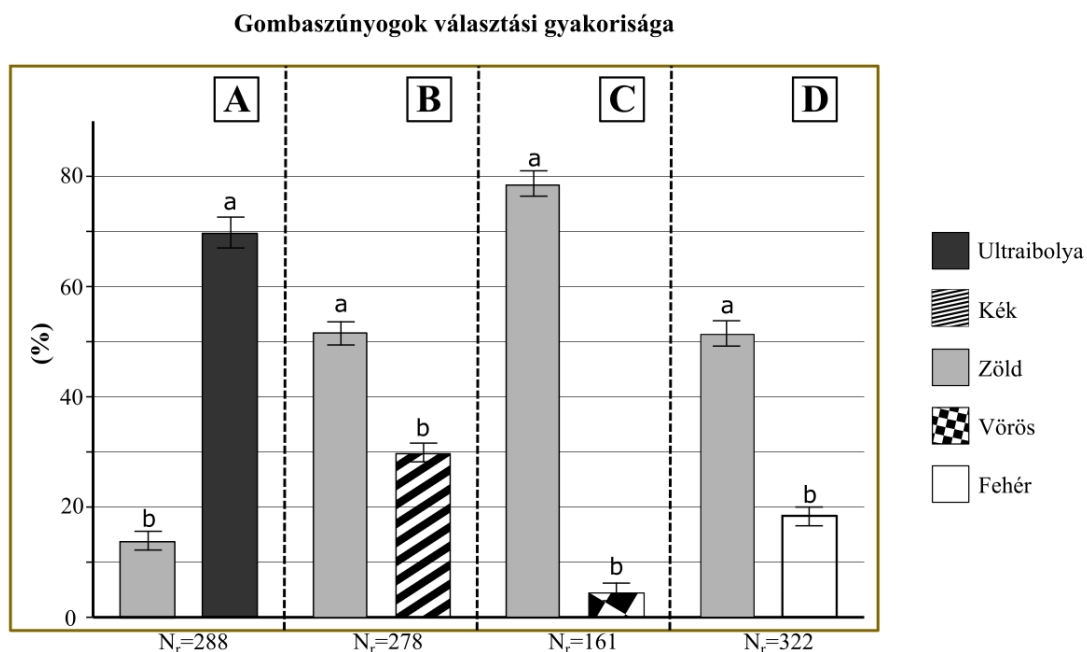
2. viselkedési kísérletek

1-es és 2-es típuskísérletek:



A megvizsgált gombaszúnyogok választási gyakorisága az egyes kamrák között 1-es és 2-es típusú viselkedési kísérletekben. A): Az 1-es típusú viselkedési kísérlet eredményei (41.A) és szórásaik. A kiskapitális betűk a Tukey post hoc teszt alapján elválo csoportokat jelölik ($p < 0,05$). Nr jelöli az összesen 1000 egyedből válaszoló rovarok számát. B): az „A” részpanelnél közöltekkel megegyező módszer. Az 1-es és 2-es típusú kísérletek is 20-szor voltak megismételve

3-as típuskísérletek:



A gombaszúnyogok eloszlása a négy stimuluspár összehasonlításánál a 3-as típusú kísérletek esetében. A): Az UV kontra Zöld stimuluspár eredményei szórással ábrázolva. A kiskapitális betűk a Games-Howell post hoc teszt alapján elváló csoportokat jelölik ($p < 0,05$). Az ábrán nem tüntettük fel a négy kontrol kamrában feljegyzett egyedek számát. Nr jelöli a választó gombaszúnyogok számát (az ismétlésenkénti 500 egyedből). Összesen 10 ismétlést végeztünk stimuluspáronként. B): Megegyezik az „A”-val közöltekkel, Tukey post hoc teszttel. C): Megegyezik „B”-nél közöltekkel. D): Megegyezik „C”-nél közöltekkel.

IV. KÖVETKEZTETÉSEK

4.1. Olfaktometriás kísérletek

Különböző gomba és bakteriális illatanyagokról megállapították, hogy a *Bradysia impatiens* nőstények tojásrakási viselkedését befolyásolták. A gombakomposztban általánosan megtalálható *Scytalidium thermophilum* és *Chaetomium* spp. sugárgombafajok tojásrakási szempontból előnyösnek bizonyultak a *L. ingenua* nőstények számára, továbbá a lárvák fejlődésére is kedvező hatással voltak. Habár számos gombafajról állapították meg, hogy növeli a tojásrakási preferenciát és jobb lárvafejlődést biztosít, a kétspórás csiperkegomba (*Agaricus bisporus*) magas micéliumkoncentrációja azonban csökkentette ezeket. A *Bradysia impatiens* fajjal ellentétben a *Lycoriella castanescens* nem mutatott preferenciakülönbséget a nem kolonizált és átszövetett komposzt között olfaktométeres vizsgálatokban.

Korábban publikált kísérletemben is megfigyeltem, hogy a *L. ingenua* fajnak lárvafejlődésre nem alkalmas a III. fázisú csiperkekomposzt. Előző eredményeimre alapozva azt feltételezem, hogy a csiperke micéliumával jól átszövetett komposzt (III. fázis) nem alkalmas a *L. ingenua* lárvák fejlődésének biztosítására.

A viselkedési vizsgálatok eredményei is ezt a feltételezést erősítik tovább, mivel a nőstények jelentős mértékben kerültek a III. fázisú komposztot, amikor az II. fázissal volt párosítva. A jelenség kémiai hátterét is megvizsgáltam kifejlett nőstényeken GC-EAD készülékkel és az 1-hepten-3-ol, 3-octanone és 1-octen-3-ol vegyületek voltak csápaktívak a III. komposztfázis illékony vegyületei közül. A 3-octanone és 1-octen-3-ol a gombák oxilipin szintéziséből származnak, amely vegyületeket leírtak az *Agaricus bisporus* által kolonizált komposzt gőzteréből. Érdekes módon 1-hepten-3-ol vegyületet nem írtak még le *A. bisporus* gombával foglalkozó tanulmányokban ugyanakkor jelenvolt a *Lactarius camphoratus* és *Boletus edulis* termőtestek gőzterében. A csápaktív vegyületek fiziológias megnyilvánulását a viselkedési kísérletek támasztották alá.

A II. fázisú komposzt preferálása minden összehasonlítási párnál nyilvánvaló volt. A fiziológiásan aktív vegyületek hozzáadásával külön és kombinációban (hogy mimikázzuk a III. fázis illatprofilját) egyértelmű elkerülést eredményezett a *L. ingenua* nőstényeknél. A gombaalkohol (1-octen-3-ol) számos gombát fogyasztó rovarnál riasztó hatást váltott ki egyes kísérletekben, de később más kutatók úgy vélekedtek, hogy ezek a megállapítások a kísérletekben használt túl magas koncentráció miatt születhettek. Továbbá a gombafogyasztó *Megaselia halterata* púposhátú légyfaj koncentrációtól függően érdeklődött, vagy elkerülte az 1-octen-3-ol és 3-octanone vegyületeket. Arra következtettek, hogy ezen vegyületek alacsony abundanciája, aktívan növekvő micélium jelenlétére utalnak. Ugyanakkor, a magas koncentrációjuk a súlyosan károsított micéliumból erednek, ami a túlzott számban elszaporodott mikofág lárvák jelenlétét jelzi a komposztban, ezzel akadályozva a gombaszúnyoglárvák fejlődését.

A III. fázissal ellentétben, amikor takaró föld és *A. bisporus* által kolonizált takaró föld mintákat hasonlítottam össze, akkor a kolonizált takaró földet nem kerültek el a *L. ingenua* nőstények szignifikáns mértékben. Ez a különbség a kolonizált takaró földben jelenlévő fiziológiásan aktív vegyületek – a III. fázishoz képest – alacsony előfordulása miatt alakulhatott ki. Ez más kutatók megállapításait is magyarázhatja, ahol a *L. ingenua* nőstények tojásrakási szempontból indifferensek voltak *A. bisporus* és más gombafajok mesterséges táptalajon fenntartott szövettenyészetek között. Továbbá mások, a takarási fázist követően, magasabb számú *Lycoriella auripila* lárvát talált a takaró földben mint a komposztban. Eredményeim alapján elmondható, hogy a kísérletekben használt gomba illatkomponensek magas abundanciája jó indikátora az *A. bisporus* által kolonizált komposztnak, azaz, egy lárvafejlődésre alkalmatlan közegnek.

Az komposztban lévő *A. bisporus* micélium denzitás, és az alacsony gombaszúnyog lárváknak a mennyiség közötti negatív összefüggésre további magyarázatot adhat a micélium kalcium-oxalát tartalma. Whitney és Arnott munkájában kijelentik, hogy sejtfalból kiinduló rafid szerű kristályok vannak az *A. bisporus* micéliumának felületén. Mind Binns és White megállapították, hogy a kalcium-oxalát adagolása a gombakomposzthoz késleltette a kifejlődést és csökkentette kikelt imágók számát. A fiziológiailag aktív illatvegyületek erőteljes micéliumfejlődést jelezhetnek (ezzel közvetve a magas kalcium-oxalát tartalmat) egy közegben a nőstényeknek, ami a közeg elkerülését eredményezi tojásrakás szempontjából.

A kolonizált komposzt és takaró föld viszonylag magas víztartalommal rendelkeznek. A friss II. fázisú komposzt víztartalma 45-65%, míg a takaró földé 75-86%. A gombaszúnyog lárvák egyik legfontosabb környezeti igénye a víz, így olyan környezetben tudnak felszaporodni,

ahol a nedvességtartalom magas. Ez magyarázhatja, hogy a blank (üres) kezeléseket minden esetben szignifikánsan elkerülték. Megjegyzendő, hogy a csiperke micéliumával kolonizált komposztot mindig elkerülték a nőstények, kivéve, amikor semmilyen más közeg között nem tudtak választani. Ez a preferencia csökkent, amikor az állatok a kolonizált komposzt mellett steril desztillált vizet is választhattak. Következésképpen, a *L. ingenua* számára a nedvesség meglehetősen fontosabb biológiai jelzés lehet, mint a micélium jelenléte egy közegben. Említésre méltó, hogy nagyobb számú nőstény választotta a steril desztillált vizet (152 db), mint a kolonizált komposztot (120 db), ugyanakkor szignifikáns különbség nem volt megállapítható.

A nem választó egyedek vizsgálata visszajelzést adhat egy anyag (vagy kísérleti beállítás) csalogatási hatékonyságáról. Az átszövetett kontra átszövetetlen takarófilm és komposzt kísérleti beállításoknál volt a legalacsonyabb a nem választó egyedek száma. Ebből arra következtetnek, hogy a leghatékonyabb csalogató anyagok a természetes alapanyagok voltak (szintetikus vegyületek nélkül). A legmagasabb nem választó egyedszám egyértelműen a két üres fiola összehasonlításánál jelentkezett. Úgy gondolom, hogy a nem választó kísérleti állatok adatainak kihagyása a választási kísérletek értékelésénél jelentős információvesztést eredményezhet.

Úgy feltételezem, hogy a *L. ingenua* nőstény nem feltétlenül a micélium által kibocsátott illékony komponens iránt érdeklődik, sőt, bizonyos komponensek nagy koncentrációja a közeg elkerülését eredményezi. A jövőben meg szeretném állapítani a dózisfüggés mértékét 1-hepten-3-ol, 1-octen-3-ol és 3-octanone vegyületekre *Lycoriella ingenua* esetében.

4.2. Vizuális kísérletek

Az elektoretinográfiás mérések alapján két érzékenységi csúcsot detektáltunk, egyet az UV és egyet a zöld hullámhossztartományban. A mérések alapján teljes biztonsággal nem lehet különálló fotoreceptor-típusokat detektálni, de a jól elkülönülő érzékenységi csúcsok azt jelezhetik, hogy egynél több fotoreceptor van jelen a *L. ingenua* faj összetett szemében. A fényhez való vonzódás az összes viselkedési kísérletben a zöld és/vagy az UV tartományban volt a legerősebb, amely ugyancsak azt támaszthatja alá, hogy legalább két különböző fotoreceptor típus van jelen az összetett szemben.

A két viselkedési kísérlet eredményei ellentmondani látszanak egymásnak. Az **a) kísérletsorozat** szerint a zöld spektrális tartomány, míg a **b) kísérletsorozat** szerint az UV tartomány volt a legvonzóbb.

Ám a két viselkedési kísérlet között voltak alapvető különbségek, amelyekből az ellentmondás fakadhatott. Elsőként, az **a)** viselkedési kísérletsorozatban egyszerre csak egy hullámhosszú inger érte a rovarok szemét, míg a **b)** kísérletekben szimultán több, különböző színű fényforrás közül választhattak a gombaszúnyogok. Továbbá az **a)** kísérleteknél a **minimális** fényintenzitás megtalálása volt a célunk, amely már egy kritikus elmozdulást eredményez a fényforrás felé a *L. ingenua* fajnál. Természetesen ez az érték hullámhosszanként változott; például a piros spektrális tartományban csak viszonylag nagy intenzitás tudta kiváltani a Δx_c kritikus súlyponteltolódást. Ebben a kísérlet sorozatban körülbelül a 10^5 - 10^9 foton/cm²/s tartományban változott a már vonzódást kiváltó stimulusok intenzitása, ami igen halvány fényt jelent. A **b)** kísérletekben jóval nagyobb, 10^{13} foton/cm²/s fényintenzitást alkalmaztunk, amelyet a rendelkezésre álló eszközt szabtak meg. Végül a két viselkedési kísérletsorozat közötti különbség adódhat a felhasznált rovarokból is. Az **a)**

kísérleteknél fajtiszta *L. ingenua* tenyészetből dolgoztunk, míg a **b)** kísérleteknél a termesztőlétesítményben jelenlevő gombaszúnyogok 76%-a tartozott az *L. ingenua* fajba, ugyanakkor nehezen valószínűsíthető, hogy az egyéb 24%-ba tartozó gombaszúnyog fajok esetleges eltérő spektrális preferenciája okozhatta az UV fényhez való szignifikáns vonzódást.

A viselkedési kísérletekből származó eredmények „miértjére” az összetett szemeken kívül például a rovarok vizuális rendszeréhez tartozó pontszemek, más szóval ocellusok adhatnak választ. Pontszemekkel a legtöbb repülő rovar rendelkezik. E látószervek rendkívül alulfókuszáltak és elsősorban a repülés stabilizálásában segítik az állatot. Régen úgy hitték, hogy az ocellus nem játszik szerepet a fototaxis vezérlésében, ám mára bebizonyosodott, hogy kizárólag a pontszemek ingerlése is kiválthat fototaktikus választ. Az ocellusok akár több nagyságrenddel is érzékenyebbek lehetnek az összetett szemnél, továbbá nem ritka a rovarok körében a kizárólag zöldérzékeny ocellus jelenléte. Bár saját kísérletekkel nem tudjuk igazolni, azonban a rendelkezésre álló irodalmi információk alapján lehetségesnek tartjuk, hogy az **a)** viselkedési kísérletnél (ahol konkrétan a legalacsonyabb intenzitás detektálását kívántuk meghatározni) az eredmények alakulását erősen befolyásolhatta a pontszemek karakterisztikája (feltételezve, hogy az *L. ingenua* pontszemei zöldérzékenyek). A zöldérzékeny pontszemek elsősorban az éjszakai rovarok körében elterjedtek, mivel az éjszakai fények UV tartalma igen alacsony. Gombaszúnyogoknál mind nappali és éjszakai aktivitásról is beszámoltak már, ugyanakkor konkrétan a *L. ingenua* cirkadián ritmusáról nincsen irodalmi adatunk. A zöldérzékeny ocellus továbbá azon rovaroknál is előfordul, amelyek életüket sűrű lombkorona takarásában töltik, mint például a trópusi méhek. A gombaszúnyogok kozmopolitának tekinthetők élettér szempontjából, egyes fajok kizárólag barlangokban élnek, míg mások előfordulnak mocsaras helyeken, réteken, vagy akár lombhullató, vagy tűlevelű erdőkben is. A *L. ingenua* természetes élőhelyéről kevés irodalmi forrás van, ugyanakkor a gombatermesztésben való megjelenése (és a termesztési körülmény tökéletes kihasználása) arra enged következtetni, hogy az állat jól alkalmazkodott a fényszegény körülményekhez, ugyanis a csiperketermesztés általában teljesen fénytől elzártan történik.

Ugyanakkor az összetett szem spektrális érzékenységeének zöld csúcsa nagyon jól egybevághat az **a)** viselkedési kísérletből kapott fototaxis akcióspektrum csúcsával. Így elképzelhető, hogy az összetett szem is meghatározó szerepet játszott az **a)** kísérletben.

Összességében eredményeink alapján elmondható, hogy a *L. ingenua* gombaszúnyog minden vizsgált hullámhossz esetében mutatott pozitív fototaktikus reakciót; ami kiemelendő, hogy zöld hullámhossz esetében igen kis intenzitású fény is elegendő volt a reakció kiváltásához. A többutas, választásos viselkedési kísérleteinknél az ultraibolya, illetve a zöld hullámhossztartományok voltak a legpreferáltabbak az állatok számára. Ennek tudatában fontosnak tarjuk, hogy gyakorlatban is megvizsgáljuk a zöld hullámhossz csalogató hatását külön, vagy az UV megvilágítással kombinációban is.

V. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Doktori disszertációm során megállapítottam, hogy:

1. Az olfaktometriás viselkedési kísérletek alapján, a *Lycoriella ingenua* gyászsúnyog nőtényei a hazai termesztésben használt III. fázisú komposztot elkerülik a II. fázissal szemben. Ezt a jelenséget korábban nem közölték, vagy helytelenül, miszerint a *L. ingenua* választási preferenciája között nincs különbség a komposztfázisok között.
2. Elektrofiziológiai vizsgálatok alapján megállapítottam, hogy a különböző illatprofilokban megtalálható 1-hepten-3-ol, 1-octen-3-ol és 3-octanone vegyületeket csápakтивak, amelyeket tudományos publikációban közöltem.
3. Viselkedési vizsgálatokban bizonyítottam, hogy az előzőekben ismertetett csápakтив vegyületek az áltunk alkalmazott dózisban elkerülő magatartást váltottak ki a *L. ingenua* nőtényekből és tudomásunk szerint ezt elsőként publikáltam.
4. Jelenlegi tudásom szerint elsőként publikáltuk a *L. ingenua* összetett szemének spektrális érzékenységet elektroretinográfiás vizsgálatok alapján. Megállapítottam, hogy az érzékenység bimodális és az érzékenységi maximumok az UV ($\lambda_{\max,UV} = 370.1 \text{ nm}$) és zöld ($\lambda_{\max,G} = 526.3 \text{ nm}$) hullámhossztartományokban vannak.
5. Különböző viselkedési kísérletek alapján elsőként közöltem, hogy leginkább az UV (~370 nm) és zöld (~526 nm) hullámhossztartomány csalogatja a *Lycoriella ingenua* egyedeket.

VI. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ KAPCSOLÓDÓ PUBLIKÁCIÓK

1. Impaktfaktoros folyóiratban:

Kecskeméti, Sándor ; Geösel, András ; Fail, József ; Egri, Ádám

In search of the spectral composition of an effective light trap for the mushroom pest Lycoriella ingenua (Diptera: Sciaridae)

SCIENTIFIC REPORTS 11 : 1 Paper: 12770 , 12 p. (2021)

((D1), IF: 4,379)

Kecskeméti, Sándor ; Szelényi, Magdolna Olívia ; Erdei, Anna Laura ; Geösel, András ; Fail, József ; Molnár, Béla Péter

Fungal Volatiles as Olfactory Cues for Female Fungus Gnat, Lycoriella ingenua in the Avoidance of Mycelia Colonized Compost

JOURNAL OF CHEMICAL ECOLOGY 46 : 10 pp. 917-926. , 10 p. (2020)

((Q1), IF: 2,626)

2. Lektorált folyóiratban (MTA listás) megjelent közlemények:

Kecskeméti, Sándor ; Szelényi, Magdolna Olívia ; Erdei, Anna Laura ; Molnár, Béla Péter

Miért nem kedvelik a gombaszúnyogok a gombakomposztot – az átszövetett csiperkegomba komposzt illatanyagok repulzív hatása a gombaszúnyog nőtényekre

NÖVÉNYVÉDELEM 57 : 4 pp. 145-155. , 11 p. (2021)

Kecskeméti, S ; Fail, J ; Geösel, A

A gombatermesztésben előforduló Sciaridok és az ellenük való védekezési lehetőségek

NÖVÉNYVÉDELEM 53 : 7 pp. 307-320. , 14 p. (2017)

Jenei, Lajos ; Fail, József ; Szukács, Gergely ; **Kecskeméti, Sándor** ; Egri, Ádám ; Geösel, András

Gombaszúnyogok válaszreakciója különböző intenzitású kék fényingerekre

KERTGAZDASÁG (1998) 51 : 4 pp. 74-85. , 12 p. (2019)

Kecskeméti, Sándor ; Fail, József ; Geösel, András

A kétspórás csiperkegomba (Agaricus bisporus) termesztésben alkalmazott több dúsítóanyag hatása a Lycoriella ingenua fejlődésére

KERTGAZDASÁG (1998) 50 : 4 pp. 10-19. , 10 p. (2018)

3. Konferencia Full paper:

Kecskeméti, Sándor ; Fail, József ; Geösel, András

Development of Lycoriella ingenua and Bradysia impatiens on different phases of Agaricus composts
REVIEW ON AGRICULTURE AND RURAL DEVELOPMENT 7 : 1-2 pp. 55-60. , 6 p. (2018). 16th Wellmann International Scientific Conference, Hódmezővásárhely, Magyarország : Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Kar.

Kecskeméti, Sándor

Gombatermesztésben károsító sciaridok preferenciája

In: Fodor, Marietta; Bodor, Péter (szerk.)

ITT - Ifjú Tehetségek Találkozója

Budapest, Magyarország : Szent István Egyetem, Budai Karok (volt KÉE) (2017) 162 p. pp. 17-30. , 13 p.

4. Konferencia összefoglalók:

Kecskeméti, Sándor ; Fail, József ; Geösel, András

Gombaszúnyogok (Sciaridae) felszaporítása különböző szerves közegeken

In: Dima, B; Lökös, L; Papp, V (szerk.)

Mikológiai Közlemények Clusiana: VI. Magyar Mikológiai Konferencia

Budapest, Magyarország : Magyar Mikológiai Társaság (2017) pp. 105-107. , 3 p.

Sándor, Kecskeméti ; József, Fail ; András, Geösel

Development of Lycoriella ingenua and Bradysia impatiens on different phases of Agaricus composts

In: Monostori, Tamás (szerk.)

16th Wellmann International Scientific Conference : Book of Abstracts

Hódmezővásárhely, Magyarország : Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Kar (2018) pp. 55-56. , 2 p.

Kecskeméti, Sándor ; Geösel, András ; Molnár, Béla Péter

Lycoriella ingenua perifériális érzékelése egyes gombafajok illatanyaga esetében

In: Áldorfai, György; Tóth, Tamás (szerk.)

"SZIE kiváló tehetségei" konferencia előadásainak összefoglaló kiadványa

Gödöllő, Magyarország : Szent István Egyetemi Kiadó (2018) 157 p. pp. 53-54. , 2 p.

5. Egyéb ismeretterjesztő írások, előadások:

Egri, Á. ; **Kecskeméti, S.** ; Geösel, A. ; Fail, J.

Fénnyel a gombaszúnyogok ellen: a Lycoriella ingenua spektrális érzékenységeinek kísérleti vizsgálata

In: Haltrich, Attila; Varga, Ákos (szerk.)

67. Növényvédelmi Tudományos Napok konferenciakiadványa: Növényvédelmi Tudományos Napok 2021

(2021) 76 p. p. 14 , 1 p.

Kecskeméti, Sándor ; Geösel, András

Gombaszúnyogok elleni védekezés a csiperketermesztésben

ZÖLDSÉG-GYÜMÖLCS PIAC ÉS TECHNOLÓGIA 20 : 2 pp. 13-14. , 2 p. (2016)

Kecskeméti, Sándor ; Geösel, András

Szúnyogok a gombatermesztésben

AGROFÓRUM - A NÖVÉNYTERMESZTŐK ÉS NÖVÉNYVÉDŐK HAVILAPJA 28 : 10 pp. 134-137. , 4 p. (2017)

Kecskeméti, S. ; Szelényi, M. O. ; Erdei, A. L. ; Geösel, A. ; Fail, J. ; Molnár, B. P.

Gombakomposzt illatanyagok szerepe a Lycoriella ingenua nőstények viselkedési vizsgálataiban

In: Haltrich, Attila; Varga, Ákos (szerk.)

66. Növényvédelmi Tudományos Napok

Budapest, Magyarország : Magyar Növényvédelmi Társaság (2020) 103 p. p. 24 , 1 p.