A kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*) feromon kommunikációjának és tápnövényválasztásának neuroetológiai vizsgálata növényvédelmi szempontból

Akadémiai Doktori Értekezés

Tézisek

Készítette:

Kárpáti Zsolt PhD

HUN-REN ATK Növényvédelmi Intézet

Budapest, 2024

BEVEZETÉS

Az élőlényekre különböző ingerek (fény, hő, hang, kémiai ingerek) hatnak életük során, melyeket érzékszerveikkel felfognak és különböző viselkedési válaszokat adnak rájuk. Az egyszerűbb idegrendszerrel rendelkező élőlények esetében a válaszok egyértelműek, a bonyolultabb felépítésűeknél azonban először az ingerek által közvetített információt feldolgozzák, értelmezik, majd ezután hoznak döntést. Ezek az információt hordozó ingerek segítik őket a táplálék megtalálásában, a párválasztásban és a veszélyek elkerülésében is. Mivel az élőlényeknek túlélésük érdekében adaptálódniuk kell a különböző környezeti feltételekhez, ezért más-más módon fogják fel a környezetükből érkező eltérő ingereket. Az ember esetében látásunk és hallásunk érzékenyebb mint a szaglásunk összehasonlítva például a kutyákkal vagy a rovarokkal. Természetesen a legtöbb élőlény esetében az egyirányú, ingereken alapuló információáramlás mellett a kommunikációnak is létfontosságú szerepe van, ez a kommunikáció lehet kémiai, akusztikus, vizuális, és taktilis alapú.

A rovarok a környezethez való alkalmazkodásuk során rendkívül érzékeny szaglásra tettek szert, ezáltal az illatanyagok segítségével történő kémiai kommunikációjuk rendkívül fejlett. A kutatók ezzel a területtel viszonylag későn, csak a 19. században kezdtek el komolyan foglalkozni, amikor Jean-Henri Fabre 1913-ban igazolta a búcsújáró lepke esetében, hogy valamiféle, a nőstények által termelt illatanyag csalogatja a hímeket. Az első rovar feromont csak a 20. század közepe után, 1959-ben sikerült azonosítani. Ennek a felfedezésnek a hatására indult el világszerte a feromonok és a rovarok kémiai kommunikációjának kutatása. A hivatalos definíció szerint a feromonok azok a vegyületek, melyeket az egyik egyed azért választ ki, hogy az azonos fajhoz tartozó másik egyed viselkedését vagy fiziológiáját befolyásolja. Természetesen, ahogy idővel egyre több feromont azonosítottak, ezeket funkciójuk szerint különböző kategóriákba csoportosították, mint például szex-, nyomjelző- vagy aggregációs feromonok. A feromonkutatás kezdeti időszakában a hajtóerőt a gyakorlati alkalmazás lehetősége adta, mivel a feromonok segítségével olyan, a mezőgazdaságban alkalmazható, kártevő rovarokat csalogató feromoncsapdákat lehet kifejleszteni, amelynek segítségével fajspecifikusan lehet nyomon követni a kiválasztott faj rajzásmenetét. Később a kártevő rovarok kutatása mellett egyre több kutatócsoport kezdett foglalkozni más, például a feromonok társas rovarok esetében betöltött szerepével, a feromon termelés és felfogás evolúciójával, illetve a feromonok által vezérelt fajkeletkezéssel. A műszeres analitikai, neurofiziológiai és molekuláris biológiai technikák fejlődésével egyre bővül az ismeretünk a feromonok bioszintézisével, kibocsátásával, receptor szintű periferikus és központi idegrendszeri felfogásával kapcsolatban.

A feromonok kutatása mellett az utóbbi időben igen nagy hangsúlyt kapott a növényekből származó illatanyagok kutatása is, mivel ezek a vegyületek olyan kémiai jelként működnek, melyeket a növények és a rovarok kommunikációjukhoz és interakciójukhoz fel tudnak használni. A természetben ezek a vegyületek vonzzák a beporzókat és a magokat terjesztő állatokat, megvédik őket a növényevő rovaroktól azáltal, hogy vonzzák azokat a ragadozókat és parazitoidokat amelyek megtámadják ezeket a rovarokat, illetve az illatanyagok révén

kommunikálni tudnak a szomszédos növényekkel is. Munkám során nemcsak a feromonokkal hanem a növények által kibocsátott illatanyagok rovarokra ható viselkedésszabályzó folyamataival is foglalkoztam. Ez a téma az alapkutatás mellett azért is fontos, mert a tápnövényekből származó illatanyagok mind a nőstény mind a hím rovarokat képesek vonzani, ezáltal igen nagy lehetőség rejlik bennük a kártevő rovarok fajspecifikus gyérítése érdekében.

A feromonok és növényi illatanyagok kutatásával kapcsolatban az utóbbi évtizedekben egy új kutatási irány, a rovar neuroetológia jelent meg, ahol kapcsoltan tanulmányozzák a rovarok viselkedési és az ezt irányító neurológiai mechanizmusokat. Ezen a területen már sok rovarfaj esetében sikerült neuroanatómiai és neurofiziológiai vizsgálatokkal feltárni a szexferomon és illatanyag felfogásáért felelős agyi területek háromdimenziós szerkezetét és az abban elhelyezkedő egységek funkcióit.

A fent felsorolt témakörök álltak kutatásaim élvonalában és meglátásom szerint a rovarok neuretológiájával kapcsolatban megszerzett tudás elengedhetetlenül szükséges mind az alap mind pedig az alkalmazott kutatások területén. Kísérleteimet elsősorban a kukoricamollyal, mint világviszonylatban komoly kukoricakártevővel végeztem, mivel bármilyen előrelépés a faj perifériás és központi idegrendszeri feromon felfogásával és tápnövényválasztásával kapcsolatban előre mozdíthatja a fajjal kapcsolatos vegyszermentes, fajspecifikus és precíziós, növényvédelmi eljárások kifejlesztését.

CÉLKITŰZÉSEK

Ebben a dolgozatban bemutatott kísérleteimet minden esetben a kukoricamollyal (*Ostrinia nubilalis*) végeztem. Témaválasztásom azért esett a kukoricamolyra, mivel ez a faj a Föld északi féltekén a kukorica egyik legfontosabb kártevője. Célkitűzéseim két fő téma köré csoportosultak.

Az egyik téma a faj szexferomonok által közvetített kémiai kommunikációval foglalkozik. Közelebbi célkitűzésem az volt, hogy feltárjam a kukoricamoly feromon felfogásának központi idegrendszeri öröklésmenetét. A kukoricamoly esetében feromon polimorfizmus figyelhető meg, azaz a fajon belül két feromon vonal, a Z- és az E-vonal fordul elő. A két vonal a két feromonkomponens fordított arányát részesíti előnyben, ellentétben a két vonal hibridjeivel, amelyek a köztes feromon arányt kedvelik. Korábban feltártam a Z- és az E-vonal hímjeinek központi idegrendszeri feromon felfogását, ezért a következő kérdésem az volt, hogy vajon a hibrid hímek hogyan képesek központi idegrendszeri szinten felfogni a köztes feromon összetételt. Ehhez a fajon belül található két feromon vonal hibridjeinek és azok apai visszakeresztezésének szaglólebenyében elhelyezkedő makroglomeruláris komplex háromdimenziós rekonstrukcióját, illetve azok térfogati mérését és a feromon komponensekre specializálódott, makroglomeruláris komplexben elhelyezkedő projekciós neuronok fiziológiai válaszát kívántam megvizsgálni. Ezen túlmenően a feromonokkal kapcsolatos témában azonosítani szerettem volna a szexferomon orientációban szerepet játszó lépések szabályozó szerepét és ennek perifériku fiziológiai hátterét. További célom volt, hogy a feromon felfogásban kulcsfontosságú, csápon elhelyezkedő, feromon komponensekre válaszoló érzékszőrök fiziológiái válaszait leírjam a faj két feromon vonalánál és azok hibridjeinél. Nem utolsó sorban gyakorlati szempontból célom volt, hogy Magyarországon megtaláljam a faj hímjeinek monitorozására legalkalmasabb csapdatípust és meghatározzam a feromon kibocsátóban alkalmazható feromon pontos összetételét és mennyiségét.

A kukoricamollyal kapcsolatos másik témám a faj rovar-tápnövény kapcsolatában résztvevő illékony anyagok kommunikációs szerepét tárja fel. Célom az volt, hogy azonosítsam azokat a kukoricából származó növényi illatanyagokat, melyeket képesek a kukoricamoly nőstényei csápjukkal felfogni és erre laboratóriumi rovar szélcsatornában viselkedési aktivitást mutatnak. Emellett a faj tápnövényénél maradva olyan tritrófikus rendszert tanulmányoztam, melyben a kukoricán élő gyökérkártevő hatását vizsgáltam a kukoricamoly nőstények tojásrakási preferenciájára a kukorica által közvetített illatanyagok révén. Arra a kérdésre kerestem a választ, hogy a párosodott kukoricamoly nőstények képesek-e a kukoricából származó illékony anyagok alapján megkülönböztetni az egészséges és a kukoricabogárral fertőzött növényeket. Ehhez kapcsolódóan célunk az volt, hogy megvizsgáltuk a nőstények által tojásrakásra kiválasztott növényen fejlődő utódok fejlődési ütemét, mivel feltételezésünk szerint az egészséges növényen jobban fejlődnek a kukoricamoly utódjai.

ANYAG és MÓDSZER

Ebben a fejezetben röviden bemutatnám a kukoricamollyal végzet vizsgálatok során alkalmazott kísérleti módszereket.

In vivo intracelluláris központi idegrendszeri neurofiziológiai mérés

A feromonkomponens és feromonkeverék specifikus projekciós neuronok neurofiziológiai méréséhez *in vivo* intracelluláris felvételezést alkalmaztam. Ezzel az eljárással megtudtam állapítani, hogy a keresett idegsejt melyik feromonkomponensre vagy keverékre válaszol.

A mérések során a hím fejét rögzítettem, a fejen egy „ablakot" nyitottam, melynek segítségével a szaglóideg és a szaglólebeny láthatóvá vált. A preparátumon folyamatosan Ringer-oldatot áramoltattam keresztül. A fiziológiai méréshez olyan üvegkapillárist használtam, amelynek elvékonyított végét 1 %-os Neurobiotinnal töltöttem meg. Ezt az üvegkapillárist mikrómanipulátor segítségével irányítottam a szaglólebeny azon részére, amely közel esik a csáp felől érkező szaglóneuron köteghez. Az üvegkapilláris vastagabbik vége egy elő-erősítőhöz, majd egy analóg-digitális átalakítóhoz volt kapcsolva. Az így generált digitális jelet AutoSpike 3.7 programmal rögzítettem. Ha sikerült megfelelő kapcsolatot létesítenem a kapilláris és az idegsejt között akkor a csápot a feromonkomponensekkel és azok különböző keverékeivel ingereltem. A mérések során a csáp folyamatos nedvesített és aktív szénen szűrt légáramban volt. Az ingerlés előtt és után is rögzítettem az akciós potenciálok számát és mintázatát. A fiziológiai mérés után az üvegkapillárist a neuronban hagytam, majd a Neurobiotin jelölőanyagot iontoforetikusan injektáltam.

Neuroanatómia és háromdimenziós képalkotás

Miután elvégeztem a neurofiziológiai méréseket és a neurobiotin injektálást a fejet levágtam és 3 órán keresztül szobahőmérsékleten 4%-os formaldehidet és 0,25% TritonX100-et tartalmazó foszfáttal pufferelt sóoldatban (PBS) fixáltam. Ezután a fejből kiboncoltam az agyat, majd 3-3% alfa-szinapszinnal és fluoreszcens avidinnal inkubáltam. A következő napon az agyakat 1% fluoreszcens másodlagos antitesttel inkubáltam, majd tárgylemezen Vectashield Hard Mount-al rögzítettem. Az így elkészített agyakat háromdimenziós, konfokális pásztázó mikroszkóppal vizsgáltam. A preparátumot 543 és 480 nm hullámhosszú hélium-neon és argon lézerekkel gerjesztettem és a detektáláshoz 560 és 505 nm-es szűrőket alkalmaztam. A mikroszkóppal készített felvételekből AMIRA program segítségével 3 dimenziós térbeli képet alkottam. Az egyes képeken kézzel jelöltem az elhatárolható glomerulusok körvonalait és a neuronok dendritjeinek útját. Ezáltal pontos, térbeli képet kaptam a szaglólebenyben található glomerulusok és idegsejtek dendritjeinek térbeli elhelyezkedéséről.

Elektroantennográfiás mérés (EAG)

Az EAG mérésekhez a kukoricamoly Z- és E-vonalának, hibridjeinek (ZE, EZ) és apai visszakeresztezéseinek (ZExZ, ZExE, EZxZ, EZxE) hímjeit használtam. A mérések során a Z11- és E11-14Ac-ra adott csápválaszok erősségét mértem. A mérésekhez a hím csápját és annak disztális végét levágtam, majd egy villa alakú, kettős elektróda közé helyeztem. A csáp és az elektródák közötti kapcsolathoz konduktív zselét használtam. Az elektródák egy tízszeres előerősítőhöz voltak csatlakoztatva, amely közvetlenül kapcsolódott egy analóg-digitális adatgyűjtőhöz. A mérések során aktív szénen szűrt és párásított levegő áramlott folyamatosan a preparált csáphoz. A csáp ingerléséhez Pasteur pipettába töltött szűrőpapírkorongot használtam. Az EAG jel vizualizálására GC-EAD programot használtam. A csápválaszok amplitúdóit lemértem, ugyanarra a stimulusra adott válaszokat átlagoltam, majd a kontroll értékhez normalizáltam. A Z11-14Ac választ elosztottam az E11-14Ac válasszal. A tojásrakás preferencia vizsgálatánál elvégzett EAG méréseknél a kukoricamoly nőstény csápját üvegkapillárisok közé helyeztük, amelyet Ringer-oldattal töltöttünk meg. Következő lépésként ezeket az üvegkapillárisokat ráhúztuk a referencia és a felvételező ezüst elektródra, melyek mikromanipulátorra voltak rögzítve. A mérésekhez használt három különböző dózisú (0,1, 1, 10 µg/µl) szintetikus növényi illatanyagokat ásvány olajban hígítottuk. Az arcsin-transzformált adatokat ANOVA statisztikai teszttel elemeztem, majd Tukey HSD post-hoc tesztet alkalmaztam.

Gázkromatográffal kapcsolt elektroantennográfiás mérés (GC-EAD)

A GC-EAD mérésekhez Agilent 6890 N gázkromatográfot használtam, amely egy HP-5 kapilláris oszloppal volt felszerelve vivőgázként pedig héliumot alkalmaztam. A gázkromatográf oszlopának végén egy T-alakú elágazás a kivonat egyik felét a gázkromatográf lángionizációs (FID) detektorához, a másik felét pedig a csáphoz vezette. A kukoricamoly csápját és annak válaszait az EAG fejezetben leírtak alapján rögzítettem.

Extracellularis egyedi érzékszőr mérés (Single Sensillum Recording – SSR)

Az SSR mérések során a hímet pipettahegybe rögzítettem, hogy a fej a pipettahegy vékonyabbik végén kilógott. A referenciaelektródként szolgáló volfrám szálat a potrohba szúrtam. A fejet rögzítettem és a csápot kétoldali ragasztószalagra fektettem. Az elektrolitikusan kihegyezett felvételi elektród mikromanipulátor segítségével az érzékszőr alapi részébe volt beszúrva. A csáp ingerléséhez Pasteur pipettába töltött szűrőpapírkorongot használtam. A csáp folyamatos, aktívszénen szűrt, párásított levegőáramban volt. A csápot a különböző stimulusokkal egy stimulus kontroller segítségével 500 ms ideig ingereltem és a stimulusok sorrendjét véletlenszerűen rendeztem el. A felvételi elektród egy tízszeres erősítőhöz volt csatlakoztatva, majd a továbbított jel egy adatgyűjtő vezérlőbe érkezett amely az analóg jelet digitálissá alakította. Amikor az extracelluláris kapcsolatot létrehoztam a

csápot különböző stimulusokkal ingereltem és a neuronok aktivitását az ingerlés előtt, alatt és után rögzítettem AutoSpike 3.9 szoftver segítségével, majd az akciós potenciálokat (tüskék) manuálisan számláltam. A statisztikai kiértékeléshez Kruskal-Wallis és Tukey HSD tesztet használtam.

Rovar szélcsatornás viselkedési vizsgálatok

Munkámban bemutatott két különböző szélcsatornás kísérlethez más-más szélcsatornát használtam ezért a szélcsatornák pontos paramétereit ebben a tézisfüzetben nem mutatom be. Mindkét esetben a szélcsatornába aktív szénen szűrt levegő érkezett és sűrű fémháló segítségével lamináris légáramlást hoztam létre. A lepkék könnyebb orientációja érdekében random elrendezésben piros köröket helyeztem el a szélcsatorna aljzatán. A kísérlethez felhasznált állatokat 3 órával a teszt megkezdése előtt a szélcsatornás szobába egyenként kis üveghengerbe helyeztem, hogy az állatok akklimatizálódni tudjanak a szoba körülményeihez. Az állatokat egyesével, a sötét periódus 1-3 órájában teszteltem.

Tojásrakás preferencia vizsgálat

Az első tojásrakás preferencia teszt során a kukoricamoly nőstények választhattak az egészséges és a kukoricabogár lárváival fertőzött növény között. Öt darab, párosodott kukoricamoly nőstényt engedtünk szabadon a ketrecben. A tojások és a tojáscsomók számát a növényeken három napig, naponta megszámoltuk. A második tojásrakás preferencia teszt során a párosodott kukoricamoly nőstények a ketrecben választhattak, hogy vagy egy csalétek nélküli, vagy egy undekán csalétekkel ellátott egészséges kukoricára rakják a tojásaikat. Az undekán csalétek egy kibocsátóban a növény mellett, a talajon volt elhelyezve. A ketrecbe négy, párosodott nőstényt helyeztünk, a tojások és a tojáscsomók számát minden növényen három napig, naponta megszámoltuk.

Lárva preferencia vizsgálat

Első lépésként összehasonlítottuk a kukoricamoly lárvák növekedését egészséges és kukoricabogárral fertőzött növényeken. Tíz darab, frissen kelt kukoricamoly lárvát helyeztünk a kontroll és a kukoricabogárral fertőzött növények leveleire. 21 nap után összegyűjtöttük az összes kukoricamoly lárvát, lemértük a tömegüket, és rögzítettük a levélrágás területét. Második lépésként összehasonlítottuk a kontroll és az undekán illatanyaggal kezelt kukoricán a kukoricamoly lárvák növekedését. Egy előre lemért tömegű, második stádiumú kukoricamoly lárvát helyeztünk minden növényre. Négy nap után a kukoricamoly lárvákat összegyűjtöttük, majd tömegüket megmértük.

Szabadföldi feromoncsapdázás

A kukoricamollyal kapcsolatos szabadföldi csapdázásokat 2013-ban és 2014-ben Törökszentmiklóson, 2015-ben Bicskén és Martonvásáron végeztük. A csapdák minden helyszínen a kukoricaföld szélén voltak elhelyezve. A kísérletekhez szükséges delta alakú csapdákat a HUN-REN ATK Növényvédelmi Intézetében működő Csalomon® csoport biztosította. A nagy fogókapacitású sátor csapdákat magam készítettem, melyek a kukoricaföld szélén egy oszlopra voltak rögzítve. A delta csapdákat a kukoricás első sorában a kukorica legmagasabb pontjára rögzítettük. A kísérleti időszakban minden leolvasáskor a csapdákat a kukorica növekedésével összhangban mindig feljebb helyeztük. A kísérletekben minden csapdatípus esetében a kibocsátó egy Wheaton kapszula volt. A kapszulákra minden esetben 20 mikroliternyi feromont mértünk ki különböző dózisokban. Az első kísérletben három különböző csapdatípus: 1.) delta csapda eredeti ragacsanyaggal, 2.) delta csapda test egérfogásra kifejlesztett ragacsanyaggal, 3.) nagy fogókapacitású sátor csapda hatékonyságát hasonlítottuk össze. Ezekben a kísérletekben kontrollként mindig a megfelelő csapdatípus üres csapdáját használtuk. A kibocsátó kapszulákban a feromon összetétele 97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac volt 10 µg-os dózisban. A második kísérletben a két feromonkomponens különböző arányait hasonlítottuk össze. Itt csak delta+M csapdatípust használtunk és 5 különböző arányt hasonlítottunk össze: Z11-14Ac:E11-14Ac 99:1, 97:3, 93:7, 50:50 és 1:99. A harmadik kísérletben szintén delta+M csapdatípust használtunk és a 97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac arányú feromonkeverék négy különböző dózisát: 0.1, 1, 10, és 100 µg teszteltük. Minden helyszínen és évben a csapdákban lévő kibocsátót 3 hetente frissre cseréltük. A kísérleteket öt ismétlésben végeztük, a csapdák távolsága egymástól 20 méter volt, illetve a csapdákat véletlenszerűen helyeztük el. A csapdákat hetente ellenőriztük és a ragacslapokat cseréltük. A három kísérleti év során gyűjtött adatokat a SPSS 17 statisztikai szoftverrel elemeztük. Az adatokat log(x+1) transzformációval normalizáltuk és ANOVA statisztikai teszttel elemeztük. Ha az ANOVA jelentős különbségeket mutatott, akkor a Tukey post-hoc tesztet alkalmaztunk a kezelések közti különbségek megállapítására.

EREDMÉNYEK

Dolgozatom egyik kérdésfeltevése az volt, hogy a kukoricamoly hímek esetében hogyan öröklődik a feromon felfogás neuroanatómiája és neurofiziológája. Ezen belül azonosítottam mind a hibridek, mind a visszakeresztezett hímek feromon felfogásának funkcionális topológiáját a makroglomeruláris komplexben (MGK). Meghatároztam a projekciós és a helyi interneuronok fiziológiai karakterisztikáját. Azonosítottam a hibridek és a visszakeresztezett hímek MGK-ének neuroanatómiáját. Megmértem a szülői vonalak, ezek hibridjei és visszakeresztezett egyedeinek összesített elektrofiziológiai csápválaszát. A fenti vizsgálatokat azért végeztem el, hogy megértsem a fent említett tulajdonságok öröklésmenetét és összefüggést találjak a hímek feromonra adott viselkedési válaszával.

Intracelluláris *in vivo* neurofiziológiai mérések során a hibridek esetében specifikus és keverék specifikus projekciós neuronokat (PN) tudtam azonosítani. Mindkét hibrid esetében az E11-14Ac specifikus PN-ok minden esetben a mediális MGK egységben ágaztak el ugyanakkor a Z11-14Ac specifikus PN-ok dendritjei mindig a laterális MGK egységben végződtek. Összegezve, mindkét hibrid funkcionális topológiájukat tekintve a szülői, E-vonalhoz hasonlítanak. Az EZxZ visszakeresztezett hímek esetében a Z komponens specifikus PN-ok a mediális MGK glomerulusban ágaztak el, ugyanakkor az E specifikus PN-ok a laterális MGK glomerulusban végződtek, hasonlóan a szülői Z-vonalhoz. A többi visszakeresztezett hímeknél a Z specifikus PN-ok a laterális MGK glomerulusban ágaztak el, míg az E specifikusak a mediálisban. Ez az elrendezés a szülői E-vonallal és a hibridekkel azonos. Ez a funkcionális topológia ivari kromoszómához kötött öröklésmenettel magyarázható, amely E-vonal dominanciát mutat.

Az MGK egységeinek térfogatmérése során mind a Z-, mind az E-vonalhoz tartozó hímek esetében hasonló arányú mediális és laterális egységet azonosítottam (70:30). A két hibrid hím esetében azonban a két MGK egység aránya köztes a szülői vonalakhoz képest volt (50:50). A visszakeresztezett hibrid hímek neuroanatómiai térfogataránya a nemhez kötött öröklésmenetet igazolták.

További kísérletként, elektroantennográf segítségével megmértem a két feromonkomponensre adott hímek csápválaszát a szülői vonalak, a hibridek és a visszakeresztezett egyedek esetében. Míg a Z-vonal hímje erősebben reagált a Z11-14:Ac-ra, mint az E11-14:Ac-ra, addig az E-vonal válasza mindkét izomerre hasonló volt. A hibrid hímek relatív csápválasza köztes volt a Z- és E-vonalakhoz képest. A válaszok követték a két MGK-ben lévő glomerulus térfogatarányát és összhangban vannak a nemhez kötött örökléssel és a viselkedési válaszokkal.

Az előbbi témához kapcsolódóan szintén vizsgáltam az egyedi érzékszőrök fiziológiai válaszát a kukoricamoly hím csápján elhelyezkedő, feromonkomponensekre érzékeny trichodea típusú érzékszőrökön. A mérések során csak egy típusú feromon trichodea érzékszőrt találtam mindkét vonal esetében. Ez az érzékszőr három különböző neuront tartalmaz, melyek közül az egyik a Z11-14Ac-ra, a másik azE11-14Ac-ra, a harmadik pedig az antagonista feromonkomponenskere válaszolt. Azonban a három, ugyanabban az

érzékszőrben előforduló neuron amplitúdója eltér a szülői vonalak és hibridjeik esetében. A szülői vonalakban minden esetben a nagy amplitúdójú neuron válaszolt a feromon főkomponensre (Z-vonalnál Z11-14Ac, az E-vonal esetében E11-14Ac), a kis amplitúdójú neuron a kisebbik feromonkomponensre (Z-vonalnál E11-14Ac, E-vonalnál Z11-14Ac) és a közepes amplitúdójú neuron pedig az antagonista feromonkomponensekre. Ez a neuron nem volt olyan specifikus, mint a másik két feromonkomponensre érzékeny neuron, ami valójában váratlan eredmény egy feromon specifikus receptor neuron esetében. A dolgozatomban felsorolt tizenhárom feromon vegyület közül tíz váltott ki választ ebből a neuronból.

A feromonnal végzett rovar szélcsatornás viselkedési vizsgálatok során a kukoricamoly estében arra a következtetésre jutottam, hogy repülés közben csökken a kezdeti feromonkeverék pontos arányának érzékelése, azaz ha a hím lepke érzékeli a repülés megkezdésekor a neki megfelelő arányú feromonkeveréket, akkor a repülés további szakaszaiban már nem érzékeli pontosan a feromonkeverék arányát. Ennek igazolására egyidőben 3 különböző feromonforrást helyeztünk el a szélcsatornában, úgy, hogy a hímek mindhárom feromon keveréket egyszerre érzékeljék az indulási pontnál. Megfigyeltük, hogy a hímek feromon-specificitása csökkent, a Z-keverékre 58%, a hibrid keverékre 38% és az E-keverékre pedig 4% szállt le. Következő lépésként, miután a hím ráhangolódott a feromonkeverékre, átváltottuk a feromon forrást a hím repülése közben. Meglepő módon a hímek repülése szintén zavartalan volt akkor, amikor a Z-keverékről H-keverékre váltottuk a forrást. Abban az esetben, amikor a Z-keveréket E-keverékre, azaz a másik vonal feromonkeverékére váltottuk a forrást az esetek 52%-ban folytatták a repülésüket a forrás irányába, illetve a hímek 28%-a le is szállt az E-keverék forrására. Feltételezzük, hogy a hím a repülés kezdetekor eldönti, hogy elinduljon-e a feromonforrás felé vagy sem, majd repülés közben már nem ellenőrzi a forrás minőségét és így akár a rossz feromonforrásra is leszállhat. Ennek a folyamatnak a perifériás fiziológiai hátterét neuron adaptációs mérésekkel vizsgáltam. A mérések során 10, egymás után ismétlődő stimulust alkalmaztam és azt tapasztaltam, hogy az azonos érzékszőrben elhelyezkedő két neuron közül a Z feromon keverékkel való sorozatos ingerlés hatására csak az egyik, Z11-14Ac specifikus neuron adaptálódott. Ezzel ellenben a másik, E11-14Ac specifikus neuron nem adaptálódott. Valószínűleg egy kevert feromonfelhőben, ahol minkét feromon vonal keveréke egyszerre lehet jelen, a perifériás receptor neuronok eltérő adaptációja hatással lehet a specifikus feromonforrás megtalálására.

Ha a kukoricamoly feromon kommunikációjával kapcsolatos gyakorlati megközelítést nézzük, akkor a szabadföldi feromoncsapdázás eredményei azt mutatták, hogy a három különböző csapdatípus szignifikánsan több hímet csalogatott a csalétek nélküli kontrollcsapdához képest. A sátor típusú csapdák csalogatták a legtöbb hímet. A két feromon komponens különböző aranyú keverékének összehasonlítása során a 99:1, 97:3 és a 93:7 Z11-14Ac:E11-14Ac arányú keverékek bizonyultak a leghatásosabbaknak. Az optimális feromon keverék különböző dózisainak összehasonlításánál az 1, 10 vagy 100 µg-os dózisok szignifikánsan több hímet csalogattak a kontrollhoz képest.

A kukoricamollyal kapcsolatos másik témám a faj rovar-tápnövény kapcsolatában résztvevő illékony anyagok kommunikációs szerepével foglalkozott. Ezzel kapcsolatan első lépésként megerősítettük, hogy szélcsatornában a kukoricamoly nőstények a kukoricanövények felé orientálódnak, majd gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrométer (GC-MS) segítségével elemeztük a kukorica növények illatanyag profilját. Ezután a párosodott nőstények csápján végzett gázkromatográffal kapcsolt elektroantennográfiás (GC-EAD) mérések során azt találtuk, hogy a kukoricából származó illatanyagok közül csak két komponens: a nonanal és dekanal váltott ki fiziológiai csápválaszt. További szélcsatornás vizsgálatokkal sikerült igazolni, hogy a szintetikus nonanal és dekanal megfelelő arányú keveréke vonzza a kukoricamoly nőstényeket.

A kukoricamoly tápnövényválasztásának kérdéséhez kapcsolódóan sikerült kimutatunk, hogy az egészséges és gyökérfertőzött kukoricából származó illatanyagok befolyásolják a kukoricamoly tojásrakási preferenciáját. A tojásrakásos viselkedési kísérlet tapasztalatai alapján megállapítható, hogy a kukoricamoly nőstények szignifikánsan több tojást raktak az egészséges kukorica növényekre mint a kukoricabogárral fertőzöttekre. Az ehhez a témához kapcsolódó másik kísérletünk eredményeként megállapítottuk, hogy bár a kukoricamoly lárvák túlélési aránya hasonló volt mind az egészséges mind a kukoricabogárral fertőzött kukoricanövényeken, tömegük kétszerese volt a kukoricabogárral fertőzött növényeken. Szintén fontos megfigyelés volt a kísérletek során, hogy a kukoricamoly lárvái által okozott levélrágás is magasabb volt a kukoricabogárral fertőzött növényeken, mint a kontroll növényeken. A fenti folyamatok hátterét feltárni célzó, gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrométerrel végzett méréseink során azt találtuk, hogy az egészséges és kukoricabogárral fertőzött növények föld felett kibocsátott illatanyag profilja jelentősen különbözött. Az 55 azonosított illékony vegyületből 23-at más arányban bocsátották ki a kontroll és a kukoricabogárral fertőzött növények. A vegyületek közül az undekán volt az egyetlen olyan vegyület, amit csak a kukoricabogárral fertőzött növény bocsátott ki. A kukoricamoly nőstény csápján végzett elektroantennográfiás mérések során azt találtuk, hogy a nőstények csápja más vegyületek mellett az undekánt is felfogja. A kétválasztásos viselkedési vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy az undekánnal ellátott egészséges növényekre nem raktak tojásokat a párosodott nőstények. Az undekánnal kiegészített növényeken táplálkozó kukoricamoly lárvák hasonló túlélési arányt mutattak, de gyengébben fejlődtek, mint a kontroll növényen táplálkozók.

Összességében új tudományos előrelépéseket értem el a kukoricamollyal kapcsolatos alap és alkalmazott kutatási területeteken, mely során feltártam a faj periferikus és központi idegrendszeri feromonfelfogását és annak öröklésmenetét, továbbá a hímek repülés közbeni feromon orientációját, valamint tápnövényválasztásának lépéseit és a feromonokkal történő fajspecifikus hazai monitorozását. Úgy vélem, hogy az elért eredményeim nemcsak a faj gyakorlati kutatásaihoz járulhatnak hozzá, hanem más, rokon fajok vizsgálatai során is hasznos kiindulási pontként szolgálhatnak.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Feltártam a kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*) Z- és E-vonal hibridjeinek és azok szülői vonallal történt visszakeresztezéseinek szaglólebenyében elhelyezkedő makroglomeruláris komplex neuroanatómiáját és funkcionális topológiáját.
2. Leírtam a hibridek és visszakeresztezéseik esetében a projekciós és a helyi interneuronok fiziológiai karakterisztikáját.
3. Összehasonlítottam a szülői vonalak, ezek hibridjei és visszakeresztezett egyedeinek feromonkomponensekre adott összesített elektrofiziológiai csápválaszát.
4. Bebizonyítottam, hogy a feromon felfogásának központi idegrendszeri neuroanatómiája és fiziológiája szex kromoszómához kötött öröklést mutat.
5. Azonosítottam a kukoricamoly feromon felfogásért felelős receptor neuronjainak válaszát. A mérések során igazoltam, hogy csak egy érzékszőr típus létezik, az eddigi három helyett, amely mindhárom feromonkomponensre érzékeny receptor neuront tartalmazza.
6. A kukoricamoly esetében megállapítottam, hogy repülés közben csökken a kezdeti feromonkeverék pontos arányának érzékelése.
7. A kukoricamolyra vonatkozóan sikerült egy gyakorlati célokat szolgáló, feromonon alapuló, monitorozásra alkalmas feromoncsapda típust kidolgozni a magyarországi populáció nyomon követésére.
8. Sikerült azonosítani a nonanalt és a dekanalt, mint kukoricából származó illatanyagokat, melyek keveréke laboratóriumi körülmények között vonzza a kukoricamoly megtermékenyített nőstényeit.
9. Sikerült kimutatni, hogy az egészséges és gyökérfertőzött kukoricából származó illatanyagok befolyásolják a kukoricamoly tojásrakási preferenciáját, illetve, hogy az undekán az a vegyület amely ezért a hatásért felelős.

A PHD FOKOZAT UTÁN, AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ TARTOZÓ REFERÁLT FOLYÓIRATBAN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓIM

(csillaggal jelölve a megosztott utolsó szerzőség)

Hajdu C, Machado, RAR, Molnár BP, Radványi D, Fónagy A, Vassor, T, Biet, B, Erb, M, **Kárpáti Z**[*]**,** Robert, CAM[*] (2024) Volatile-mediated oviposition preference for healthy over root-infested plants by the European corn borer. *Plant, Cell and Environment,* 47: 2228-2239.

Kárpáti Z, Fejes-Tóth A, Bognár C, Szőke C, Bónis P, Marton C, Molnár BP (2016) Pheromone-based monitoring of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) in Hungary. *Maydica* 61: 1-7.

Molnár BP, Tóth Z, Fejes-Tóth A, Dekker, T, **Kárpáti Z** (2015) Electrophysiologically-active maize volatiles attract gravid female European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Chemical Ecology* 41:997-1005.

Koutroumpa, FA, **Kárpáti Z**, Monsempes, C, Hill, S, Hansson, BS, Jacquin-Joly, E, Krieger, J, Dekker, T (2014) Shifts in sensory neuron identity parallel differences in pheromone preference in the European corn borer. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2:65.

Kárpáti Z, Tasin, M, Cardé, RT, Dekker, T (2013) Early quality assessment lessens pheromone specificity in a moth. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 110: 7377-82.

Kárpáti Z, Olsson, SB, Hansson, BS, Dekker, T (2010) Inheritance of central neuroanatomy and physiology related to pheromone preference in the male European corn borer *BMC Evolutionary Biology* 10: 1-12.

A PHD FOKOZAT UTÁN, AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉHEZ NEM TARTOZÓ REFERÁLT FOLYÓIRATBAN MEGJELENT PUBLIKÁCIÓIM

Nooten S, Korten H, Schmitt T, **Kárpáti Z** (2024) The heat is on: reduced detection of floral scents after heatwaves in bumblebees. *Proc. Royal Soc. B* 291: 20240352.

Kárpáti Z, Szelényi M, Tóth Z. (2024) Exposure to an insecticide formulation alters chemosensory orientation, but not floral scent detection, in buff-tailed bumblebees (*Bombus terrestris*). *Scientific Reports* 14: 14622.

Rodrigez, G, **Kárpáti Z**, Rüdenauer, F, Leonhard, SD, Brachvogel, R, Schmitt, T (2023) A common protocol for reliable comparison of pollen fatty acid profiles: highlighting pitfalls and proposing a methodology for ecological research. *Frontiers in Ecology and Evolution* 11: 1141832.

Kárpáti Z, Deutsch F, Kiss B, Schmitt, T (2023) Seasonal changes in photoperiod and temperature lead to changes in cuticular hydrocarbon profiles and affect mating success in *Drosophila suzukii. Scientific Reports,* 13: 5649.

Otieno, M, **Kápárti Z,** Peters, MK, Duque, L, Schmitt T, Steffan-Dewenter, I (2023) Elevated ozone but not carbon dioxide affects the composition of volatile organic compounds emitted by *Vicia faba* (L.) and reduces bee visits. *PlosOne,* 18(4): e0283480.

Moustafa, MAM, Fouad, EA, Ibrahim, E, Erdei, AL, **Kárpáti Z**, Fónagy, A (2023) Toxicity, biochemical and physiological impact of chlorantraniliprole and indoxacarb on *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). *Toxics,* 11(3): 212.

Lopes, LE, Frank, E, **Kárpáti Z**, Schmitt, T, Kronauer, DJC (2023) The alarm pheromone and alarm response of the clonal raider ant. *Journal of Chemical Ecology,* 49: 1-10.

Kárpáti Z, Molnár BP (2022) Antennal responses of black plum sawfly (*Hoplocampa minuta*) to European plum (*Prunus domestica*) flower volatiles. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 57(1): 17-25.

Kárpáti Z, Bognár C, Voigt E, Tóth M, Molnár BP (2021) Monitoring of three *Hoplocampa* sawfly species in plum orchards *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 56(2): 143-152.

Szelényi MO, Erdei AL, Jósvai JK, Radványi D, Sümegi B, Vétek G, Molnár BP, **Kárpáti Z** (2020) Essential Oil Headspace Volatiles Prevent Invasive Box Tree Moth (*Cydalima perspectalis*) Oviposition—Insights from Electrophysiology and Behaviour. *Insects*, 11: 465.

Schorkopf, DLP, Molnár BP, Solum, M, Larsson, MC, Millar, JG, **Kárpáti Z**, Dekker, T (2019) False positives from impurities result in incorrect functional characterization of receptors in chemosensory studies *Progress in Neurobiology* 181: 101661.

Molnár BP, **Kárpáti Z**, Nagy A, Szarukán I, Csabai J, Koczor S, Tóth M (2019) Development of a Female-Targeted Lure for the Box Tree Moth *Cydalima perspectalis* (Lepidoptera: Crambidae): a Preliminary Report *Journal of Chemical Ecology* 45(8): 657-666.

Lohonyai Z, Vuts J, **Kárpáti Z**, Koczor, S, Domingue, MJ, Fail J, Birkett, M, Tóth M, Imrei Z (2019) Benzaldehyde: an alfalfa related compound for the spring attraction of the pest weevil *Sitona humeralis* (Coleoptera: Curculionidae) *Pest Management Science*, 75: 3153–3159.

Molnár BP, Bognár C, Erdei AL, Fujii, T, Vági P, Jósvai JK, **Kárpáti Z** (2018) Identification of the Female-Produced Sex Pheromone of an Invasive Greenhouse Pest, the European Pepper Moth (*Duponchelia fovealis*) *Journal of Chemical Ecology* 44(3): 257-267.

Fodor J, Köblös G, Kákai Á, **Kárpáti Z,** Molnár BP, Dankó T, Bozsik G, Bognár C, Szőcs G, Fónagy A (2017) Molecular cloning, mRNA expression and biological activity of the pheromone biosynthesis activating neuropeptide (PBAN) from the European corn borer, *Ostrinia nubilalis. Insect Molecular Biology* 26: 616-632.

Molnár BP, Tóth Z, **Kárpáti Z** (2017) Synthetic blend of larval frass volatiles repel oviposition in the invasive box tree moth, *Cydalima perspectalis. Journal of Pest Science* 90: 873-885.

Kárpáti Z, Fejes-Tóth A, Bognár C, Szőke C, Bónis P, Marton C, Molnár BP (2016) Pheromone-based monitoring of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) in Hungary. *Maydica* 61: 1-7.

Molnár BP, Tóth Z, Fejes-Tóth A, Dekker, T, **Kárpáti Z** (2015) Electrophysiologically-active maize volatiles attract gravid female European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Chemical Ecology* 41: 997-1005.

Asplen, MK, Anfora, G, Biondi, A, Choi, D-S, Chu, D, Daane, KM, Gibert, P, Gutierrez, AP, Hoelmer, KA, Hutchison, WD, Isaacs, R, Jiang, Z-L, **Kárpáti Z**, Kimura, MT, Pascual, M, Philips CR, Plantamp, C, Ponti, L, Vétek G, Vogt, H, Walton, VM, Yu, Y, Zappalà, L, Desneux, N (2015) Invasion biology of spotted wing Drosophila (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *Journal of Pest Science* 88: 469-494.

Lengyel GD, Orosz S, Kiss B, Lupták R, **Kárpáti Z** (2015) New records and present status of the invasive spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera) in Hungary. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 61: 73-80.

Koutroumpa, FA, **Kárpáti Z**, Monsempes, C, Hill, S, Hansson, BS, Jacquin-Joly, E, Krieger, J, Dekker T (2014) Shifts in sensory neuron identity parallel differences in pheromone preference in the European corn borer. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2: 65.

Capurro, A, Baroni, F, Kuebler, L, **Kárpáti Z**, Dekker, T, Lei, H, Hansson, BS, Pearce, TC, Olsson, S (2014) Temporal features of spike trains in the moth antennal lobe revealed by a comparative time-frequency analysis *Plos One* 9(1): e84037

Kárpáti Z, Tasin, M, Cardé, RT, Dekker, T (2013) Early quality assessment lessens pheromone specificity in a moth *Proceeding of the National Academy of Sciences USA* 110: 7377-82.

Kárpáti Z, Knaden, M, Reinecke, A, Hansson, BS (2013) Intraspecific combinations of flower and leaf volatiles act together in attracting hawkmoth pollinators *Plos One* 8(9): e72805

Kuebler, L, Schubert, M, **Kárpáti Z**, Hansson, BS, Olsson, SB (2011) Antennal lobe processing correlates to moth olfactory behavior *Journal of Neuroscience* 32: 5772–5782.

Kárpáti Z, Olsson, SB, Hansson, BS, Dekker, T (2010) Inheritance of central neuroanatomy and physiology related to pheromone preference in the male European corn borer *BMC Evolutionary Biology* 10: 1-12.

Molnár BP, **Kárpáti Z**, Hillbur Y, Szőcs G, Hall, D (2009) Identification of female-produced sex pheromone of the Honey Locust gall midge, *Dasineura gledithciae Journal of Chemical Ecology* 35: 706-714.

Kárpáti Z, Dekker, T, Hansson, BS (2008) Reversed functional topology in the antennal lobe of the male European corn borer *Journal of Experimental Biology* 211: 2841-2848.