

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

Akadémiai Doktori Értekezés

Készítette:

Kárpáti Zsolt PhD

HUN-REN ATK Növényvédelmi Intézet

Budapest, 2024

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6
2.1. A kémiai kommunikációban részvevő anyagok csoportosítása	6
2.2. A szexferomonok szerepe a lepkéknél.....	10
2.2.1. A szexferomonok termelődése és szabályozása	11
2.3. A szemiokémikáliák érzékelése.....	12
2.3.1. Periférikus illatanyag felfogás	12
2.3.2. Központi idegrendszeri illatanyag felfogás	15
2.4. A rovar-tápnövény kapcsolatban résztvevő illatanyagok	17
2.5. A szemiokémikáliák evolúciós szerepe	18
2.6. A kukoricamoly bemutatása	19
2.6.1. A kukoricamoly feromon összetétele	20
2.6.2. A kukoricamoly periférikus feromon felfogása	21
2.6.3. A kukoricamoly központi idegrendszeri feromon és illatanyag érzékelése	21
2.6.4. A kukoricamoly tápnövényválasztása és kairomonokkal történő csapdázása	22
2.6.5. A kukoricamoly feromonokkal történő monitorozása	24
3. CÉLKITŰZÉSEK.....	25
4. ANYAG és MÓDSZER	27
4.1. Rovarak és tápnövények.....	27
4.1.1. A kukoricamoly tenyésztése.....	27
4.1.2. A kukorica nevelése.....	27
4.2. A kukoricából származó illékony komponensek gyűjtése	28
4.3. A kukoricából származó illatanyagok kémiai szerkezetazonosítása.....	29
4.4. A növényi anyagcseretermékek elemzése	29
4.5. <i>In vivo</i> intracelluláris neurofiziológiai mérés.....	30
4.6. Neuroanatómia és háromdimenziós képalkotás.....	31
4.7. Elektroantennográfiás mérések (EAG)	31
4.8. Gáz-kromatográffal kapcsolt elektroantennográfiás mérés (GC-EAD).....	32
4.9. Extracelluláris egyedi érzékszőr mérés (Single Sensillum Recording – SSR)	33
4.10. Rovar szélcsatornás viselkedési vizsgálatok.....	34
4.10.1. A szélcsatornás kísérlethez használt illatforrások	35
4.10.2. A szélcsatornás kísérletben alkalmazott egy- és háromválasztásos tesztek	35
4.10.3. A szélcsatornás kísérletben alkalmazott forrásváltásos teszt	35
4.10.4. A szélcsatornás kísérletek során alkalmazott képrögzítés és repülési mintázat elemzés	36
4.10.5. Tápnövény illatanyagokkal végzett rovar szélcsatornás viselkedési vizsgálatok.....	36
4.11. Tojásrakás preferencia vizsgálat	37
4.12. Lárva táplálkozási preferencia vizsgálat.....	38
4.13. Szabadföldi feromoncsapdázás.....	38
4.14. Statisztikai kiértékelések.....	40
5. EREDMÉNYEK	41

5.1. A kukoricamoly feromon felfogásának központi idegrendszeri neuroanatómiai és fiziológiai öröklése ..	41
5.1.1. A hibridek és visszakeresztezésük makrogleruláris komplexének funkcionális topológiája	41
5.1.2. Projekciós és helyi interneuronok fiziológiai jellemzése	46
5.1.3. A makroglomeruláris komplex neuroanatómiája a hibridek és visszakeresztezéseik esetében	48
5.1.4. Elektroantennográfiás mérések	49
5.2. A kukoricamoly receptor neuronjainak feromonkomponensekre adott válasza	50
5.3. A kukoricamoly esetében repülés közben csökken a kezdeti feromon-keverék pontos arányának érzékelése	53
5.4. A kukoricamoly feromonon alapuló monitorozása Magyarországon	55
5.5. Az elektrofiziológiailag aktív, kukoricából származó illatanyagok vonzzák a megtermékenyített kukoricamoly nőtényeit	60
5.5.1. Elektrofiziológiai mérések és a növényi illatanyagok azonosítása	60
5.5.2. Rovar szélcsatornás mérések	62
5.6. Az egészséges és fertőzött kukoricából származó illatanyagok befolyásolják a kukoricamoly tojásrakási preferenciáját	64
5.6.1. Az egészséges és kukoricabogárral fertőzött növények eltérő levélillatanyag profilt mutatnak.	65
5.6.2. A kukoricamoly nőtények csápja válaszol a kukoricabogárral fertőzött növényből származó illatanyagra	66
5.6.3. Az undekán szerepet játszik a kukoricamoly tojásrakási helyének kiválasztásában	67
5.6.4. Az undekán csökkenti a kukoricamoly lárvák fejlődését a kukorica által közvetített hatás révén	68
6. MEGVITATÁS	70
6.1. A kukoricamoly feromon felfogásának központi idegrendszeri neuroanatómiai és fiziológiai öröklése ..	70
6.1.1. A hibridek és visszakeresztezésük MGK-ének funkcionális topológiája	70
6.1.2. Projekciós és helyi interneuronok fiziológiai jellemzése	71
6.1.3. Az MGK neuroanatómiája a hibridek és visszakeresztezéseik esetében	71
6.2. A kukoricamoly receptor neuronjainak változásai párhuzamosak a feromonpreferencia különbségeivel	73
6.3. A kezdeti feromon összetétel által kiváltott viselkedési választ nem befolyásolja a feromon összetételének repülés közbeni változása	77
6.4. A kukoricamoly feromonon alapuló monitorozása Magyarországon	79
6.5. Az elektrofiziológiailag aktív, kukoricából származó illatanyagok vonzzák a megtermékenyített kukoricamoly nőtényeit	81
6.6. Az egészséges és gyökérfertőzött kukoricából származó illatanyagok befolyásolják a kukoricamoly tojásrakási preferenciáját	84
7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	87
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	88
9. IRODALOM	90
10. RÖVIDÍTÉSEK	116

1. BEVEZETÉS

A természetben sokféle inger fordul elő, melyek felfogása és megértése nélkülözhetetlen az élőlények, köztük az ember sikeres alkalmazkodásához és túléléséhez. Az ingerek érzékelése lehetővé teszi, hogy az élőlények információt gyűjtsenek a környezetükről és megfelelő módon reagáljanak is rá. Az ingerek felfogása segít nekik a táplálék megtalálásában, a veszély elkerülésében és a párválasztásban is. A különböző környezeti viszonyokhoz való alkalmazkodás következtében az élőlények más-más ingereket képesek felfogni, illetve egyes érzékszervek felfogó képessége lehet gyengébb vagy erősebb. Az ember esetében is vannak olyan, például vizuális vagy akusztikus ingerek, melyek felfogása igen kifinomult érzékszerveket igényelnek, ugyanakkor például szaglásunk nem olyan tökéletes, mint a kutyaé vagy a rovaroké. Valószínűleg azért alakult ez így ki, mert az ember számára az illatok felfogása és értelmezése a túlélésért folytatott küzdelem és az evolúció során nem kapott olyan hangsúlyt, mint a színek, formák és hangok kifinomult érzékelése. Ezt mi sem igazolja jobban, minthogy a szagokra, illatokra nagyon kevés szavunk van. Például nehezen tudjuk részletesen leírni milyen illata van egy banánnak vagy mi a különbség egy finom virág illata és egy rothadó alma szaga között. Ebből következően a vizuális ingerekkel kapcsolatos kutatások tanulmányozásával már igen korán, a görögök idejében Platón is foglalkozott. Mivel korábban úgy gondolták, hogy az ember szaglása nem olyan kifinomult mint a látása, a kutatások korai szakaszában a szaglás tanulmányozására csak kevés figyelem jutott.

Azt is fontos megemlíteni, hogy az ingerek felfogása és az ezáltal közvetített információszerzés mellett az információcserének, azaz a kommunikációnak is nagyon fontos szerepe van az élőlények alkalmazkodása és túlélése szempontjából. A kommunikáció többféle úton is megvalósulhat: ez lehet akusztikus, vizuális, taktilis és nem utolsósorban kémiai. Rovarok esetében a kémiai úton, elsősorban illékony vegyületek által közvetített kommunikáció korábban eléggé elhanyagolt területnek számított, csak a 19. században Jean-Henri Fabre kezdte e terület tanulmányozását. Fabre 1913-ban a búcsújáró lepkék (*Thaumetopoea pityocampa*) esetében igazolta, hogy valamiféle illat segítségével csalogatják a nőstények a konspécifikus hímeket. Annak ellenére, hogy Fabre tanulmánya már a 19. században megjelent az első rovar szexferomon izolálása és azonosítása csak a 20. században, 1959-ben történt meg a Nobel-díjas német Adolf Butenandt és munkatársai révén. Ez az anyag a bombikol volt, melyet több mint 500 ezer selyemlepkéből készült kivonatból sikerült azonosítani. Az 55 éve publikált, mérföldkő jelentőségű munka indította el a rovarok kémiai kommunikációval kapcsolatos kutatásokat világszerte.

A feromon fogalmát ugyanebben az évben Peter Karlson és Martin Lüscher vezette be (Karlson and Lüscher 1959) két görög szó összeillesztése révén (φερω (ejtsd: fero) jelentése: hozni és ὄρμων (ejtsd: ormon) jelentése: hormon). A feromon vegyületeket az állatok azért választják ki, hogy a fajtársak viselkedését befolyásolják, vagyis a legtöbb esetben a hímek csalogatásáért felelősek. Ahogy a kutatások e téren egyre jobban haladtak előre, úgy egyre részletesebben, különböző csoportokba osztották a különböző funkciókért felelős feromonokat, mint például a szex-feromonok, jelző-feromonok, riasztó-feromonok, stb. A

kezdeti szakaszában igen gyorsan felívelő feromonkutatások hajtóereje a gyakorlati alkalmazás lehetősége volt, mivel ezek fajspecifikus csalogató anyagként működnek kártevő rovarok esetében szabadföldi körülmények között is. Később és manapság is nemcsak a kártevő rovarok feromon azonosításával, hanem más egyéb, például társas rovarok kommunikációjában betöltött szerepével, a feromon termelés és felfogás evolúciójával és a fajkeletkezést irányító funkciójukkal is sokan foglalkoznak. Ahogy a technika egyre jobban fejlődik, egyre többet tudunk meg a feromonok bioszintéziséről, kibocsátásukról, periférikus és központi idegrendszeri felfogásáról.

A feromon kutatásokkal párhuzamosan a növényekből származó illatanyagok viselkedésszabályzó szerepével is sokan kezdtek el foglalkozni, mivel ezek az illatanyagok egyedül vagy feromonnal kombinálva ugyancsak vonzó hatással bírnak a rovarokra. Mivel ezek a növényi illatanyagok a szexferomonnal ellentétben nemcsak a hímeket hanem a nőstény egyedeket is vonzzák, ezért nagy jelentőségük van a kártevő rovarok vegyszermentes előrejelzésében és gyérítésében, bár sok esetben specificitásuk hiánya széles körű elterjedésüket gátolja.

A feromonkutatás nem rekedt meg a feromon vegyületek azonosításánál, viselkedésre gyakorolt hatásának vizsgálatánál és szabadföldi vonzóképeségük igazolásánál, hanem egyre többen kezdték feltárni a feromonok bioszintézis útját és a feromon termelést beindító és szabályozó mechanizmusokat. A feromon termelés mellett az utóbbi időben igen nagy hangsúly helyeződött a feromon felfogásra periférikus és központi idegrendszeri szinten is, mind fiziológiai, mind molekuláris vizsgálatok révén.

A rovar neuroetológia területén, mely egy kapcsolt megközelítés a viselkedési és az ezt irányító neurológiai mechanizmusok között, igen nagy előrelépéseket figyelhetünk meg az utóbbi évtizedekben. Sikeresült neuroanatómiai vizsgálatokkal sok rovarfaj szexferomon és illatanyag felfogásáért felelős agyi területének háromdimenziós szerkezetét és az abban elhelyezkedő glomerulusok funkcióit azonosítani. Ezek mellett számtalan receptor gént és más, a feromon felfogásban szerepet játszó fehérjét is azonosítottak.

Ezek azok a témakörök melyekkel az utóbbi években foglalkoztam és kutatásaim élvonalában álltak. A rovarok neuroetológiájával 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 periférikus és központi idegrendszeri feromon felfogásával, tápnövényválasztásával kapcsolatban előmozdíthatja a fajjal kapcsolatos vegyszermentes, fajspecifikus és precíziós, növényvédelmi eljárások ki- és továbbfejlesztését.

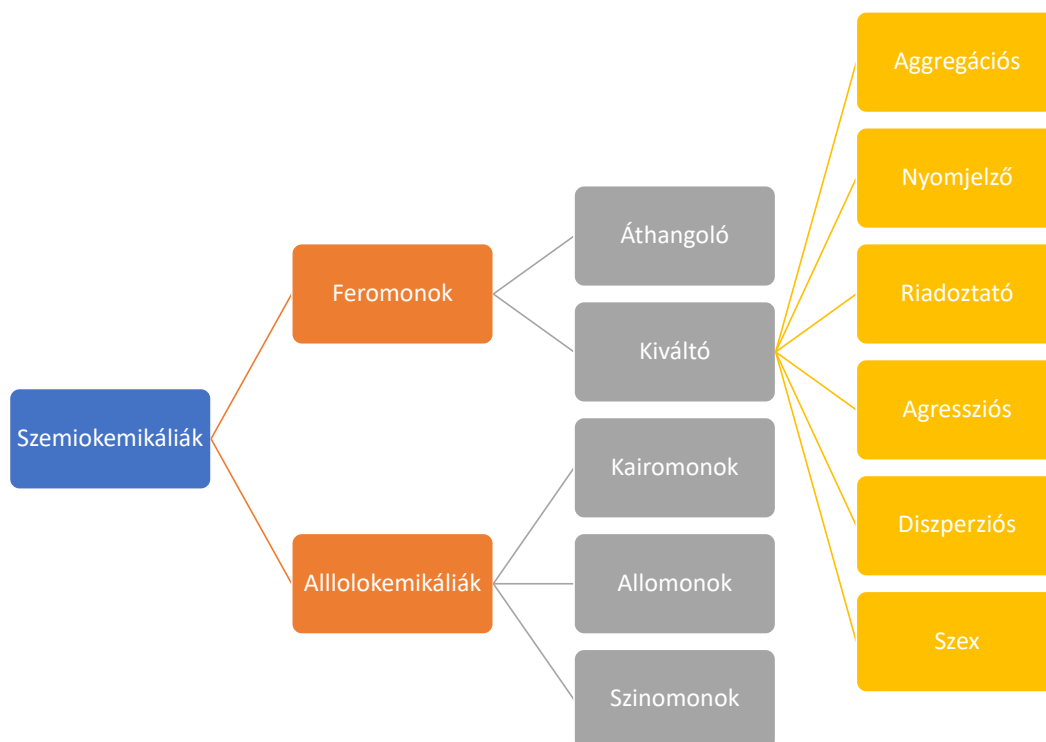
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A kémiai kommunikációban részvevő anyagok csoportosítása

Fontosnak tartom, hogy a kémiai kommunikációban előforduló, információ átadásra szolgáló illékony anyagok csoportosításával kezdjem az irodalmi áttekintést. Azért fontos ez, mert ahogy a bevezetőben is említettem egyre több kutatócsoport foglalkozik a kémiai ökológiával, ezáltal újabb és újabb illatanyagokat azonosítanak, melyek más-más csoportokba tartoznak. Olyan is előfordul, hogy ugyanaz az illatanyag egyik esetben az egyik más esetben egy másik csoportba tartozik. Ezeket a kémiai kommunikációban résztvevő anyagokat közös néven szemiokemikáliáknak (*semiochemicals*) hívják (Law and Regnier 1971). Ezek a kis molekulatömegű anyagok nem csak véletlenszerű szerves vegyületek, hanem olyan anyagok, melyek egyfajta „kémiai nyelvként” szolgálnak a fajon belüli és a fajok közötti kémiai kommunikációban. Ebből következően viselkedésszabályzó hatásuk is van például a párválasztásban, táplálék felkutatásában, repellens hatás kiváltásában, riasztásban vagy a társas szerveződésben. A szemiokemikáliák már a legprimitívebb élő szervezeteknél, például a baktériumoknál is megtalálhatók. Ugyancsak az illatanyagok segítségével képesek a kemotaxis útján mozgó szaprofita, vagy parazita életmódot folytató gombák felkutatni táplálékukat. A gombáknál maradvány például a *Dictyostelium* nyálkagomba központi sejtje akrazin nevű anyagot bocsát ki, ami segít a távolabbi nyálkagombákat magához vonzani (de Wit and Konijn 1983). Mindezek mellett rengeteg rovar illetve emlősök közötti számos kölcsönhatásért is ezek az anyagok felelősek (Birch 1974; Ritter 1979).

A szemiokemikáliákat alapvetően két részre oszthatjuk. Az egyik csoportba az allelokemikáliák (*allelochemicals*) tartoznak, melyek a fajok közti kommunikációért felelősek (Whittaker and Feeny 1971). Ezek olyan szerves vegyületek, amelyeket az egyik faj termel és a környezetébe bocsátja ki, ezáltal befolyásolva egy másik faj viselkedését vagy növekedését. A kémiai kommunikáció ezen formája a növények közötti interakciókban is előfordul, ahol az allelokemikáliák segíthetnek a növénynek versenylőnyre szert tenni azáltal, hogy gátolják a közelben lévő rivális növények csírázását vagy növekedését (Putnam 1988). Az allelokemikáliákat nem csak növények, hanem állatok és mikroorganizmusok is termelik és használják interakcióik során.

A másik csoportba azokat az anyagokat sorolhatjuk, melyek a fajon belüli információcseréért felelősek, ezeket feromonoknak (*pheromones*) hívunk (Karlson and Luscher 1959) (1. ábra). A feromonok olyan anyagok, amelyeket egy egyed bocsát ki a környezetébe, majd egy másik, ugyanazon fajhoz tartozó egyed érzékel, ezáltal egy specifikus reakciót vált ki, például egy meghatározott viselkedést vagy fejlődési folyamatot.



1. ábra: A kémiai kommunikációban résztvevő szemiokemikáliák csoportosítása

Az allelokemikáliákat, amelyek a fajok közötti interakciókban játszanak szerepet, tovább osztályozhatjuk aszerint, hogy melyik résztvevő számára jelentenek előnyt. Ha a felfogó fél számára előnyös akkor kairomonnak (Brown et al. 1970), ha a kibocsátónak egyednek származik ebből előnye, akkor allomonnak (Brown 1968) és ha mindkét fél számára előnyös akkor szinomonnak hívjuk (Nordlund and Lewis 1976) (1. ábra).

A kairomonok, nagyszámú attraktánst, fagostimulánst és más egyéb anyagokat foglalnak magukba, melyek például segíthetik a ragadozókat zsákmányuk megtalálásában, vagy a herbivorokat tápnövényük és a parazitákat gazdájuk felkutatásában (Brown et al. 1970). Ha a rovar-tápnövény kapcsolatot vizsgáljuk, akkor a tápnövény által kibocsátott kairomonoknak nagyon fontos szerepük van a herbivor rovarok táplálkozásában és tápnövényválasztásában. Az aktuális kutatásokban kiemelt szerepet kapnak ezek a típusú kairomonok, mivel ezen anyagok azonosítása és funkciójuk megértése nemcsak a biológiai folyamatok feltárását segítik elő, hanem potenciálisan fontosak a növényvédelemben is. Az ilyen anyagok lehetőséget teremtenek olyan kártevő rovarokat csalogató csapdák kifejlesztésére, amelyek képesek, mind a hím, mind a nőstény egyedeket vonzani, így nagymértékben elősegíthetik a populációk monitorozását és esetleges gyérítését is (Murali-Baskaran et al. 2018). Példa a kairomonokra a szúfarkasok által érzékelt illatanyag, amely a szúbogarak ürülékéből származik. Ezek kairomonok segítik a szúfarkasokat abban, hogy megtalálják a szúbogarakat mint zsákmányukat (Borden 1974).

Rovarok esetében az allomonokat egyes fajok azért bocsátanak ki, hogy távol tartsák a ragadozókat. Számos homokfutrinka (*Cicindela* fajok) imágója egy speciális mirigyet visel potroha végén, ami olyan kininszármazékokat termel, mely elriasztja a ragadozókat (Thiele

1977). Ugyancsak a növények által termelt másodlagos metabolitok egy része méreganyagként funkcionál ezáltal védelmet nyújt a herbivorok ellen, így ezeket az anyagokat ebben az esetben allomonoknak tekinthetjük (Fraenkel 1959).

A szinomonok olyan típusú vegyületek, melyek mind a kibocsátó, mind a felfogó faj számára előnyösek. Legkézenfekvőbb példa a szinomonokra a virágok által termelt illatanyagok és a nektár, melyek vonzzák a beporzó szervezeteket. Ebben a kapcsolatban mind a kibocsátó, azaz a növény, mind a felfogó, azaz a beporzó rovar jól jár: a növényt a rovar beporozza, a rovar pedig cserébe nektárt kap (Dobson 1994; Jönsson 2005). A lepkék esetében példa a déligyümölcsmoly (*Ephestia cautella*), melynek nőténye egy olyan illékony anyagot bocsát ki ami, az aszalványmoly (*Plodia interpunctella*) hímjeit távol tartja, ezáltal megakadályozva a fajok kereszteződését, biztosítva ezzel a reprodukív izolációt (Sower et al. 1974). Ebben az esetben ezt az illékony anyagot hívhatjuk szinomonnak, mivel mindkét faj számára előnyös helyzetet teremt.

Fontos felhívni a figyelmet arra, hogy ugyanaz a vegyület többféle funkciót is elláthat, ezáltal több kategóriába is eshet. Például az előbb említett szúbogarak esetében a bogarak által megtámadott fán az állatok egy úgynevezett aggregációs feromont (később még lesz erről szó, 1. ábra) bocsátanak ki, azért, hogy fajtársaikat odahívják. Ugyanakkor ezt a jelzést nemcsak a szúbogarak fogják fel, hanem a szúfarkasok is „lehallgatják”, azaz ők is érzékelik, mely, ebben az esetben kairomonként funkcionál és segít a prédaállat (szúbogár) megtalálásában (Borden 1974). Ebben az esetben ugyanazt a vegyületet nemcsak aggregációs feromonnak, hanem kairomonnak is hívhatjuk. Hozzá kell tenni, hogy a szúbogarak által termelt aggregációs feromonkomponensek közül egy vagy két vegyület is elegendő, hogy kairomonként funkcionáljon (Bakke and Kvamme 1981; Raffa 2001).

A szemiokemikáliák másik csoportjába a feromonok tartoznak (1. ábra). A feromonok a fajon belüli kommunikációért felelős anyagokat foglalják magukba. Karlson and Luscher (1959) fogalmazták meg először a feromonok definícióját, mely szerint ezek olyan anyagok, melyeket egy faj példánya bocsátja ki és ugyanannak a fajnak egy másik egyebe érzékeli ezt, minek következtében a felfogó szervezetből specifikus viselkedést vált ki. A feromonok többsége illékony vegyületet vagy vegyületeket foglal magába melyek a levegőben terjednek ezáltal a hőmérséklet és a szél is befolyásolja terjedésüket (Elkinton and Cardé 1984). A feromonok a legtöbb esetben igen kis mennyiségben termelődnek ezáltal a felfogó szervezetek nagyon érzékenyek ezekre az anyagokra, amiből sok esetben az is következik, hogy nagy távolságból is érzékelhetőek (Kanzaki et al. 2008; Cardé 2021). A feromonok esetében a hatás kifejtéséért egy vagy több vegyület együttes előfordulása szükséges. Abban az esetben amikor több vegyület keverékéből áll össze a feromon, akkor a feromon szó az összes anyag együttesét foglalja magába (Shorey 1973). Ezeket a láthatatlan feromonokat az állatvilág számos, ha nem az összes faja használja kémiai kommunikációs célra különböző életterekben (Wyatt 2013). Néhány modell szervezetben, mint például a lepkékben, Drosophilákban, és a házi egér esetében (*Mus musculus*), a teljes jelrendszer genetikailag meghatározható a feromonokat termelő enzimektől a kemoreceptorokon keresztül a jelek feldolgozását végző, magasabb agyi szintű érzékelésig (Wyatt 2017). Kezdetekben a

feromonok azonosítása terén a kutatók számára az igazi kihívás az volt, hogy az állatok általában igen kis, mikro- vagy pikogrammnyi mennyiségben termelik és bocsátják ki a feromont. A szükséges technikai háttér hiánya miatt az első feromont csak 1959-ben sikerült azonosítani. A Nobel díjas Adolf Butenandt és csapata a selyemlepke (*Bombyx mori*) feromonjának (bombikol) azonosításán 20 évig dolgozott és félmillió nőstény lepkét használt fel (Butenandt 1959). A technika fejlődése révén ma már egyetlen nőstény lepke feromon mirigyéből készült kivonat is elegendő lehet, hogy gázkromatográfval kapcsolt elektroantennográffal (GC-EAD) és gázkromatográfval kapcsolt tömegspektrométerrel (GC-MS) azonosítsuk a feromont és megmondjuk, hogy az adott faj hím egyede fel is fogja-e ezt. Természetesen a feromon azonosítása önmagában nem elegendő ahhoz, hogy megbizonyosodjunk arról, hogy ez a vegyület ténylegesen vonzza-e az azonos fajhoz tartozó másik egyedet. Ehhez viselkedési vizsgálatokra is szükség van. Azz első feromon meghatározásánál Butenandt a hím selyemlepke szárnyrezegtetési viselkedését használta biotesztként arra, hogy beigazolja a meghatározott és szintetikus előállított feromon aktivitását (Butenandt 1959). Ezek és más biotesztek, melyek más kutatók számára is megismételhetők, még mindig lényeges részét képezik a feromon azonosításának. A viselkedési biotesztek nélkül semmilyen állítás nem hihető el arról, hogy egy adott vegyület vagy vegyületkombináció feromon lenne.

A feromonokat csoportosíthatjuk attól függően, hogy milyen típusú választ váltanak ki a felfogó szervezetből. Vannak olyanok feromonok, melyek lassú fiziológiás hatást váltanak ki, ezeket áthangoló, vagy „primer” feromonoknak hívjuk. Ezek általában hosszú ideig fejtik ki hatásukat (Wilson 1963; Conte and Hefetz 2008). Ilyen primer feromon például a méhek esetében a királynő által termelt feromon, amely képes a többi, kaptárban lévő egyedet gátolni abban, hogy újabb királynő fejlődjék. A viselkedési vizsgálatok azt is igazolták, hogy ezek a primer feromonok irányítják a királynő és a dolgozók, illetve a dolgozók és dolgozók közötti interakciókat a társadalmi konfliktusok közvetítésétől a feladatok elosztásának szabályozásáig (Conte and Hefetz 2008).

A másik csoportba azok a feromonok tartoznak, melyek, ellentétben a lassú fiziológiai válasszal, azonnali és gyors viselkedési választ váltanak ki a másik egyedből, ezeket kiváltó, vagy „releaser” feromonoknak hívjuk (Wilson 1963; Regnier and Law 1968). Ezeket a kiváltó feromonokat tovább csoportosíthatjuk az általuk kiváltott specifikus viselkedési válaszok alapján.

Mivel dolgozatomban csak rovarokkal foglalkozom, a következőkben csak a rovarokra vonatkozó feromon kategóriákat említem meg. Ezek alapján megkülönböztetünk aggregációs feromonokat, melyek az egyedek csoportosulását segítik elő, ami előnyös lehet táplálkozási, védelmi vagy szaporodási szempontból. Erre példa a szűbogarok aggregációs feromonja ami egy kiválasztott fára nagy mennyiségű bogarat vonz (Shorey 1973; Blomquist et al. 2010). Előfordulnak nyomjelző feromonok, melyeket a rovarok azért választanak ki, hogy egy útvonalat megjelöljenek annak érdekében, hogy a többi egyed megtalálja ugyanazt az utat. Ezek a feromonok kritikus szerepet játszanak a társas rovarok, mint a hangyák navigációjában és táplálékkeresési stratégiáiban (Morgan 2009). Léteznek riadoztató vagy más néven „alarm”

feromonok melyeket általában az államalkotó rovarok használnak. Céljuk, hogy a fajtársakat riadóztassa a vészhelyzet gyors elkerülése érdekében elősegítve ezzel a túlélést (Verheggen et al. 2010). Ezek a feromonok a legtöbb esetben igen illékony vegyületekből állnak annak érdekében, hogy a környezetben gyorsan terjedjenek, illetve a veszély megszűnése után gyorsan el is tűnjenek (Lopes et al. 2023). Jól ismert példa a hangyák hangyasavtermelése a hangyaboly megtámadása annak érdekében, hogy a katonákat riadóztassák (Blum 1969). A méhészek jól tudják, hogy ha egy méh megcsípi az embert, a többi méh is gyakran támadólag lép fel. Ennek oka, hogy amikor a méh áldozatába szúrja fullánkját akkor egy riadóztató feromont bocsát ki. Ez a kémiai jelzés ösztönzi a többi méhet a támadásra (Blum 1969; Verheggen et al. 2010). Léteznek agressziós feromonok is, mely agresszív viselkedési választ váltanak ki az azonos fajhoz tartozó egyedekből. Erre példa az ecetmuslicánál (*Drosophila melanogaster*) talált 11-*cis*-vaccenyl acetát (cVA), mely erősen serkenti a hímek közötti agressziót (Wang and Anderson 2010). Vannak olyan, kis csoportokban élő rovarok, melyek diszperziós, vagy taszító feromont bocsátanak ki annak érdekében, hogy a csoport egyes tagjai szétváljanak egymástól. Erre példa a levéltetvek diszperziós feromona, amit akkor bocsátanak ki ha megtámadják csoportjukat, minek hatására az egyedek szétszóródnak (Nault and Montgomery 1977). Az utolsó, de dolgozatom szempontjából legfontosabb csoportba az ivari viselkedést befolyásoló szexferomonok tartoznak. A sikeres párosodás érdekében ezek a feromonok felelősek a hímek és nőstények egymásra találásában. A legtöbb esetben ezek az anyagok nagy távolságból érzékelhetőek a másik nem számára, illetve különösen olyan környezetekben fontosak, ahol a vizuális vagy akusztikus jelek kevésbé hatékonyak. Butenandt (1959) által azonosított első feromon is szexferomon volt, majd ezt követően rengeteg más rovarfajnak is sikerült a szexferomonját azonosítani és vonzó hatását igazolni (Jacobson 2012). Itt említeném meg, hogy El-Sayed és munkatársai (2013) egy olyan, (Arn et al. 1992) által korábban megjelent adatbázis továbbfejlesztése révén, internetes felületet üzemeltetnek (www.pherobase.com) mely segítségével az irodalomban fellelhető összes azonosított szemiokemikáliát - beleértve a feromonokat is - megtalálhatjuk, különböző módon kereshetjük és rendezhetjük őket.

2.2. A szexferomonok szerepe a lepkéknél

A molylepkék esetében a fajspecifikus szexferomonokat legtöbbször a nőstények bocsátják ki, melyek egy, két vagy három összetevőből álló keverékből állnak. Ezek általában 10–18 szénláncossúságú alifás, sok esetben telítetlen észtereket, aldehideket vagy alkoholokat tartalmaznak az adott fajra jellemző arányokban (Subchev et al. 2000; Ryan 2002). Ezek a feromonok kibocsátásuk után illékony tulajdonságuk révén a levegőben, úgynevezett illatcsóva (plume) formájában terjednek. A konspecifikus hímek sok esetben nagy távolságból felfogják ezeket az anyagokat majd pozitív anemotaxis révén követik az illatcsóvát a nőstény irányába a sikeres párosodás érdekében. A heterospecifikus párosodás elkerülése érdekében mind a keverék összetétele és aránya, mind pedig a kibocsátás időzítése szigorúan szabályozott. A feromon keverék specificitását sok esetben a lepkék tovább

fokozzák olyan anyagok kibocsátásával, amelyek gátolják a heterospecifikus hímek repülését, sokszor anélkül, hogy bármilyen szerepet játszanának a konspecifikus hímek tájékozódásban (Hillier and Baker 2016). Számos, taxonómiaiilag közel rokon fajok használnak kémiai szerkezet szempontjából hasonló, vagy azonos komponenseket feromonként, a különbség sokszor csak a komponensek arányában nyilvánul meg (Löfstedt 1993; Roelofs 2016). Azonos fajhoz, de különböző rasszhoz tartozó populációk esetében az is előfordul, hogy a két rassz között csak a feromont alkotó vegyületek geometriai izomériájában van különbség, amely így is képes megfelelően biztosítani a rasszok közötti reprodukív izolációt (Lassance and Löfstedt 2009).

2.2.1. A szexferomonok termelődése és szabályozása

A nőstény lepkék által kibocsátott feromon a legtöbb esetben egy módosult interszegmentális membránban, a feromonmirigyben termelődik. Ez általában a potroh végén, dorzálisan, ventrálisan, vagy gyűrű alakban a 8-10. szegmens között helyezkedik el (Chapman 2013). A mirigy nem rendelkezik kivezető csővel, a feromonok a kutikulán át diffundálva jutnak ki belőle. A feromonmirigyek tartalmazzák az összes szükséges enzimet és előanyagot a fajspecifikus szexferomonok szintéziséhez. Amikor a nőstény lepke pázásra kész és ki szeretné bocsátani a feromont, akkor az utolsó potrohszelvények, melyek a feromonmirigyet tartalmazzák, kitüremkednek. Ezt hívjuk csalogató viselkedésnek, angol szóval „calling”-nak. Ekkor a mirigy felülete közvetlenül érintkezik a levegővel, minek eredményeképp a feromonok a légterbe jutnak.

A feromon termelését és kibocsátását számos környezeti tényező befolyásolja (Shorey 1974). Általában a lepkék nem bocsátanak ki feromont addig, amíg nem lesznek szaporodásra képesek. A feromontermelés általában az életkortól függ és az ováriumok vagy a herék érésével egybeesik, néhány esetben pedig a táplálkozással is (Blomquist et al. 2012). A feromon termelése a legtöbb esetben napszakhoz, általában az éjszakai órák egy bizonyos időintervallumához kötött. A feromontermelődés időszaka is lehet faji jelleg, mely szintén elősegíti a fajok közti reprodukív izolációt (Kárpáti et al. 2007; Levi-Zada and Byers 2021). Fontos itt megemlíteni, hogy a legtöbb lepke esetében a nőstények csak igen kicsi, sokszor nanogrammmnyi mennyiséget termelnek ezáltal a hímeknek igen érzékeny feromont felfogó rendszerrel kell rendelkezniük.

A feromon termelését lepkék esetében a feromonotropikus neuropeptidek csoportjába tartozó feromon bioszintézist serkentő hormon (PBAN) szabályozza (Rafaeli 2009). A PBAN-ek az agyban elhelyezkedő garatalatti dúcban termelődnek és a *corpus cardiacum*-ban tárolódnak, ahonnan napszaki ritmustól függően a hemofimfába jutnak. A hemolimfa segítségével a PBAN eljut a nőstény feromonmirigyében a PBAN receptorhoz ahol aktiválja a feromontermelés bioszintézis útjának kulcsfontosságú enzimeit. A pázás után a PBAN szintje drasztikusan lecsökken (Fónagy 2006; Rafaeli 2009; Nation 2015).

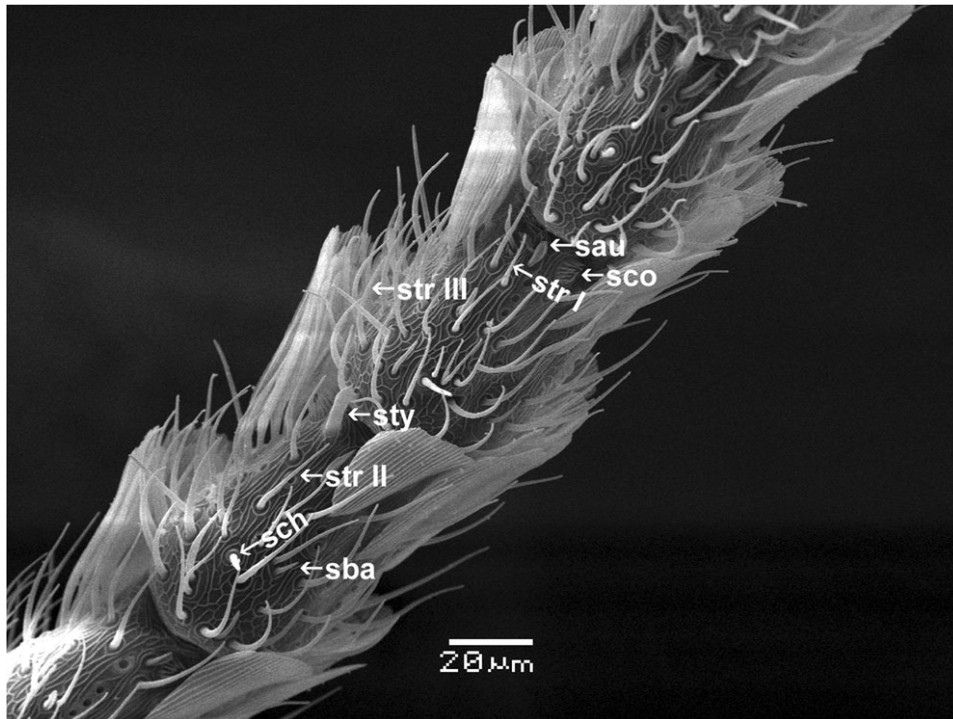
2.3. A szemiokemikáliák érzékelése

2.3.1. Periférikus illatanyag felfogás

Ahogy korábban említettem, a nőstény lepkék legtöbb esetben igen kis mennyiségben termelik a szex feromonkomponenseket. Ebből következően a légtérbe is nagyon kevés anyag jut, ezért a hímeknek is nagyon érzékeny szaglórendszerrel kell rendelkezniük, hogy ezeket a kis mennyiségeket felfogják. A kis mennyiségek mellett közel rokon fajok esetében a feromonkomponensek sok esetben kémiai szerkezet szempontjából is csak kismértékben különböznek egymástól ezért a fajkeveredés elkerülése érdekében a hímeknek ezeket a kis különbségeket is pontosan kell érzékelniük.

A lepkék páros csápjukkal fogják fel a szexferomonokat és más illékony vegyületeket. Egyes fajok esetében a csáp felületének lemezekkel vagy fonalakkal történő megnagyobbodása az érzékszőrök számának növekedésével jár, amely megnöveli a csáp érzékenységet is (Keil 1999). Fontos megemlíteni, hogy a csáp nemcsak az illékony vegyületek érzékelését végzi, hanem fontos szerepet játszik az íz-, mechano-, pára-, hő- és néhány esetben a széndioxid érzékelésében is (Keil 1999). A csápokon olyan érzékszőrök más néven szenzillák találhatók, melyek képesek érzékelni ezeket az illékony anyagokat (Keil 1999).

A csápon elhelyezkedő szenzillák száma fajtól és nemtől függ. Al levélbolhák (Psylloidea) esetében például összesen 4 szaglásért felelős szenzilla található a csápon (Kristoffersen et al. 2006), ugyanakkor lepkék esetében ez a szám akár tízezer is lehet (Hallberg et al. 2003). Morfológiai szempontból különböző típusú szenzillákat találunk a csápon. A legfontosabb szenzilla típusok a trichodeum, basiconicum, coeloconicum, auricillicum, styloconicum és chaeticum (2. ábra).



2. ábra: Tarka szőlőmoly (*Lobesia botrana*) csápjának elektronmikroszkópos felvétele. Az egyes csáپیékeken jól láthatóak a különböző érzékszőr típusok. Str: *s. trichodeum* (str I – rövid, str II – közepes, str III – hosszú), sty: *s. styloconicum*, sau: *s. auriculicum*, sco: *s. coeloconicum*, sba: *s. basiconicum*, sch: *s. chaeticum*. Godoy et al. (2019) nyomán.

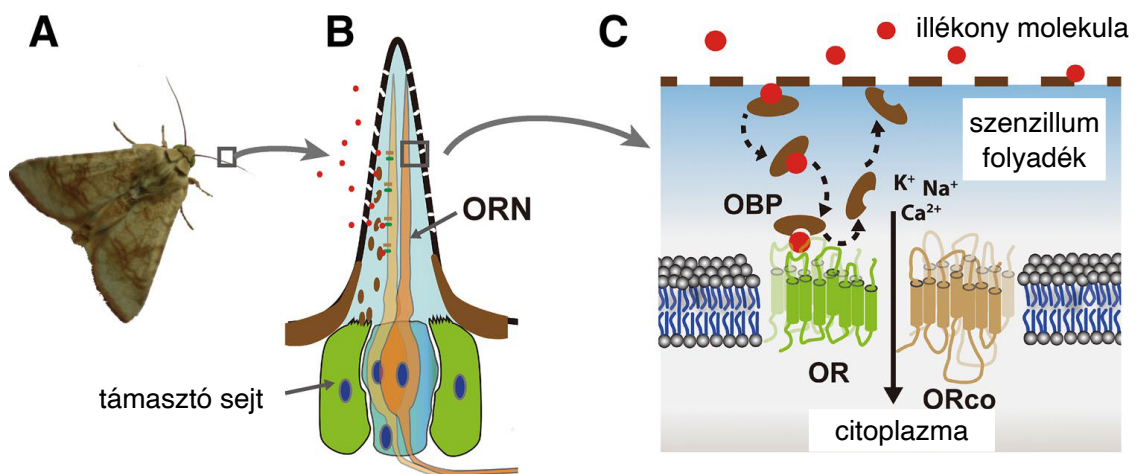
A szenzillákat falszerkezetük alapján is csoportosíthatjuk. Ezek szerint előfordulnak pórusos falú szenzillák, melyek a szaglásért, csúcson-pórusos-szenzillák, amik az ízérzékelésért felelősek és pórus nélküli szenzillák, amelyek mechano, hő- és páratartalom érzékelő receptorokat tartalmaznak. A pórusos falú szenzillák között vannak szimpla és dupla falú típusok. A szimpla falú szenzillák közé, melyek a feromon felfogás szempontjából a legfontosabbak, közé tartozik a szenzilla trichodea, melyeket méretük szerint tovább tudunk csoportosítani. Így, egyes fajok esetében elkülöníthetünk rövid, közepes vagy hosszú szenzilla trichodeát (2. ábra). Alakjuk hosszúkás, végük hajlított, vékony falukat pórusok törik át, melyeken keresztül az illékony anyagok - köztük a feromonok is - könnyen bejutnak a szenzilla belsejébe. A szenzilla trichodea felszínét egy egyszerű lipidréteg borítja, amely részt vesz a feromonok fogadásában és a pórusokhoz történő szállításában (Baker et al. 2022). Belső terükben 1, 2 vagy 3 darab bipoláris neuron dendritjei helyezkednek el.

Az illatanyagok felfogása szempontjából a másik fontos típus a szenzilla basiconica, amely a szenzilla trichodeához hasonlóan szintén sok pórust tartalmaz és legtöbb esetben a növényekből származó illatanyagok érzékelésében játszik fontos szerepet. Ezek rövidebbek, mint a szenzilla trichodeák, végük legömbölyített (2. ábra). Belső terükben található neuronok száma elérheti akár az ötvenet is.

Ha egy illatanyag molekula a szenzilla pórusain keresztül bejut a szenzilla belsejébe akkor ott az úgynevezett szenzillum folyadékkal (sensillum-limph) találkozik. Ezt a folyadékot a szenzilla alapi részében elhelyezkedő támasztósejtek termelik. Ebben a folyadékban olyan

szállító fehérjék találhatók (odorant binding proteins; OBPs), melyek a pórusoktól elszállítják az illatanyag molekulákat a szagló receptor neuron (olfactory receptor neuron; ORN) dendrit felületén lévő szagló receptorokig (olfactory receptors; ORs) (Vogt 2005) (3. ábra). Az OBP-k között vannak kifejezetten a feromonokra specializálódott feromon szállító fehérjék (pheromone binding proteins; PBPs) is (Pelosi 1998).

Az szagló receptor neuronok (olfactory receptor neuron; ORN) általában csak egyféle szagló receptort (olfactory receptor; OR) tartalmaznak. Ezek a OR-k nem G-fehérjéhez kapcsolt receptorok, mint a gerincesek szaglóreceptorai, hanem olyan ligand-vezérelt ioncsatornák, amelyek közvetlen kölcsönhatásba lépnek az illatanyag molekuláival (Ha and Smith 2022). Az OR mindig egy koreceptorral az úgynevezett *Orco*-val (olfactory receptor co-receptor) fordul elő, mely szükséges az OR-ok dendritek membránjára történő lokalizációjához, így elengedhetetlenek az illatanyagok érzékelésében is. Az *Orco* homo- és heteromereket alkot OR-okkal (Vosshall and Hansson 2011; Stengl and Funk 2013). Ezen kívül egyéb érző neuron membrán fehérjék (sensory neuron membrane proteins; SNMPs) is részt vesznek az illatanyag és receptor közti kapcsolat kialakulásában. Ennek pontos folyamata még nem ismert (Suh et al. 2014). Az OR-okon kívül a rovarok szaglásában részt vesznek ionotróp receptorok (ionotropic receptors; IRs) is, melyek evolúciós szempontból ősbbeek mint az OR-ok és elsősorban aminok és karbonsavak felfogásában vesznek részt közösen, több koreceptorral (Suh et al. 2014).



3. ábra: A perifériális illatanyagérzékelés vázlatos működése lepkecsápon illusztrálva. A: Lepke fonalas csápj. **B:** A csápon lévő érzékszőr (szenzillum) felépítése, ORN – szagló receptor neuron **C:** A szenzillum belsejében az illékony molekula kapcsolódása a szállítófehérjéhez (OBP) majd kapcsolódása a szagló receptor dendriten ülő szagló receptorhoz (OR). Guo and Wang (2019) nyomán módosítva.

Miután az illatanyag molekula hozzákapcsolódott a receptorhoz annak onnan le is kell válnia, mégpedig gyorsan mivel - például a hímek orientációja során - gyors, egymást követő idegi válaszra van szükség, hogy a hím repülés közben tudja követni a változó irányú feromon

illatcsóvát. Ebben a helyzetben nincs idő arra, hogy a receptorhoz hosszasan kötődjön az illatanyag molekula. Ekkor nyújtanak segítséget az illatanyag degradáló fehérjék (odorant degrading enzymes; ODEs), melyek képesek vagy lebontani, vagy átalakítani az illatanyag molekulát (Leal 2013).

2.3.1.1. Szagló receptor neuronok

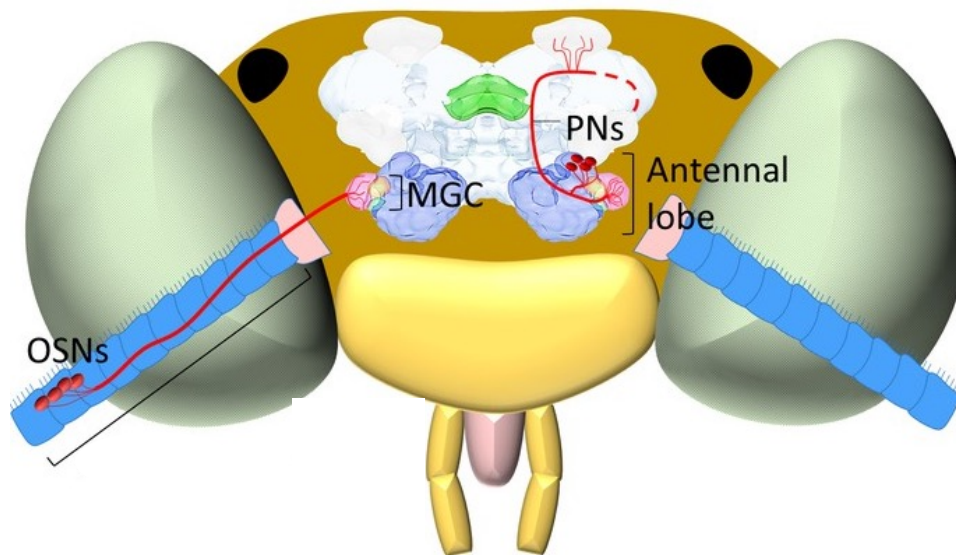
Amint korábban említettem, a lepkék ORN-jai a csápon vagy a szájszerven elhelyezkedő szenzillában helyezkednek el. Ezek bipoláris neuronok, melyek OR-t tartalmazó dendritjei az érzékszőr nyúlványában helyezkednek el, sejttestjük az érzékszőr alatt található, axonjuk pedig az agyban elhelyezkedő szaglólebeny egyes glomerulusaiban végződik. A szenzillum típusától függ, hogy melyik hány darab neuront tartalmaz. (Zhao and McBride 2020). Ez a szám 1-100 között mozoghat. Általában a feromonkomponensek felfogásáért felelős trichodea szenzilla 1-3, míg a basiconica szenzilla akár 100 ORN-t is magába foglalhat (Keil 1999; Sharma et al. 2015). A trichodea szenzillákban lévő ORN-ok dendritjei nem ágaznak el, viszont a basiconica szenzillákban lévő elágazhatnak (Hallberg and Hansson 1999). Általában egy ORN dendritjén csak egy OR típus található, de adódik olyan eset lepkéknél is hogy több típusú OR expresszáldik ugyanazon az ORN-on (Koutroumpa 2014; Mika and Benton 2021). A receptor neuronokkal kapcsolatban megjegyezném, hogy egy szenzillában elhelyezkedő ORN-ok, nem-szinaptikus, passzív elektromos kapcsolatba léphetnek egymással. Ennek a kapcsolatnak szerepe lehet a szinkronizációban a jel felerősítésében ezáltal az érzékenység növelésében is (Vermeulen and Rospars 2004). A csápban elhelyezkedő összes ORN száma fajtól függ. Az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) esetében például mindkét nem körülbelül 1200 ORN-al rendelkezik (Stocker et al. 1990), ugyanakkor az amerikai dohányszendernek (*Manduca sexta*) megközelítőleg 300 000 ORN-ja van (Oland et al. 1988).

2.3.2. Központi idegrendszeri illatanyag felfogás

Az előző fejezetben tárgyalt periférikus illatanyagfelfogás folytatásaként ebben a fejezetben a rovarok központi idegrendszeri feromon és kairomon érzékelésének hátterét szeretném bemutatni.

A rovarok esetében a csápból érkező információ, amit az ORN axonok hordoznak, bejut az agy elsődleges szagló központjába a szaglólebenybe (antennal lobe; AL) (Galizia 2014). A páros AL a középagyban (deutocerebrum) a csáp proximális részéhez közeli területen helyezkedik el (4. ábra). Az AL gömb alakú, úgynevezett glomerulusokból áll. A glomerulusok magukba foglalják az ORN-ok axonjait, interneuronok és a projekciós neuronok (később részletesen tárgyalom) dendritjeinek szinapszisait. Egy glomerulusba csak olyan ORN axonok futnak be melyek csak egyféle OR-t expresszálnak, ebből következően minden egyes glomerulus egy illatanyagért felelős (Vosshall et al. 1999; Hansson and Stensmyr 2011). A glomerulusok száma fajtól és nemtől is függ, például az ecetmuslica (*Drosophila*

melanogaster) esetében 52 glomerulust írtak le (Vosshall et al. 2000a), míg darazsak esetében ez a szám akár az ezret is elérheti (Hansson and Anton 2000).



4. ábra: A rovaragy deutocerebrumában elhelyezkedő szaglólebeny (antennal lobe) és abban elkülönülő makroglomeruláris komplex (MGK) sematikus felépítése. OSNs; szagló receptor neuronok, PNs; projekciós neuronok. Kymre et al. (2021) nyomán módosítva.

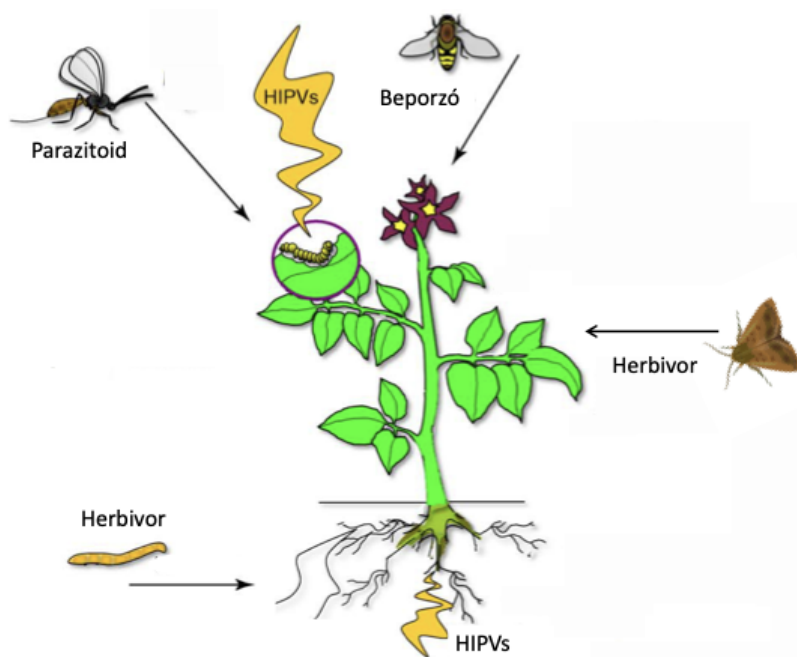
A szaglólebenyben történik a csáp felől érkező információ elsődleges feldolgozása és szűrése, amiben az ott található interneuronok és a projekciós neuronok vesznek részt (Silbering et al. 2008; Seki et al. 2010; Kuebler et al. 2012; Capurro et al. 2014). A szaglólebenyben feldolgozott információ ezután a projekciós neuronok axonján keresztül kilép a szaglólebenyből és a felsőbb agyi központokba a gombatestbe, mint memóriaközpontba illetve az oldalsó lebenybe megy tovább (Galizia and Sachse 2010).

Lepkéknél, abban a gyakori esetben amikor a nőstények termelik a szexferomont és a hímek fogják fel, a hímek szaglólebenyében egy igen jól elkülöníthető, megnagyobbodott területet az úgynevezett makroglomeruláris komplexet (macroglomerular complex – MGK) lehet elkülöníteni (4. ábra). Ez a terület, mely a szaglólebeny csáphoz közeli részénél helyezkedik el, felelős a szexferomonok felfogásáért. Az MGK általában 1-3 alegységből áll össze, ahol minden egyes egység egy szex feromonkomponens felfogásáért felelős (Haupt et al. 2010). Az AL-ban található egyéb, nem MGK glomerulusok a többi illatanyag felfogásért felelősek beleértve a kairomonokat is (Anton and Homberg 1999). Egyes lepke fajoknál az MGK-ben található alegységek száma jellemzően egybevág a szexferomon komponensek számával, de vannak olyan esetek is, ahol az alegységek száma kevesebb (Anton and Homberg 1999).

2.4. A rovar-tápnövény kapcsolatban résztvevő illatanyagok

Mivel dolgozatomban a kukoricamollyal kapcsolatban nemcsak a feromon felfogás periférikus és központi idegrendszeri működését tanulmányozom, hanem a rovar-tápnövény kapcsolatban részt vevő illatanyagokkal is foglalkozom, ezért fontosnak tartom, hogy ebben a fejezetben ezekről is ejtsek pár szót. A rovar-tápnövény kapcsolat esetében előforduló kémiai kommunikációban a legtöbb esetben a növények által kibocsátott, általában rövid szénláncú illatanyagok vesznek részt. Eddig összesen 1700 illékony vegyületet azonosítottak több mint 90 növény családból (Dudareva et al. 2006; El-Sayed 2022). Ezek, a növények levelei, virágjai, gyümölcsei és gyökereik által kibocsátott illékony anyagok védelmet nyújthatnak a kórokozók ellen, vonzhatják a beporzókat és a herbivorokat illetve azok parazitoidjait is (5. ábra). Ezek az illékony növényi vegyületek a növények másodlagos anyagcseretermékeinek kb. 1%-át teszik ki. Főként terpenoidokból, fenilpropanoidokból, benzénoidokból, zsírsavszármazékokból és aminosavszármazékokból állnak (War et al. 2011). A növények által kibocsátott allelokemikáliákat, melyek a fajok közti kommunikációért felelős anyagok, több csoportba is sorolhatjuk. A virágok által kibocsátott illékony anyagok lehetnek például szinomonok, melyek vonzzák a beporzó rovarokat. A rovarok a beporzásért cserébe nektárt és pollent kapnak, ezáltal mind a virág, mind a beporzó számára előnyös helyzet alakul ki (Dobson 1994; Jönsson 2005; Keng-Hong and Nishida 2005). A növények által kibocsátott illatanyagok lehetnek illékony allomonok is, melyek megvédik a növényeket a mikroorganizmusok ellen és toxikusak lehetnek a rovarok számára, vagyis a kibocsátó növény számára előnyös, míg a felfogó szervezetek számára hátrányos hatást eredményez (Harrewijn et al. 1994). Abban az esetben, ha ezek az illatanyagok a növény azaz a kibocsátó számára előnytelen viszont a felfogó szervezet számára előnyös helyzetet teremtenek akkor ezeket kairomonoknak hívjuk. Kairomonok lehetnek a növények zöld részei által kibocsátott illatanyagok, melyek vonzzák a herbivor rovarok imágóit párválasztás, táplálkozás vagy tojáshely kiválasztása érdekében (Murali-Baskaran et al. 2018). Azt is fontos megemlíteni, hogy a rovarlárvák növényi részekén történő rágásának hatására a növények indirekt módon úgynevezett herbivor indukált növényi illatanyagokat (herbivore induced plant volatiles; HIPVs) termelnek annak érdekében, hogy a herbivor rovar lárváinak parazitoidjait és a ragadozókat odavonzza ezáltal csökkentve a növényen a lárvák jelenlétét (Kessler and Baldwin 2001). Olyan is előfordul, hogy a gazdanövény által kibocsátott illatanyagok szinergizálnak a feromonokkal ezáltal felerősítve a feromonok vonzó képességét (Dickens 1986).

Ezeket a növények által kibocsátott illatanyagokat - legyenek azok kairomonok, allomonok vagy szinomonok - a vegyszermentes növényvédelemben is fel lehet használni. Tehát ha sikerül meghatározni, hogy melyek azok az illatanyagok, amelyek vonzzák az esetleges kártevő herbivort, akkor ezekkel az anyagokkal fajspecifikusan csapdába tudjuk csalogatni a kártevő imágóit, jelentősen csökkentve így a kártételt (Murali-Baskaran et al. 2018).



5. ábra: A rovar-tápnövény kapcsolatban résztvevő illatanyagok. HIPVs - Herbivore Induced Plant Volatiles

2.5. A szemiokemikáliák evolúciós szerepe

A szexferomonok evolúciója egy összetett, dinamikus folyamat, amelyet különböző szelektív nyomások és mechanizmusok formálnak. A szexferomonokon alapuló kommunikáció evolúciója fontos meghatározója a fajképződési folyamatnak, mivel ezek a feromonok a párválasztásban, azaz a prezigotikus izolációban játszanak szerepet (Coyne et al. 2004). Hagyományosan a szexferomonokon alapuló ivari kommunikációt azért vizsgálták, hogy megértsék mennyire fontos ez a társfelismerésben, mint a fajok közötti ivari izoláció fő okozója. Ugyanakkor az elmúlt évtizedekben a hangsúly a fajon belüli, intraspecifikus változatosságban érvényesülő szexuális szelekció lehetőségeire helyeződött át (Groot et al. 2024). Jelenleg két fő evolúciós elmélet létezik a kémiai kommunikáció eredetével kapcsolatban (Stöckl and Steiger 2017). Az egyik a „küldő-prekurzor” (sender-precursor) hipotézis, miszerint a kémiai kommunikációban részt vevő feromonok prekurzorokból alakulhattak és alakulhatnak ki most is. Ezek olyan illékony anyagok lehetnek, melyeknek korábban nem volt kommunikációs szerepük (Stöckl and Steiger 2017). Ilyenek lehetnek például a lepkék feromonmirigyében termelődő egyéb anyagok, melyek jelenleg nem minősülnek szex feromonkomponenseknek, azaz a faj nősténye termeli, de a hímekből viselkedési választ nem vált ki (Pena et al. 1988). Elképzelhető, hogy a későbbiekben bizonyos evolúciós folyamatok révén, például a hímek feromonfelfogásban történő változások hatására ezek az anyagok szexferomon komponensként működhetnek majd.

A másik hipotézis az „érzékelés-kihasználás” (sensory exploitation), amely inkább az illatanyagokra vonatkozik. Eszerint a küldő fél kihasználja a már meglévő fogadó fél receptorait az adott vegyületre (Wyatt 2003; Arnqvist 2006). Erre példa a virágok által kibocsátott illatanyagok és a polinátorok szekvenciális evolúciója. Ezt a következtetést arra alapozzák, hogy nagy átfedés van a virágok és a rovarok által kémiai kommunikációs céllal kibocsátott illatanyagok között (Schiestl 2010). Feltételezik, hogy ez a jelenség szekvenciális evolúció (Jermy 1984) eredménye, mivel több rovarcsoport, amely virágillatokhoz hasonló illékony anyagokat termel, lényegesen korábbról származnak mint a virágos növények (Schiestl and Dötterl 2012). Összefoglalva a két hipotézis közötti fő különbség az, hogy a „küldő-prekursor” hipotézis szerint az új kommunikációs vegyületet a küldő fél állítja elő még a fogadó fél receptor evolúciója előtt, míg az „érzékelés-kihasználás” feltevésben a fogadóban található receptor már jelen volt, mielőtt a küldő fél előállította volna a vegyületet (Stöckl and Steiger 2017).

Visszatérve a szexferomonokhoz, ezek állhatnak egy komponensből, de a legtöbb esetben több összetevőjük van. A feromonok összetétele és az alkotórészek aránya rendkívül fajspecifikus, ami hatalmas változatosságot eredményez, még az egymáshoz közel rokon fajok között is (Symonds and Elgar 2008). Egy összetevő hozzáadása vagy elvesztése, vagy akár a meglévő komponensek arányának megváltozása is alapvetően megváltoztathatja ezt a kommunikációs jelet, amiből az következhet, hogy a párválasztás során az ellenkező ivar nem talál rá partnerére, ezáltal elmarad a párosodás. Biztosra vehető, hogy amennyiben bármilyen változás történik a nőstény lepke által kibocsátott feromon összetételben, (akár úgy, hogy egy új feromonkomponenst bocsát ki a nőstény) akkor a felfogó, hím fél esetében is valamiféle felfogás szintű egyidejű változásnak kell bekövetkeznie. Ha ez nem történik meg akkor hiába termel a nőstény új komponenst a hím nem fog rátalálni párjára.

Ezeknek az evolúciós folyamatoknak a megértése segít feltárni a rovarok életmódját, ökológiáját, valamint segíthet a kártevők elleni védekezésben és a természetvédelmi stratégiák kialakításában.

2.6. A kukoricamoly bemutatása

Az itt bemutatott értekezésemben kutatásaim központjában a kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*; Hübner, 1796) áll. Azért esett témaválasztásom erre a fajra, mert a kukoricamoly gazdasági szempontból az egyik legjelentősebb kártevője a kukoricának és nem utolsósorban mind evolúciós, mind periférius és központi idegrendszeri fiziológiai megközelítés miatt igen vonzó fajnak bizonyult számomra.

A kukoricamolyról elmondhatjuk, hogy igen polifág faj, lárvája képes minden olyan vadonélő vagy termesztett növénybe befurakodni, aminek elég vastag szára van (Hudon et al. 1989). Észak-Amerikában Lewis (1975) 223 tápnövényét írt le. Magyarországon is számos gazdanövénye ismert beleértve a kukoricát, a vadkomlót a kenderet, a fenyércirokot és a paprikát is. Ez a hazánkban őshonos faj először a XVI-XVII. században találkozott a kukoricával, mint új gazdanövénnyel amikor a kukoricát Európába hozták az Újvilágból. Miután a kukorica

igen jó tápnövénynek bizonyult a faj számára Európában, a kukoricamolyt valószínűleg a kukoricával együtt hurcolták be Amerikába, ahol kevés természetes ellensége révén gyorsan elterjedt és komoly károkat okozott és okoz a mai napig is. Nemzedékszámától függ, hogy melyik területen nézzük. Európa középső részein 1-2 nemzedékes, míg Észak-Amerika melegebb területein akár 4 nemzedéke is előfordulhat (Palmer et al. 1985).

A kukoricamoly napszaki aktivitását nézve elmondhatjuk, hogy az állatok alkonyatkor és éjjel a legaktívabbak. Éjjeli repülésük során akár több kilométert is megtehetnek (Dorhout et al. 2008). Kimutatták, hogy a kukoricatáblák gyomszegélyei ideális gyülekező helyeket biztosítanak párosodás szempontjából az imágók számára (Showers et al. 1976). A magas páratartalom és nedvesség fokozza a hímek párosodási hajlandóságát (Nagy 1993).

2.6.1. A kukoricamoly feromon összetétele

A faj nőtényei által termelt szexferomon egyik komponensét, a (Z)-11-tetradecenil acetátot (Z11-14Ac) már 1970-ben meghatározták (Klun and Brindley 1970), de a szexferomon pontos összetételének azonosítására még 3 évet kellett várni, ekkor sikerült csupán az igen kis mennyiségben jelen lévő, másik izomért, a (E)-11-tetradecenil acetátot (E11-14Ac), mint kisebbik komponenst azonosítani (Klun et al. 1973). A nehézséget az okozta, hogy a nőtények ezt az anyagot nagyon kis mennyiségben termelik, továbbá a kémia szerkezet azonosítás akkoriban igen nehéz feladat volt, ráadásul a két komponens egymás izomerjei, ezáltal az elválasztás és a szintézis is körülményes. Ugyanakkor ennek az összetevőnek a jelenléte kulcsfontosságú a faj hímjeinek vonzásában. A szexferomon pontos azonosítása után a szabadföldi vizsgálatok új eredményt hoztak: más-más élőhelyen a két feromonkomponens különböző arányú keveréke vonzza a hímeket (Klun and Cooperators 1975). A kutatások eredményeként két intraspecifikus vonalat különböztettek meg. A két komponens arányából adódóan az egyiket Z-vonalnak hívják, mely 97%-ban Z11-14Ac-ot és 3%-ban E11-14Ac-ot termel, a másikat, mely fordított arányban (1% Z11-14Ac és 99% E11-14Ac) termeli a két komponenst E-vonalnak nevezik (Klun and Cooperators 1975; Anglade et al. 1984). Minkét vonal esetében találtak egy interspecifikus antagonista összetevőt, a (Z)-9-tetradecenil acetátot (Z9-14Ac), mely távolítja a faj mindkét vonalhoz tartozó hímjeit (Glover et al. 1989). Mivel a Z- és az E-vonal azonos fajhoz tartozik ezáltal laboratóriumban intraspecifikus hibridek is létrejöhetnek. Ebben az esetben a hibridek nőtényei egy köztes feromon keveréket termelnek, minek aránya 35:65 Z11-14Ac:E11-14Ac. A hibrid hímek mind fiziológiai, mind viselkedési vizsgálatok során ugyancsak erre a köztes keverékre válaszolnak (Roelofs et al. 1987a; Glover et al. 1991). A természetben abban az esetben ha szimpatrikus módon mindkét vonal előfordul, akkor bár alacsony számban, de találunk hibrideket (Klun and Huettel 1988). Annak ellenére, hogy más tényezőket (szezonális voltinizmus és a cirkadián ritmus) is azonosítottak fajon belüli reprodukciós gátként, még mindig a hímek feromonpreferenciája bizonyult a legerősebb elválasztó tényezőnek (Dopman et al. 2010).

Ha a faj feromontermelésének és felfogásának genetikai hátterét nézzük akkor elmondhatjuk, hogy az egy egyszerű mendeli öröklést mutat. A nőtények esetében a

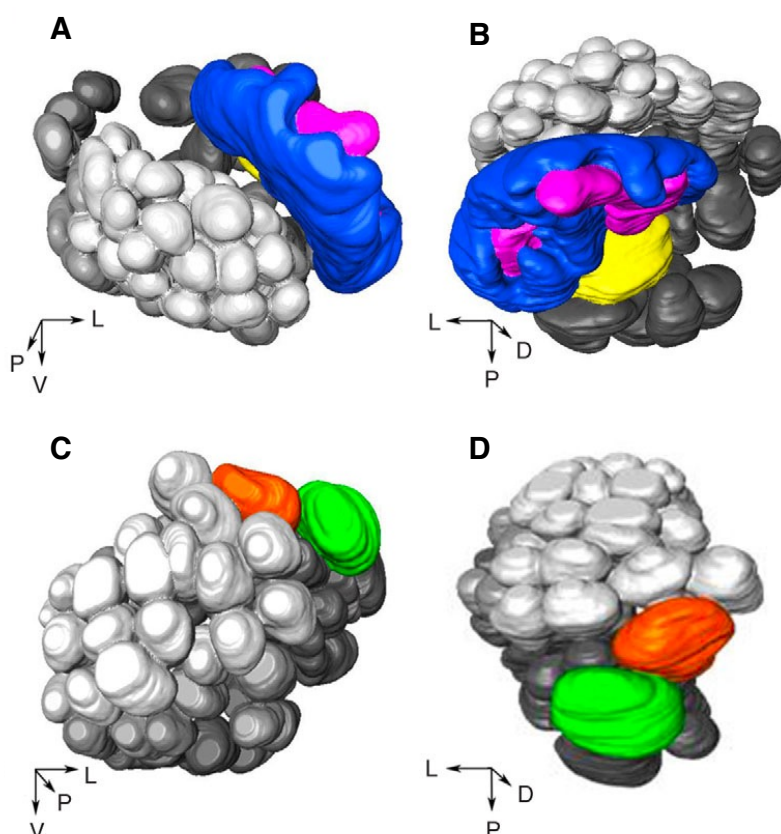
termelést egyetlen autoszómális tényező szabályozza (Klun and Maini 1979; Hansson et al. 1987a), míg a hímek viselkedési válaszát egyetlen, vagy néhány szorosan kapcsolt, nemi kromoszómához kötött gén irányítja (Hansson et al. 1987a; Löfstedt et al. 1989; Glover et al. 1991; Dopman et al. 2004).

2.6.2. A kukoricamoly periférikus feromon felfogása

Ha a faj hímjeinek periférikus feromon felfogását tekintjük át, akkor mindkét vonal esetében 3 különböző (A, B, C típus), a feromonkomponensek felfogásért felelős szenzilla trichodeát találtak (Hansson et al. 1987a, 1994). Az „A” szenzillum típus három ORN-t tartalmaz. Korábban azt állapították meg, hogy ebben a típusban a legnagyobb amplitúdóval válaszoló neuron a feromon főkomponens detektálásáért felelős, a közepes a kisebbik feromonkomponensre válaszol, míg a kis amplitúdójú a feromon antagonistára (Z9-12Ac) ad választ. A „B” típus két ORN-t foglal magába, ahol a nagy amplitúdójú a főkomponensre, a kis amplitúdójú a kisebbik feromonkomponensre válaszol (Hansson et al. 1987a; Roelofs et al. 1987a; Hansson et al. 1994). A „C” típusú szenzillum csak egy ORN-t tartalmaz ami vagy a főkomponensre, vagy az antagonista komponensre válaszol (Hansson et al. 1987a; Hallberg et al. 1994; Cossé et al. 1995). Az itt bemutatott tanulmány eredmények fejezetében (5.2) kísérleteink során rámutatok, hogy a fenti szenzilla-receptor felosztás nem teljesen helytálló.

2.6.3. A kukoricamoly központi idegrendszeri feromon és illatanyag érzékelése

Ha a faj feromon és illatanyagok felfogásának második szintjét, a központi idegrendszeri szintet nézzük akkor azt látjuk, hogy a kukoricamoly agyában, a többi lepkével összhangban, a szaglólebenyben történik ezen komponensek érzékelése. Korábbi munkámban a kukoricamoly esetében immunocitokémiai eljárással elkészítettem a hím és nőtény szaglólebenyének 3 dimenziós térképét és vizsgáltam a MGK beidegzését (Kárpáti et al. 2008, 6. ábra).



6. ábra: A kukoricamoly szaglólélebényének 3 dimenziós rekonstrukciója. A, B: hím szaglólélebény. C, D: nőstény szaglólélebény. Kék és rózsaszín jelöli a hímek MGK-ét. Zöld és narancssárga jelöli a nőstények két megnagyobbodott glomerulusait. Szürke az általános glomerulusokat jelöli. Orientáció: L, laterális; V, ventrális; D, dorzális; P, poszterior (Kárpáti et al. 2008).

A feromon felfogásért felelős MGK-re fókuszálva kutatásaim során arra jutottam, hogy az MGK két, egy laterális és egy mediális alegységből épül fel. A ORN-ok és a PN-ok fiziológiai és immunocitokémiai jelölése során meghatároztam, hogy a két alegység a két különböző (Z11-14Ac és E11-14Ac) feromonkomponens felfogásáért felelős. A neuroanatómiai mérések során azt találtam, hogy ennek a két alegységnek a térfogata különbözik és ez korrelál a nőstény által termelt komponensek arányával. A Z- és az E-vonal összehasonlítása során kiderült, hogy a Z-vonal esetében a nagyobb, mediális egység a Z11-14Ac-ot, míg a kisebbik, laterális egység az E11-14Ac-ot érzékeli. Az E-vonal esetében ez pont fordítva működik. A nagyobbik, mediális egység az E11-14Ac-ot, míg a kisebbik a Z11-14Ac-ot érzékeli. Tehát morfológiailag ugyanaz a két vonal MGK-e, de funkcióját tekintve fordított (Kárpáti et al. 2008). Hogy pontosan ennél a fajnál mi szabályozza az MGK-ben elhelyezkedő alegységek méretét az eddig még nem ismert.

2.6.4. A kukoricamoly tápnövényválasztása és kairomonokkal történő csapdázása

A kukoricamoly esetében a feromon kommunikáció mellett érdekes kutatási terület, hogy a nőstények hogyan találják meg tápnövényüket, illetve mik azok az illékony

kairomonok, amik ebben segítségükre vannak. A herbivor rovarok, mint a kukoricamoly, számára a tojásrakási hely kiválasztása kulcsfontosságú a faj túlélése szempontjából, mivel a kiválasztott növény minősége befolyásolja az utódok teljesítményét és termékenységét (Awmack and Leather 2002). A "Preferencia-teljesítmény hipotézis" (más néven „anya tudja mi a legjobb” hipotézis) szerint a nőtények akkor érik el a legnagyobb fitnessüket, ha utódaik számára a legmegfelelőbb növényekre rakják tojásaikat (Jaenike 1978; Thompson 1988; Mayhew 1997; Gripenberg et al. 2010).

A kukoricamoly tápnövényeivel kapcsolatban általánosságban elmondható, hogy mind a Z-, mind az E-vonal a kukoricán táplálkozik, Ugyanakkor Franciaországban, ahol részlegesen átfed mindkét vonal elterjedése, a Z-vonal csak a kukoricán él, míg az E-vonal a kukoricamoly ősi tápnövényeit, a komlót (*Humulus lupulus*) és a feketeürömöt (*Artemisia vulgaris*) kedveli (Pelozuelo et al. 2004; Malausa et al. 2007). Kutatások azt is igazolták, hogy a különböző tápnövényeken táplálkozó kukoricamoly populációk genetikailag eltérőek (Martel et al. 2003; Thomas et al. 2003). Korábban a kukorica meghosszabbodott bibeszálaiból, a bajuszából azonosították a fenilacetaldehidet, mint illékony vegyületet, de ez az anyag szabadföldi csapázások során igen csekély számú egyedet vonzott (Cantelo and Jacobson 1979; Maini and Burgio 1990, 2001). Egyéb tanulmányok beszámolnak a kukoricából és más tápnövényekből azonosított illatanyagok kémiai szerkezetéről és csápaktivitásáról (Buttery and Ling 1984; Bengtsson et al. 2006; Solé et al. 2010; Leppik and Frérot 2012), illetve Solé et al. (2010) Y-olfaktométeres viselkedési kísérletében a kukoricamoly nőtények számos illatanyagra pozitív választ adtak. Hazai kutatók azt is igazolták, hogy a 4-metoxi-2-fenetil alkohol a fenilacetaldehidhez adva szabadföldi csapdázások során nagymértékben megnöveli a hímek és a nőtények fogását (Tóth et al. 2016).

Fontos megemlíteni, hogy szabadföldi körülmények között a kukoricát egyidejűleg akár több kártevő rovar is megtámadhatja. A növényen táplálkozó egyéb herbivorok jelenléte erősen befolyásolhatja a nőtények tojásrakási döntését (Martínez et al. 2013). Ezek az interakciók lehetnek közvetlenek, mint például a korlátozott erőforrásokért való versengés, vagy közvetett módon, a gazdanövény anyagcseréjén keresztül közvetített változások révén (Biere and Govers 2016). A kukoricamoly esetében kimutatták, hogy a nőtények tojásrakás céljából elkerülik azokat a növényeket, melyeken levéltetvek élnek, ami előnyös az utódaik teljesítményére nézve (Harmon et al. 2003). A levélen táplálkozó herbivorok közötti növény által közvetített interakciókat részletesen kutatták, viszont igen kevés információ áll rendelkezésre a gyökér- és levélherbivorok, közti növény által közvetített interakciókról és azoknak a tojásrakási preferenciájára gyakorolt hatásáról (Erb et al. 2008; Pineda et al. 2015) (Erb et al. 2008; Pineda et al. 2015). A gyökeret megtámadó herbivorok a gazdanövényben rendszerszintű változásokat indíthatnak el, mely révén megváltozhat a növény tápanyag és illékony vegyületeinek összetétele (Bardgett and Wardle 2003; Danner et al. 2015). Az illatanyagoknál maradván elmondható, hogy a megtámadott növény úgynevezett herbivor indukált növényi illatanyagokat (Herbivore Induced Plant Volatiles – HIPVs) termel, amely a növényen lévő herbivorok jelenlétére utaló, megbízható jelnek bizonyul (De Moraes et al. 2001). Tehát mind a növények, mind a herbivorok által indukált illatanyagok szerepet

játszhatnak a kukoricamoly tápnövényválasztásában. Ezen túlmenően gyakorlati szempontból is igen fontos a kukoricamoly rovar-tápnövény kapcsolatának tanulmányozása, mivel ezen eredmények birtokában nőtényt is vonzó csapda kidolgozására nyílik lehetőség.

2.6.5. A kukoricamoly feromonokkal történő monitorozása

A fajspecifikus feromon csapdákon alapuló előrejelzés nagy segítséget tud nyújtani a kártevő rovarok populációsűrűségének felmérésében, illetve a fogási adatokra támaszkodva pontosan lehet időzíteni az esetleges kémiai védekezés időpontját (Vuts et al. 2018). A kukoricamoly esetében fellelhető feromon polimorfizmus, azaz a Z és az E feromon vonal előfordulása megnehezíti a faj feromon csapdákkal történő monitorozását, mivel pontosan ismernünk kell az adott területen előforduló populáció hovatartozását. Mivel a faj hímjei igen pontosan érzékelik a két feromonkomponens pontos arányát ezért, ha a másik vonalhoz tartozó összetételt helyezzük ki a csapdába akkor egy egyedet sem fogunk. Az is bizonyítást nyert, hogy a keverék kisebb komponensének hiánya blokkolhatja a feromoncsapda vonzerejét (Klun et al. 1973; Cardé et al. 1975; Kalinova et al. 2013). Ebből következően nagy segítséget nyújthat, ha az adott területen előforduló populáció Z- vagy E-vonalhoz való tartozását igazoljuk. Hazai kutatók által fejlesztett, molekuláris markereken alapuló módszer segítségével már a lárvákból megmondható, hogy a populáció Z- vagy E-vonalhoz tartozik (Bozsik et al. 2019).

A kukoricamoly esetében különösen fontos az esetleges növényvédelmi beavatkozás pontos időzítése, mivel a kikelő kis lárvák csak rövid ideig táplálkoznak a kukorica levelein mielőtt a szárba furakodnának. A szárban lévő lárvák ellen már szinte lehetetlen a védekezés. Annak ellenére, hogy a faj szexferomonját már a 70-es években azonosították a szabadföldi csapdázások sok esetben kudarcot vallanak (Maini and Burgio 2001; Bozsik et al. 2019). Korábbi tanulmányok alapján egyértelmű, hogy ennek a fajnak a megbízható monitorozási stratégiája erősen függ a csapda pozíciójától és kialakításától (Pélozuelo and Frérot 2006). A feromonkeverék pontos összetétele mellett a feromon kibocsátóban elhelyezett mennyiség szintén befolyásolhatja a csapdák hatékonyságát (McLeod and Starratt 1978; Kalinova et al. 2013).

3. CÉLKITŰZÉSEK

Célkitűzéseim két fő pillérre épülnek. Mindkét pillér központjában a kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*) mint világviszonylatban fontos kukoricakártevő áll. Az egyik témacsoport a faj szexferomon kommunikációjával, a másik pedig a faj rovar-tápnövény kapcsolatában résztvevő illékony anyagok kommunikációs szerepével foglalkozik.

Részletesebben egyik célom 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, ellenben a két vonal hibridjei a köztes feromon arányt kedvelik. Korábban feltártam a Z- és az E-vonal hímjeinek központi idegrendszeri feromon felfogását, ezért a következő kérdésem az lett, 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 szaglőlebenyében elhelyezkedő MGK háromdimenziós rekonstrukcióját, illetve azok térfogati mérését és a feromonkomponensekre specializálódott, MGK-ben elhelyezkedő projekciós neuronok fiziológiai válaszát aratom feltárni.

Fentiekén túl a témához kapcsolódóan azonosítani szerettem volna a szexferomon orientációban szerepet játszó lépések szabályozó szerepét és ennek periférikus fiziológiai hátterét. Általánoságban elmondható, hogy a két vonal hímjei igen érzékenyek a feromonkomponensek pontos arányára, amiből az következik, hogy a hibridizáció esélye igen alacsony. Ennek ellenére szabadföldi körülmények között szimpatrikus esetben akár 15%-ban is találunk hibrideket. Felmerül a kérdés, hogy vajon ez hogyan lehetséges? Kutatásom célja az volt, hogy feltárjam azokat a lépéseket, melyek szerepet játszanak a hibridizáció létrejöttében.

Szintén az első témakör kutatási területei közé tartozott a feromon felfogásban kulcsfontosságú, csápon elhelyezkedő, feromonkomponensekre válaszoló érzékszőrök fiziológiai válaszána feltárása a faj két feromon vonalánál és azok hibridjeinél. A feromonkánál maradv, nem utolsó sorban gyakorlati szempontból célom volt, hogy Magyarországon megtaláljam a faj hímjeinek monitorozására legalkalmasabb csapdatípust, illetve meghatározzam a csapdában található kibocsátóban a feromon pontos összetételét és mennyiségét.

A másik témakörrel foglalkozó kutatásaim szintén többirányúak voltak: egyrészt célom volt, hogy azonosítsam azokat a kukoricából származó növényi illatanyagokat, melyeket képesek a kukoricamoly nőstényei csápjukkal felfogni és erre laboratóriumi rovar szélcsatornában viselkedési aktivitást mutatnak. Másrészt, a faj tápnövényénél maradv olyan tritrofikus rendszert vizsgáltam, melyben a kukoricán élő gyökérvártevő hatását vizsgáltam a kukoricamoly nőstényeinek tojásrakási preferenciájára a kukorica által közvetített illatanyagok révén. Első lépésként célom az volt, hogy megvizsgáljam, vajon a párosodott kukoricamoly nőstények képesek-e a kukoricából származó illékony anyagok alapján megkülönböztetni az egészséges és a kukoricabogárral fertőzött növényeket. Ezután

megvizsgáltuk a nőstények által kiválasztott növényen fejlődő utódok teljesítményét, mivel feltételezésünk szerint az egészséges növényen jobban fejlődnek a kukoricamoly utódjai.

4. ANYAG és MÓDSZER

4.1. Rovarok és tápnövények

4.1.1. A kukoricamoly tenyésztése

Az 5.1. és 5.2. fejezetben bemutatott kísérletekhez felhasznált, Z-vonalhoz tartozó kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*) imágóit Tolna megyében, Kéty községhez közel egy kukoricatábla szélén gyűjtöttem lámpázással. A vizsgálatokhoz felhasznált, E-vonalhoz tartozó lárvákat Szlovéniából kaptam (Agriculture and Forestry Institute, Novo Město). Mind a Z-, mind az E-vonalhoz tartozó kukoricamolyokat Nagy (1970) által kifejlesztett félszintetikus táptalajon neveltük. A tenyészeteket 26 °C hőmérsékleten és 18/6 világos/sötét fotóperióduson tartottuk. A két vonal tenyészeit egymástól távol eső klímakamrákban helyeztem el, a véletlen kereszteződés elkerülése végett.

A feromon vonalak tisztaságát gázkromatográf (HP5890) segítségével ellenőriztem. A méréshez SP2340 oszlopot használtam (30 m × 0,32 mm; film vastagság 0,2 µm), az injektor port splitless üzemmódban volt, vivőgázként héliumot használtam és a hőmérsékletprogram a következő volt: 60 °C 1 percig, 10 °C/perccel 120 °C-ig, majd 5 °C/perccel 220 °C-ig. A kivonatot tíz, 1-3 napos szűz nőstény tojócsövéből készítettem 10 percig *n*-hexánban extrahálva. Az E11- és Z11-14Ac azonosításához a komponensek szintetikus mintáit és azok eltérő retenciós idejét használtam.

Az 5.3 fejezethez tartozó rovar szélcsatornás kísérletekhez felhasznált állatok bábjait nemek szerint szétválasztottam és különböző klímakamrákban tartottam. A bábokból kikelt, nem párosodott hímek 5%-os mézes oldatot kaptak folyadék és táplálékforrásként. A kísérleti állatok 1-4 naposak voltak.

Az 5.5. fejezethez kapcsolódó vizsgálatnál a kukoricamoly bábokat szintén nemek alapján elkülönítettük, majd a kikelt imágókat 5%-os mézes oldattal tápláltuk. A párosításhoz a hímeket és a nőstényeket kikelésük után 10 cm magas, 5 cm átmérőjű üveghengerbe helyeztük. A szélcsatornás kísérletekhez 2 napos, párosodott nőstényeket használtunk.

A kukoricabogár (*Diabrotica virgifera virgifera*) tojásokat Stefan Toepfer (CABI, Delémont, Svájc), Sharon Schneider valamint Chad Nielson (USDA-ARS, Brookings, USA) térítésmentesen biztosították. Felhasználás előtt a kukoricabogár lárvákat frissen kelő kukoricacsírákon neveltük (Akku fajta, Delley Semences et Plantes, Delley, Svájc).

4.1.2. A kukorica nevelése

A kukorica (*Zea mays*, Pioneer P9578) növényeket, amelyeket az 5.5 fejezet szélcsatornás kísérleteihez és az illatanyag gyűjtéséhez használtunk, általános virágföldbe ültettük (Biopakk, T-MIX-KER Kft., Seregély, Magyarország), naponta egyszer öntöztük, és 25-28 °C-os hőmérsékleten, 18:6 világos:sötét fényviszonyok között, üvegházban tartottuk. Mind a szélcsatornás kísérlethez, mind az illatanyag gyűjtéshez négyleveles állapotú növényeket

használtunk, melyek esetében a talajt alufóliával fedtük le, hogy elkerüljük az esetleges, talajból származó illatanyagok „zavaró” hatását.

Az 5.6 fejezet tápnövény választásos kísérleténél NS640 fajtájú kukoricát (*Zea mays* var. NS640) használtunk. Az NS640 fajta széles körben használt takarmánykukoricafajta Kelet-Európában, ahol mind a kukoricamoly, mind pedig a kukoricabogár jelen vannak. A kukoricákat műanyag 1 literes cserépben neveltük üvegházi körülmények között (24 ± 2 °C, 14 órás fotoperiódus, 55-60% relatív páratartalom). A tojásrakásos tesztek klímakamrában végeztük, (26 ± 2 °C, 14 órás fotoperiódus, 60% relatív páratartalom). A kísérletekhez négy-öt leveles növényeket használtunk.

4.2. A kukoricából származó illékony komponensek gyűjtése

Miután az 5.5. fejezetben a szélcsatornás mérés során megerősítettük, hogy a párosodott kukoricamoly nőtény vonzódik a kukoricához, 3 ismételtsben illatanyagokat gyűjtöttünk ezekről a növényekről. A növényeket sütőzsákba (12 liter, Alufix GmbH, Wr. Neudorf, Ausztria) zártuk. A zsákot a szár alján kábelkötegelővel szorosan összefogtuk, majd vákuumpumpa segítségével a zsákból (Thomas G 12/02 EB, Garder Denver Thomas, Fürstenfeldbruck, Németország) 0,8 l/perc sebességgel szívtuk ki a levegőt. A zsákba beáramló levegőt aktív szén szűrővel szűrtük meg. A zsákból kiáramló levegő útjába helyeztük az üvegcsőben (4 mm belső átmérő:) elhelyezett 50 mg tömegű, SuperQ adszorbenst (80/100 mesh, Altech, Deerfield, IL, USA), amely megkötötte az illékony komponenseket. Az illatanyaggyűjtést 24 órán át végeztük. Az illatanyaggyűjtés előtt az adszorbens csöveket egymást követően metanollal (tisztaság: 99,8 %; Reanal, Budapest, Magyarország), metanol és kloroform keverékével (kloroform tisztaság: 99,9 %; Reanal, Magyarország) (3:1), acetonnal (tisztaság: 99,5 %; Reanal) és diklórmétánnal (tisztaság: 99,9 %; Reanal) tisztítottuk. Ezután az adszorbens csöveket nitrogénnel szárítottuk, majd 2 órán át 70 °C-on kemencében kifűtöttük, hogy minden esetleges illatanyag szennyeződés és oldószer elpárologjon az adszorbensről (Kunert et al. 2009). Az adszorbensen összegyűjtött illatanyagokat 200 µl diklórmétánnal eluáltuk. Az így elkészült kivonatokat nitrogénnel 40 µl-re koncentráltuk, majd -40 °C-on tároltuk. Kontrollként ugyanezzel a módszerrel kukoricát nem tartalmazó, üres zsákból is összegyűjtöttük az illatanyagokat.

Az 5.6. fejezethez tartozó kísérletek során, ahol a kukoricabogárral fertőzött és az egészséges kukorica illatanyagait hasonlítottuk össze, a kukorica sütőzsákba csomagolása után 30 percet vártunk az illékony anyagok begyűjtése előtt. A zsák légterében lévő illatanyagokat PorapakTM Q porózus polimer adszorbenssel (80/100, Waters Corporation, MA, USA) gyűjtöttük 10 percig. Kontrollként az üres sütőzsákban található illatanyagokat is összegyűjtöttük. Az adszorbensen összegyűjtött illékony komponenseket 300 µl *n*-hexánnal (tisztaság $\geq 98\%$, Roth Ltd, Karlsruhe, Németország) eluáltuk. Az extraktumokat 40 µl-re koncentráltuk szobahőmérsékleten.

4.3. A kukoricából származó illatanyagok kémiai szerkezetazonosítása

Az 5.5. fejezetben a GC-EAD mérés során talált csápektív vegyületek kémiai szerkezetazonosítását gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrométerrel (GC-MS) (5890GC és 5975MS, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) végeztem. A műszer elektron ionizációs módban, 70 eV energiával, 29–400 m/z tartományban 2 scan/másodperc sebességgel mért. A GC Rxi®-5Sil MS kapilláris oszloppal (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, Restek, Bellefonte, PA, USA) volt felszerelve. A vivőgáz hélium volt, melynek áramlási sebessége 35 cm/másodpercre volt beállítva. Minden mintából 2 µl-t splitless módban injektáltam. A kemence hőmérséklete 50 °C-on volt 1 percig, majd 10 °C/perccel 230 °C-ra emelkedett. Az anyagok azonosítását MS könyvtárak (NIST11 és Willey) alapján, publikált Kovács index (Ki) értékekkel való összehasonlítással, valamint szintetikus anyagok (Sigma-Aldrich) injektálásával ellenőriztem.

A csápektív nonanal és dekanal GC-EAD analízisekkel nőstény antennákon is megerősítést nyert. Ennél a visszaigazoló mérésnél a nonanal és dekanal keverékét injektáltam, amely 100-100 ng-ot tartalmazott mindkét szintetikus standardból (Sigma-Aldrich) (N = 6).

Az 5.6. fejezetben bemutatott tojásrakási preferencia kísérletben, a GC-MS mérés során a különbség az előzőekben leírtakhoz képest annyi volt, hogy a műszer HP-5MS UI oszloppal (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm, Agilent J&W Scientific, Folsom, CA, USA) volt felszerelve és minden mintából 1 µl injektáltunk „splitless” módban.

4.4. A növényi anyagcseretermékek elemzése

A kukoricabogár lárvakártétele által okozott növényi anyagcseretermékek változását a kukoricaszárból gyűjtött mintákon értékeltük, melyeket három szakaszra osztottunk (alapi, középső és felső szakasz). Az összes mintát fagyott állapotban tartottuk, majd folyékony nitrogénben finom porrá őröltük. A keményítőt és a cukrokat (glükóz, fruktóz és szacharóz) a korábban leírtak szerint extraháltuk (Machado et al. 2016, 2017). A teljes oldható fehérjét Bradford módszerrel mértük (Bradford 1976; Machado et al. 2016). A benzoxazinoidok kinyerése Robert et al. (2017) leírása alapján történt. Röviden, 100 mg növényi porhoz 1 ml 50:50:0,5 metanol:víz:formaldehid (Fisher Scientific UK Ltd, Loughborough, Egyesült Királyság) oldatot adtunk, alaposan megkevertük és 10 percig centrifugáltuk 14 000 fordulat/perc sebességgel, majd a felülúszó frakciót használtuk az elemzésekhez. Az elemzést nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC) és tömegspektrometria (MS) kombinációjával végeztük, egy Acquity HPLC rendszerrel, amelyhez egy G2-XS „Quadrupole Time of Flight” tömegspektrométer (QTOF-MS) volt csatlakoztatva, „electrospray” forrással (Waters Corp., Milford, MA, USA). Az elválasztást egy Acquity BEH C18 oszlopon végeztük, és az adatgyűjtés ESI-negatív módban történt 100-1000 Da tömeg (m/z) tartományban. A benzoxazinoidok azonosítását a tömegspektrumuk alapján végeztük, és a DIMBOA, DIMBOA-Glc és HDMBOA-Glc tisztított formáját, valamint a szintetikus MBOA-t (Merck KGaA, Darmstadt, Németország) használtuk a mennyiségi meghatározásukhoz.

4.5. *In vivo* intracelluláris neurofiziológiai mérés

A komponens és keverék-specifikus PN-ek neurofiziológiai méréséhez *in vivo* intracelluláris felvételezést alkalmaztam Christensen and Hildebrand (1987) módszerét követve. Ezzel az eljárással megtudtam állapítani, hogy a keresett idegsejt melyik feromonkomponensre vagy keverékre válaszol.

A mérések során a hímeket egy 1 ml-es műanyag pipettahegybe fogtam be, úgy, hogy a fej a pipettahegy vékonyabbik végén kilógott. A fejet a nyak körül fogászati viasszal rögzítettem, az esetleges mozgások elkerülése miatt. Mikroszkóp alatt eltávolítottam a fejet borító kitinszőrk nagy részét, az egyik csápot és a szájszervet annak érdekében, hogy semmilyen esetleges mozgás ne zavarja a mérést. Ezután a fejen egy „ablakot” nyitottam, majd a fejben lévő zsírszöveteket és a csápot mozgató izmokat eltávolítottam. Ennek következtében a szaglóideg és a szaglólebeny láthatóvá vált. A preparátumon folyamatosan Tucson ringer oldatot (pH: 6,9; cukortartalom: 8,55 g/liter) áramoltattam keresztül (Christensen and Hildebrand 1987).

A fiziológiai méréshez lézeres kapilláris húzóval (P2000, Sutter Instrument, Novato, CA, USA) elkészített üvegapillárist használtam, aminek az elvékonyított vége 1 %-os Neurobiotinnal (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA), a vastagabb végét pedig 1 M-os KCl oldattal töltöttem meg. Az üvegapillárist mikrómanipulátor segítségével irányítottam a szaglólebeny azon részére ami közel esik a csáp felől érkező szaglóneuron köteghez. Azért ide irányítottam a kapillárist, mert itt helyezkedik el a feromon felfogásért felelős MGK. Az üvegapilláris másik vége egy elő-erősítőhöz (HS-2A, Axon Instruments, Foster City, CA, USA), majd egy analóg-digitális átalakítóhoz (IDAC-4, Ockenfels Syntech, Buchenbach, Németország) volt kapcsolva. Az így generált digitális jelet AutoSpike 3.7 (Ockenfels Syntech) programmal rögzítettem. Ha sikerült megfelelő kapcsolatot létesítenem a kapilláris és az idegsejt között akkor az azonos oldali csápot a két feromonkomponenssel vagy azok keverékeivel (Z11-14Ac, E11-14Ac, keverékek: 50:50, 97:3, 1:99, 65:35 és 35:65 % Z:E) ingereltem. Az ingerléshez Pasteur pipettába töltött 1x1 cm-es szűrőpapírt használtam. Erre a szűrőpapírra töltöttem a feromonkomponenseket vagy azok keverékeit. A szűrőpapírra ráért anyagmennyiség 1 vagy 10 ng volt. A keverékek esetében a ráért anyagmennyiség a két feromonkomponens összességét tükrözi. Például 10 ng 50:50 Z:E azt jelenti, hogy 5 ng volt a Z11-14Ac-ből és 5 ng volt az E11-14Ac-ből. A mérések során a csáp folyamatos (8,3 ml/másodperc), nedvesített és aktív szénen szűrt légáramban volt. A 0,5 másodperces stimulálás alatt a stimulálás légáramlása 8,3 ml/másodperc volt. (Stimulus Controller: SFC-2/b, Ockenfels Syntech, Buchenbach, Németország). A mérések során 10 másodperces szünetet hagytam az ingerlések között és mindig a kisebb dózissal kezdtem ingerelni a csápot.

Az ingerlés előtt és után is rögzítettem az akciós potenciálok számát és mintázatát. Az akciós potenciálokat manuális módon számoltam. A neuronok válaszát úgy mutattam be, hogy az ingerlés kezdete utáni 0,5 másodperces időintervallumban létrejött akciós potenciálok számából kivontam a spontán aktivitás (ingerlés előtt 0,5 másodperc) alatt

keletkezett akciós potenciálok számát, ezt megszoroztam 2-vel, így megkaptam az 1 másodperc alatt létrejött akciós potenciálokat. A neuronok válaszát klaszteranalízissel (MINITAB 14, Coventry, UK) elemeztük és dendrogrammal ábráztuk teljes láncmódszer (complete linkage) és euklideszi távolság alkalmazásával. A fiziológiai elemzés után az üvegkapillárist a neuronban hagytam, majd iontoforetikusan injektáltam a neurobiotin jelölőanyagot 0,8-1,2 nA állandó áramerősséggel, 10-15 percig.

4.6. 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 4x10 percig átmostam csak PBS és 0,25% TritonX100 oldatban. Ezt követően a kipreparált agyakat szobahőmérsékleten PBS, 0,25% TritonX100 és 3% alfa-szinapszin antitesttel (Hybridoma, Univ. of Iowa, Iowa, IA, USA) és 3% fluoreszcens avidinnal (NeutrAvidin, Oregon Green 488 konjugátum, Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) inkubáltam egy éjszakán keresztül rázógépen. A következő napon az agyakat ismét 4x10 percig PBS és 0,25% TritonX100 oldattal átmostam. Ezután az agyakat 1% fluoreszcens, másodlagos antitesttel [*anti-mouse (goat) Alexa 546*, Invitrogen] PBS és 0,25% TritonX100 oldatban 3 órán keresztül, rázógépen, szobahőmérsékleten inkubáltam. Utolsó lépésként az agyakat ismét 4x10 percig PBS és 0,25% TritonX100 oldattal átmostam, majd tárgylemezen Vectashield Hard Mount (Vector Laboratories Inc., Burlingame, CA, USA) segítségével rögzítettem.

Az így előkészített agyakat háromdimenziós, konfokális pásztázó mikroszkóppal (Zeiss LSM 510, Carl Zeiss, Jena, Németország) vizsgáltam. A vizsgálatokhoz 40-szeres tárgylencsét (Plan-Neufluar 40x/1.3, DIC) használtam. A másodlagos antitesttel [*anti-mouse (goat) Alexa 546*] jelölt preparátumot 543 nm hullámhosszú hélium-neon lézerrel gerjesztettem és a detektáláshoz 560 nm-es szűrőt alkalmaztam (megj.: a 8., 9., 10. ábrákon látható mikroszkópi képeken ez a piros színeződést mutatja). A fluoreszcens avidinnal jelölt mintákat argon (488 nm) lézerrel gerjesztettem és a detektáláshoz 505-530 nm-es szűrőt használtam (A 8., 9., 10. ábrákon ez a zöld színjelölést mutat). A mikroszkópi felvételezések során körülbelül 200 darab 1024x1024 pixel felbontású képet készítettem különböző rétegekben. Majd AMIRA (v.3.0, TGS, San Diego, CA, USA) program használatával a képeket egymásra helyezve az agyról 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 szaglőlebenyben található glomerulusok és idegsejtek dendritjeinek térbeli elhelyezkedéséről.

4.7. Elektroantennográfiás mérések (EAG)

Az 5.1.4-es fejezetben bemutatott elektroantennográfiás mérésekhez (EAG) a kukoricamoly Z- és E-vonalának, hibridjeinek (ZE, EZ) és apai visszakeresztezéseinek (ZExZ, ZExE, EZxZ, EZxE) hímjeit használtam. Az EAG mérések során a Z11- és E11-14Ac-ra adott

csápválaszok erősségét mértem. A mérésekhez frissen kelt, nem párosodott hím csápját és annak disztális végét levágtam, majd egy villa alakú, kettős elektróda közé helyeztem. A csáp és az elektródák közötti kapcsolathoz vezető zselét használtam (Blågel, Cefar, Lund, Svédország). Az elektródák egy tízszeres erősítő bemeneti szakaszhoz voltak csatlakoztatva, amely közvetlenül kapcsolódott egy analóg-digitális adatgyűjtőhöz (IDAC-2, Syntech GmbH, Buchenbach, Németország). Az ingerléshez a feromonkomponenseket *n*-hexánban hígítottam majd szűrőpapírra (1 × 1 cm, Munktell Filter AB, Falun, Svédország) vittem fel, melyet Pasteur pipettába helyeztem. A szintetikus feromonkomponensek tisztaságát előzetesen gázkromatográffal ellenőriztem. A feromon stimulusokat minden kísérleti napon a stimulusokat frissen készítettem el. Az egyes feromonkomponensekből 500 ng-os dózist használtam. Kontrollként csak oldószerral (*n*-hexán) töltött stimulust használtam. A mérések során aktív szén szűrőn szűrt és párasított levegő (6,7 ml/s) áramlott folyamatosan egy üvegcsövön keresztül (belső átmérő: 7 mm) a preparált csáphoz, melyet egy stimulus vezérlő (CS-55, Syntech) biztosított. A stimulust tartalmazó Pasteur pipetta 20 cm-re volt a csáptól. Az ingerlések 0,5 másodpercig tartottak, 6,7 ml/s áramlási sebességgel. Az ingerlések közötti időintervallumok 25 ± 5 s voltak. Az ingerléssorrend a következő volt: Z11-14Ac, E11-14Ac, kontroll, E11-14Ac, Z11-14Ac, kontroll. Az elektroantennográfiás jel vizualizálására GC-EAD programot (GC-EAD 32, verzió 4.3, Syntech) használtam. A csápválaszok amplitúdóit lemértem, és ugyanarra a stimulusra adott válaszokat átlagoltam, majd a kontroll értékhez normalizáltam. A Z11-14Ac választ elosztottam az E11-14Ac válasszal. Az arcsin-transzformált adatokat ANOVA statisztikai teszttel elemeztem, majd Tukey HSD post-hoc tesztet alkalmaztam.

Az 5.6. fejezetben a tojásrakás preferencia vizsgálatánál elvégzett EAG méréseknél annyi volt a különbség az előző méréshez képest, hogy a kukoricamoly nőtény csápját üvegkapillárisok (belső átmérő 1,17 mm, Harvard Apparatus, Edenbridge, Egyesült Királyság) közé helyeztük, amelyet Ringer oldattal töltöttünk (Beadle és Ephrussi, 1936) meg, majd ezeket az üvegkapillárisokat ráhúztuk a referencia és a felvételező ezüst elektródra, melyek mikromanipulátorra voltak rögzítve. A párasított levegő térfogatárama 1 liter/perc volt. A mérésekhez használt három különböző dózisú (0,1, 1, 10 µg/µl) szintetikus vegyületeket ásványolajban (CAS 8042-47-5, Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) hígítottuk és 10 µl oldatot vittünk fel a szűrőpapír korongra (12,7 mm Ø; Schleicher & Schnell GmbH, Dassel, Németország), ezután a korongokat Pasteur pipettába helyeztük. Kontroll stimulusként 10 µl ásványolajat használtunk. A felhasznált vegyületeket növekvő koncentrációban, véletlenszerű sorrendben teszteltük, és a stimulusok sorozata előtt és után ásványolaj kontroll stimulust használtunk.

4.8. Gázkromatográffal kapcsolt elektroantennográfiás mérés (GC-EAD)

A GC-EAD mérésekhez Agilent 6890 N gázkromatográfot (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA) használtam, amely egy HP-5 kapilláris oszloppal volt felszerelve (30 m × 0,32 mm × 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, CA, USA) és „on-column” injektálási módszert

alkalmaztam. A hőmérsékletprogram a következő volt: a kemence hőmérsékletét 50 °C-on tartottam 1 percre, majd 10 °C/perc sebességgel növeltem 230 °C-ra. Vivőgázként héliumot használtam 2,9 ml/perc sebességgel. A gázkromatográf oszlopának végén egy T-alakú elágazás a kivonat egyik felét a gázkromatográf lángionizációs (FID) detektorához, a másik felét pedig a fűtött csatoló elemen (Syntech, Kirchzarten, Németország) keresztül a csáphoz vezette, pontosan egy időben. A csáp felőli oldalán a gázkromatográfból érkező illékony anyagokat üvegcsövön keresztül (8 x 150 mm) aktív szénen szűrt és nedvesített 1/perces légáramba vezettem, ami a csáphoz irányította ezeket az anyagokat.

A mérésekhez 2 napos, párosodott nőtények (N=3) csápját levágtam és két üvegkapilláris (belső átmérő: 1,17 mm, Syntech) közé helyeztem, amelyek Ringer-oldattal (Beadle and Ephrussi 1936) voltak feltöltve és ezüst elektródhoz voltak csatlakoztatva. Ezeket az üvegkapillárisokat mikromanipulátorral irányítottam. A lepke csápjának utolsó csápízét levágtam a jobb elektromos kapcsolat létesítése érdekében. A csápból érkező jel tízszeres előerősítése után egy magas impedanciájú erősítőbe került továbbításra, ami egyben analóg-digitális átalakítóként is működött (IDAC-232, Syntech). A csáp és a FID detektor felől párhuzamosan érkező digitális jeleket GC-EAD programmal (GC-EAD 2000, 1.2.3.-as verzió, Syntech) rögzítettem és értékeltem. A mérés megkezdése előtt a felpreparált csápot 10 ng/μl-es dózisú fenilacetaldehiddel (≥95 %, CAS: 122–78-1 Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) stimuláltam, hogy ellenőrizsem a csáp érzékenységet.

4.9. Extracellularis egyedi érzékszőr mérés (Single Sensillum Recording – SSR)

Az 5.2 és 5.3 fejezetben tárgyal kísérletben a hímeket és a nőtényeket báb állapotban elkülönítettem és külön műanyag dobozokban tartottam, hogy a hímek kelésük után ne érzékeljenek nőtény szex feromont. A mérések során a 0-3 napos korú hímeket egy műanyag pipettahegybe rögzítettem úgy, hogy a feje a pipettahegy vékonyabbik végén kilógott. A referenciaelektródként szolgáló volfrám szálát a potrohba szúrtam. A fejet fogászati gyantával (Surgident periphery wax, Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Németország) rögzítettem a pipettahegy vékonyabbik végénél, azért, hogy a fej mozdulatlan maradjon. A csápot kétoldali ragasztószalagra fektettem, ami egy fedőlemezre volt rögzítve. Az elektrolitikusan kihegyezett felvételi elektród mikromanipulátor (PM-10, Märzhäuser-Wetzlar GmbH & Co Kg, Wetzlar, Germany) segítségével a feromont érzékelő *sensilla trichodea* érzékszőr alapi részébe volt beszúrva. A szintetikus feromonkomponenseket *n*-hexánban hígítottam. Szintén *n*-hexán szolgált kontroll stimulusként. A stimulus elkészítése során 10 μl oldatot injektáltam egy 12,7 mm átmérőjű szűrőpapír korongra (Schleicher & Schnell GmbH, Dassel, Németország), majd a korongot egy Pasteur pipettába helyeztem. A csáp folyamatosan, aktív szénen szűrt, párasított levegőáram alatt volt (2 l/perc). A csápot a különböző stimulusokkal stimulus kontrollerek (CS-55 Syntech, Kirchzarten, Németország) segítségével 500 ms ideig ingereltem. Az ingerlések között eltelt idő legalább 20 másodperc volt, és a stimulusok sorrendjét véletlenszerűen rendeztem el. A felvételi elektród egy tízszeres erősítőhöz volt csatlakoztatva, majd a továbbított jel egy adatgyűjtő vezérlőbe érkezett (IDAC 4, Syntech) ami az analóg jelet

digitálissá alakította. Az extracelluláris kapcsolat létrehozása után a csápot ingereltem és a neuronok aktivitását rögzítettem az ingerlés előtt (2 mp), alatt és után AutoSpike 3.9 szoftver (Syntech) segítségével, majd az akciós potenciálokat (tüskék) manuálisan számláltam. A neuronok válaszát úgy számoltam ki, hogy az ingerlés utáni időszakban keletkezett tüskék számából kivontam az ingerlés előtti időszakban keletkezett tüskék számát (spontán aktivitás). Mivel extracelluláris vizsgálatot végeztem, ezért a mérés során több neuron párhuzamos válaszát láttam. Ebben az esetben a tüske amplitúdójának alapján el tudtam különíteni az egyes neuronokat. A kukoricamolyletében a trichoid érzékszőrben 3 neuron fordul elő és mindhárom neuron más-más amplitúdóval rendelkezik (Hansson et al. 1994). A három különböző feromonkomponenssel való stimulálás után a stimulálás utáni első 3 tüske amplitúdója alapján különítettem el az egyes neuronokat, majd az adatokat százalékban fejeztem ki, ahol a legnagyobb amplitúdót vettem 100 %-nak. Ezután Kruskal-Wallis statisztikai tesztet alkalmaztam az elemzésre. Az átlagok közötti különbségeket a Tukey HSD teszttel elemeztem.

Az 5.3-as fejezetben alkalmazott stimulusok annyiban különböztek az 5.2. fejezetben tárgyaltaktól, hogy a mérésekhez különböző feromon keverék (4.10.1 fejezetben leírt Z, E és H keverék) 10, 100 és 1000 ng-os dózisait használtam. Kétféle ismétlődő stimulus sort alkalmaztam a Z keverék 10, 100 és 1000 ng-os dóziséval: 1.) 10 ciklus 200 milliszekundumra bekacsolva, majd 200 milliszekundumra kikapcsolva. 2.) 10 ciklus 1 másodpercre bekacsolva, majd 1 másodpercre kikapcsolva. A sorozatok előtt a csápot a protokollnak megfelelő dózissal Z11- és E11-14Ac-al stimuláltam, vagy 1 másodperc vagy 200 milliszekundum időre (protokolltól függően). A sorozatot egyetlen E11-14Ac vagy Z11-14Ac stimulus követte. A neuronok válaszát úgy számoltam ki, hogy az ingerlés utáni időszakban keletkezett tüskék számából kivontam az ingerlés előtti időszakban keletkezett tüskék számát (spontán aktivitás). Statisztikai elemzésekhez kétoldali Student t-próbát használtam.

4.10. Rovar szélcsatornás viselkedési vizsgálatok

Az 5.3. fejezetben bemutatásra kerülő kísérletben a rovar szélcsatorna 70 × 70 × 200 cm méretű volt. A szélcsatorna légáramlását 40 cm/másodperc sebességre állítottam be. A fényforrást egy 2 lux fényintenzitású fehér LED biztosította, amely a szélcsatorna felett volt elhelyezve. A pontszerű fényforrás elkerülése végett a fényforrás alatt egy fehér áttetsző vásznat alkalmaztam. A mérések során a hőmérséklet 19 °C, a relatív páratartalom pedig 60-75%-os volt. A belépő levegő egy 63 × 90 × 45 cm-es, 4 kg aktív szén tartalmazó tartályon haladt keresztül. A lamináris légáramlás biztosítása érdekében az aktív szén szűrő és a szélcsatorna között egy 70 × 70 cm-es rozsdamentes acél finomhálót helyeztem el. A lepkék könnyebb orientációja érdekében 20 darab 10 cm átmérőjű piros kört helyeztem el a szélcsatorna aljzatán random elrendezésben (14. ábra). A kísérlethez felhasznált hímeket 3 órával a teszt megkezdése előtt egyenként üvegcsövekbe (12,5 × 2,5 cm) helyeztem, a cső mindkét oldalát hálóval zártam le és a szélcsatornás szobában helyeztem el, hogy a rovarok akklimatizálódni tudjanak a szoba körülményeihez. A kísérlet megkezdésekor a hímek

tartalmazó csövet egy indítóállványra helyeztem, amely 30 cm magasságban 180 cm-re volt a feromon forrástól, majd eltávolítottam a csövet lezáró hálót. A hímeket egyesével, a sötét periódus 1-3 órájában teszteltem.

4.10.1. A szélcsatornás kísérlethez használt illatforrások

A szélcsatornás vizsgálatokhoz a két feromonkomponenst (Z11- és az E11-14Ac) három különböző arányban kevertem össze:

- 1.) Z-keverék: 97:3 Z11:E11
- 2.) E-keverék: 1:99 Z11:E11
- 3.) H-keverék: 50:50 Z11:E11

A keverékekben szereplő egyes komponensek tisztaságát GC-MS-el ellenőriztem. Az illatforrásként szereplő gumi kibocsátóra (PheroNet) 10 µl-t mértem rá a keverékekből ami 30 µg anyagmennyiséget tartalmazott. A feromonkomponensek oldószere *n*-hexán volt. A kibocsátók a kísérlet előtt egy éjszakán át az elszívófülkében voltak. A forrásváltásos kísérlethez a feromonkomponens keverékeket szűrőpapír korongokra (12.7-mm átmérő, S&S Antibiotic-Assay disk; Sigma-Aldrich) mértem ki, melyeket Pasteur pipettába helyeztem. A szűrőpapírkorongok 10 ng anyagmennyiséget tartalmaztak, melyeket a kísérlet előtt 1 órával készítettem el és a kísérlet során maximum 1 óráig használtam.

4.10.2. A szélcsatornás kísérletben alkalmazott egy- és háromválasztásos tesztek

Az egyválasztásos kísérlet során, csak 1 (Z, E vagy H) feromon forrás volt a szélcsatornában és a hímeket egyesével, 3 percig teszteltem. Naponta tíz hímét teszteltem minden forrásra (összesen 30 hím naponta). Ezt három különböző napon ismételt meg (összesen 90 hím). A források sorrendjét minden kísérleti napon megváltoztattam.

A háromválasztásos kísérletben a három különböző bináris keveréket tartalmazó forrást vízszintesen helyeztem el, 10 cm távolságra egymástól. A három forrásból származó illatcsóvák a szélcsatorna közepén elegyedtek, ezt titán-tetrakloriddal demonstráltam. Összesen 98 hímét teszteltem három kísérleti napon (38, 30 és 30 hím). A források pozícióját minden nap megváltoztattam.

Az egyválasztásos kísérleteknél Kruskal-Wallis statisztikai tesztet alkalmaztam, majd Ryan *post-hoc* tesztel hasonlítottam össze az egyes csoportokat. A háromválasztásos kísérleteknél χ^2 tesztet alkalmaztunk, majd szintén Ryan *post-hoc* tesztel hasonlítottam össze az egyes csoportokat.

4.10.3. A szélcsatornás kísérletben alkalmazott forrásváltásos teszt

Két Pasteur pipetta szolgált a két feromon forrásként, melyekbe szűrőpapírra mértem a feromon keverékeket. Ezek 5 mm távolságra helyezkedtek el egymástól és az elvékonyított végük felfelé nézett. A pipettákat egy stimulus-vezérlőhöz (CS 55; Syntech, Kirchzarten,

Németország) csatlakoztattam és folyamatos 0,6 liter/perces légáramot alkalmaztam. A stimulus-vezérlő lehetővé tette a légáram váltását a két pipetta között.

A kísérlet során miután a hím a Z pipettából származó Z-keverék irányába elkezdett repülni, és elérte a szélcsatorna hossz tengelyének felét, a légáramot átkapcsoltam a másik pipettára, amely vagy nem tartalmazott feromont (negatív kontroll, $n=3$), vagy egy másik Z-keveréket (pozitív kontroll, $n=67$), vagy E-keveréket ($n=116$), vagy H-keveréket ($n=33$) tartalmazott. Mivel a feromonok szintelen vegyületek, ezért az illatcsóvák keveredését és a váltás pontos helyét 940 nm-es LED-et tartalmazó fényssorral demonstráltam, ahol a fényssor sebessége megegyezett a légáramlás sebességével. A LED fényssorral vizualizálva a feromon mindenkori helyét a légáramban pontosan lehetett látni, így meg tudtam mondani, hogy a hím mikor találkozik az új feromonforrással.

4.10.4. A szélcsatornás kísérletek során alkalmazott képrögzítés és repülési mintázat elemzés

A lepke repülés mintázatának rögzítéséhez a szélcsatorna felett 60 cm magasan egy 45CSHRX-12 CCD kamerát (RF concepts Limited) szereltem fel, amelyhez egy 760 nm-es szűrőt használtam. A kamerát számítógéppel kapcsoltam össze. A kamera kb. 80 cm $\times$ 150 cm-es területet látott a szélcsatornából. A lepkék világos pöttyök formájában jelentek meg a sötét háttér előtt, két fényforrás (RF concepts Limited) által kibocsátott 850 nm-es infravörös fény használatával. A videófelvételeket GraphClick 3.0 program segítségével elemeztem. A program képes volt a videofelvétel alapján megjelölt pontokból tényleges repülési koordinátákat létrehozni. Az elemzés során minden videofelvételt külön-külön elemeztem 3 darab 1 másodperces intervallumban. Első intervallum: 1 másodperccel a forrásváltás előtt, 2. intervallum: 1 másodperccel a forrásváltás után, 3. intervallum: 2 másodperccel a forrásváltás után. Mivel az adatok nem tértek el a normál eloszlástól (Kolmogorov-Smirnov teszt), a statisztikai kiértékeléshez egyutas ANOVA, majd Tukey post-hoc tesztet használtam.

4.10.5. Tápnövény illatanyagokkal végzett rovar szélcsatornás viselkedési vizsgálatok

Az 5.5. fejezetben bemutatott rovar szélcsatornás vizsgálatnál 110 cm hosszú, 30 cm széles és 30 cm magas szélcsatornát használtunk. A szélcsatornába lamináris, 11 cm/másodperc sebességű, aktívszáron szűrt, 20-22 °C-os és 50-70% relatív páratartalmú levegő áramlott be. Szélcsatornából kiáramló levegőt elszívó berendezéssel a szobán kívülre vezettük annak érdekében, hogy elkerüljük a szélcsatornát tartalmazó szoba illatanyaggal történő szennyezését. A szélcsatorna felett elhelyezkedő fehér LED panel fényereje 0,6 lux volt. Piros LED fényforrást használtunk a lepkék viselkedésének megfigyeléséhez. A kísérletek alatt a légnyomás 1015-1024 hPa között volt. A kétnapos, párosodott nőstényeket egyesével, fémhálószerű lezárt üveghengerekbe (10 cm hosszú, 3 cm belső átmérőjű) helyeztük. Ezeket az üveghengereket a kísérlet megkezdése előtt 1 órával a szélcsatornás szobába helyeztük azért, hogy az állatok akklimatizálódni tudjanak a szélcsatorna körülményeihez. A vizsgálatokat a sötétperiódus 2-4 óra közötti szakaszában végeztük, úgy, hogy az egy lepkét tartalmazó

üveghengert 10 cm magas indítóállványra helyeztük, amely 80 cm-re volt az illatforrástól. Az 5 percig tartó vizsgálat során a következő viselkedési lépéseket rögzítettük: 1. szárnyrezegtetés (WF), 2. elrepülés (TF), 3. széllal szemben repülés (UF), 4. félút (HW), 5. 10 cm-es megközelítés (AP), 6. forrás érintése (SC), 7. leszállás (LA). Naponta 10-15 nőtényt teszteltünk. A tápnövény választásos kísérletben 32 nőtényt vizsgáltunk, ahol kukorica növény volt maga az illatforrás. A kontroll csoport esetében (n=32) a szélcsatornában nem volt illatforrás. A 3 szintetikus keverék esetében illatforrásként 1:2,4 arányú, nonanal:dekanal (NAL:DAL) keveréket használtunk 3 különböző koncentrációban (10, 100 és 1000 ng/μl) (n=35 minden csoportban). A keverékekhez felhasznált nonanalt (≥95 %, CAS: 124-19-6; Sigma-Aldrich) és dekanalt (≥98 %, CAS: 112-31-2; Sigma-Aldrich) ásványi olajban hígítottuk (CAS: 8042-47-5; Sigma-Aldrich). Illatforrásként kanócos kibocsátóba helyeztük az egyes keverékeket, amely biztosította a kísérlet alatt az egyenletes kibocsátást (részletekért lásd: Zakir et al. (2013)).

4.11. Tojásrakás preferencia vizsgálat

Az első tojásrakásos teszt során a kukoricamoly nőtények választhattak az egészséges és a kukoricabogár lárváival fertőzött növény között. A kukoricabogárral fertőzött növényeket úgy állítottuk elő, hogy két darab, 7 cm mély lyukba 100 kukoricabogár tojást helyeztünk el a mag mellé a vetés napján. A kontroll növények érintetlenül maradtak. 25 nap elteltével az egyes növényeket organza hálóval (0,1 mm háló méret, Mathe Textil Kft., Budapest, Magyarország) fedtük le. Egy-egy kontroll és kezelt növényt ketrecbe (80 x 60 x 60 cm HxSZxM, háló mérete 0,23 x 0,33 mm, Máthé Textil Kft., Budapest, Magyarország, n=9) helyeztük. Öt darab, párosodott kukoricamoly nőtényt engedtünk szabadon a ketrecben. A tojások és a tojáscsomók számát a növényeken napi szinten, három napig számoltuk.

A második tojásrakásos teszt során a párosodott kukoricamoly nőtények az előbb leírt ketrecben választhattak, hogy vagy egy csalétek nélküli, vagy egy undekán csalétekkel ellátott egészséges kukoricára rakják a tojásaikat. Az undekán csalétek a növény mellett egy kibocsátóban a talajon volt elhelyezve. A kibocsátó Erb et al. (2015) által leírt módszerrel készült. Röviden, 50 μl 0,32 mM undekán (Sigma-Aldrich, Buchs, Svájc) tiszta dimetilszulfoxidban (DMSO) volt feloldva, amit 1,5 ml-es üvegfiolába (VWR, Darmstadt, Németország) tettünk. Az fiolák gumibetétes kupakkal voltak lezárva. A kupakban lévő gumitömítés egy 0,5 μl-es üveg kapillárisal volt átszúrta, majd teflon szalaggal volt lezárta. A kontroll kibocsátók tiszta DMSO-t tartalmaztak. Az undekán kibocsátók 4,38 (± 0,94) ng/óra mennyiséget bocsátottak ki, ami hasonló a kukoricabogárral fertőzött kukoricánövények által kibocsátott mennyiséghez. A ketrecbe (60 x 60 x 60 cm, BugDorm, Megaview, Taichung, Tajvan) négy, párosodott nőtényt helyeztünk, amelyekben egy egészséges és egy undekánnal kiegészített egészséges növény volt (n=7 ketrec). A tojások és a tojáscsomók számát minden növényen három napig, minden nap megszámláltuk.

4.12. Lárva táplálkozási preferencia vizsgálat

Első lépésként összehasonlítottuk a kukoricamolylárva növekedését egészséges és kukoricabogárral fertőzött növényeken. A kukoricabogárral fertőzött növényeket úgy állítottuk elő, hogy öt, második stádiumú kukoricabogár lárvét helyeztünk két 7 cm mély lyukba a talajban a növény mellett. A kontroll növények nem voltak fertőzöttek, de ugyanúgy a növény mellett a talajban két 7 cm mély lyukat fúrtunk. Négy nappal később tíz darab, frissen kelt kukoricamolylárva helyezettünk a kontroll és a kukoricabogárral fertőzött növények leveleire. Az összes növényt PET palackokkal (1,5 L, Evian, Zürich, Svájc) fedtük le, hogy megakadályozzuk a lárva szökését. 21 nap után összegyűjtöttük az összes kukoricamolylárva, lemértük a tömegüket, és rögzítettük a levélrágás területét. A magas kukoricamolylárva mortalitás miatt a kísérletet kétszer végeztük el (1. kísérlet: n=12, 2. kísérlet: n=11).

Második lépésként összehasonlítottuk a kontroll és az undekán illatanyaggal rendelkező kukoricán a kukoricamolylárva növekedését. Az undekán illatanyaggal rendelkező növényt a fent leírt (4.11 fejezet) kibocsátóval láttuk el. Egy előre lemért tömegű második stádiumú kukoricamolylárva helyezettünk minden növényre (n=20 kezelésenként). Az összes növényt PET palackokkal fedtük le. Négy nap után a kukoricamolylárvaikat összegyűjtöttük, majd tömegüket megmértük.

Harmadik lépésként a kukoricamolylárva fejlődését vizsgáltuk szintetikus táptalajon undekán jelenlétében és anélkül. Előre megmért tömegű második stádiumú kukoricamolylárvaikat 24 óráig éhezettünk, majd egyenként helyeztük el őket Petri csészékben (9 cm átmérő) egy 30x30x10 mm-es darab szintetikus táptalajjal (Frontier Scientific, Newark, DE, USA) (n=11-12 kezelésenként). A Petri-csésze átlátszó üveghengerbe volt helyezve (12x45 cm átmérő x magasság) üveg fedővel, befúvó és kifúvó nyílással. Minden hengerbe egy-egy undekán vagy DMSO kibocsátó volt elhelyezve (4.11 fejezet). A hengereken, 0,2 liter/perc sebességgel áramlott át a levegő, hogy megakadályozza az undekán túlzott telítődését a hengerekben. A szintetikus táptalajt naponta cseréltük, hogy elkerüljük a táptalaj kiszáradását. Négy nap elteltével összegyűjtöttük és lemértük a lárva tömegét.

4.13. Szabadföldi feromoncsapdázás

A kukoricamolylal kapcsolatos szabadföldi csapdázásokat 2013-ban és 2014-ben Törökszentmiklóson (Jász-Nagykun-Szolnok Vármegye, 47°05'59"N; 20°28'20"E), 2015-ben Bicskén (Fejér Vármegye, 47°28'34"N; 18°36'28"E) és Martonvásáron (Fejér Vármegye, 47°19'57"N; 18°49'21"E) végeztük. A csapdákat minden helyszínen a kukoricaföld szélén helyeztük el. A kísérletekhez szükséges delta alakú csapdákat a HUN-REN ATK Növényvédelmi Intézetében működő Csalomon® (Budapest, Magyarország; (17A. ábra) csoport biztosította. A nagy fogókapacitású sátor csapdákat házilag készítettem Hartstack et al. (1979) alapján (17B. ábra). Ezek a kónuszos csapdák a kukoricaföld szélén egy oszlopra voltak rögzítve. A delta csapdákat a kukoricás első sorában a kukorica legmagasabb pontjára rögzítettük, mivel

az irodalmi adatok alapján ismert, hogy a csapdák akkor a leghatékonyabbak ha a kukoricaültetvény legmagasabb pontján vannak elhelyezve (Mason et al. 1997). A kísérleti időszakban a csapdákat minden leolvasáskor a kukorica növekedésével összhangban egyre feljebb helyeztük.

A kukoricamoly előzetes rajzásmegfigyelése alapján Törökszentmiklóson 2013-ban a csapdákat június 11-én, 2014-ben június 6-án; Bicskén 2015-ben május 5-én; Martonvásáron 2015-ben június 2-án helyeztük ki. Az összes kísérletben minkét csapdatípus esetében a kibocsátó Wheaton (Wheaton, Miliville, NJ, USA) kapszula volt. A kapszulákra minden esetben 20 mikroliternyi feromont mértünk rá különböző dózisokban. A két feromonkomponenst, a Z11-14Ac-ot és az E11-14Ac-ot a Pherobank (Wijk bij Duurstede, Hollandia) vállalatától vásároltuk.

Az első kísérletben három különböző csapdatípus hatékonyságát hasonlítottuk össze: 1.) delta csapda eredeti ragacsanyaggal (delta), 2.) delta csapda test egérfogásra kifejlesztett ragacsanyaggal (Biotoll-Unichem, Vrhnika, Szlovénia) (delta+M), 3.) nagy fogókapacitású sátor csapda (sátor). 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 feromon keverék négy különböző dózisát: 0.1, 1, 10, és 100 µg teszteltük.

2014-ben a három különböző csapdatípus (delta, delta+M és sátor) hatékonyságát hasonlítottuk össze, ahol a csapdák 97:3 arányban tartalmazták a Z11-14Ac-ot és az E11-14Ac-ot 10 µg-os dózisban.

2015-ben, két különböző helyszínen, Bicskén és Martonvásáron Delta+M csapdákat használtunk és 3 különböző arányt: 97:3, 50:50, 1:99 Z11-14Ac:E11-14Ac hasonlítottunk össze. Ebben a kísérletben a feromon dózisa minden esetben 10 µg volt.

Minden helyszínen és évben a csapdákban lévő kibocsátót 3 hetente cseréltük frissre. A kísérleteket öt ismétlésben végeztük, a csapdák távolsága egymástól 20 méter volt és a csapdákat véletlenszerűen helyeztük el egy ismétlésen belül. A csapdákat hetente ellenőriztük és a ragacslapokat cseréltük. A három kísérleti év során gyűjtött adatokat a SPSS 17 (IBM Corporation, Armonk NY, USA) statisztikai szoftverrel elemeztük. Az adatokat $\log(x+1)$ transzformációval normalizáltuk és ANOVA statisztikai tesztet használtunk. Ha az ANOVA jelentős különbségeket mutatott, akkor a Tukey post-hoc tesztet alkalmaztunk a kezelések közti különbségek megállapítására (Day and Quinn 1989). Minden statisztikai tesztben a szignifikancia szint 5% volt.

4.14. Statisztikai kiértékelések

Az 5.5.2. fejezetben leírt eredményeknél a viselkedési vizsgálatok során gyűjtött adatokat az R 3.1.1 (R Core Team 2014) programban elemeztük. Először kiszámoltuk, hogy az egyes egyedek hány viselkedési lépést teljesítettek a kísérlet során. Nulla pontszám azt jelentette, hogy az egyed nem mutatott semmilyen reakciót az attraktáns jelenlétében, míg a 7-es pontszám azt jelentette, hogy a nőstény minden viselkedési lépést megtett és sikeresen eljutott az illatforráshoz 5 percen belül. A különböző kezelési csoportok közötti egyéni pontszám különbségének vizsgálatához Kruskal-Wallis tesztet használtunk, és Ruxton and Beauchamp (2008) ajánlásai szerint Games-Howell post-hoc teszteket alkalmaztunk a kezelések közötti különbségek vizsgálatára. Másodszor, a nőstények elrepülési (TF) aránya, a leszálló (LA) nőstények aránya, az elrepülés és a leszállás ideje is összehasonlításra került azon kezelési csoportok között, ahol legalább egy lepke leszállt az illatforrásra. Ehhez nem paraméteres teszteteket (arány teszteket és Wilcoxon rang összeg tesztet) használtunk. Az összes teszt kétoldali volt, 0,05-ös szignifikancia szinttel.

Az 5.6. fejezetben bemutatott eredményeknél az adatokat R (R Statisztikai Szoftver, 4.0.5 verzió, R Foundation for Statistical Computing, Bécs, Ausztria), GraphPad online (Graphpad.com, GraphPad Software, San Diego, CA, USA) és SigmaPlot (14.5 verzió, Systat Software, Inc., San Jose, USA) programok segítségével elemeztük. Az összes adatot heteroszkedaszticitásra és a hibahányad normális eloszlására teszteltük a Brown-Forsythe és Shapiro-Wilk tesztek segítségével. A tojásrakás preferenciát khí-négyzet tesztel elemeltük. Az illékony anyagokat főkomponens analízissel (PCA), illetve lineáris és parciális legkisebb négyzetek diszkriminancia analízissel (LDA és PPLS-DA) elemeltük. A kibocsátott illékony komponenseket először Student t-próbákkal elemeltük arcsinh-transzformált adatokon, majd a többszörös tesztek korrigálására Benjamini-Hochberg korrekciót alkalmaztunk. „Volcano plot” ábrát készítettünk, ahol a $\log(p)$ negatív értékeit az illékony anyag-kibocsátás logaritmikus értékekkel szemben ábrázoltuk. Az illékony komponensek csúcs alatti területét további Student t-próbákkal és Mann-Whitney rang összehasonlító tesztekkel hasonlítottuk össze. A teszteket arcsinh-transzformált adatokon végeztük, és a hamis felfedezési arány korrekciójára Benjamini-Hochberg korrekciót alkalmaztunk. Az kukoricamoly lárva túlélését és szövetfogyasztását Student t-próbákkal és Wilcoxon rang összeg tesztekkel elemeltük. A gyökérkárosításra és a szárban lévő keményítő-, cukor-, fehérje- és benzoxazinoid-koncentrációkra kétirányú ANOVA és rangsor ANOVA tesztet alkalmaztunk.

5. EREDMÉNYEK

5.1. A kukoricamoly feromon felfogásának központi idegrendszeri neuroanatómiai és fiziológiai öröklése

A témához kapcsolódó publikációm: Kárpáti et al. 2010

Korábbi munkámban azonosítottam a kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*) E- és Z-vonal feromon felfogásának központi idegrendszeri neuroanatómiáját és neurofiziológiáját, azaz, hogy pontosan melyik az az agyban elhelyezkedő terület ami felelős a két feromonkomponens felfogásáért mindkét vonal esetében (Kárpáti et al. 2008). Az ezt követő és ebben a dolgozatban új eredményként bemutatott munkában a Z- és E-vonal hibridjeire és ezek visszakeresztezett hímeire fókuszáltam. Kérdésem az volt, hogy a hímek esetében hogyan öröklődik a feromon felfogás neuroanatómiája és neurofiziológiája. Ezen belül azonosítottam:

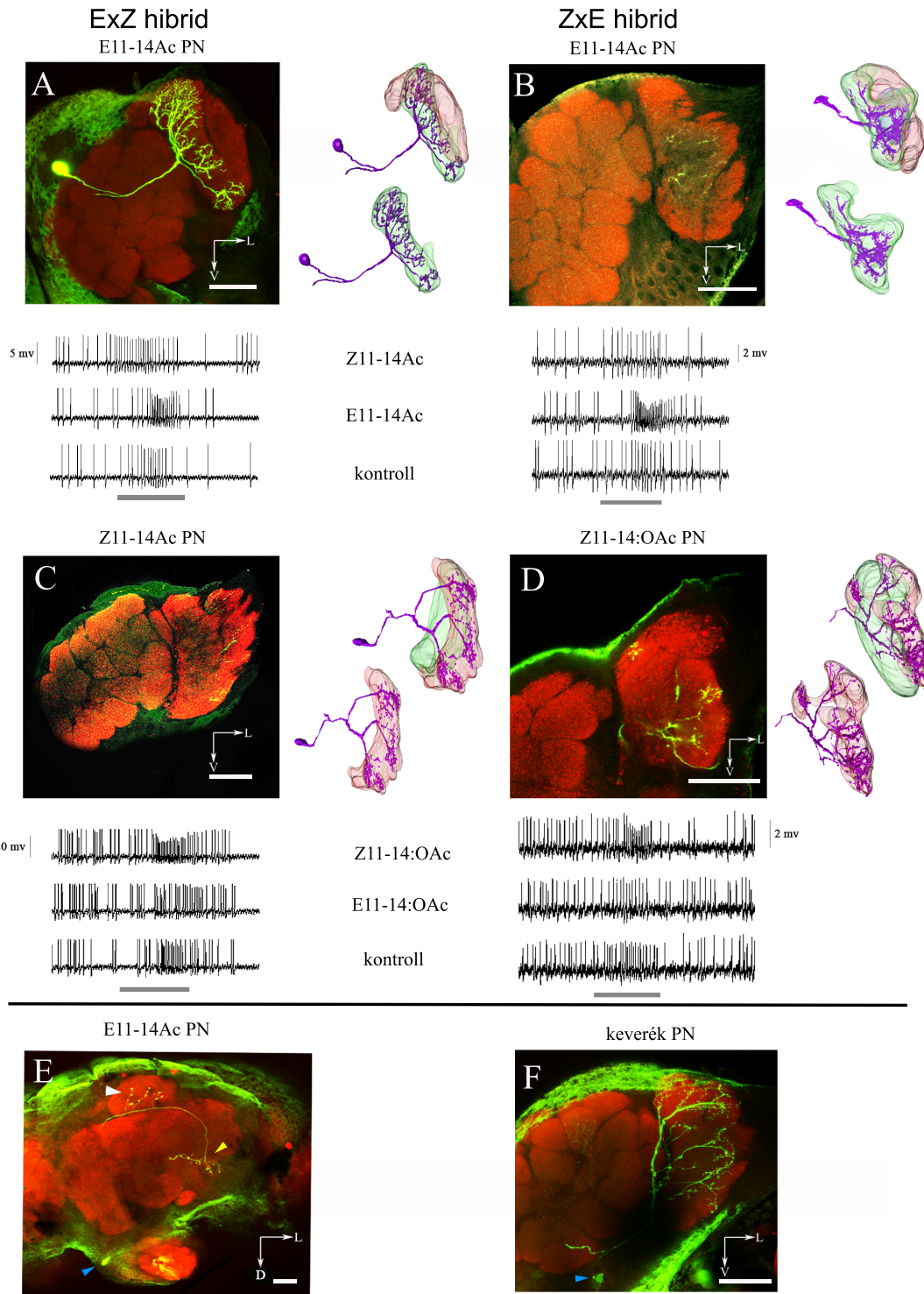
1. Mind a hibridek, mind a visszakeresztezett hímek feromon felfogásának funkcionális topológiáját a makroglomeruláris komplexben (MGK).
2. A projekciós (PN) és a helyi interneuronok (LN) fiziológiai karakterisztikáját.
3. A hibridek és a visszakeresztezett hímek makroglomeruláris komplexének neuroanatómiáját.
4. A szülői vonalak, ezek hibridjei és visszakeresztezett egyedeinek összesített elektrofiziológiai csápválaszt.

Ezeket a vizsgálatokat azért végeztem el, hogy megértsem a fent említett tulajdonságok öröklésmenetét és összefüggést találjak a hímek feromonra adott viselkedési válaszával.

5.1.1. A hibridek és visszakeresztezésük makroglomeruláris komplexének funkcionális topológiája

Az intracelluláris neurofiziológiai mérések során az ExZ és ZxE hibridek esetében specifikus (csak egy feromonkomponensre válaszoló), keverék-specifikus (két feromonkomponens elegyére válaszoló) és generalista projekciós neuronokat találtam. A mérések során elsősorban a komponens-specifikus PN-ra voltam kíváncsi, mivel ezek beidegzése mutatja meg pontosan, hogy mi a különbség a két hibrid (ExZ és ZxE) között. 134 próbálkozásból 20 esetben (15%-os hatékonyság) sikerült a fiziológiai mérés után a projekciós neuront festéssel megjelölni. A komponens-specifikus PN-ok dendrit elágazásai glomerulus specificitást mutattak, azaz a szaglóbelyben elhelyezkedő MGK-ben csak az egyik egységen belül ágaztak el. Ezen neuronok sejttestje a középső sejtklaszterben helyezkedett el (7A.

ábra), illetve axonjaik a belső csápidegkötegben (inner antenno-cerebral tract (IAC)) haladnak a gombatestbe majd a protocerebrum oldalsó lebenyébe (7E. ábra). A keverék-specifikus PN-ok mindkét MGK glomerulusban elágaztak, sejttestjük az oldalsó sejtklaszterben helyezkedett el és axonjuk a külső csápidegkötegben (outer antenno-cerebral tract (OACT)) haladtak a felsőbb agyi központok felé.

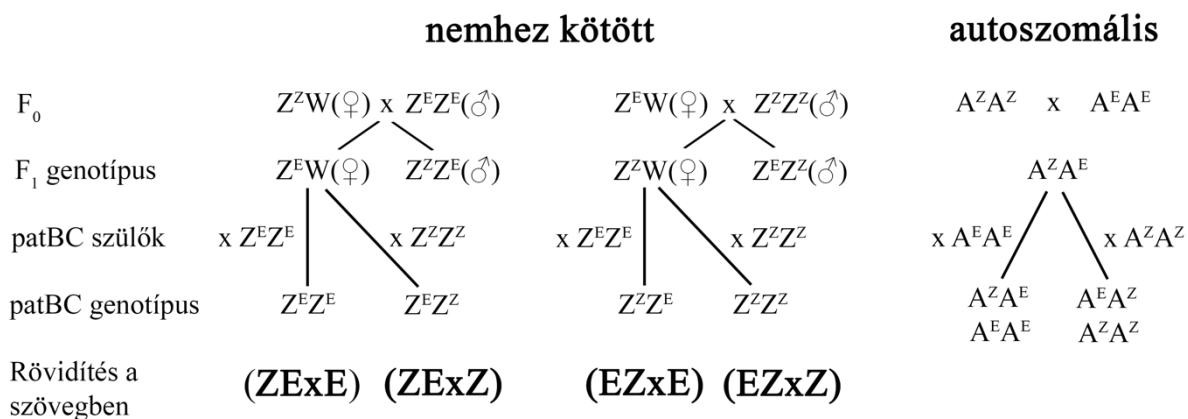


7. ábra: A kukoricamoly F1 hibridjeinek (ExZ, ZxE) MGK-ében a projekciós neuronok dendrit elágazása. A neurobiotinnal jelölt PN-ok (zöld) az alfa-szinapszinnal jelölt szaglőlebenyben (piros). Bal panel: konfokális felvétel a szaglőlebenyben elágazó PN egy részéről. Jobb panel: a két nagy MGK alegység háromdimenziós rekonstrukciója (laterális: piros, mediális: zöld) és a PN dendritikus elágazása (ibolya). Alsó panelek: a PN fiziológiai válasza. Stimulálás ideje 500 ms (szürke sáv). (A) Az ExZ hibrid hím MGK-e, amely E11-14Ac-specifikus PN-t mutat kizárólagos elágazásokkal a mediális alegységben. Stimulus dózisa 1 ng. (B) Az ZxE hibrid hím MGK-e, amely E11-14Ac-specifikus PN-t mutat a mediális gombrészben kizárólagos elágazásokkal. Stimulus dózisa 10 ng. (C) Az ExZ hibrid hím MGK-e, amely Z11-14Ac-specifikus PN-t mutat kizárólagos elágazásokkal a laterális alegységben. Stimulus dózisa 1 ng. (D) Az ZxE hibrid hím MGK-e, amely Z11-14Ac-specifikus PN-t mutat kizárólagos elágazásokkal a laterális alegységben. Stimulus dózisa 10 ng. (E) Az E11-14Ac-specifikus PN axonjának elágazása a gombatestben és a protocerebrum laterális szarvában. (F) Feromon keverék-specifikus PN elágazása mindkét MGK alegységben, kizárólag a Z11-14Ac és E11-14Ac 50:50 arányú keverékére reagálva. A konfokális felvételeken a fehér sáv 50 μ m.

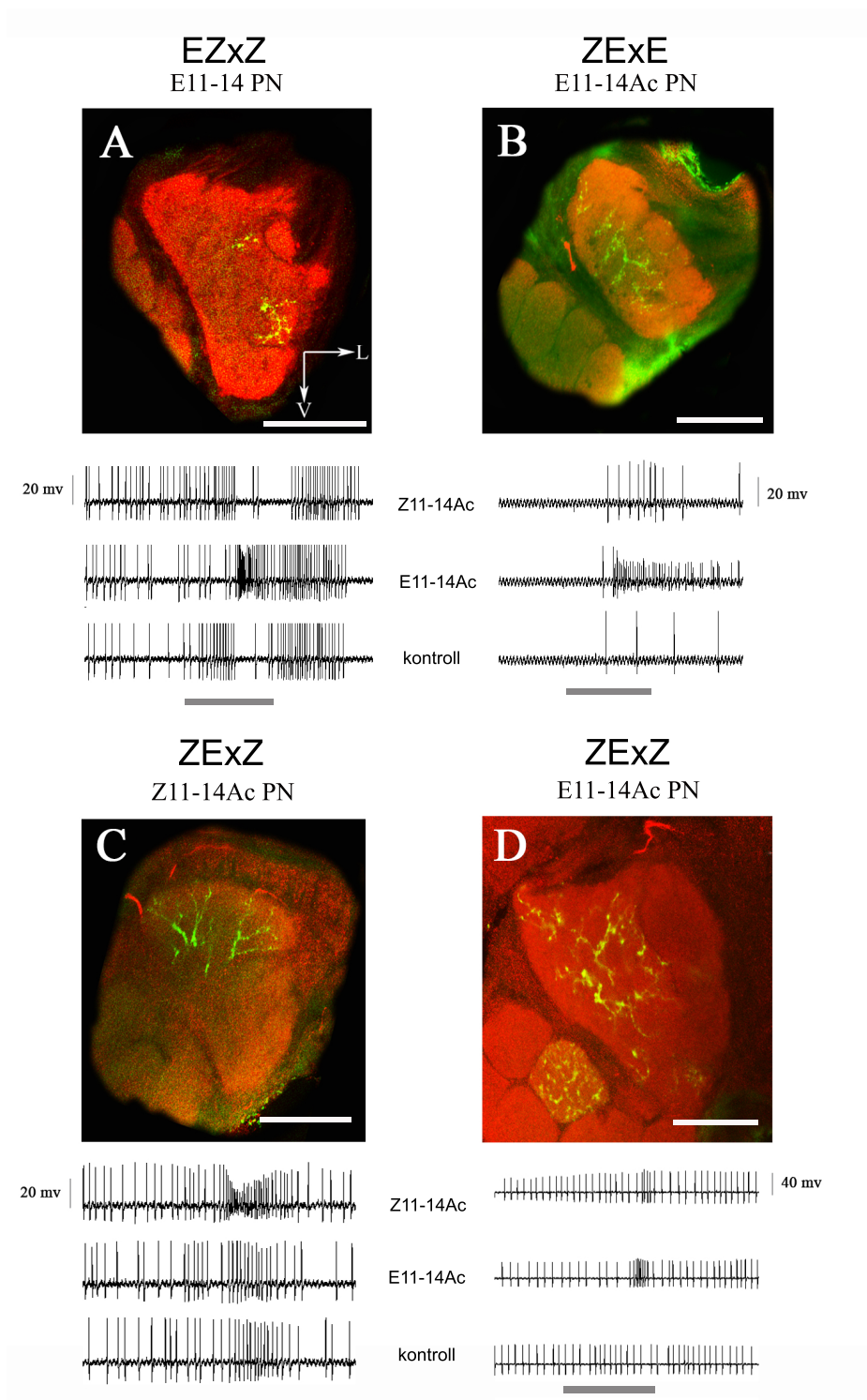
Mindkét hibrid esetében az E11-14Ac-specifikus PN-ok minden esetben a mediális MGK glomerulusban ágaztak el (7A, B ábra) ugyanakkor a Z11-14Ac-specifikus PN-ok dendritjei mindig a laterális MGK glomerulusban végződtek (7C, D ábra). Összegezve mindkét hibrid (ExZ és ZxE) funkcionális topológiájukat tekintve a szülői, E-vonalhoz hasonlítanak.

Az EZxZ visszakeresztetett hímek esetében a Z komponens-specifikus PN-ok a mediális MGK glomerulusban ágaztak el, ugyanakkor a E-specifikus PN-ok a laterális MGK glomerulusban végződtek, hasonlóan a szülői Z-vonalhoz (9A ábra). A ZExE, ZExZ és EZxE visszakeresztetett 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 (9B,C,D ábra).

A funkcionális topológia ivari kromoszómához kötött öröklésmenettel magyarázható, amely E-vonal dominanciát mutat. Ezt arra alapozzuk, hogy autoszómális öröklés esetén csak egyféle hibrid nőtény jön létre ($A^Z A^E$ 8. ábra), ebből következően a szülői vonallal visszakeresztetett utódoknak 50%-ban hibrid és 50%-ban szülői mintát kell követniük. Erre egy példa, ha a $A^Z A^E$ hibrid nőtényt Z-vonalhoz tartozó hímmel visszakeresztetünk akkor autoszómális öröklésmenet esetén 50%-ban hibridet (E fenotípus) és 50%-ban Z fenotípust kell kapnunk (8. ábra). Autoszómális öröklődés esetén annak a valószínűsége, hogy kétszer Z fenotípust találjunk az EZxZ visszakeresztelésnél (2 sikeres jelölés), és háromszor E fenotípust a ZExZ visszakeresztelés esetében (3 sikeres jelölés) $0,5^5 = 0,03$, azaz igen kicsi.



8. ábra: A kukoricamoly hibridjeinek és visszakeresztezéseinek feltételezett ivari és autoszomális öröklésmenete. A nagy betűvel írt Z és W ivari, az A autoszomális kromoszómákra utal. A felső indexbe írt Z és E a feromon vonalakra jellemző allélokat jelenti. patBC: apai visszakeresztezés (a hibrid nőtények E-vonallal történő visszakeresztezése: ZExE, EZxE) vagy Z-vonallal történő visszakeresztezése: ZExZ, EZxZ). Fontos megjegyezni, hogy a lepkék esetében a nőtények a heterogametikus nemet képviselik. Ez azt jelenti, hogy az apai keresztezések, azaz a hibrid nőtények keresztezése egy tiszta vonalbeli hímmel nemi kromoszómához kötött tényező esetében csak egyféle fenotípushoz tartozó leszármazottat eredményez (Z-, E-vonal vagy hibrid).



9. ábra: A kukoricamoly apai visszakeresztezéseinek MGK-ében a projekciós neuron dendritjeinek elágazása. Részletek a 7. ábra magyarázatában. A: E11-14A-specifikus PN az EZxZ visszakeresztezés hímjeinél, elágazások a laterális MGK alegységben. B: E11-14Ac PN az ZExE visszakeresztezés hímjeinél, elágazások a mediális MGK alegységben. C: Z11-14Ac-specifikus PN az ZExZ visszakeresztezés hímjeinél, elágazások a laterális MGK alegységben. D: E11-14Ac-specifikus PN az ZExZ visszakeresztezés hímjeinél, elágazások a mediális MGK alegységben.

5.1.2. Projekciós és helyi interneuronok fiziológiai jellemzése

Mivel a hibrid és visszakeresztezett hímek funkcionális topológiája nem vágott egybe a hímek feromonra adott viselkedési válaszával, ezért azt vizsgáltam, hogy az ExZ és ZxE hibrid hímek PN-ok és LN-ok válaszai különböznek-e a szülői törzsekhez képest. Az intracelluláris méréseket 26 Z-vonalú, 16 E-vonalú, 26 ZxE és 40 ExZ hibrid hímeken végeztem. Minden neuron szelektivitását úgy határoztam meg, hogy vagy a tiszta Z11-14Ac vagy E-11-14Ac feromonkomponenssel, vagy azok keverékeivel (97:3, 65:35, 50:50, 35:65, 1:99 Z:E) ingereltem. Mind a hibridekben, mind a szülői vonalakban lévő neuronokat Anton et al. (1997) publikációja alapján 5 típusba soroltam: 1.) komponens-specifikus PN-ok, amelyek vagy csak a Z11-14Ac-ra vagy csak az E11-14Ac-ra válaszolnak, 2.) feromon-keverék generalista PN-ek, amelyek minden keverékre válaszolnak, 3.) feromon-keverék-specifikus PN-ok, amelyek magasabb frekvenciával válaszolnak az egyik keverékre, 4.) generalista PN-ok, amelyek minden stimulusra válaszolnak, és 5.) LN-ok, amelyek gátlást mutatnak (a spontán aktivitáshoz képest csökken a frekvencia) minden komponensre és keverékre. A különböző neuronok érzékenysége ugyanarra a stimulusra változó volt. Néhány esetben nagyon érzékeny és specifikus PN-okat találtam, amelyek már 10 pg-os dózisa is válaszoltak. A klaszterelemzésen alapuló dendrogram mutatja, hogy az inhibitor LN-ok, az 50:50 keverék PN-ok, a Z11-14Ac-specifikus PN-ok és a keverék PN-ok külön klaszterekbe tartoznak, de ugyanabban a klaszterben a szülői vonalakból és hibridekből származó neuronok keverten fordulnak elő (10. ábra). Más szóval nem találtam bizonyítékot a hibridekben specifikus vagy gyakoribb PN-ok előfordulására a szülői vonalakhoz képest.

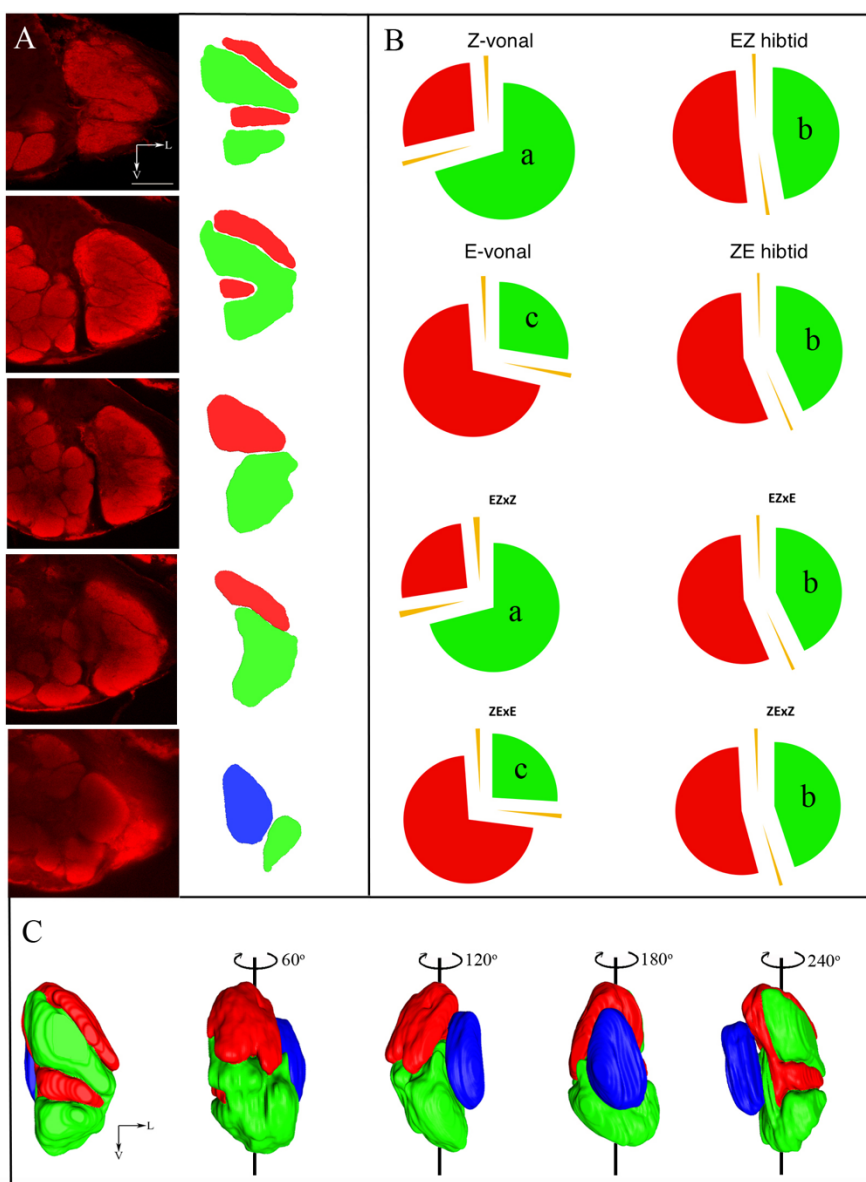


10. ábra: „Teljes láncmódszer” (complete linkage) és euklideszi távolság klaszteranalízis a fiziológiailag azonosított szaglőlebeny neuronok esetében. Stimulálás dózisa: 10 ng. Piros szövegdoboz: kukoricamoly Z-vonal, zöld szövegdoboz: kukoricamoly E-vonal, narancssárga szövegdoboz: ExZ hibrid, sárga szövegdoboz: ZxE hibrid. E: E11-14:Ac komponens-specifikus projekciós neuron; Z: Z11-14:Ac komponens-specifikus projekciós neuron, 97:3: 1:99, 65:35, 35:65, 50:50 keverékre reagáló keverék-specifikus projekciós neuron, blend gen.: keverék generalista projekciós neuron, gen.: generalista projekciós neuron, inhib.: inhibitor interneuronok.

5.1.3. A makroglomeruláris komplex neuroanatómiája a hibrdek és visszakeresztezéseik esetében

Mivel a korábban publikált, ecetmuslicákkal (*Drosophila*) végzett neuroanatómiai összehasonlítás rámutatott a glomerulusok méretének jelentőségére a különböző illatanyagok felfogásában (Dekker et al. 2006) ezért megvizsgáltam, hogy a kukoricamoly MGK-ében is létezik-e ilyen korreláció. A szaglőlebenyben lévő, feromon specifikus glomerulusok térfogatméréséhez először a konfokális mikroszkópos felvételek alapján 3 dimenzióban rekonstruáltam a Z-, E-vonal, ZxE, ExZ hibrdek és apai visszakeresztezések (ZExE, ZExZ, EZxE, EZxZ) MGK-ét. Mind a Z-, mind az E-vonalhoz tartozó hímek esetében a mediális és laterális MGK egység egymáshoz viszonyított aránya hasonló volt ($\pm 70:30$). Azonban mindkét hibrid hím esetében a két MGK glomerulus aránya köztes volt a szülői vonalakhoz képest (ZxE hibrid: 56:44 mediális/laterális, ExZ hibrid: 52:48 mediális/laterális; 11. ábra).

A visszakeresztezett hibrid hímek neuroanatómiai térfogataránya a nemhez kötött öröklésmenetet igazolták. Az EZxZ és ZExE visszakeresztezett hibrid hímek MGK egységeinek térfogataránya, akik Z- illetve az E-feromon keveréket részesítették előnyben (Roelofs et al. 1987b), hasonló volt a Z- és E-vonalhoz tartozó szülőkhöz ($\pm 73:27$ mediális/laterális), míg a másik két visszakeresztezésben (ZExZ, EZxE), melyek a viselkedési vizsgálatokban a köztes, hibrid arányt részesítik előnyben, köztes volt a glomerulusok térfogataránya ($\pm 54:46$ mediális/laterális), hasonlóan az F1 hibrdekhez (11. ábra).



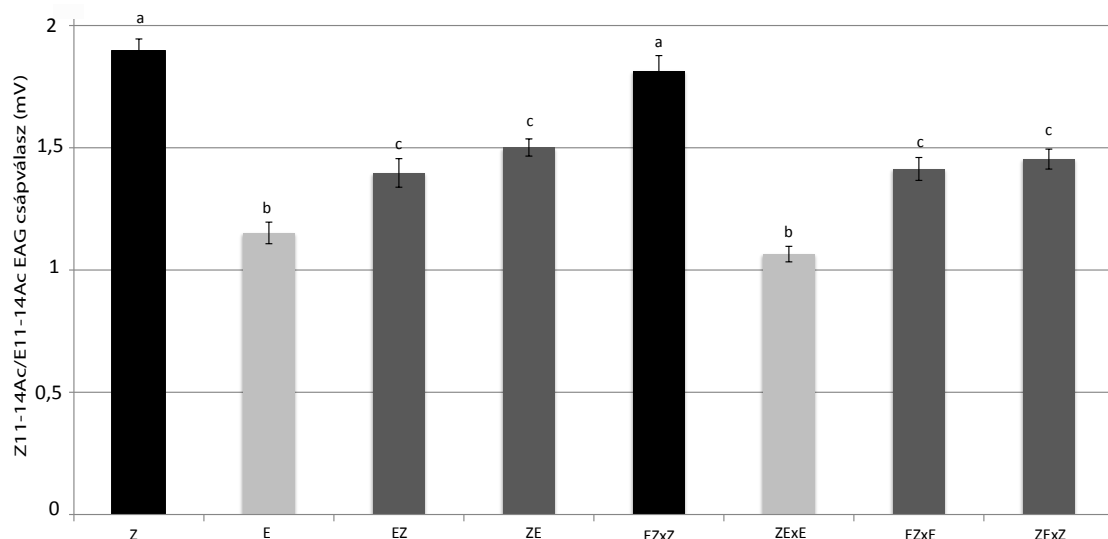
11. ábra: A kukoricamoly Z-, E-vonal, F1 hibrid és apai visszakeresztezett hímjeinek makroglomeruláris komplex (MGK) egységeinek szerkezete és mérete. A: bal oldali panelek: Különböző konfokális mikroszkópiás szeletek egy hibrid hím (ExZ) szaglőlebenyről anteriortól poszterior irányban. Jobb oldali panelek, a konfokális szakasz körvonalai. Piros, laterális, zöld: mediális, kék: hátsó MGK egységek. B: Szülői vonalak, hibridek és apai visszakeresztetések MGK-ének térfogati mérése ($n = 6$). Piros: a laterális egység mérete, zöld: a mediális egység mérete, sárga: standard hiba. Kisbetűk: szignifikáns különbségek (ANOVA és Tukey-féle HSD post hoc teszt, $P < 0,05$). C: Az A panelben szereplő MGK háromdimenziós rekonstrukciója elforgatva a dorso-ventrális tengely mentén. Skála a konfokális képeken: $50 \mu\text{m}$.

5.1.4. Elektroantennográfiás mérések

A glomerulus mérete részben a csápokon elhelyezkedő specifikus szaglő receptor neuronok (ORN) számától függ, melyek axonjai a szaglőlebeny glomerulusaiban ágaznak el.

Az ORN-ok száma összefügg a csáp összesített válaszáinak erősségével (Schneider 1957; Dekker et al. 2006). Ennek alapján megmértem a Z11- és E11-14:Ac-ra adott hímek csápválaszát a szülői vonalak, a hibridek és a visszakeresztezett hibridek esetében, az eredményt a két komponens arányában mutatom be. Míg a Z-vonal híme erősebben reagált a Z11-14:Ac-ra, mint az E11-14:Ac-ra ($n = 15$), addig az E-vonal válasza mindkét izomerre hasonló volt ($n = 15$, 12. ábra).

A ZxE ($n = 33$) és az ExZ hibrid hímek ($n = 18$) relatív csápválasza köztes volt a Z- és E-vonalakhoz képest. Az EZxZ visszakeresztezett hímek erősebben reagáltak a Z11-14:Ac-ra, hasonlóan a Z-vonalhoz ($n = 60$), míg a ZExE visszakeresztezett hímek az E-vonal válaszára hasonlítottak ($n = 19$). A másik két visszakeresztezett hím (EZxE, $n = 48$; ZExZ, $n = 86$) EAG amplitúdó aránya az F₁ hibridekkel volt azonos. A válaszok tehát követték a két MGK-ben lévő glomerulus térfogatarányát, összhangban vannak a nemhez kötött örökléssel és a viselkedési válaszokkal (12. ábra).



12. ábra: Szülői vonalak (Z- és E-vonal), hibridek és visszakeresztezett hímek elektroantennográfiás válasza. Y-tengely: Z11-14:OAc/E11-14:OAc komponensekre adott relatív csápválasz. Az egyes csoportok közötti statisztikai különbségeket kisbetűk jelzik (ANOVA, majd Tukey HSD post hoc teszt; $P < 0,05$).

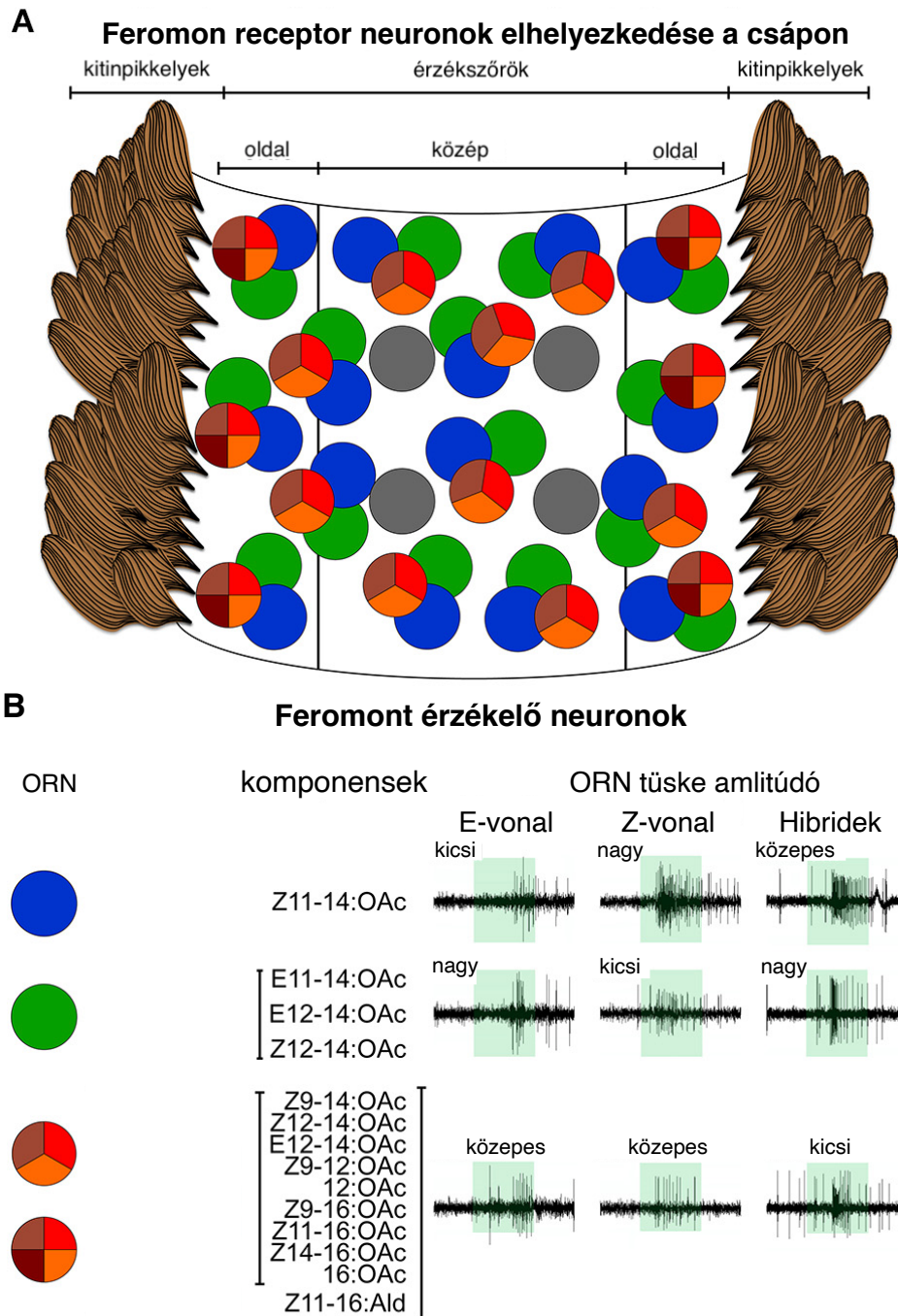
5.2. A kukoricamoly receptor neuronjainak feromonkomponensekre adott válasza

A témához kapcsolódó publikáció: Koutroumpa et al. 2014

Több mint 400 egyedi érzékszőr mérést (SSR) végeztem 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 az E11-14Ac-ra és a harmadik pedig az antagonista feromonkomponensre válaszolt (14B).

ábra). Azonban a három, egy érzékszőrben előforduló neuron amplitúdója eltér a szülői vonalak és hibridjeik esetében (14B. ábra). 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 az antagonistá feromonkomponensekre.

A három ORN válaszspektrumát 12 különböző feromonkomponenssel ellenőriztük (Z11-14Ac, E11-14Ac, Z9-14Ac, Z12-14Ac, E12-14Ac, Z9-12Ac, 12Ac, Z9-16Ac, Z11-16Ac, Z14-16Ac, 16Ac és Z11-16Ald). A Z11-14Ac-t érzékelő neuron rendkívül specifikus volt a Z11-14Ac-ra (Wanner et al. 2010). Az E11-14 Ac-ot érzékelő neuron, bár nagyon érzékenyen reagált az E11-14Ac-ra (Wanner et al. 2010; Leary et al. 2012) alacsony dózisban is (Kárpáti et al. 2013), magasabb dózisban bizonyos mértékig válaszolt az E12-14Ac és a Z12-14Ac-ra is (Mitsuno et al. 2008; Leary et al. 2012). Ezzel szemben az antagonistá feromonkomponensekre érzékeny neuron nem volt annyira specifikus, mint a másik kettő, ami egy váratlan eredmény egy feromon-specifikus ORN esetében (13. ábra). A tizenhárom vegyület közül tíz váltott ki választ ebből az ORN-ból: Z9-14Ac, Z12-14Ac, E12-14Ac, Z9-12Ac, 12Ac, Z9-16Ac, Z11-16Ac, Z14-16Ac, 16Ac és Z11-16Ald (13B. ábra). A vizsgált antagonistá neuronok nem minden esetben adtak minden komponensre választ. Azonos egyedben is találtam eltérést az antagonistá neuronok válasza között. Különösen a Z11-16Ald adott válaszok kizárólag a csápon laterálisan elhelyezkedő érzékszőrökben jelentkeztek.

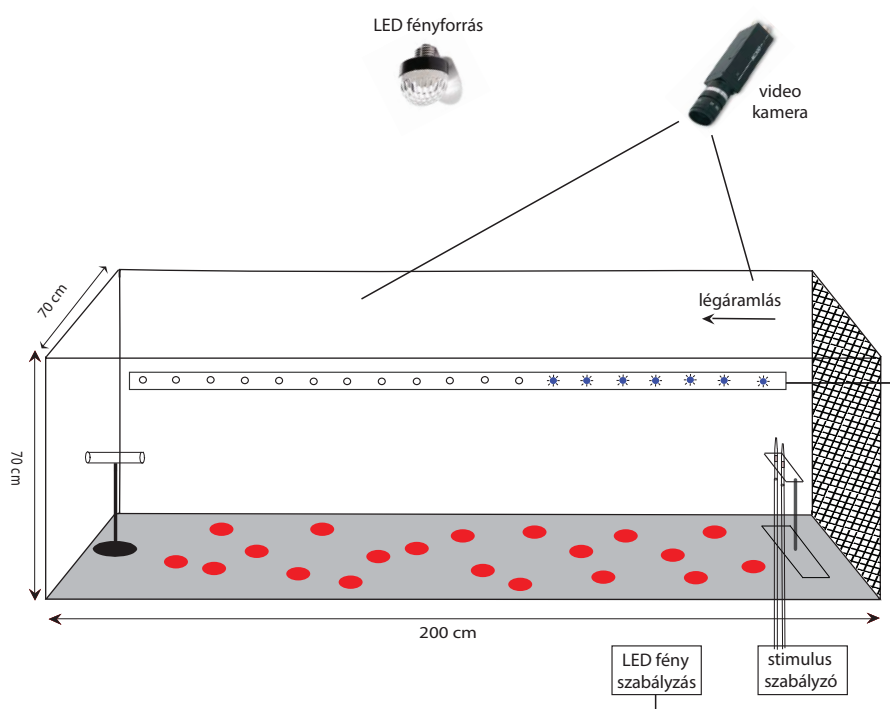


13. ábra: Az egyedi érzékszőrök fiziológiai mérésének (SSR) eredményei. A: A különböző érzékszőrök egy csápízen való elhelyezkedése a kukoricamoly hím csápján. Az ORN-ok közül három (zöld, kék, és piros) ko-lokalizálva ugyanabban az érzékszőrben helyezkednek el. B: Feromont érzékelő neuronok típusai és azok fiziológiai válasza a Z-, E-vonal és hibridjeik esetében.

5.3. A kukoricamoly esetében repülés közben csökken a kezdeti feromonkeverék pontos arányának érzékelése

A témához kapcsolódó publikáció: (Kárpáti et al. 2013)

Lamináris légáramlású rovar szélcsatornában (14. ábra) nekünk is sikerült megerősíteni, hogy a Z-vonalhoz tartozó hímek nagyon specifikusak saját feromon összetételükre. Közel 100%-uk a saját keverékük (97:3 Z11-14Ac : E11-14Ac) forrásához repült (15A. ábra), csupán 10% repült a köztes keverékhez [hibrid (H) keverék, 50:50 Z11-14Ac : E11-14Ac], és az E keverékre (1:99 Z11-14Ac : E11-14Ac) nem mutattak semmiféle aktivitást.



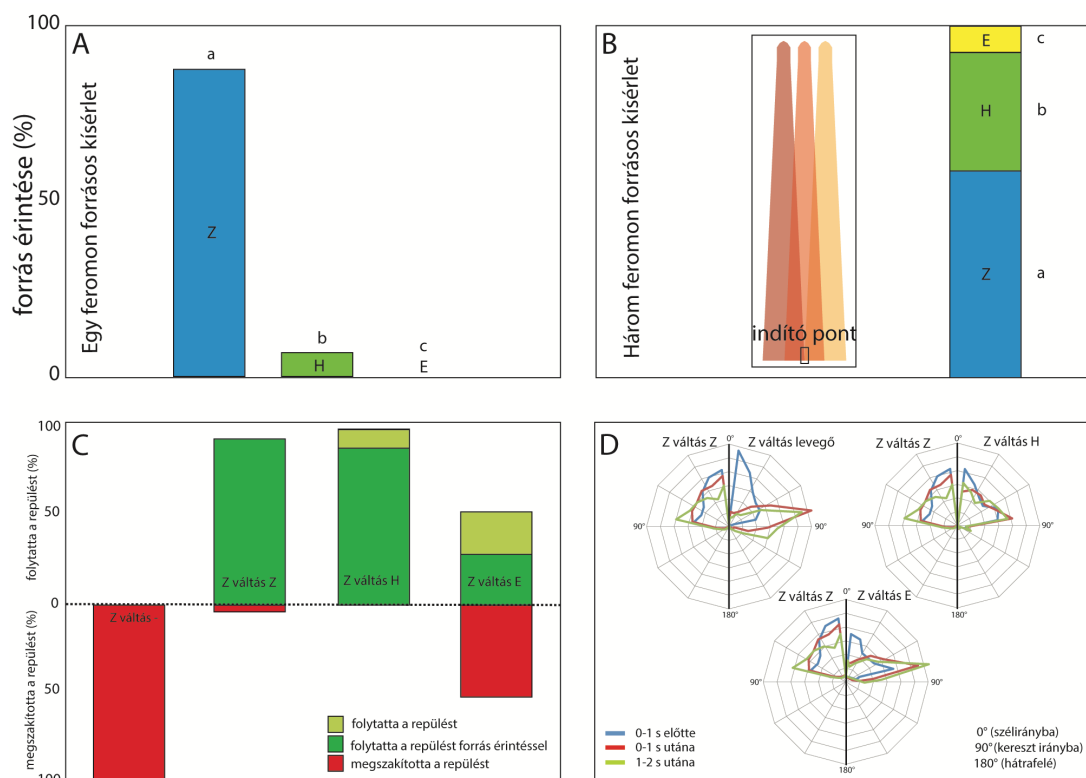
14. ábra: 70 × 70 × 200 cm-es lamináris légáramlású rovar szélcsatorna vázlatos bemutatása. A hímek a feromon forrástól 180 cm-es távolságból 30 cm magas indítóállványról indultak. A szélcsatorna felett 20°-os szögben elhelyezett kamera rögzítette a kukoricamoly repülését. Piros, kerek foltok a szélcsatorna alsó részén vizuális markerek. Szélcsatorna hátsó oldalán 850 nm hullámhosszúságú (infravörös) LED sor szimulálja az illatforrások közti átmenetet.

A második kísérletben 3 feromonforrást (Z-, E-, hibrid keverék 15B. ábra) helyeztünk el a szélcsatornában annak érdekében, hogy a hímek mindhárom feromon keveréket egyszerre érzékeljék indulásukkor. A Z-vonalhoz tartozó hímek feromon specificitása csökkent. A Z-keverékre 58%, a hibrid keverékre 38% és az E-keverékre 4% szállt le (15B. Ábra). A kibocsátók helyzetének (bal-közép-jobb: Z-H-E, E-Z-H vagy H-E-Z) nem volt szignifikáns hatása.

A harmadik szélcsatornás kísérletben a hím repülése közben átváltottuk a feromon forrást, miután a hím ráhangolódott a feromon keverékre (15C. ábra). Abban az esetben, amikor a Z keveréket, a hím repülése közben, tiszta levegőre váltottuk azt kaptuk, hogy az

összes Z-vonalhoz tartozó hím abbahagyta a feromon forrás felé való repülést (15C. ábra). Ezzel igazoltuk, hogy a váltás után nem maradt semmiféle feromon sem a szélcsatornában sem a forrást létrehozó készülékben (15C. ábra). Ezzel szemben a hím lepkék megszakítás nélkül folytatták a feromon forrás felé való repülésüket abban az esetben amikor a Z-keveréket egy másik ugyanolyan Z-keverékre váltottuk (15C. ábra). Meglepő módon a hímek repülése szintén zavartalan volt akkor, amikor a Z-keverékről H-keverékre váltottuk a forrást (15C. ábra). Ebben az esetben a repülés szöge és a forrás megtalálásának aránya nem különbözött attól amikor Z-keveréket Z-keverékre váltottuk (15D. ábra). 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 az E-keverék forrására le is szállt. A hímek maradék 48%-a megszakította a forrás felé való repülést (15D. ábra). Ez az repülés szögében is tükröződött (15D. ábra).

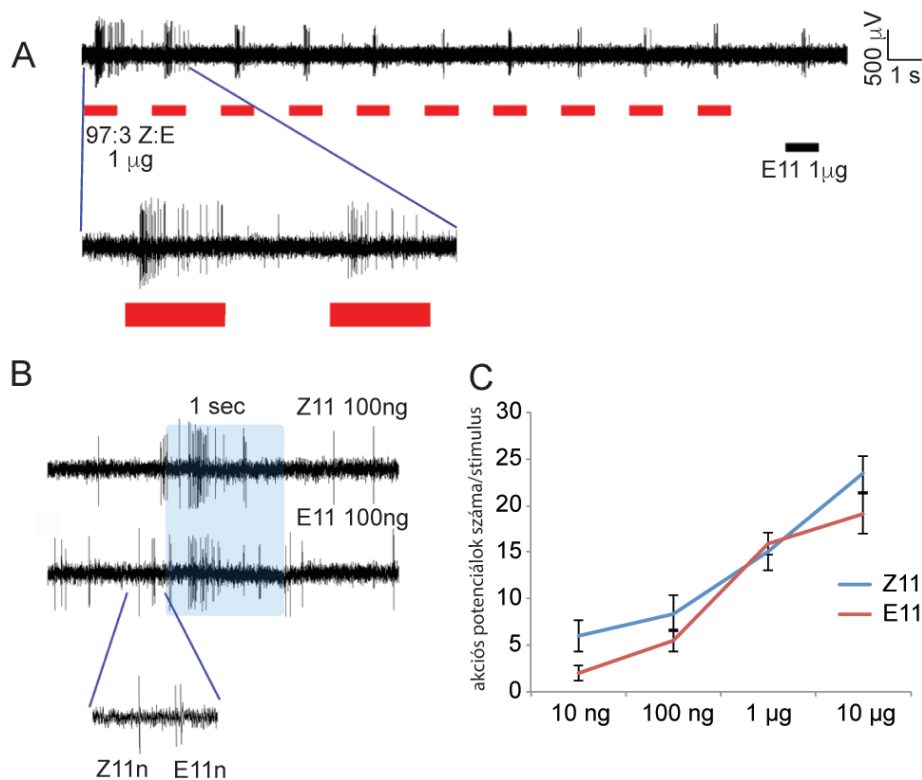
A repülés mintázatával kapcsolatban azt tapasztaltunk, hogy a lepkék az üres forrásra való váltáskor inkább keresztirányban repültek (casting) nem a forrás felé (15D. ábra). Azonban az átlagos repülési szögek nem változtak amikor Z-, vagy H-keverékre váltottuk a forrást (15D. ábra). Amikor a Z keveréket E keverékre váltottuk ugyan a repülés szöge megnőtt (61°-ról 74°-ra), de ez idővel állandó maradt, ami nagymértékben hozzájárult a forrás megtalálásához.



15. ábra: Rovar szélcsatornás viselkedési kísérlet. A: A kukoricamoly hímek szélcsatornás viselkedési válasza egy-egy feromon forrás esetén ($n=30$ minden kezelésre). Különböző betűk az oszlopok felett a szignifikáns különbséget mutatják. B bal: Részlegesen átfedő illatcsóvák sematikus ábrázolása (három illatforrás 10 cm távolságra egymástól). B jobb: A forrás érintés megoszlása három forrás esetén. A kisbetűk szignifikáns eltéréseket jeleznek. C: A megszakított és a folyamatos repülések

százalékos aránya illatforrás váltás után (Z=Z keverék (97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac), H= hibrid keverék (50:50 Z11-14Ac:E11-14Ac), E=E keverék (1:99 Z11-14Ac:E11-14Ac), – =tisztá levegő). Ismétlések: 33 (Z/-), 67 (Z/Z), 33 (Z/H), 116 (Z/E). D: A repülési szögek százalékos megoszlása a váltás előtt és után. Az egyszerű összehasonlítás érdekében a diagrammok bal oldala a Z keverék Z keverékre váltását mutatja. A Z-ről E-re váltás és a Z-ről tiszta levegőre váltás nem különbözött a csere utáni első másodpercben (átlag, 74°, illetve 78°; $P=0,33$).

Az adaptációs periférikus neurofiziológiai mérések során, amikor 3 különböző dózisban, 10, egymás után ismétlődő stimulust alkalmaztam 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. Ellenben a másik, E11-14Ac-specifikus neuron, ami szintén ebben az érzékszőrben helyezkedik el, nem adaptálódott. Ezt abból látjuk, hogy a stimulussorozat előtti és utáni, E11-14Ac feromonkomponenssel való ingerlés között nem volt különbség (16A. ábra). A legmagasabb dózis esetében 10, egymást követő stimulálás után a Z11-14Ac-specifikus neuron már nem is válaszolt.

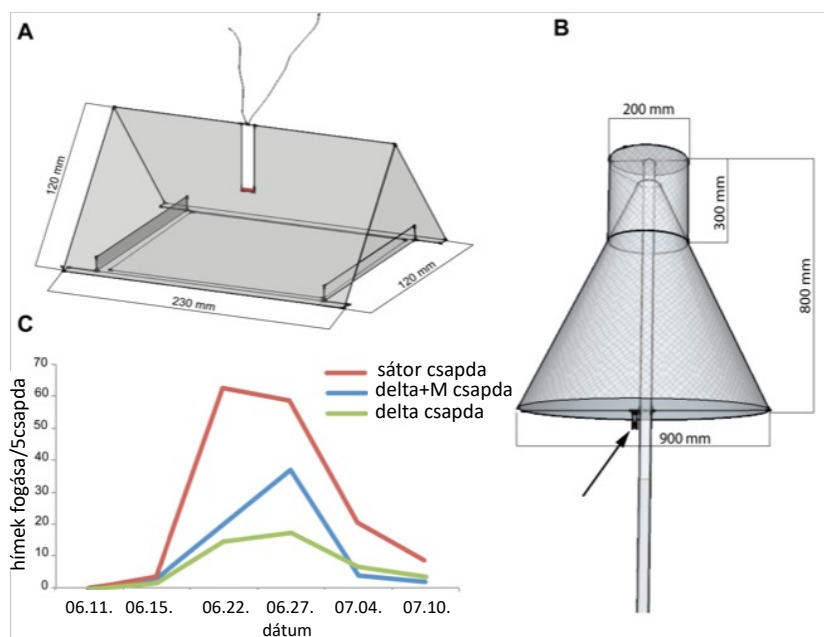


16. ábra: A feromont érzékelő neuronok adaptációja egyedi érzékszőrök periférikus fiziológiai mérésével (SSR). A: 1 µg dózisú 97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac keverék tíz egymást követő stimulusára adott válasz. B: Z11-14Ac és E11-14Ac 100 ng dózisú stimulusára adott ORN válasza. Z11n: Z11-14Ac-ra válaszoló ORN neuron akciós potenciálja, E11n: E11-14Ac-ra válaszoló ORN akciós potenciálja. C: Z11-14Ac-ra (Z11) és E11-Ac-ra (E11) válaszoló ORN-ok dóziszgörbéje.

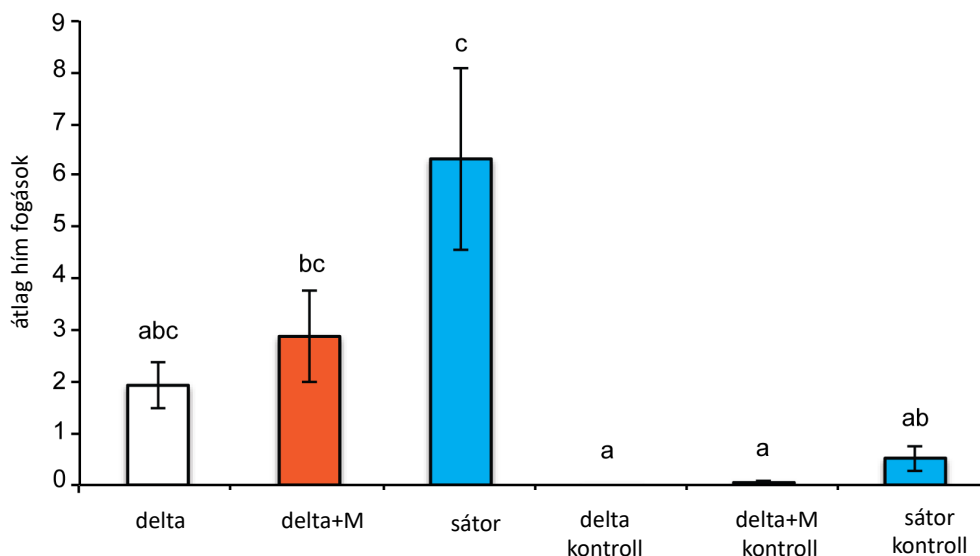
5.4. A kukoricamoly feromonon alapuló monitorozása Magyarországon

A témához kapcsolódó publikációm: Kárpáti et al. (2016)

Összesítve mindhárom, 2013-ban végzett kísérletben 655 hím kukoricamolyt fogtunk. Az első kísérletben három különböző csapdatípus fogáskapacitását hasonlítottuk össze. A monitorozott időszakban a három csapdatípus összesen 354 hímet fogott. Mindhárom csapdatípus szignifikánsan több hímet csalogatott a csalétek nélküli kontrollcsapdához képest. A sátor típusú csapdák csalogatták a legtöbb hímet (összesen 158 hím), de szignifikánsan nem fogtak többet, mint a többi csapdatípus (18. ábra). Minden csapdatípus egyidőben kezdte fogni a hímeket, de a sátorcsapda a nagyobb mérete és ebből következően nagyobb fogókapacitása miatt ugyanabban a leolvasási időpontban többet fogott, mint a többi csapdatípus (17C. ábra).

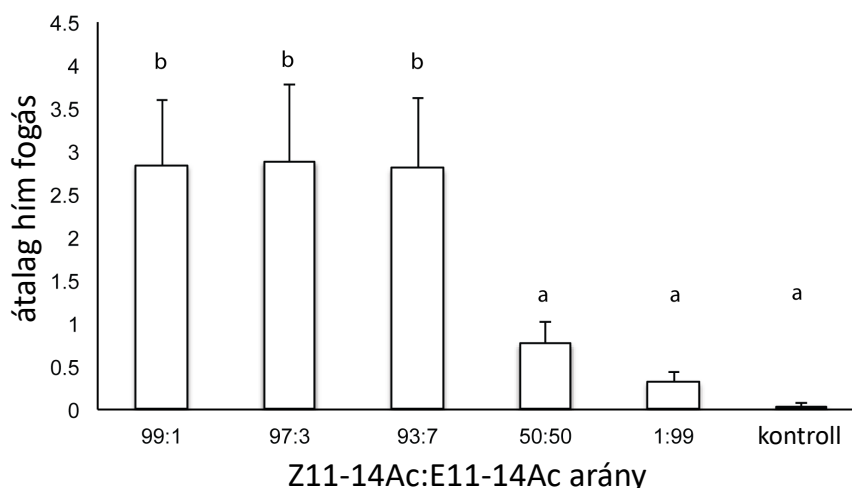


17. ábra: Kukoricamoly hímek feromon csapdázása. A delta (A) és sátor alakú (B) csapdák sematikus illusztrációja. A nyíl jelzi a feromon csalétek helyzetét. C: A különböző csapdatípusokkal csapdázott kukoricamoly hím fogások összehasonlítása egy hónapos időszak alatt, 2013-ban.



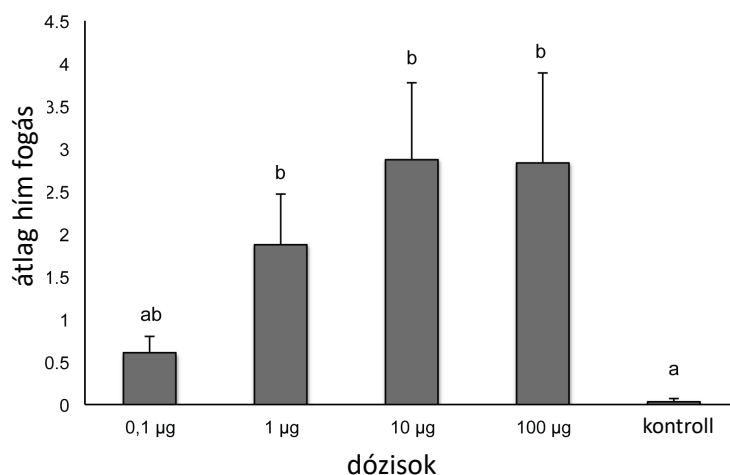
18. ábra: Átlag hím kukoricamoly fogások különböző csapdatípusokkal (n=5). A csapdák 2013-ban Törökszentmiklóson voltak kihelyezve. A feromon kibocsátókban 10 µg-nyi 97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac feromon keverék volt. Delta: delta alakú csapda eredeti ragacsos lappal, delta+M: delta alakú csapda egérragacs lappal, sátor: sátor alakú csapda. A különböző betűk szignifikáns különbséget jeleznek ($p = 0,05$).

A második kísérletben a két feromonkomponens különböző arányú keverékét hasonlítottuk össze. A 99:1, 97:3 és a 93:7 Z11-14Ac:E11-14Ac arányú keverékek szignifikánsan több hímot fogtak összevetve az 50:50 és az 1:99 arányú keverékekkel. A 99:1, 97:3 és a 93:7 keverékek fogásai között nem volt szignifikáns különbség. Az 50:50 és az 1:99 arányú keverék fogásai nem tértek el szignifikánsan a kontroll csapdák fogásaitól (19. ábra).



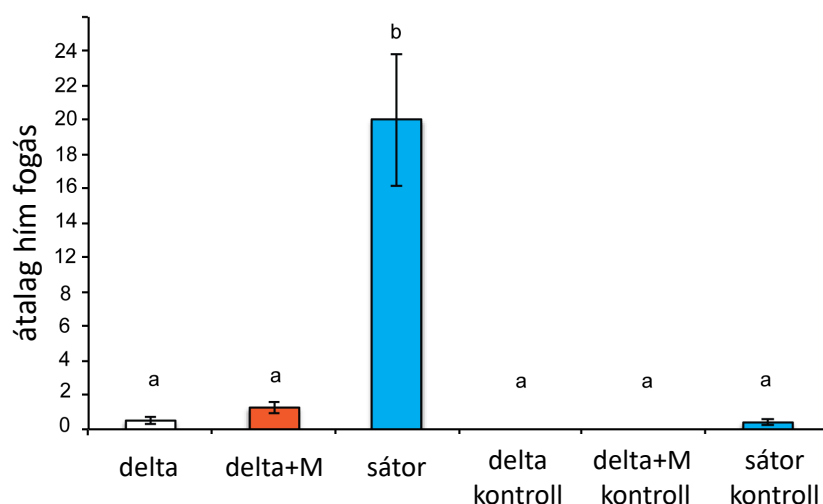
19. ábra: A kukoricamoly hímek átlag fogása a két feromonkomponens különböző arányaival csalétkezett csapdákban 2013-ban Törökszentmiklóson (n=5). A csapdázáshoz delta+M csapdákat és 10 µg dózist használtunk. A különböző betűk szignifikáns különbségeket jeleznek ($p=0,05$).

A harmadik kísérletben az optimális feromon keverék (97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac) különböző dózisait hasonlítottuk össze. Amikor 1, 10 vagy 100 µg-os dózis volt a csapdába helyezett kapszulára rámérve a csapdák szignifikánsan több hímeket csalogattak összehasonlítva a kontroll csapdák fogásaival. A 0,1 µg-os dózis csalogatta a legkevesebb hímeket de ez a fogási érték szignifikánsan nem különbözött az 1, 10 és a 100 µg-os dózis fogásaitól és a kontrollétól sem (20. ábra).



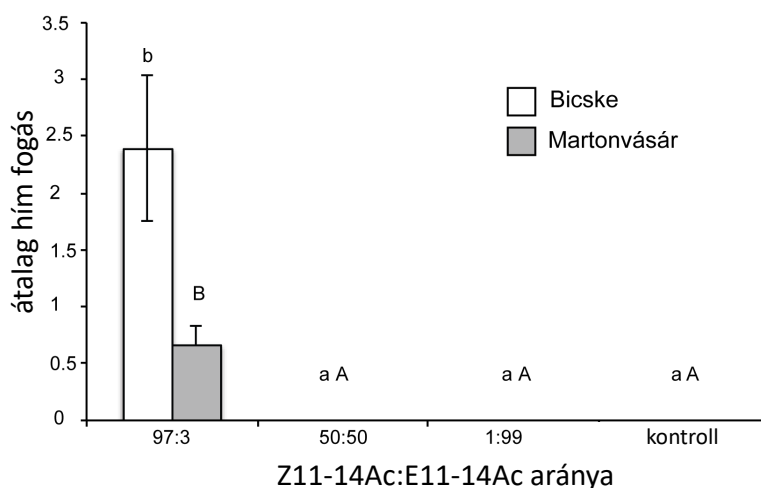
20. ábra: A kukoricamoly hímek átlag fogása különböző feromon dózisokkal csalétkezett csapdákban 2013-ban Törökszentmiklóson (n=5). A csapdázáshoz delta+M csapdákat és a két feromonkomponens 97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac arányát használtunk. A különböző betűk szignifikáns különbségeket jeleznek ($p=0,05$).

A 2014-es kísérletben, ahol három különböző csapdatípust hasonlítottunk össze, 201 kukoricamoly hímeket fogtunk. Nem találtunk szignifikáns különbséget a delta, delta+M és a hozzájuk tartozó kontroll csapdatípusok fogásai között. Ugyanakkor a sátorcsapdák szignifikánsan sokkal több hímeket csalogattak, mint a delta és a delta+M csapdatípusok. A sátorcsapdák a hozzájuk tartozó kontrollcsapdáknál is szignifikánsan több hímeket fogtak (21. ábra).



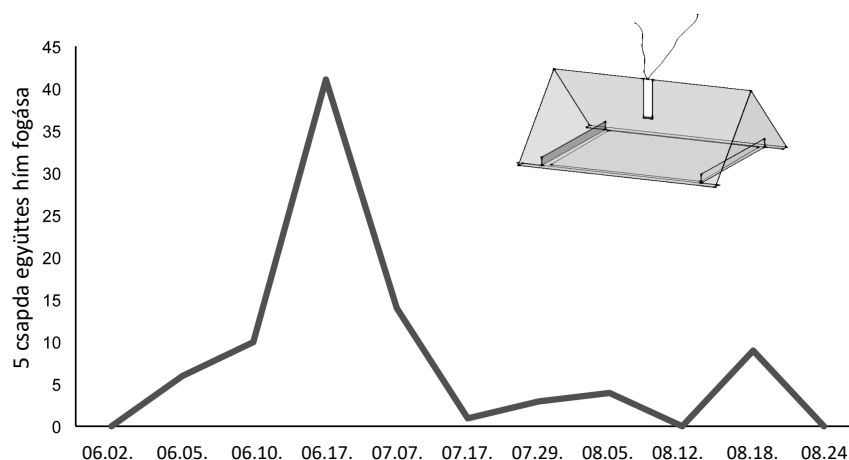
21. ábra: Átlag hím kukoricamoly fogások különböző csapdatípusokkal (n=5). A csapdák 2014-ban Törökszentmiklóson voltak kihelyezve. A feromon kibocsátókban 10 µg-nyi 97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac feromon keverék volt. Delta: delta alakú csapda eredeti ragacsos lappal, delta+M: delta alakú csapda egérragacs lappal, sátor: sátor alakú csapda. A különböző betűk szignifikáns különbséget jeleznek ($p = 0,05$).

2015-ben, két különböző magyarországi területen a két feromonkomponens három különböző keverékét (97:3, 1:99 és 51:50 Z11-14Ac:E11-14Ac) próbáltunk ki annak érdekében, hogy megtudjuk az adott helyszínen a faj melyik feromon vonala van jelen. Az eredmények azt mutatják, hogy csak a 97:3 arányú keverék csalogatott hím lepkéket a delta+M csapdatípusba (22. ábra).



22. ábra: A kukoricamoly hímek átlag fogása a két feromonkomponens különböző arányaival csalétkezett csapdákbán (n=5). A csapdák 2015-ben Bicskén és Martonvásáron voltak kihelyezve. A csapdázáshoz delta+M csapdákat és 10 µg dózist használtunk. A különböző kis és nagybetűk szignifikáns különbségeket jeleznek ($p=0,05$).

Bicskén a rendszeres csapdaellenőrzésből adódóan 2015-ben nyomon tudtuk követni a kukoricamoly rajzásdinamikáját (23. ábra). A rajzás június elején (június 2) kezdődött és augusztus végéig tartott. A csapdák a legtöbb hímét június közepén (június 17) fogták.



23. ábra: A kukoricamoly rajzásdinamikája. A csapdázás 2015-ben Bicskén történt delta+M csapdatípussal. A csapdákból lévő csalétek 10 µg 97:3 Z11-14Ac:E11-14Ac arányú feromonkeveréket tartalmazott.

5.5. Az elektrofiziológiailag aktív, kukoricából származó illatanyagok vonzzák a megtermékenyített kukoricamoly nőtényeit

A témához kapcsolódó publikáció: Molnár et al. 2015

5.5.1. Elektrofiziológiai mérések és a növényi illatanyagok azonosítása

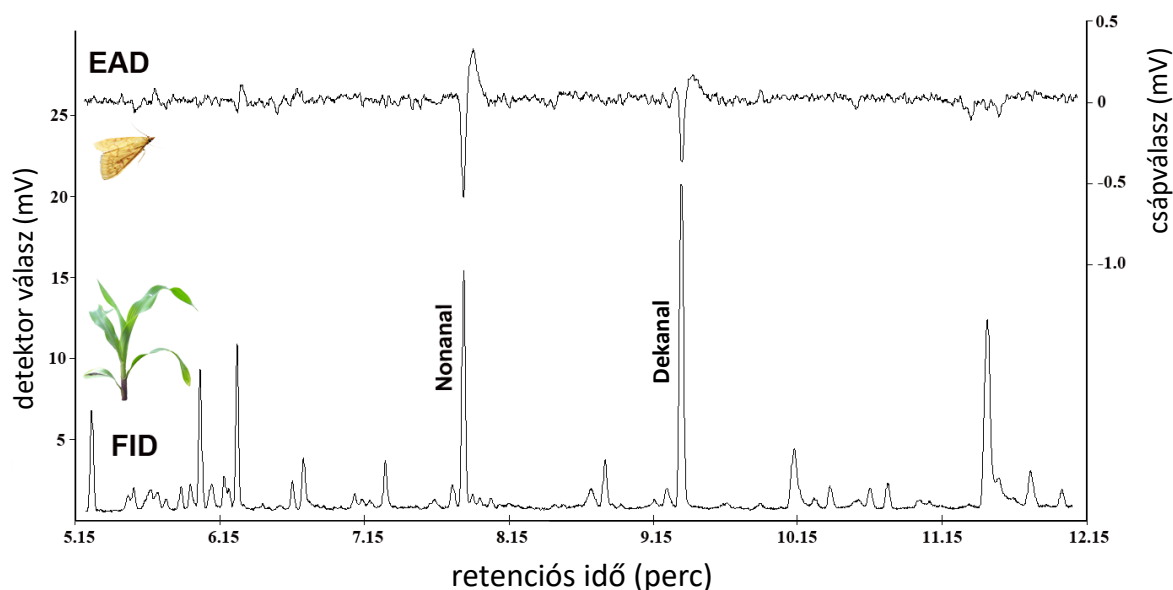
Miután szélcsatornában megerősítettük, hogy a Z-vonalhoz tartozó kukoricamoly nőtények a kukoricanövények felé orientálódnak, gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrométer (GC-MS) segítségével elemeztük a kukorica növények illatanyag profilját. Az illatanyagok elemzése során 29 szerves illékony vegyületet találtunk, amelyek 7 különböző kategóriába sorolhatók: aldehidek, ketonok, monoterpén alkoholok, monoterpének, szesziiterpének, szénhidrogének és aromás szénhidrogének (1. táblázat). Párosodott nőtények csápján végzett gázkromatográffal kapcsolt elektroantennográfiás (GC-EAD) mérések során azt találtuk, hogy csak két komponens (7,56 és 9,26 perc retenciós időnél) váltott ki megbízható csápválaszt. (24. ábra). GC-MS mérések során ezeket nonanalnak és dekanalnak azonosítottuk. A GC-EAD mérések során szintetikus nonanal és dekanal 100–100 ng-os együttes injektálása megerősítette, hogy ezek a komponensek kiemelkedő EAD válaszokat váltanak ki a nőtény csápján. A GC-MS mérések során kimutattuk, hogy a nonanal és a dekanal aránya a kukoricanövény légterében 1:2,4 volt (kiszámított kibocsátott mennyiség: nonanal $0,455 \pm 0,007$, dekanal $1,096 \pm 0,045$ ng/=óra, N=3). Emellett a kukoricanövény légterében jelen lévő, de fiziológiailag nem aktív vegyületeket is

azonosítottuk. Ezek közül a legnagyobb mennyiségben jelen lévő vegyületek a következők voltak: p-xilén, 6-metil-5-heptén-2-on, oktanal, pentadekán és geranilaceton (1. táblázat).

1. Táblázat: A kukorica (Pioneer P9578 fajta) zöld növényi részéből azonosított illékony vegyületek (n=3). Az értékek százalékban vannak kifejezve az összes illékony vegyülethez viszonyítva.

RI= Retenciós Index.

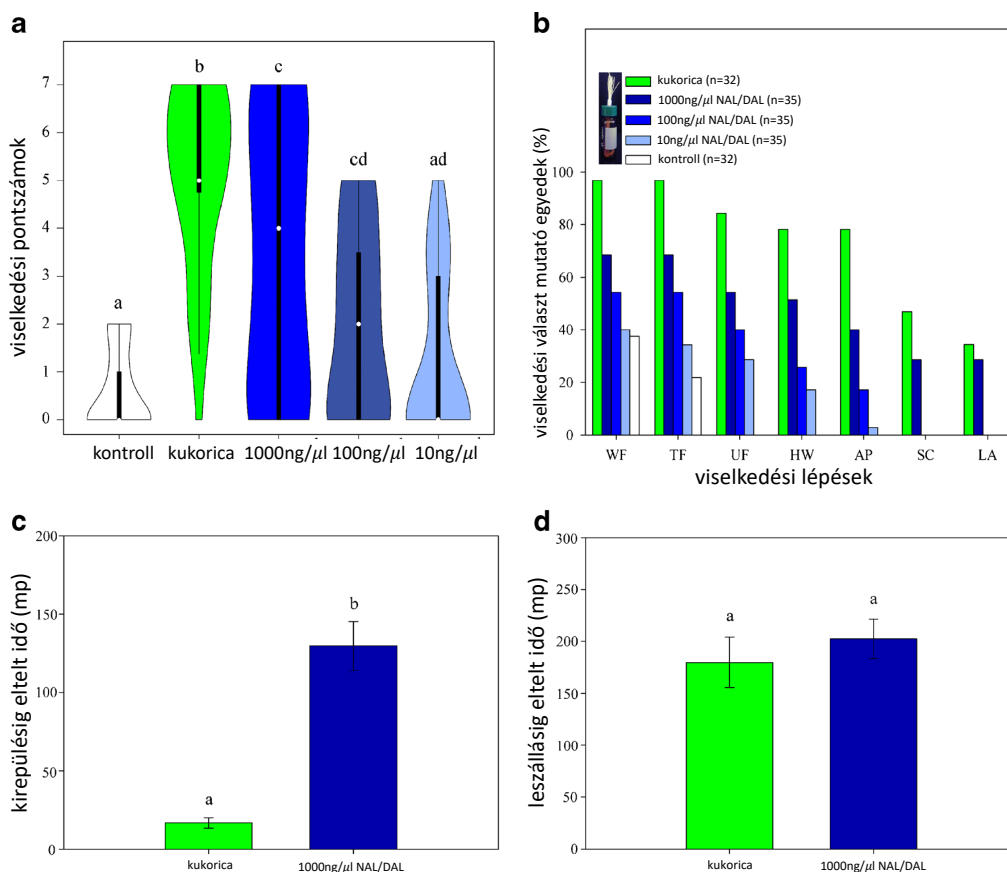
szám	RI	Illékony vegyületek	Átlag ± SE
1	857	Ethylbenzene	1.93 ± 0.52
2	888	o-xylene	2.32 ± 0.01
3	888	p-xylene	3.47 ± 0.60
4	866	m-xylene	1.20 ± 0.01
5	916	Nonane	1.68 ± 0.14
6	935	Alpha-pinene	2.83 ± 0.94
7	936	Isocumene	1.22 ± 0.03
8	958	1-ethyl-3-methyl-benzene	2.32 ± 0.93
9	985	Sulcatone	6.37 ± 0.13
10	1004	1,2,4-trimethyl benzene	2.90 ± 0.32
11	1008	Octanal	4.27 ± 0.51
12	1013	3-carene	0.71 ± 0.01
13	1030	Limonene	1.30 ± 0.17
14	1035	Indole	1.69 ± 0.06
15	1100	Undecane	1.28 ± 0.06
16	1106	Nonanal	12.30 ± 0.39
17	1190	Naphthalene	1.57 ± 0.25
18	1200	Dodecane	1.06 ± 0.08
19	1204	Decanal	30.08 ± 0.94
20	1260	(E)-2-decenal	0.57 ± 0.02
21	1305	Undecanal	2.52 ± 0.09
22	1340	2-undecanal	1.57 ± 0.04
23	1371	α-copaene	0.19 ± 0.06
24	1400	Tetradecane	1.12 ± 0.10
25	1406	Dodecanal	2.03 ± 0.21
26	1420	β-caryophyllene	0.22 ± 0.02
27	1453	Pentadecane	4.10 ± 0.94
28	1500	Geranylacetone	3.34 ± 0.05
29	1600	Hexadecane	1.48 ± 0.04
30	1700	Heptadecane	2.37 ± 0.02



24. ábra: A párosodott kukoricamoly nőtény tipikus csápválasza a kukoricából (Pioneer P9578) származó illékony vegyületekre. A vizsgálatokat gázkromatográffal kapcsolt elektroantennográffal (GC-EAD) végeztük. Felső kromatogram: csápválasz (EAD, a válaszok 3 ismétlés átlagát mutatják), Alsó kromatogram: lángionizációs detektor jel (FID).

5.5.2. Rovar szélcsatornás mérések

Megállapítottuk, hogy a kísérletek során a viselkedési pontszámok szignifikánsan eltértek az alkalmazott illatforrások között. A nőtények magasabb összpontszámot értek el, azaz általánosságban több viselkedési lépést tettek meg a kukorica jelenlétében, mint a szintetikus illatanyagkeverék bármely dózisánál (25A. ábra). Az összes páronkénti összehasonlítás szignifikáns különbséget mutatott, kivéve három esetet: a kontroll és a 10 ng/μl dózis, a 10 ng/μl és a 100 ng/μl dózis, valamint a 100 ng/μl és a 1000 ng/μl dózis (2. táblázat). Az illatforrás érintése és az illatforrásra való leszállás azonban csak a kukorica és a 1000 ng/μl dózisú keverék jelenlétében volt megfigyelhető (25B. ábra). Az elrepülés (TF) aránya (azaz azoknak a nőtényeknek az aránya, amelyek az indító ketrecből felszálltak) magasabb és az aktiválási látencia rövidebb volt a kukorica esetében összehasonlítva a 1000 ng/μl-es keverék dózisával (25C. ábra). A kukoricánövény és az 1000 ng/μl dózis összehasonlítása során nem találtunk szignifikáns különbséget a forráshoz érkezés időtartamában (25D. ábra). Tehát a nőtények viselkedési pontszámának különbsége a kukorica és a 1000 ng/μl dózis között a több elrepülésből (TF) ered, nem pedig a növény magasabb vonzerejéből.



25. ábra: Párosodott kukoricamoly nőstények viselkedési válasza rovar szélcsatornában. A: az egyedek viselkedési pontszámai a különböző kezelések esetében. **B:** azon egyedek százalékos aránya, amelyek viselkedési aktivitást mutattak; WF: szárnyrezegtetés, TF: elrepülés, UF: széllel szemben repülés, HW: félút, AP: 10 cm-es megközelítés, SC: forrás érintése, LA: leszállás; NAL/DAL – nonanal és dekanal 1:2,4 arányú keveréke. **C:** a kirepülésig eltelt idő összehasonlítása a kukorica és a NAL/DAL 1000 ng/μl kezelések között. **D:** a leszállásig eltelt idő összehasonlítása a kukorica és a NAL/DAL 1000 ng/μl kezelések között. A különböző kisbetűk szignifikáns különbségeket jeleznek (Games-Howell post-hoc teszt (a) és Wilcoxon rangösszeg teszt (c) és (d)). A hegedű ábra (a) egy doboz diagram és egy magsűrűség diagram kombinációja, amelyben a fehér körök a mediánokat jelölik, míg a fekete sávok az interkvartilis tartományt. Az egyes egyedek viselkedési pontszámát úgy számítottuk ki, hogy összeadtuk azokat a lépéseket, amelyeket az adott egyed a vizsgálat során mutatott.

2. Táblázat: A különböző, szélcsatornában végzett kísérletek Games-Howell post-hoc tesztrel való összehasonlítása. A NAL/DAL a nonanal és a dekanal 1:2,4 arányú szintetikus keverékét jelöli.

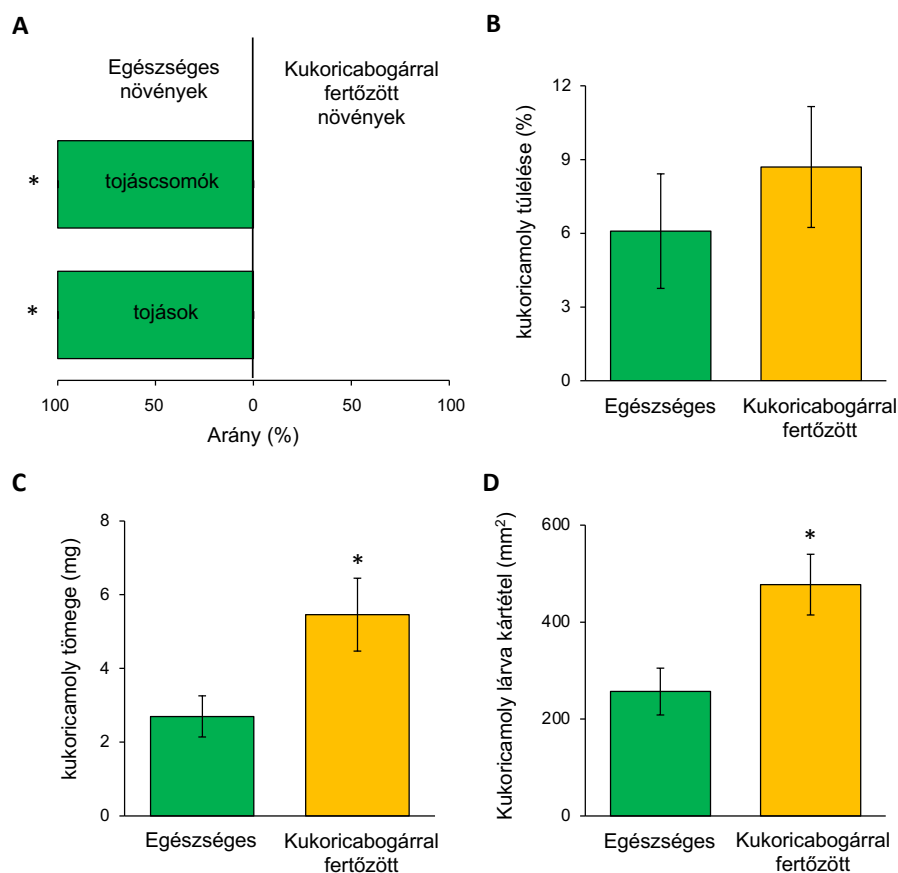
Páronkénti összehasonlítás	t	df	P
Kontroll - Kukorica	12.13	42.33	<0.0001
Kontroll - 1000 ng/μl NAL/DAL	5.55	40.27	<0.0001
Kontroll - 100 ng/μl NAL/DAL	3.82	47.02	0.003
Kontroll - 10 ng/μl NAL/DAL	1.96	50.54	0.298
Kukorica - 1000 ng/μl NAL/DAL	2.86	59.87	0.044
Kukorica - 100 ng/μl NAL/DAL	6.60	64.60	<0.0001

Kukorica - 10 ng/μl NAL/DAL	8.68	62.16	<0.0001
1000 ng/μl NAL/DAL - 100 ng/μl NAL/DAL	2.44	59.94	0.118
1000 ng/μl NAL/DAL - 10 ng/μl NAL/DAL	3.86	55.33	0.003
100 ng/μl NAL/DAL - ng/μl NAL/DAL	1.70	66.77	0.441

5.6. Az egészséges és fertőzött kukoricából származó illatanyagok befolyásolják a kukoricamoly tojásrakási preferenciáját

A témához kapcsolódó publikációm: Hajdu et al. 2024

A tojásrakásos viselkedési kísérlet során azt az eredményt kaptuk, hogy a kukoricamoly nőtények szignifikánsan több tojást raktak az egészséges kukorica növényekre, mint a kukoricabogárral fertőzöttre (26A. ábra). Ez a hatás 3 nap elteltével is megfigyelhető volt, mivel az összes tojáscsomó 84%-a az egészséges növényeken volt megtalálható. Bár a kukoricamoly lárvák túlélési aránya hasonló volt mind az egészséges, mind a kukoricabogárral fertőzött kukoricánövényen (26B. ábra), tömegük kétszerese volt a kukoricabogárral fertőzött növényeken (26C. ábra). A kukoricamoly lárvái által okozott kár is magasabb volt a kukoricabogárral fertőzött növényeken, összehasonlítva a kontroll növényekkel (26D. ábra).

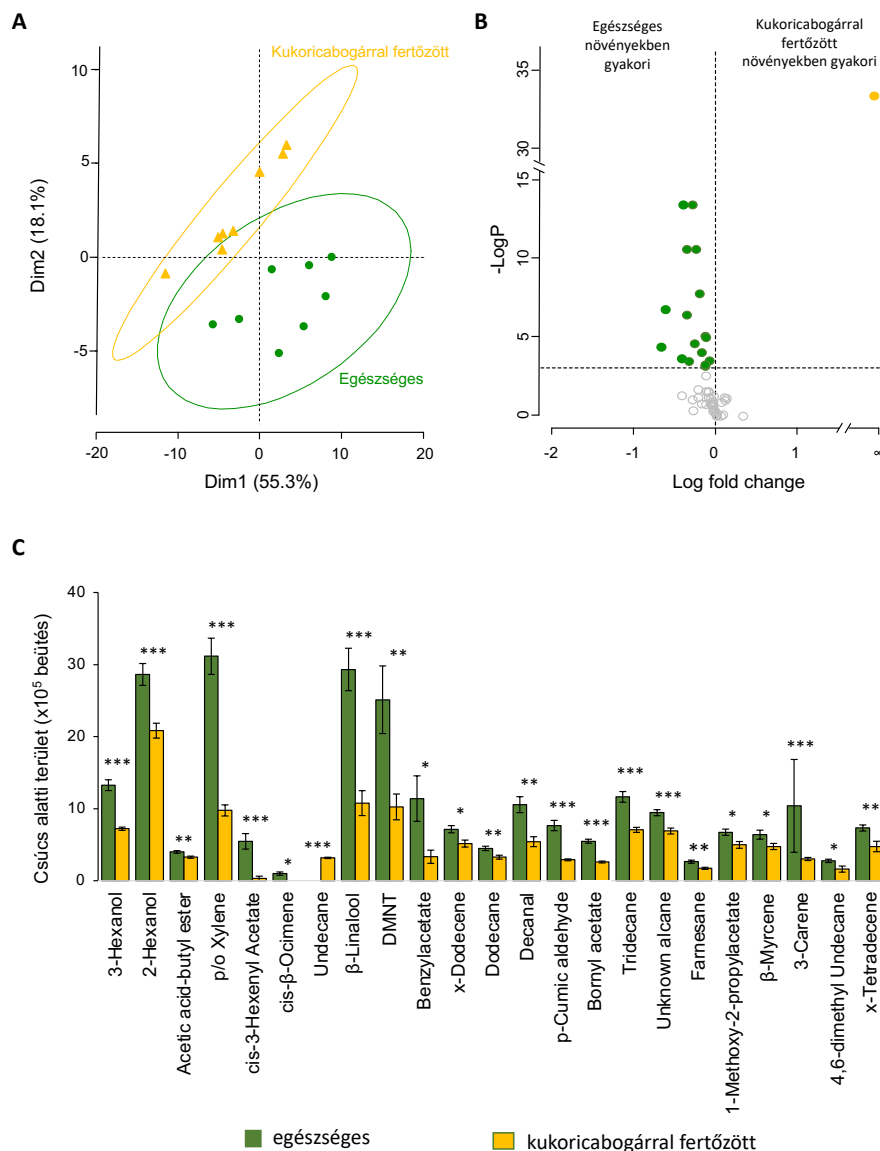


26. ábra: A kukoricamoly nőtények előnyben részesítik az egészséges növényeket, melyek az utódok szempontjából szuboptimálisak. A: A kukoricamoly nőtények által egészséges (zöld)

*és kukoricabogárral fertőzött növényekre rakott tojáscsomók és tojások aránya (átlag±SE). B: Egészséges és kukoricabogárral fertőzött növényekkel táplált kukoricamoly lárvák 21 nap alatti túlélési aránya. C: Egészséges és kukoricabogárral fertőzött növényekkel táplált kukoricamoly lárvák tömege. D: A kukoricamoly lárvák által okozott levélkárosítás 21 napos táplálás után egészséges és kukoricabogárral fertőzött növényeken. A csillagok szignifikáns különbségeket jeleznek: *: $p < 0,05$, ***: $p < 0,001$.*

5.6.1. Az egészséges és kukoricabogárral fertőzött növények eltérő levélillatanyag profilját mutatnak.

A gázkromatográffal kapcsolt tömegspektrométerrel végzett mérések során azt találtuk, hogy az egészséges és kukoricabogárral fertőzött növények föld felett kibocsátott illatanyag profilja jelentősen különbözött (999 permutáció, 27A. ábra). Az 55 azonosított vegyületből 23-at más arányban bocsátották ki a kontroll és a kukoricabogárral fertőzött növények (27B,C. ábra). A 23 különbözőképpen kibocsátott vegyületből 22-nek csökkent a kibocsátása a kukoricabogár fertőzés hatására (27C. ábra). Az undekán volt az egyetlen olyan vegyület, amit a kukoricabogár fertőzés indukált (27C. ábra). Az illatanyagok kibocsátásának növekedése nem volt összefüggésben a kontroll és a fertőzött növények méretbeli különbségeivel, mivel a növények biomasszája és magasságuk hasonló volt (Hajdu et al. 2024). Az összes azonosított illatanyag, beleértve a kis mennyiségben termeltek is, listája elérhető a Hajdu et al. 2024 publikációban. Érdekes módon az undekán termelődése fajtafüggő volt, mivel ennek a vegyületnek a termelődését nem tudtuk a B73 fajtájú, kukoricabogárral fertőzött növényekből kimutatni (adatok nincsenek közölve).

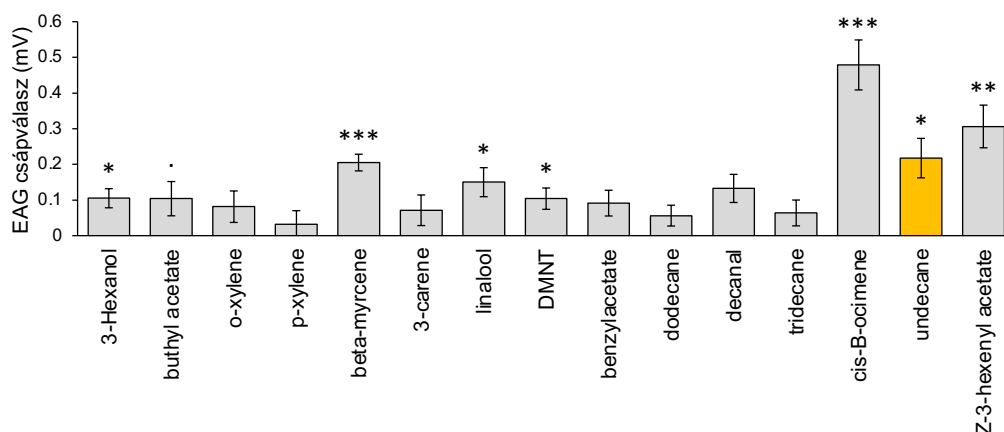


27. ábra: A talajlakó kártevő kártétele megváltoztatja a növény illékony anyagainak összetételét. A: Az egészséges (zöld pöttyök) és a kukoricabogárral fertőzött (sárga háromszögek) növények által kibocsátott illékony vegyületek főkomponens-elemzése (PCA). B: Vulkán diagram. A zöld pontok az egészséges növényekben nagyobb mennyiségben előforduló illékony vegyületeket jelzik (bal oldal). A sárga pontok a kukoricabogárral fertőzött növényekben nagyobb mennyiségben előforduló illékony vegyületeket jelzik (jobb oldal). C: Az egészséges (zöld oszlopok) és a kukoricabogárral fertőzött növények (sárga oszlopok) illékony vegyületeinek kibocsátása (átlag $\pm$ SEM) jelentősen eltér. A csillagok szignifikáns különbségeket jeleznek *:p<0,05, **:p<0,01, ***:p<0,001.

5.6.2. A kukoricamoly nőtények csápja válaszol a kukoricabogárral fertőzött növényből származó illatanyagra

A kukoricamoly nőtény csápján végzett elektroantennográfiás mérések során azt találtuk, hogy a nőtények válaszoltak a 3-hexanol, a 7-metil-3-metilénokta-1,6-dién (β -mircén), a 3,7-dimetilokta-1,6-dien-3-ol (linalool), az (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrién (DMNT),

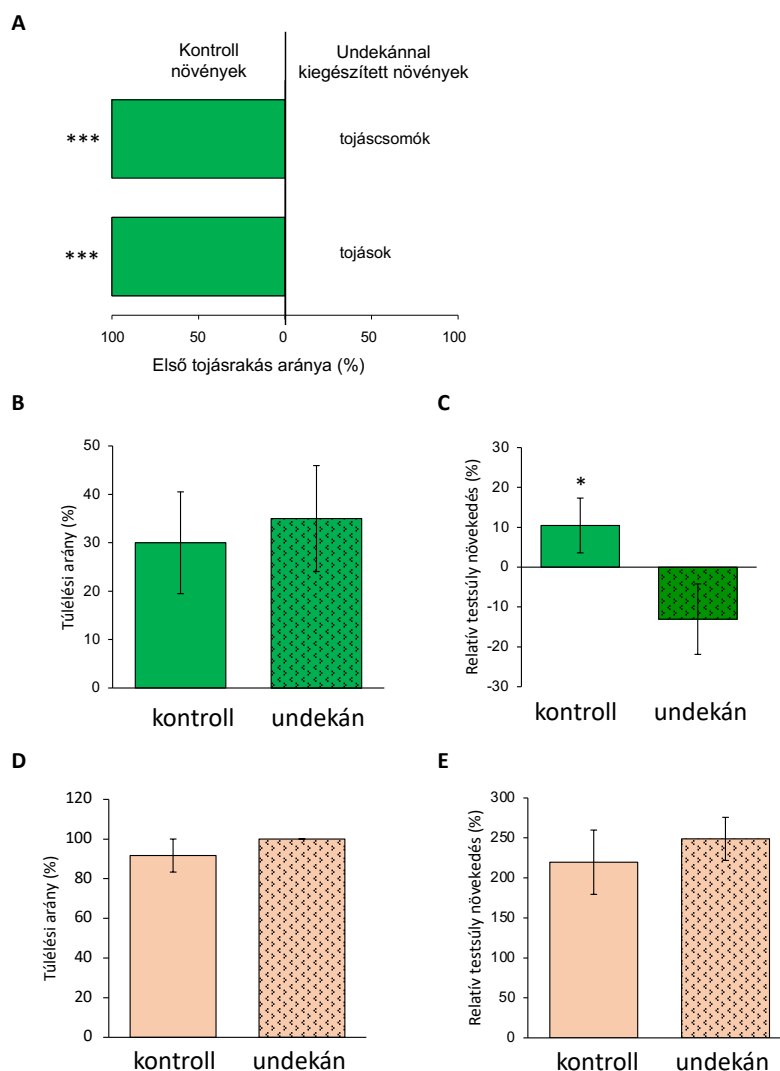
a (3Z)-3,7-dimetilokta-1,3,6-trién (cis- β -ocimén), az undekán, és a (Z)-3-hexenil-acetátra (28. ábra). Azonban a kukoricamoly csápja nem adott választ a butil-acetát, o/p-xilén, 3-karén, benzilacetát, dodekán, dekanal, és a tridekán vegyületekre (28. ábra).



28. ábra: A kukoricamoly nőtények elektroantennográfiás (EAG) csápválaszai a kukoricából származó illatanyagokra. A mérések során illatanyagokként 100 ng anyagmennyiséget használtunk. Az EAG válasz amplitúdóját millivoltban (mV) mértük. Az undekánra adott válasz sárga színnel van kiemelve. DMNT: (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatrién. A csillagok a kontrollhoz képest szignifikáns különbséget jelölnek. *:p<0,05, **:p<0,01, ***:p<0,001. A kontrollra (ásványi olaj) adott válasz nincs ábrázolva.

5.6.3. Az undekán szerepet játszik a kukoricamoly tojásrakási helyének kiválasztásában

A kétválasztásos viselkedési vizsgálat során azt tapasztaltuk, hogy az undekánnal ellátott egészséges növényekre nem raktak tojásokat a párosodott nőtények (29A. ábra). 16 óra eltelté után is az összes nőtény csak a kontroll növényekre rakta le tojásait (29A. ábra). Érdekes volt, hogy ez a hatás 3 nap eltelté után megszűnt, ez arra utalhat, hogy az undekán hatását más, a konspecifikus peték jelenlétével kapcsolatos jelek felülírhatják (az eredmények bemutatása a Hajdu et al. 2024 publikációban).

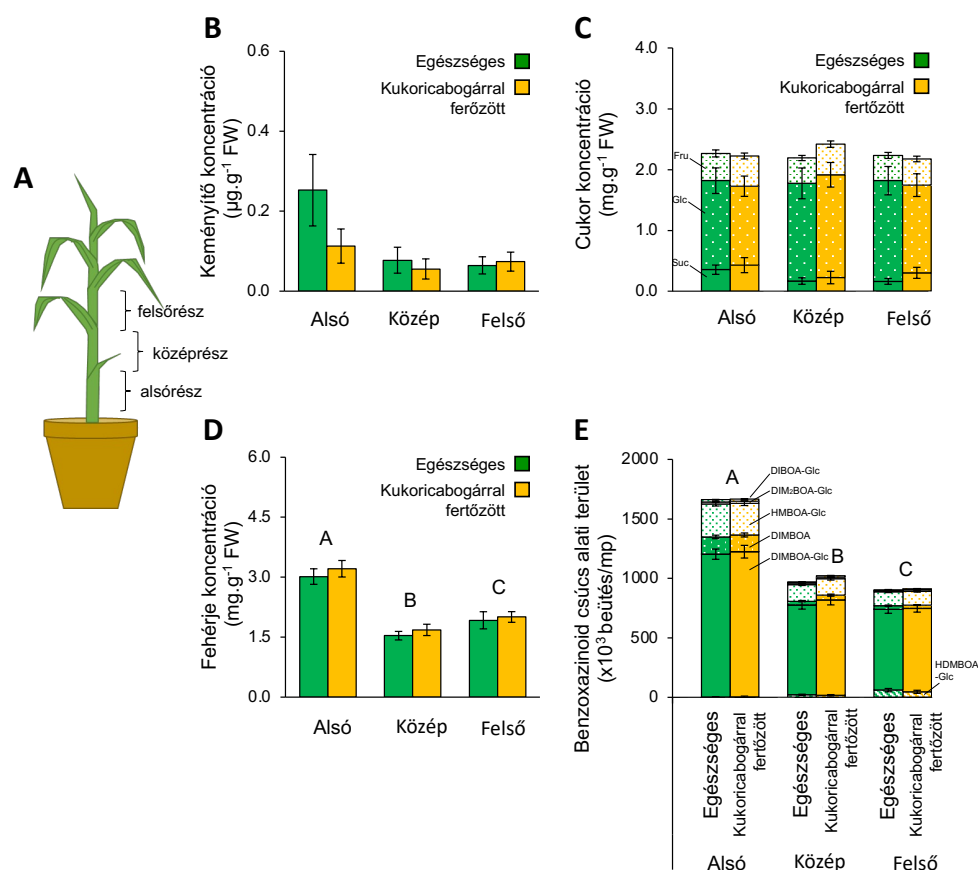


29. ábra: Az undekán módosítja a kukoricamoly nőstények tojásrakási helyének kiválasztását. A: A kukoricamoly nőstények első tojásrakása. A kukoricamoly nőstényei által a kontroll és az undekánnal kiegészített kukoricára lerakott tojáscsomók és tojások aránya. B: A kontroll és az undekánnal kiegészített növényeken 4 napig nevelt kukoricamoly lárvák túlélési aránya. C: A kukoricamoly lárvák testsúly növekedése a kontroll és undekánnal kiegészített növényeken 4 nap táplálkozás után. A-C: Az undekán kiegészítés során a 4ng/óra anyagmennyiség kibocsátóját a talajra helyeztük. D: A kontroll és az undekánnal kiegészített növényeken 4 napig nevelt kukoricamoly lárvák túlélési aránya. E: A kukoricamoly lárvák testsúly növekedése a kontroll és undekánnal kiegészített szintetikus táptalajon 4 nap táplálkozás után. D-E: A 4 ng/óra kibocsátást biztosító undekán kibocsátót a kísérleti henger közepébe helyeztük. A csillagok szignifikáns különbségeket jeleznek: * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$.

5.6.4. Az undekán csökkenti a kukoricamoly lárvák fejlődését a kukorica által közvetített hatás révén

A szintetikus undekánnal kiegészített növényeken táplálkozó kukoricamoly lárvák hasonló túlélési aránnyal rendelkeztek, de gyengébben fejlődtek, mint azok, amelyek a

kontroll növényeken táplálkoztak (29B,C. ábra). Ez a különbség megszűnt, amikor a kukoricamoly lárvák szintetikus táptalajon táplálkoztak undekán jelenléte vagy hiánya esetén (29D,E. ábra). Érdekes viszont, hogy a keményítő, szacharóz, glükóz, fruktóz, oldható fehérje és benzoxazinoid koncentrációk hasonlóak voltak a kontroll és a kukoricabogárral fertőzött növények szárában (30. ábra). Ugyanakkor a fehérje- és benzoxazinoid koncentrációk különböztek a szár különböző szakaszaiban (30D,E. ábra). Különösen az alsó szárszakaszban magasabb volt a fehérje és a benzoxazinoid koncentráció, mint a középső és felső szár szakaszokban (30D,E. ábra).



30. ábra: Az egészséges és a kukoricabogárral fertőzött növények szára hasonló mennyiségű cukrot, keményítőt, fehérjét és benzoxazinoidot tartalmaz. A: kukorica növény, jelezve az elemzésekhez felhasznált három szárrészt. B: keményítőkonzentráció (átlag±SE) a három szárrészben az egészséges (zöld) és a kukoricabogárral fertőzött növények (sárga) esetében. C: szacharóz (Suc), glükóz (Glc) és fruktóz (Fru) koncentrációk (átlag ± SE) a három szárrészben az egészséges (zöld) és a kukoricabogárral fertőzött növények (sárga) esetében. D: fehérje koncentrációk (átlag±SE) a három szárrészben az egészséges (zöld) és a kukoricabogárral fertőzött növények (sárga) esetében. E: benzoxazinoid koncentrációk (átlag±SE) a három szárrészben az egészséges (zöld) és a kukoricabogárral fertőzött növények (sárga) esetében. A nagybetűk szignifikáns különbségeket jeleznek a szárrészek között ($p < 0,05$). FW, friss tömeg.

6. MEGVITATÁS

6.1. A kukoricamoly feromon felfogásának központi idegrendszeri neuroanatómiai és fiziológiai öröklése

A lepkék szexuális kommunikációja legtöbbször feromonokon alapul, melyeket kevés kivételtől eltekintve a nőtények bocsátanak ki, hogy vonzzák a hímeket. (Allison and Cardé 2016). Számos példa szemlélteti a feromonok termelésének és felfogásának hatalmas változatosságát és eltéréseit ebben a fajgazdag taxonban (Allison and Cardé 2016). A hímek preferenciájának neurogenetikáját azonban csak néhány esetben vizsgálták (Löfstedt 1993). Ezen vizsgálatok eredményei azt igazolják, hogy a hímek feromon preferencia változásai a perifériás - azaz a csápon történt - változásokhoz köthetők. Ezt az állítást számos tanulmány támasztja alá. Például a vándor aranybagoly lepke (*Trichoplusia ni*) esetében a laboratóriumban végzett irányított szelekció lecsökkentette a hímek szagló receptor neuronjainak érzékenységét, megváltoztatva ezzel a hímek periférikus feromon preferenciáját (Liu and Haynes 1994; Domingue et al. 2009). A vetési bagolylepke (*Agrotis segetum*) esetében a feromonkomponensek összetétele eltér az európai és afrikai populációk között, ami párhuzamban van a csápon elhelyezkedő, feromon-specifikus érzékszőrök eloszlásával (Wu et al. 1999). A *Heliothis virescens* és *H. subflexa* bagolylepkék esetében, amelyek különböző kis mennyiségű feromonkomponenseket használnak szexferomon keverékükben, a hímek preferenciájának különbségeit részben a szagló receptor neuronok érzékenységének finom eltolódásaival (Baker et al. 2004; Vickers 2006a), részben pedig a szaglólebenyből a magasabb agyi központok felé történő információtovábbítás változásával magyarázzák (Vickers and Christensen 2003). Az *Ostrinia furnacalis* és a kukoricamoly esetében a populációban vannak olyan, „ritka” hímek, amelyek szélcsatornában repülnek a másik faj feromon keverékére. Ezek a „ritka” hímek kismértékű változásokat mutattak a feromonra érzékeny receptor neuronok válaszprofiljában, ezáltal feltehetőleg lehetővé téve a másik faj feromonösszetételének felfogását (Domingue et al. 2007a, 2009).

Bár a kukoricamoly esetében a hím feromon preferencia valószínűleg a legnagyobb mértékben járul hozzá a reprodukív izolációhoz, ennek neurogenetikai alapja még mindig kétséges. Ebben a munkában, összehasonlítva a kukoricamoly két vonalának hibridjeit és visszakeresztezéseit a hímek feromon preferenciájával kapcsolatban olyan neurofiziológiai korrelációkat találtunk, melyek egybevágnak egy korábbi tanulmánnyal (Roelofs et al. 1987b).

6.1.1. A hibridek és visszakeresztezésük MGK-ének funkcionális topológiája

Korábbi tanulmányomban részletesen feltártam a kukoricamoly MGK-ének neuroanatómiáját és fiziológiáját, ahol igazoltam, hogy a két feromon vonal MGK-ének neuroanatómiája azonos (Kárpáti et al. 2008). Azt is sikerült igazolni, hogy a szagló receptor neuronok és a projekciós neuronok, amelyek a fő feromonkomponensre érzékenyek, mindkét

vonallal esetében a mediális glomerulusban ágaznak el, azaz a két vonal MGK-e funkcionálisan egymás tükörképei. Bár ez jól korrelál a szülői vonalak ellentétes preferenciájával, az ilyen váltás nem magyarázza meg a hibrideknél tapasztalható köztes feromon preferenciát (Kárpáti et al. 2008).

Ebben a tanulmányban azt mutatom be, hogy mindkét F1 hibrid (ZxE, ExZ) MGK-nek funkcionális topológiája az E vonallal azonos, annak ellenére, hogy köztes feromon preferenciát mutatnak a hímek (Glover et al. 1991; Linn et al. 1997).

A funkcionális topológiát valószínűleg az axon átmérője határozza meg, ami úgy tűnik, hogy ivarhoz kötött. Ezt más kutatás is alátámasztja (Olsson et al. 2010). Ehhez hasonlóan két, közel rokon bagolylepke faj (*H. virescens* és *H. subflexa*) hibridjei esetében is funkcionális topológiájuk leginkább az egyik fajéra (*H. subflexa*) emlékeztet, annak ellenére, hogy hibridjeik köztes viselkedési feromon preferenciát mutatnak (Vickers 2006b). A kukoricamolymal esetében azonban a topológiai jellemzők nem egyeznek meg a hibridekre jellemző köztes viselkedéssel és így nem magyarázzák a hímek köztes preferenciáját.

6.1.2. Projekciós és helyi interneuronok fiziológiai jellemzése

Bár a hibridek MGK egységeinek topológiai elrendezése az E-vonallal azonos, ami nem egyezik a hibridek preferenciájával, elképzelhető, hogy a viselkedési preferencia különbsége az egyes alegységekben elágazó komponens, vagy keverék-specifikus projekciós neuronok eltérő számától függ. Ilyen, a MGK-ben bekövetkező finom eltérések összefügghetnek a hímek feromon preferenciájával, mint ahogy ezt a *Heliobas virescens* és *H. subflexa* esetében is látjuk (Vickers 2006b). Ha ez igaz, akkor vagy bizonyos projekciós és helyi interneuron típusok számának túl- vagy alul reprezentációját várnánk a hibridekben, vagy különböző válasz tulajdonságokkal rendelkező egyedi neuroncsoportok jöhetnek létre. Klaszterelemzésünk nem mutatott ki elkülönülést a szülői vonalak és hibridek projekciós és helyi interneuronjai között sem előfordulásuk, sem specificitásuk tekintetében. Azonban mivel nem tudtuk az összes neuront megvizsgálni egy átfogóbb felvétel esetleg specifikus klaszterekhez vezethet.

6.1.3. Az MGK neuroanatómiája a hibridek és visszakeresztezéseik esetében

A *Drosophila sechellia* esetében nemrégiben bebizonyosodott, hogy a glomerulus mérete összefügg az illatpreferenciával (Dekker et al. 2006). Bizonyos szaglós receptor neuronok gyakori előfordulása egy megnövekedett méretű glomerulus kialakulásához és az ehhez köthető kulcsvegyületre való erősebb viselkedési válaszhoz vezetett. A megnövekedett glomerulus méret nem mindig jár együtt az érzékenység növekedésével, mivel a nagyobb glomerulusok taszítást és túlérzékenységet is okozhatnak (Acebes and Ferrús 2001). Habár az említett eredmények muslicákra és általános illatanyagokra vonatkoztak, azt feltételeztük, hogy hasonló folyamatok irányítják a feromon kódolását is. Ebben a munkában azt találtuk, hogy a kukoricamolymal MGK egységeinek relatív mérete jól korrelál a hím preferenciával és ennek ivari kromoszómához kötött öröklődésével. Azt feltételezzük, hogy a MGK-en belül a

glomerulusok relatív mérete finomhangolja a hímek feromon keverék preferenciáját és specificitását. Érdekes megjegyezni, hogy a lepkék rendjébe tartozó fajoknál mindig a legnagyobb MGK egység a fő feromonkomponens beidegzésért felelős (Hansson et al. 1995; Berg et al. 1998; Vickers and Christensen 2003). Több tényező is hozzájárulhat a glomerulus méretének változásához, ideértve a glomerulusban elágazó neuronok számát és az itt található elágazások méretét. A muslicák esetében korrelációt találtak a szagló receptor neuronok száma és a glomerulus térfogata között (Dekker et al. 2006), valamint a dendit átmérő és a glomerulus mérete között (Acebes and Ferrús 2001). Utóbbival kapcsolatban az az észrevétel, hogy a kukoricamoly hibridekben a szagló receptor neuronok dendritjei közepes átmérőűek (Hansson et al. 1994), illetve a szagló receptor neuron akciós potenciáljának amplitúdója szex kromoszómához kötött (Hansson et al. 1994). Bár az EAG válasz (lásd később) és a glomerulus mérete között erős az összefüggés, mindkettő szex kromoszómához kötött és köztes a hibridek esetében, lehetséges, hogy egyéb neuronok is hozzájárulnak a glomerulus méretének különbségéhez. Scott és munkatársai azt találták, hogy a *Drosophila* látórendszerének glomerulus méretét az érző neuronok és helyi interneuronok befolyásolják, de nem a projekciós neuronok (Scott et al. 2003b, a).

Érdekes tény az is, hogy a kukoricamoly esetében a MGK-ben jelen lévő glomerulusok méretaránya nem vág egybe a hímek viselkedési preferenciával, azaz a tiszta vonalak esetében a térfogatarány 72:28, míg a hím preferencia követi a nőstények termelését, ami Z vonal esetében 97:3 (Z:E), E vonalnál 1:99 (Z:E). Ha a térfogatarány meghatározó tényező a hím preferenciában, akkor azt jelentené, hogy viszonylag kis méretváltozások is aránytalan változásokat okozhatnak a preferenciában. Ilyen aránytalan viselkedési változást az említett muslicákkal kapcsolatos tanulmányban is észleltek (Ibba et al. 2010). További tanulmányokra van szükség annak a kérdésnek a tisztázásához, hogy mi szabályozza a glomerulus méretét, és hogy ez hogyan befolyásolja a feromon vagy más illatkeverék agyi felfogását.

6.1.4. Az elektrofiziológiai csápválasz és a feromon preferencia közötti korreláció

Ahogy azt az előbb említettem, a glomerulus méretét részben a glomerulusban elágazó szagló receptor neuronok száma határozza meg (Dekker et al. 2006). Ezért EAG segítségével megmértem a két feromonkomponensre adott csápválaszt mindkét vonal esetében, mivel az EAG-val mért válaszok nagysága nagy valószínűséggel tükrözi a szagló receptor neuronok mennyiségét (Schneider 1957; Kleineidam et al. 2005; Dekker et al. 2006). A kukoricamoly esetében a szülői vonalak, a hibridek és azok visszakeresztezésének hím válaszai világosan azt mutatják, hogy a csápválasz szex kromoszómához kötött. Ebből az eredményből arra is következtetünk, hogy a két vonal között különbség van az E11-14Ac és a Z11-14Ac feromonkomponens felfogásáért felelős szagló receptor neuronok számában és/vagy az axon átmérőjében. Ezt alátámasztja az, hogy a Z-vonal esetében a Z11-14Ac-ra adott válasz lényegesen nagyobb volt, mint az E11-14Ac-ra adott. Mivel a válasz nagysága tükrözi a szagló receptor neuronok számának nagyságát (Schneider 1957; Kleineidam et al. 2005; Dekker et

al. 2006), ez utalhat arra, hogy a Z11-14Ac felfogásáért felelős szagló receptor neuronok túlsúlyban vannak a Z-vonal esetében.

A kukoricamoly korábbi, fiziológiájával kapcsolatos munka azt mutatta be, hogy a csápon három, különböző típusú feromon felfogásért felelős érzékszőr, *sensilla trichodea* található. Az A és a B típus válaszol mind a Z11-, mind az E11-14Ac-ra, míg a C típus, amely viszonylag ritka, csak a feromon főkomponensre ad választ (Hansson et al. 1987b; Hallberg et al. 1994; Cossé et al. 1995). Bár a csápon az érzékszőrök pontos száma és eloszlása még nem ismert, felvetődik a kérdés, hogy milyen mértékben befolyásolhatják a ritka érzékszőrök és azokhoz kapcsolódó neuronok az EAG arányt. A helyzetet tovább bonyolítja az a tény, hogy az E-vonal esetében az EAG válasz a Z11-14Ac-ra meglepően hasonló volt az E11-14Ac-ra adott válasszal. Ez vagy azt jelenti, hogy az E11-14Ac-ra és Z11-14Ac-ra érzékeny receptor neuronok aránya hasonló az E-vonalban, vagy az E11-14Ac-ra érzékeny receptorok nem olyan specifikusak (válaszolnak a Z11-14Ac-ra is), mint a Z11-14Ac-ra érzékeny receptorok (Nagai 1983; Domingue et al. 2007b), vagy mindkettő. Bár bizonytalan, hogy pontosan mi okozza a feromonkomponensek által kiváltott EAG válaszok feromon vonalak közti különbségét az EAG eredményeink összhangban vannak a MGK glomerulusok térfogatarányában talált különbségekkel, és alátámasztják azt az elképzelést, hogy a feromon preferenciában található különbségek periférikus eredetűek. Azonban mivel az ezt kódoló "genetikai faktor" nem feltétlenül egyetlen gén, lehet néhány szorosan kapcsolt gén, a csáp utáni, agyi szintű mechanizmusok is hozzájárulhatnak a feromon preferencia változásához a kukoricamoly esetében.

Összefoglalva ebben a tanulmányban bemutattuk, hogy a kukoricamoly feromon preferenciája nem függ össze közvetlenül a MGK glomerulusok helyzetével, hanem inkább a MGK glomerulus méretével és a csápválasszal köthető össze. Ez arra utal, hogy a szaglólebenyből a felsőbb agyi szintek felé továbbított információt nagymértékben befolyásolja a glomerulusok méretének változása, amely megváltoztathatja a feromon elegyre adott választ.

6.2.A kukoricamoly receptor neuronjainak változásai párhuzamosak a feromonpreferencia különbségeivel

A rovarok szaglásának megértéséhez fontos előrelépést jelent a szagló receptorok (OR) azonosítása és ezek ligand affinitásának feltárása (Sakurai et al. 2004; Nagakawa et al. 2005; Große-Wilde et al. 2007; Mitsuno et al. 2008). Bár ez felgyorsította a szaglás neurofiziológiájának megértését, azok a jellemzők, amelyek meghatározzák a viselkedési preferenciákat, továbbra is megfejtésre várnak.

Munkatársaimmal azonosítottuk a kukoricamoly feromon felfogásáért felelős érzékszőrök fiziológiai válaszát és elrendeződésüket mindkét vonal és hibridjeik esetében (Koutroumpa et al. 2014). Eredményeink azt mutatják, hogy a glomerulusok méretbeli különbségei nem a Z11-14Ac és E11-14Ac-ra reagáló idegsejtek számának különbségei miatt következnek be, hanem a receptor neuronok méretével korrelálnak.

Továbbá kimutattuk, hogy néhány szagló receptor neuronon akár 5 szagló receptor is kifejeződhet, ellentétben a jelenlegi elképzeléssel, miszerint minden szaglóidegsejt típusra csak egy szagló receptor jut. Egy neuronon található több receptor jelenléte, például a kukoricamolymal esetében, alapját képezheti a fajok közötti kémiai kommunikációnak.

Periférikus fiziológiai módszerrel (Single Sensillum Recording - SSR) először sikerült igazolnunk, hogy csak egy típusú érzékszőr vesz részt a feromonkomponensek érzékelésében. Ez az érzékszőr három szaglóidegsejtet tartalmaz, amelyek az E11-, Z11-14Ac-ra és különböző antanogista feromonkomponensekre válaszolnak. Mindez ellentétben a kukoricamolymal végzett korábbi fiziológiai tanulmánnyal, ahol három különböző típusú érzékszőrt azonosítottak (Hallberg et al. 1994). Az eltérésre nem tudjuk a pontos magyarázatot. Valószínűleg a korábbi tanulmányokban használt úgynevezett „cut-tip” fiziológiai technika befolyásolhatta a szaglóidegsejtek reakcióit és érzékenységet. Ezenkívül a korábbi kísérletek során általában jóval magasabb koncentrációkat használtak, mint a későbbiek (Kárpáti et al. 2013). A magas feromonkoncentráció eltorzíthatja az egy érzékszőrben elhelyezkedő receptor neuronok választ. Mivel mindkét vonal és a hibridjeik csak egyféle feromon felfogó érzékszőr típussal rendelkeznek, ezért véleményünk szerint a feromonérzékelés különbsége csak az érzékszőrön belüli neurális különbségeken alapszik (13. ábra).

Korábbi, a két vonalon, hibridjeiken és azok visszakeresztéseinek végzett elektroantennográfiás felvételezéseim (EAG) azt igazolták, hogy a csáp a Z11-14Ac és az E11-14Ac feromonkomponensekre adott relatív válasza ivari kromoszómához kötött mintázatot követ (Kárpáti et al. 2010). Mivel az itt bemutatott tanulmányban azt találtuk, hogy csak egyféle érzékszőr típus válaszol a feromonkomponensekre, ebből az következik, hogy az akciós potenciál (spike) amplitúdók összefüggésben vannak a relatív EAG válaszokkal. Nagy valószínűséggel a spike amplitúdó nagysága a sejttest méretével és az axon átmérőjével is összefüggésben van (Meng et al. 1989; Hansson et al. 1994; Kumar and Keil 1996), ebből következően az EAG válasz nagyságát is befolyásolja.

Az előbb említett munkámban (Kárpáti et al. 2010) szintén kimutattam, hogy a Z11-14Ac és E11-14Ac feromonokra érzékeny egységek térfogata, melyek a szaglólebeny MGK-ben helyezkednek el, összefügg az EAG válaszok nagyságával és öröklődésük ivari kromoszómához kötött. A térfogatbeli különbségeket nem lehet a receptor neuronok számának különbségeivel magyarázni, mivel kimutatjuk, hogy a Z11-14Ac-ot és E11-14Ac-ot felfogó neuronok száma azonos a két vonalnál és hibridjeiknél. A glomerulusok térfogatbeli különbsége valószínűleg a receptor neuronok méretbeli különbségeiből származnak, a nagyobb idegsejtek több szinapszissal rendelkeznek a glomerulusban, és ennek eredményeként a célglomerulus mérete is nagyobb (Gulyás et al. 1999). Fontos megjegyezni, hogy azoknál a lepkéknél, melyeknek két vagy több feromonkomponense van, és ezek érzékszőreikben kettő vagy több feromonkomponens felfogására specializált neuron együtt fordul elő, a nagy spike amplitúdóval rendelkező mindig a feromon főkomponensre válaszol (Hansson et al. 1987b, 1989; Priesner 1988; Todd et al. 1992). Hasonlóképpen azoknál a lepkéknél, amelyeknél a feromonokat többféle érzékszőr érzékeli, mindig a legnagyobb számban előforduló érzékszőr válaszol a feromon főkomponensre (Baker et al. 2012).

Végezetül, kivétel nélkül, a szaglólélemben elhelyezkedő MGK legnagyobb egysége mindig a feromon főkomponensre érzékeny (Kárpáti et al. 2010). Hogy a viselkedési válaszokhoz pontosan hogyan kapcsolódnak az idegsejtek jellemzői és milyen mechanizmus(ok) révén, az még további kutatást igényel. Ezt csak azután tudjuk majd megválaszolni, miután azonosítjuk és jellemezzük azokat az idegsejteket amelyek a magasabb agyi központokban vesznek részt az irányításban és a viselkedés szabályozásában. Fiziológiai méréseink azt mutatják, hogy a tiszta feromon vonalakban csak a nagy és kis érző receptor neuronok cserélik fel érzékenységüket, az antagonista feromonkomponensekért felelős neuron pedig nem változik. Ugyanakkor a hibridekben az antagonista neuron is megváltoztatja specificitását. A specificitás változásának ellenére az antagonista idegsejt megtartja az MGK-ben poszterior elágazatát azaz minden esetben ugyanabban az elhelyezkedésű glomerulusban ágazik el. (Kárpáti et al. 2010). Ezért a hibridek esetében olyan szabályozó tényezőkre van szükség, amelyek a szaglólélemben átszervezik az idegsejtek beidegzését a megfelelő célglomerulusba. Arra következtetünk, hogy a fejlődés során az idegsejtek specificitásának változását okozó egyéb tényező is részt vehet az idegsejtek pontos, szaglólélembeli elágazásában. Az idegsejt specifikáció cseréjére vonatkozó ilyen hipotézist korábban már felvetették a selyemlepke (*Bombyx mori*) esetében (Fujii et al. 2011). A mutáns selyemlepkékben, melyekben az *acj6* transzkripció faktor működése leállt, olyan szaglóidegsejtek fejlődtek, melyek specificitása a bombykal feromonkomponens felé tolódott el, ellentétben a vad típussal, melynek szaglóidegsejtje a bombykol feromonkomponensre érzékeny (Fujii et al. 2011).

A kukoricamolylal kapcsolatban a jövőben további kutatásokra van szükség, hogy azonosítani tudjuk azt az ivari kromoszómához kötött faktort, amely szabályozza a feromonra érzékeny szaglóidegsejtek specificitását és agyi elágazását. Munkánkban megerősítjük (ebben a dolgozatban ez az eredmény nem szerepel), hogy a kukoricamolyl esetében 7 feromon receptor fordul elő (Koutroumpa et al. 2014). Az, hogy ezek a feromon receptorok pontosan hogyan vesznek együtt részt a feromon orientációban és a fajok közti kommunikációban, csak részben ismert. Az *OnubOR6* feromon receptor az irodalom alapján a Z11-14Ac-ot fogja fel (Wanner et al. 2010), míg az *OnubOR4* receptor az E11-14Ac-ra érzékeny (Leary et al. 2012). Ez illeszkedik az *in situ* hibridizációs megfigyeléseinkhez, miszerint mindkét receptor egyedül expresszálódik a feromon felfogásért felelős *sensilla trichodea* érzékszőrben (Koutroumpa et al. 2014). Az *OnubOR1* receptor egy "ősi" feromonkomponensre, az E11-14:OH-ra válaszol (Miura et al. 2009) és bár feromon antagonistaként szerepet játszhat, az alacsony kifejeződése arra is utalhat, hogy ez egy régi feromon vagy antagonista kommunikáció maradványa is lehet. Érdekes, hogy az E-vonalban magasabb az *OnubOR1* expressziója. Hogy ez hogyan korrelál az E- és Z-vonal evolúciójával, nem teljesen világos. Mivel az *OnubOR4* és az *OnubOR6* a két feromonkomponens felfogásáért felelős receptor és ezek két különböző idegsejt dendritjén fejeződnek ki, ez azt vonja maga után, hogy a harmadik idegsejt ami az érzékszőrben található, a többi receptort együttesen tartalmazza, köztük a Z9-14:Ac viselkedési antagonistát is.

Tanulmányunk az elsők között van, amely lepkék esetében több feromon receptor egyidejű kifejeződését tárja fel. Munkánkban legalább öt különböző feromon receptort (*OnubOR3*, 5, 7a, 7b, 8) találtunk egyetlen idegsejt típusban. Rovarak esetében ez az eddigi legtöbb szagló receptor, ami egyetlen neuronban fejeződik ki. Bár több ízérző kemoreceptor egyidejű kifejeződése általános a rovaroknál és az emlősöknél (Goldman et al. 2005; Behrens et al. 2007; Weiss et al. 2011), a szagló receptorok egyidejű kifejeződése ritka. Egynél több szagló receptor kifejeződését és funkcióját az ecetmuslicánál (*Drosophila melanogaster*) már leírták (Dobritsa et al. 2003; Hallem et al. 2004; Couto et al. 2005a), illetve a *Heliothis virescens* és a *H. subfelxa* bagolylepkék esetében feltételezik több feromon antagonist receptor egyidejű történő expresszáldását (Baker et al. 2006). Úgy tűnik a kukoricamoly esetében a több receptor egyidejű előfordulása egy idegsejten igen jelentős, mivel az antagonist feromonkomponensért felelős idegsejt szokatlanul széles tartományban érzékeny, összehasonlítva a korábbi eredményekkel, amelyek más feromon-érzékeny szaglóidegsejtekre vonatkoznak. Tizenhárom vegyületből tízre válaszolt ez az idegsejt, melyek közül néhány antagonist feromonkomponensként ismert (Gemeno et al. 2006; Linn et al. 2007). Azonban a különböző vizsgált idegsejtek általában csak a vegyületek egyes csoportjaira válaszoltak, ami egy mozaikválasz-mintázatot eredményezett az antagonist receptor neuronok között. Ilyen mozaikmintázatot korábban már leírtak a keserű ízt érzékelő idegsejtekben gerinceseknél, amelyek több receptor kifejeződését mutatják (Behrens et al. 2007). Hogy pontosan hogyan járulnak hozzá a kukoricamoly különböző feromon receptorai a teljes válaszhoz, akár a receptorok összeadódása révén, vagy versengő kizárás útján, további kísérleteket igényel. A rovarokban a szagló receptor neuronokat az általuk kifejezett szagló receptorok által jellemezzük (Chess et al. 1994; Clyne et al. 1999; Vosshall et al. 2000b; Elmore and Smith 2001), és általában a szagló receptor neuronok ugyanazt a szagló receptort hordozzák azonos típusú érzékszőrben (Couto et al. 2005b). A kukoricamoly megszegi ezt a szabályt, mivel azt tapasztaltuk, hogy minden csápszegmensben csak a laterális oldalon elhelyezkedő érzékszőrökben fejeződik ki az *OnubOR7* receptor, amely a Z11-16Ald inhibitor komponens felfogásáért felelős (Koutroumpa et al. 2014). A szagló receptor neuronok funkcionális szétválása és különböző érzékszőr altípusok kialakulása evolúciós fejlődésre utal, melynél a jelenlegi állapot egy köztes evolúciós szakaszt képvisel. Később az is megtörténhet, hogy az érzékszőr és receptor neuron típus szétválása a glomerulusok szétválását is okozhatja a szaglólebenyben. A kukoricamoly esetében ehhez kapcsolódó megfigyelések már történtek az antagonist feromonkomponens felfogásáért felelős glomerulusnál, ahol megoszlásra utaló jeleket találtunk (Kárpáti et al. 2010).

Azok a szaglóreceptorokat kódoló gének, amelyek nem állnak szelekciós nyomás alatt, gyorsan pszeudogénekké mutálódhatnak, elvesztve eredeti funkciójukat (Niimura and Nei 2005; Sánchez-Gracia et al. 2009; Carraher et al. 2012). Az *Ostrinia* nemzetségben azonban az antagonistasejtekben kifejeződött összes receptor érintetlen maradt (Miura et al. 2010). A receptorok egyidejű kifejeződése a feromon kommunikációban jelen levő jelenlegi evolúciós nyomásokat tükrözheti (Gemeno et al. 2006). Mivel az E11-14Ac és Z11-14Ac gyakran megtalálható összetevők más fajok feromonkeverékeiben is (El-Sayed 2022), ebből

következően az *Ostrinia* nemzetség tagjainak széles körű viselkedési antagonizmusra kell támaszkodnia a fajok közti párosodás elkerülése érdekében. Bármilyen is legyen, a több receptor egyidejű előfordulása egyetlen idegsejtben széles körű antagonizmust biztosít, és hatékonyan teszi lehetővé a lepke számára a specificitás növelését. Ez tulajdonképpen egy fontos evolúciós lépcső lehet, amely felülírhatja az egy receptor egy idegsejt szabályát. Hogy az antagonista neuronok lepkék esetében milyen módon expresszálják a receptorokat, az további kutatást igényel.

Összefoglalásképpen, ez a tanulmány olyan csápon előforduló tényezőket azonosít, amelyek a lepkék esetében összefüggenek a feromonpreferenciával. Mivel a feromonpreferencia genetikailag meghatározott, és kevés rugalmasságot mutat, ezek a tényezők kulcsfontosságúak a fajfelismerésben, és így a feromonkeverékek és fajok kialakulásának folyamatában.

6.3. A kezdeti feromon összetétel által kiváltott viselkedési választ nem befolyásolja a feromon összetételének repülés közbeni változása

Ahogy az eredmények mutatják a Z-vonalhoz tartozó hímek egy feromon forrás esetén szinte csak a Z-vonal nőtények által termelt feromon keverékhez vonzódnak. A hímek az E-vonal által termelt feromon keverékre semmiféle viselkedési választ nem mutattak szélcsatornában. Ez alátámasztja a korábbi szélcsatornában végzett viselkedési vizsgálatokat, melyek azt igazolták, hogy a Z vonalbeli kukoricamoly hímek a saját, Z vonalba tartozó nőtények által termelt feromon keverékhez vonzódnak leginkább (Linn et al. 1997). Így azokon a területeken, ahol mindkét vonal egyszerre fordul elő (szimpatrikus populációk), az eltérő vonalak közötti hibridizáció nagyon ritka kellene hogy legyen ilyen szex feromon-specifikus vonalak esetében. Azonban meglepő módon a természetben a hibridizáció aránya, amely köztes feromontermeléssel és preferenciával rendelkező egyedeket (hibrideket) eredményez (Roelofs et al. 1987b), akár 15% is lehet (Roelofs et al. 1985; Klun and Huettel 1988; Dopman et al. 2009). Ez nehezen magyarázható a szélcsatornában nagy specificitást leíró tanulmányokkal, beleértve a miénket is. Feltételezésünk szerint szabadföldi körülmények között, szimpatrikus esetben, amikor két különböző vonalhoz tartozó csalogató nőtény közel van egymáshoz, az általuk termelt feromon illatfelhők átfedhetik egymást és valamilyen, eddig nem ismert mechanizmus révén csökkenthetik a hímek specifikus választ.

Ennek vizsgálatához egyszerre 3, különböző összetételű feromon forrást helyeztünk el a szélcsatornában. Az eredmények igazolták, hogy ebben a három forrást tartalmazó kísérletben a hímek kevésbé érzékenyek a saját feromon keverékükre összehasonlítva azzal, amikor csak 1 forrás van a szélcsatornában. Nyilvánvalóan valamilyen módon csökken repülés közben a hímek érzékenysége a pontos keverék összetételére. Ez a csökkenés valószínűleg akkor következik be, amikor a hím elkezd repülni és ráhangolódik a feromon keverékre. Ennek tisztázásához olyan kísérletet állítottunk össze ahol a feromon összetételét a hím lepke repülése közben meg tudtuk változtatni. Abban az esetben, amikor a Z feromon forrást a hím

repülése közben átváltottuk tiszta levegőre az összes hím abbahagyta a forrás felé való repülését (15C. ábra). Ezzel igazoltuk, hogy a váltás után nem maradt semmiféle feromon sem a szélcsatornában sem a forrást létrehozó készülékben (15C. ábra). Amikor a Z keveréket egy másik, ugyanolyan Z keverékre váltottuk a hímek megszakítás nélkül repültek a forrás felé. Ezzel igazoltuk, hogy maga a váltás nem zavarja meg a hímeket repülésük közben. Nem várt módon a hímek zavartalanul repültek tovább, amikor a Z-keverékről a H-keverékre váltottuk a forrást (15C. ábra). Ez is igazolja, hogy a hímek feromon specifikitása csökken miután ráhangolódnak saját feromon keverékükre. Szintén meglepő volt, hogy az E-keverékre való váltás során a hímek több mint fele folytatta repülését a másik vonal feromonforrása felé és 28%-uk le is szállt a „rossz” forrásra, ami szintén alátámasztja a hímek repülés közbeni specifikitás csökkenését. Ezek az eredmények azért is figyelemre méltóak, mert az egyválasztásos kísérlet során a H-keverék csak a hímek 10%-ában indukált forrás érintést, míg az E-keverék sosem váltott ki választ (15A. ábra). Ez azt mutatja, hogy miután a hímek ráhangolódnak a saját feromon keverékükre, jóval kevésbé érzékenyek a keverék minőségére, ami valószínűleg magyarázhatja a természetben fellelhető hibridek előfordulását. A kezdeti feromonra való ráhangolódást, mint az orientáció első fontos lépését más lepkefajok esetében is kimutatták (Linn and Roelofs 1985; Schlyter et al. 2001). Általánosságban a lepkék feromon felfogása és feromonra való repülése nagyon specifikus és időben is pontosan hangolt, ezért igen meglepő, hogy több, egy időben jelenlévő forrás esetében a specifikitás nagymértékben csökken.

A következő kísérletben arra kerestük a választ, hogy ennek az érzékenységek csökkenésnek lehet-e periférikus neurofiziológiai háttere. Egy korábbi tanulmány már igazolta, hogy a kukoricamolym csápján elhelyezkedő, feromonra hangolt érzékszőrökben (sensilla trichodea) mindkét feromonkomponensre (Z11-14Ac és E11-14Ac) válaszoló neuron kolokalizálva található meg (Roelofs et al. 1987b). Az adaptációs kísérletben amikor ismétlődő, Z-vonal-specifikus stimulussort alkalmaztunk, azt tapasztaltuk, hogy az érzékszőrben elhelyezkedő Z11-14Ac-specifikus neuron adaptálódott a stimulussor alatt, míg az E11-14Ac-ra érzékeny neuron nem. A neuronok különböző adaptálódása valószínűleg abból következik, hogy a két komponens aránya más volt a stimulussorban (97:3 Z11-14Ac : E11-14Ac), vagyis sokkal több Z11-14Ac komponenst tartalmazott minek következtében a Z11-14Ac-specifikus neuron jobban adaptálódott (16. ábra). A vetési bagolylepke (*Agrotis segetum*) esetében azt figyelték meg, hogy magas feromonkoncentráció esetében a forrás irányába való repülés összefüggésbe hozható a feromon-specifikus neuronok adaptációjával (Baker et al. 1988). A szélcsatornában végzett forrásváltásos kísérlet azt mutatta, hogy a hímek folytatják repülésüket akkor is, ha repülés közben ellentétes arányú feromonforrást hozunk létre. Ez ellentmond a jelenleg elfogadott elképzeléseknek, miszerint a hímek csak a nekik megfelelő specifikus keverékre repülnek, elkerülve ezzel a vonalak vagy fajok közötti keveredést. Eredményeink alapján azt a következtetést vonjuk le, hogy egy kevert feromonfelhőben, ahol mindkét feromon vonal keveréke egyszerre lehet jelen, a periférikus receptor neuronok eltérő adaptációja hatással lehet a specifikus feromonforrás megtalálására. Az alkalmazkodás ellenére azonban a lepkéknek még mindig képesnek kell lenniük a nagy feromon

összetételben bekövetkező változások észlelésére. Eredményeink különösen meglepőek, figyelembe véve azt, hogy a szélcsatornában a kukoricamoly - más lepkékkel összehasonlítva - magas specificitást mutat a feromon keverékben lévő különböző arányokra, azonban a természetben a két feromon vonal gyakran kereszteződik (Dopman et al. 2009; Klun and Huettel 1988; Roelofs et al. 1985).

Eredményeink azt sugallják, hogy a hibridizációs arányok a populációsűrűség és az átfedő feromoncsóvák függvényei lehetnek. A kukoricamoly jellemzően a kukoricatábla szegélynövényzetében tartózkodik és párzik (Showers et al. 1976), ami növeli a feromoncsóvák átfedésének és a hibridizációnak a valószínűségét. Több más prezigotikus izolációs akadály, mint például a voltinizmus (Roelofs et al. 1985), a gazdanövények (Malaus et al. 2005) és a hím feromonok (Lassance and Löfstedt 2009) csökkenthetik a hibridizációt, azonban az általunk megfigyelt jelenség hozzájárulhat a nem megfelelő összetételű feromonkeverék elfogadásához és ezáltal a hibridek kialakulásához.

Ez csökkentheti a stabilizáló szelekciót és lehetőségeket teremthet a feromonok evolúciójához (Groot et al. 2010). Érdekes módon az *Ostrinia scapularis* rokon faj (Frolov et al. 2012) terepi populációi esetében (melynél azonos feromon-polimorfizmus figyelhető meg mint a kukoricamolynál), úgy tűnik a két feromonvonal Hardy-Weinberg egyensúlyban van (Tabata et al. 2003), noha a kukoricamoly esetében ilyen esetet nem dokumentáltak (Cardé et al. 1978). Az, hogy más fajoknál is csökken a feromon összetételének pontos érzékelése repülés közben, további vizsgálatokat igényel.

A legtöbb szélcsatornában végzett viselkedési vizsgálatban az aktivitást, a feromon forrás felé történő repülést és a forrás érintését regisztrálják egyválasztásos kísérleti beállításban, ahol vagy a természetes feromon keveréket vagy eltérő összetételű keveréket használnak (Linn et al. 1987). Kevés olyan tanulmány van ahol több feromonforrás jelenlétekor létrejövő, átfedő illatcsóvák közti választásos kísérletet mutatnak be (Allison and Cardé 2008). A kukoricamolylal végzett vizsgálataink azt mutatják, hogy bár a keverék természetes aránya elengedhetetlen a választás kezdeti fázisában, az orientációs szakaszok későbbi szakaszaiban az idegrendszeri feldolgozás korlátjai azt eredményezik, hogy a kezdetben vonzó arányok érzékelése repülés közben csökken. Az orientációs folyamat korai szakaszaiban fellelhető magasabb szelektivitást mások is igazolták (Linn and Roelofs 1985; Schlyter et al. 2001).

Annak ellenére, hogy összefüggést találtunk a periférikus érző neuronok adaptációja és a repülés közbeni feromon keverék specificitásának csökkenése között, más, itt nem tárgyalt központi idegrendszeri tényezők is hozzájárulhatnak ehhez a viselkedéshez.

6.4. A kukoricamoly feromonon alapuló monitorozása Magyarországon

Ebben a tanulmányban egy megbízható, szexferomon alapú monitorozási módszert próbáltunk kidolgozni a Magyarországon előforduló kukoricamoly esetében. Három különböző csapdatípust, a korábban azonosított két feromonkomponens öt különböző arányát és négy különböző dózist hasonlítottunk össze. A kukoricamoly viselkedése alapján

tudjuk, hogy a csapda alakja kulcsfontosságú tényező a hímek csalogatása érdekében (Pélozuelo and Frérot 2006, 2007), ezért különböző csapdatípusokat teszteltünk annak érdekében, hogy megtaláljuk a monitorozás szempontjából a legmegfelelőbbet. 2013-ban, a sátor alakú csapdák nem fogtak szignifikánsan több hímeket, mint a delta csapdák (18. ábra). 2014-ben azonban ugyanazon a helyen ezek a csapdák jelentősen (szignifikánsan is) magasabb számú hímeket vonzottak (21. ábra). Ez a fogás eltéréseiben mutatkozott különbség a két év közötti populációsűrűség különbségéből adódhatott. Összehasonlításképpen, más országokban is a sátor alakú csapda vonzotta a legtöbb hímeket (Webster et al. 1986; Bartels and Hutchison 1998; Maini and Burgio 2001; Pélozuelo and Frérot 2006). A különböző csapdatípusok összehasonlításának eredménye alapján azt a következtetést vonjuk le, hogy mind a delta, mind a sátor csapdák jók lehetnek a kukoricamoly monitorozásra. Korábbi tanulmányokban, ahol a delta alakú csapdákat a kukoricatábla körül sűrű fűvel borított területen helyezték el, csak kevés hím repült a csapdába (Webster et al. 1986; Stewart 1994; Pélozuelo et al. 2006; Pélozuelo and Frérot 2006). Ezekben a tanulmányokban az volt a hipotézis, hogy a fűvel borított terület aggregációs helyként szolgálhat a hímek és nőtények számára (Showers et al. 1976; Derozari et al. 1977). Ellentétben ezzel, a mi tanulmányunkban a delta csapdákat a kukoricaszár lehető legmagasabb pontjára rögzítettük. Ez lehet az egyik oka amiért 2013-ban a delta csapdák is több hímeket fogtak, mint a kontroll. Laurent és Frérot (2007) is beszámolt arról, hogy a delta csapdák elhelyezési magassága fontos szerepet játszik a hím kukoricamolyok fogásában. Korábbi megfigyelések szintén azt mutatták, hogy a sátor csapda függőleges pozíciója fontos a csapdák hatékonysága szempontjából (Derrick et al. 1992; Mason et al. 1997; Ngollo et al. 2000). Gazdasági és gyakorlati szempontból a delta csapda használata megvalósíthatóbb a sátor csapdához képest, mert olcsóbb, és kényelmesebb a csapdát elhelyezni, illetve a ragacs lapokat cserélni, ezért 2013-ban a második és a harmadik kísérlet során delta csapdákat használtunk.

A 2013-ban végzett második kísérletben a két feromonkomponens különböző arányait hasonlítottuk össze annak érdekében, hogy megállapítsuk melyik feromon vonal fordul elő az adott területen (19. ábra). Eredményeink alapján a 97:3 Z:E és hasonló arányokkal (93:7 és 99:1 Z:E) csalétkezett csapdák fogták a legtöbb hímeket; ebből arra következtetünk, hogy ezen a területen a faj Z-feromon vonala fordul elő. Ezek az eredmények összhangban vannak a korábbi megállapításokkal, ahol Pena et al. (1988) is Z-vonalat találtak feromonmirigy kivonat elemzése alapján, körülbelül 90 km-re a mi kísérleti területünktől. Korábbi tanulmányunkban a nőtény feromonmirigy kivonatának elemzése alapján mi is Z-összetételt (97:3 Z:E) találtunk Magyarország déli részén (Kárpáti et al. 2007).

A 2013-ban elvégzett harmadik kísérletben a 97:3 Z:E bináris feromon keverék különböző dózisának vonzóképességét hasonlítottuk össze (20. ábra). Az 1 µg-os dózissal csalétkezett csapdák a vizsgált időszakban, amellet, hogy csalogatták a hímeket, hamar elvesztették vonzó képességüket, valószínűleg a szuboptimális dózis miatt. A legtöbb hím a 10 és 100 µg-os dózissal rendelkező csapdába repült. Azonban a 10 µg dózissal töltött csapdák a vizsgált időszak kezdetén kezdték el a hímeket fogni, míg a 100 µg-os dózis két héttel a kísérlet kezdete után kezdte el a hímeket csalogatni (nem bemutatott adatok).

Feltételezésünk szerint ennek az az oka, hogy a feromon mennyisége a 100 µg-os dózisban két hét alatt jelentősen lecsökkent az optimális dózis szintjére, amely már képes a hímeket vonzani. A korábbi szakirodalmakban ellentmondó eredményeket találtunk: McLeod and Starratt (1978) szerint a 100 µg-os dózis a leghatékonyabb mennyiség, míg Kalinova et al. (2013) szerint a 10 µg az optimális dózis a hímek vonzásához.

A 2015-ös évben elvégzett kísérletekkel arra kerestük a választ, hogy az ország északnyugati részén a kukoricamoly melyik vonala fordul elő. Ennek érdekében összehasonlítottuk a bináris keverék három különböző arányát delta+M csapdákkal Bicskén és Martonvásáron. Megállapítottuk, hogy mindkét helyen a Z-vonal feromonösszetételével töltött delta csapdák csalogatták a hímeket (22. ábra). Martonvásáron a csapdák kevesebb hímeket fogtak Bicskéhez képest, ami valószínűleg a kísérlet előtt történt inszekticides kezelés következménye lehet. Az eredmények alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy mind Magyarország délkeleti, mind északnyugati részén a kukoricamoly Z-vonala fordul elő, ebből következően a Z-feromoncsalétek a leghatékonyabb a kukoricamoly csapdázására. 2015-ben Bicskén sikerült a faj rajzásdinamikáját is nyomon követni (23. ábra). Az eredmények azt mutatták, hogy a csapdák június közepén fogták a legtöbb hímeket. Korábbi tanulmányok a fénycsapdák fogásai alapján azt találták, hogy Magyarországon a rajzás első csúcsa június végén és július elején van (Keszthelyi 2006; Keszthelyi et al. 2006). Észak-Olaszországban a feromoncsapdák fogásai alapján az első repülési csúcs egy héttel korábban, május végén jelentkezik, ami megegyezik a mi eredményeinkkel (Camerini et al. 2015).

Az eredményeink alapján összességében elmondhatjuk, hogy sikerült találnunk egy megfelelő csapdatípust, megfelelő aránnyal és feromondózissal, melyet sikeresen használhatunk Magyarországon a kukoricamoly populációjának monitorozására. Ez a feromon alapú, fajspecifikus monitorozási módszer, a célfaj populáció sűrűségének előrejelzése mellett, segíthet a peszticid alkalmazások időzítésében is. A jövőbeli tanulmányok a feromoncsapdák optimális elhelyezésére összpontosíthatnak, illetve érdemes lenne megvizsgálni a gazdanövény illékony komponenseinek vonzó hatását feromonnal kombinálva. Mindemellett a megfelelő feromonkeverék használatával eredményeink hozzájárulhatnak a feromon légtértelítéssel történő védekezés alkalmazásához.

6.5. Az elektrofiziológiailag aktív, kukoricából származó illatanyagok vonzzák a megtermékenyített kukoricamoly nőtényeit

Ebben a tanulmányban azt vizsgáltuk, hogy mely kukoricaillatok játszanak szerepet a párosodott kukoricamoly nőtények gazdanövény választásában. Először is megerősítettük, hogy a párosodott, Z-vonalhoz tartozó kukoricamoly nőtények rovar szélcsatornában vonzódnak a kukorica növényhez. Másodszor, GC-EAD és GC-MS mérésekkel két kukoricaillatot azonosítottunk, a nonanalt és a dekanalt, melyek többször megismételve, erős fiziológiai választ váltottak ki a párosodott nőtény csápján. Harmadszor azt találtuk, hogy ennek a két vegyületnek a kukoricánövényen azonos arányában elkészített szintetikus keveréke vonzó hatású volt rovarszélcsatornás kísérletekben. Bár kétségtelen, hogy a

kukoricamoly esetében más illatanyagok is hozzájárulhatnak a tápnövény megtalálásához, ugyanakkor az, hogy az orientáció a két komponensű nonanal, dekanal, 1000 ng/μl dózisu keverékének esetében hasonló volt a kukoricához, alátámasztja ennek a két vegyületnek a vonzókéességét. Korábbi tanulmányokban a nonanalt és dekanalt már azonosították a kukoricából (Huang et al. 2009), bár eddig sehol sem említették ezeknek a vegyületeknek a potenciális vonzókéességét (Buttery and Ling 1984; Bengtsson et al. 2006; Leppik and Frérot 2012; Leppik et al. 2014). A nonanal fiziológiai aktivitását korábban kimutatták egy közeloakon faj, az *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae) nőstény csápján (Huang et al. 2009), de ez az anyag önmagában gátolta a párosodott nőstények tojásrakását. Solé et al. (2010) szintén találtak nonanalt és dekanalt a kukorica légterében, ugyanakkor a külön-külön nonanallal és dekanallal végzett viselkedési vizsgálatok során egyik vegyület sem váltott ki viselkedési választ a tesztelt kukoricamolyok esetében. Jelenleg nincs egyértelmű magyarázat arra, miért nem sikerült a korábbi tanulmányoknak kimutatni a nonanal és dekanal vonzókéességét. Az illatanyagok azonosításában lévő különbségek a fajták és/vagy a gyűjtési módszerek különbségeiből eredhetnek. Ugyanakkor az egyesével kipróbált nonanal vagy dekanal által kiváltott pozitív viselkedési válasz hiánya a keverékek jelentőségének lehet köszönhető, mivel számos esetben bizonyították, hogy az egyesével tesztelt vegyületeknek nincs vonzó hatása, míg ezen vegyületek keveréke pozitív viselkedési választ eredményez (Visser and Ave 1978; Fraser et al. 2003; Natale et al. 2003; Birkett et al. 2004; Bruce et al. 2005; Webster et al. 2010; Bruce and Pickett 2011). Ezenkívül az a tény, hogy mi a gazdanövénnel megegyező arányban használtuk az aktív illatanyagokat, tovább növelhette a kukoricamoly esetében ezen szintetikus anyagok keverékének vonzerejét. A korábbi tanulmányokhoz képest, a kukorica illatanyag összetételben talált arány és/vagy koncentráció eltérések az abiotikus tényezők változása miatt lehetségesek (Gouinguené and Turlings 2002), bár ezek laboratóriumi körülmények között kevésbé valószínűek.

Megállapítottuk, hogy a nonanal és dekanal keverékének legmagasabb dózisa (1000 ng/ul) a rovar szélcsatornás vizsgálatokban hasonlóan jól vonzotta a párosodott nőstényeket, mint a kukorica növény önmagában. Ugyanakkor a nőstények aktivitása a kukoricánövény esetében magasabb volt, mint a szintetikus keverék bármely dózisa. Ez utóbbi különbség egyrészt a szintetikus keverék és a kukoricánövény közötti illékony komponensek különböző kibocsátási ütemének különbségéből eredhet. Másrészt a kukorica által kibocsátott egyéb illatanyagok is fontos szerepet játszhatnak a gazdanövény megtalálásában. Utóbbit tartjuk a legvalószínűbb magyarázatnak, mivel a gazdanövény felé való orientáció ritkán alapul csak két illékony vegyület keverékén (Cha et al. 2008; Riffell et al. 2009; Zakir et al. 2013). A fentieken túl véleményünk szerint a kukoricánövények vizuális jelei is fontosak lehetnek a forrás felé való repülés és a megfelelő tojásrakási helyek megtalálásában. Komplex természetes környezetben az illatanyagok nem egyesével fordulnak elő, hanem a különböző vegyületek keverékeiként. A nonanal és a dekanal olyan gyakori illatanyagok, melyeket más növényfajok is kibocsáthatnak (El-Sayed et al. 2013), illetve más rovarok számára is vonzó hatásúak lehetnek. Például Cha et al. (2008) a nonanalt és a dekanalt azonosították a szőlőrügyekekből származó, 11 csápaktív vegyület közül, melyeknek keveréke sikeresen vonzotta a *Paralobesia*

viteana (Lepidoptera: Tortricidae) szőlőmolyt. Az almamoly (*Cydia pomonella*) esetében mindkét vegyületet szinergista hatást váltott ki a körteészterhez adva, minek következtében mind a hímek, mind a nőstények csapdafogása emelkedett (El-Sayed et al. 2013). Hasonlóan, a nonanal és a dekanal része volt egy 8 vegyületből álló keveréknek, ami szélcsatornában vonzó hatást gyakorolt a dohányyszenderre (*Manduca sexta*) (Lepidoptera: Sphingidae), amely a burgonyafélék egyik fontos kártevője (Fraser et al. 2003). A *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) szúnyog esetében a nonanal széndioxiddal kombinálva, önmagában a széndioxidhoz képest, növelte a nőstények vonzását (Syed and Leal 2009). Siderhurst and Jang (2010) azt találták, hogy a nonanal és a dekanal, amelyek a uborka illatanyag összetételének részei, vonzották a nőstény *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) legyeket. Mindezek a tanulmányok arra utalnak, hogy a nonanal és dekanal fontos kairomonok lehetnek, amelyek fokozhatják az illatanyag keverék vonzerejét. A berkenyevirágmosoly, *Argyresthia conjugella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) esetében Bengtsson et al. (2006) azt találták, hogy a dekanal, egyetlen vegyületként, szabadföldi csapdázások során képes volt nőstényeket vonzani. A jövőben célszerű lenne megvizsgálni, hogy a nonanal és a dekanal kombinációja szabadföldi körülmények között is képes-e a kukoricamolyokat vonzani, vagy a terepi körülmények között a csapdázáshoz szükség van-e egy összetettebb keverékre. Ehhez kiterjedt szabadföldi kísérletek szükségesek annak érdekében, hogy felbecsüljük ennek az illékony keveréknek a hatékonyságát és specificitását, különböző koncentrációk és csapdaformák alkalmazásával. Bár a kukoricamoly jelentős kukoricakártevő a Föld északi féltékén, jelenleg nincsenek elérhető technikák a faj nőstényeinek monitorozására. Míg egy gyakori virágillatanyag a fenilacetaldehid, úgy tűnt, vonzza a kukoricamoly nőstényeket szabadföldi körülmények között, a monitorozáshoz a csapdafogás számok túl alacsonyak voltak (1,05 nőstény/csapda/hét). Ezen kívül a vegyület sok egyéb, nem célfajt is vonzott (Maini and Burgio 1990; Pélozuelo and Frérot 2007). Azonban a nonanal és dekanal keveréke laboratóriumi körülmények között vonzza a kukoricamoly nőstényeit, ezáltal kiegészítheti a kizárólag feromonon alapuló monitorozást (Yu et al. 2015). A nonanal és a dekanal kombinálva a feromonnal képes lehet mind a nőstényeket, mind a hímeket egyidejűleg szabadföldön csapdába csalogatni. Mivel korábban, más lepkefajok esetében már kimutatták, hogy a gazdanövény illatanyagai és a szexferomonok mind fiziológiai (Christensen and Hildebrand 2002; Trona et al. 2013; Bengtsson et al. 2014), mind viselkedési (Deisig et al. 2012) szinten képesek egymás hatását erősíteni. Az itt bemutatott és publikált eredményekkel kapcsolatban hazai kutatók igazolták, hogy a 4-metoxi-2-fenetil alkohol a fenilacetaldehidhez adva szabadföldi csapdázások során nagymértékben megnöveli a hímek és a nőstények fogását (Tóth et al. 2016). A jövőben érdemes lenne megvizsgálni a kukoricamoly E-vonalát is és megtudni, hogy az E-vonalhoz tartozó nőstények vonzódnak-e a nonanal és a dekanal kettős keverékéhez, mivel ez a vonal szintén kukoricakártevő (Sorenson et al. 2005). Ugyanakkor az E-vonal esetében, összehasonlítva a Z-vonallal, jelentős különbségeket találtak a gazdanövény preferenciában (Pelozuelo et al. 2004; Malausa et al. 2007).

6.6. Az egészséges és gyökérfertőzött kukoricából származó illatanyagok befolyásolják a kukoricamoly tojásrakási preferenciáját

Ebben a dolgozatban bemutatott munkánk a kukoricamoly esetében feltárja az illékony anyagok által közvetített tojásrakási preferenciát egészséges és gyökérfertőzött növények között. Az undekánt azonosítottuk, mint azt a kukoricából származó illékony vegyületet, amelyet kifejezetten gyökéren történt rovarkártétel esetén bocsátja ki a kukoricanövény, és amely a tojásrakásra vonatkozóan taszító hatással bír. Munkánk kiemeli a "rossz anyaság" esetét, mivel a kukoricamoly nőtények előszeretettel rakták tojásaikat azokra a növényekre, amelyek az utódok fejlődése szempontjából nem voltak kedvezőek.

Azt tapasztaltuk, hogy a kukoricamoly nőtények tojásrakás szempontjából előnyben részesítik az egészséges növényeket a talajban található kukoricabogár lárvákkal fertőzött növényekkel szemben. Ezzel összefüggésben korábban már igazolták, hogy a kukoricamoly nőtények a növények által kibocsátott illatanyagok alapján képesek megkülönböztetni az egészséges növényeket a fajtársuk vagy más herbivorok által megtámadott növényektől (Binder et al. 1995; Harmon et al. 2003). Ez összhangban van azzal a ténnyel, hogy természetes körülmények között a kukoricabogárral fertőzött növények alacsonyabb kukoricamoly fertőzöttséget mutatnak (Tanasković et al. 2018). Tanulmányunkban az egészséges növények és a kukoricabogárral fertőzött növények megkülönböztetése valószínűleg kémiai jelek közvetítésével történt, bár a lehetséges vizuális jeleket nem tudjuk teljes mértékben kizárni. Ha az illékony vegyületeket nézzük, akkor elmondhatjuk, hogy összességében a kukoricabogár-fertőzés csökkentette a kibocsátott vegyületek mennyiségét, ami nem a növények közötti esetleges eltérő méretből adódott. Terpének, észterek, alkánok, alkének, aldehidek és aromás vegyületek közé tartoztak azok az azonosított illatanyagok melyeket az egészséges és a kukoricabogár által fertőzött növények különbözőképpen bocsátottak ki. Kézenfekvő lenne azt feltételezni, hogy ezek az illékony vegyületek, melyek más rovarcsoportok esetében is információhordozó tulajdonsággal rendelkeznek, felelősek lehetnek az egészséges növények esetében megfigyelt vonzó hatásért (Halitschke et al. 2008; Robert et al. 2013).

Azok az illatanyagok, melyeknek kibocsátása csökkent a kukoricabogárral fertőzött növények esetében olyan anyagok, melyeket korábban már azonosítottak, mint a tojásrakást serkentő, vagy gátló vegyületekként. Például a monoterpének közé tartozó linaloolról és az alkoholokhoz sorolt 2-hexanolról korábban beigazolódott, hogy tojásrakást serkentő anyagok, míg a nőtény kukoricamolyok esetében igazolták a szeszkviterpénekhez tartozó farnesén és a monoterpénekhez tartozó (β)-mircén tojásrakást gátló hatását (Binder and Robbins 1997; Solé et al. 2010). További kutatást igényel annak az összefüggésnek a feltárása, hogy mennyire függ össze a kukoricabogárral fertőzött növények esetében a csökkent illatanyag kibocsátás és a csökkent tojásrakás.

Az undekán volt az az egyetlen vegyület, amelyet csak a kukoricabogárral fertőzött növények termeltek, de az egészséges növények nem bocsátották ki. Az undekán elektrofiziológiai csápválaszt váltott ki a kukoricamoly nőtények esetében, illetve taszító

hatást mutatott az első tojásrakási kísérlet során. Korábbi tanulmányok alapján ezt az alkánt egy parazita darázs, az *Anastatus japonicus* képes érzékelni, illetve szerepet játszik a tojásrakási hely kiválasztásában is (Wang et al. 2017). Érdekes módon a kísérletek során azt figyeltük meg, hogy az undekán taszító hatása eltűnt, amint a kontroll növényeken megjelentek a kukoricamoly tojások. Ez arra utal, hogy a tojások vizuális, taktilis vagy olfaktorikus jelei felülírhatják az undekán hatását. Korábban már beszámoltak arról, hogy a kukoricamoly tojások olyan illatanyagokat hordoznak, amely gátolja a nőtény kukoricamolyok tojásrakását (Thiéry and Le Quéré 1991). Tehát az undekán egy fontos növényi eredetű illatanyag, amely hatással lehet a kukoricamolyok tojásrakására és ez befolyásolhatja a kártevő populációdinamikáját.

Az anyai Preferencia – utód Performancia hipotézis szerint a nőtények az utódaik számára legmegfelelőbb növényekre rakják le tojásaikat, ezzel maximalizálva fitneszüket (Jaenike 1978; Thompson 1988; Mayhew 1997). Például, a kukoricamoly nőtények tojásrakás céljából előnyben részesítették az egészséges növényeket a levéltetvekkel fertőzött növényekkel szemben, ezáltal elősegítve utódaik növekedését és túlélését (Harmon et al. 2003). Azonban a mi tanulmányunkban a kukoricamoly lárvák rosszabbul fejlődtek azokon az egészséges növényeken, amelyeket a nőtények tojásrakás szempontjából előnyben részesítettek, szemben a kukoricabogárral fertőzött növényekkel. Ilyen jelenséget "Rossz anyaságnak" neveznek, és akkor fordul elő, ha a nőtények olyan tápnövényt választanak, amely saját maguknak és nem az utódaiknak kedvez (Mayhew 2001; García-Robledo and Horvitz 2012). Például, ha a táplálkozási preferenciák, a hosszú élet és az tojásrakás preferenciái korrelálnak, a nőtények olyan növényekre rakják a tojásaikat, amelyek növelik saját életük hosszát, de lehet, hogy utódaik szempontjából ez nem a legmegfelelőbb választás (Scheirs et al. 2000). A kukoricamoly esetében az egészséges növények esetleg hosszabb élettartamot biztosíthatnak a nőtényeknek, de ennek igazolása további vizsgálatot igényel.

Az a tény, hogy a kukoricamoly lárvák az egészséges növényeken táplálkozva gyengébben fejlődnek, mint a kukoricabogárral fertőzött növényeken táplálkozók, váratlan volt számunkra. Korábban már kimutatták, hogy a kukoricabogár lárvájának gyökéren történő táplálkozása szabadföldi körülmények között beindítja a kukoricánövény védekező mechanizmusait a herbivorokkal szemben, ami azt eredményezte, hogy a lepke herbivorok által okozott kártétel is csökkent (Erb et al. 2009, 2011a, b). Azt is igazolták, hogy a kukoricabogár lárvák által okozott kártételnek nincs hatása a levelekben megemelkedett jazmonátok (fitohormonok) mennyiségére, melyek általában felelősek a növények védekező mechanizmusaiért. Ugyanakkor vízvesztést, abszcizinsav emelkedést és több védelmi toxin (pl. benzoxazinoidok) termelődéséért felelős gének expresszióját befolyásolja (Erb et al. 2009, 2011a). Jelenlegi munkánkban nem találtunk különbséget a növény elsődleges és másodlagos anyagcseretermékeinek termelésében a kontrol és a kukoricabogárral fertőzött növények között. Ráadásul nem figyeltünk meg jelentős, a növények vízvesztésére utaló jeleket sem, valószínűleg azért, mert a kukoricánövények a kukoricabogár károsításakor idősebbek voltak, mint a korábbi tanulmányokban, és így valószínűbb, hogy jobban tolerálták a vízvesztést. Érdekes módon a kukoricabogár gyökéren történő táplálkozása a növények szárában a

tápanyagok eltérő eloszlását és tárolását vonja maga után (Robert et al. 2014, 2015). Egyrészt lehetséges, hogy a kukoricamoly hernyók hasznát húzhatnak ebből a kukoricabogár által indukált tápanyag tárolási különbségből, bár ennek pontos feltárása még tisztázásra vár (Robert et al. 2014, 2015). Másrészt elképzelhető, hogy az kukoricamoly lárvák jobb fejlődése a kukoricabogárral fertőzött növényeken a táplálkozásgátló illékony anyagok kibocsátásának csökkentésén keresztül valósult meg. A kukoricamoly lárvák a kukoricabogárral fertőzött növényeken történő jobb fejlődésének háttere még tisztázásra vár.

Összefoglalva elmondható, hogy munkánk során azt tapasztaltuk, hogy a növényi illatanyagok befolyásolják a tojásrakási hely kiválasztását. Az olyan illékony anyagok azonosítása, melyek részt vesznek a kukoricamoly nőtények tojásrakási helyének kiválasztásában kiemelkedő potenciállal bírhatnak a kártevők elleni, vegyszermentes védekezési stratégiák esetében. Szabadföldi körülmények között az undekán korai permetezése a tojásrakási idő kezdetén megfelelő lehet a kukoricamoly egyedsűrűségének csökkentéséhez. Ezen kívül, szabadföldön a növény által közvetített föld alatti és föld feletti interakciók mechanizmusainak megértése segítséget nyújthat rezisztens kukoricaajták kiválasztásában és a kártevők monitorozásában.

7. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Csak a dolgozatba foglalt új tudományos eredményeket mutatom be, egyéb eredményeimet más publikációimban lehet megtalálni.

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

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsősorban szeretnék köszönetet mondani Teun Dekkernek (SLU Egyetem, Svédország) aki PhD tanulmányaim után mentorom volt és messzemenőleg támogatott munkámban, illetve akivel rengeteg izgalmas és sokszor vicces szakmai és nem szakmai agytornát végeztünk. Egy pár beszélést hadd említsek meg: „Science is fun”, Believe me baby you are the best”, „I will be a mechanic”.

Természetesen köszönet illeti Szőcs Gábort is aki a PhD és posztdoktori időszakom alatt témavezetőm volt és aki nemcsak szakmailag támogatott és segített messzemenően hanem tartotta bennem a lelket a nehéz időszakokban is. Ezen kívül nagy köszönet illeti dolgozatom első átolvasásáért és javaslataiért.

Szintén sok köszönettel tartozom Molnár Béla Péternek is akivel a kezdetektől együtt dolgoztunk és akivel nemcsak szakmai dolgokat tudtunk igazán jól megvitatni hanem sokszor az éjszakába nyúló kísérletek alatt rengeteg értékes, érdekes és építő megbeszéléseket folytattunk. Mindemellett köszönet illeti e dolgozat átolvasásáért és javításáért is.

Köszönettel tartozom sok külföldi kutató kollégámnak az SLU Egyetemről (Svédország) és a Max Planck Intézetből nevezetesen Bill S. Hanssonnak, Rickard Ignellnek, Sharon Hillnek, Shanon Olssonnak, Marco Tasin és Markus Knadennek, akik igen sok hasznos szakmai tanáccsal és támogatással láttak el és akik nélkül a dolgozatban foglalt eredmények nem jöhettek volna létre.

Köszönet illeti munkahelyemet, a HUN-REN Agrártudományi Kutatóközpont Növényvédelmi Intézetét ahol munkám nagyrésztét végeztem és ahol a kutatótársak valamint az asszisztensek mindig lelkesen támogattak és önzetlenül segítették munkámat. Nevüket névsorrendben tüntetem fel: Balázs Klára, Basky Zsuzsanna, Bozsik Gábor, Fejes Tóth Alexandra, Fónagy Adrien, Hajdu Csengele, Hettyey-Szelényi Magdolna Olívia, Imrei Zoltán, Jermy Tibor, Nyíri Andrea, Kecskeméti Sándor, Koczor Sándor, Samu Ferenc, Szilasné Jósvai Júlia, Tholt Gergely, Tóth Miklós, Tóth Zoltán. Ezen kívül köszönettel tartozom megannyi társszerző kollégámnak, akikkel öröm volt együtt dolgozni, nevüket a publikációs listámban lehet megtalálni.

Külön köszönettel és hálával tartozom szüleimnek, testvéremnek és családomnak, akik mindvégig elviselték a külföldi kutató időszak alatti hiányomat és mindvégig kitartottak mellettem és bíztak abban, hogy ezt a dolgozatot egyszer csak befejezem. Külön köszönöm feleségemnek, Kárpáti-Bátri Zitának türelmét és kitartását a külföldön eltöltött közös kutatói időszakunk alatt és köszönöm a dolgozat átolvasását és javítását. Szintén köszönöm fiaimnak, Kárpáti Zsombornak, Kárpáti Mórícnak és Kárpáti Vincének kitartását és bizalmát az elmúlt 17 évnyi időszak alatt. Hogyan is érhettem volna az írás végéhez családom noszogatója nélkül, akiktől folyton azt hallottam, hogy „mikor írod már meg a nagydoktorit”.

Köszönet a német Deutsche Bahn vasúttársaságnak a késésekért, melyeknek következtében rendszeres utazásaim során többet tudtam dolgozatomon munkálkodni.

Kutatómunkám anyagi fedezetét a következő pályázatok biztosították: FORMAS, Swedish Research Council, Marie Curie Intra-European-Fellowship FP7-PEOPLE-2009-IEF,

Marie Curie Career Intergration Grant FP7-PEOPLE-2012-CIG, NKFIH (OTKA) PD 104130, Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, SCOPES (Swiss National Science Foundation), Svájc-Magyarország-Szerbia trilaterális pályázat, GINOP 2.3.2-15-2.

9. IRODALOM

- Acebes A, Ferrús A (2001) Increasing the number of synapses modifies olfactory perception in *Drosophila*. *The Journal of Neuroscience* 21:6264.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-16-06264.2001>
- Allison JD, Cardé RT (2016) *Pheromone Communication in Moths: Evolution, Behavior, and Application*. Univ of California Press
- Allison JD, Cardé RT (2008) Male pheromone blend preference function measured in choice and no-choice wind tunnel trials with almond moths, *Cadra cautella*. *Animal Behaviour* 75:259–266. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.04.033>
- Anglade P, Stockel J, Cooperators IWGO (1984) Intraspecific sex-pheromone variability in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lepidoptera, Pyralidae). *Agronomie* 4:183–187
- Anton S, Homberg U (1999) Antennal lobe structure. In: Hansson BS (ed) *Insect Olfaction*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 97–124
- Anton S, Löfstedt C, Hansson BS (1997) Central nervous processing of sex pheromones in two strains of the European corn borer *Ostrinia Nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Experimental Biology* 200:1073–1087.
<https://doi.org/10.1242/jeb.200.7.1073>
- Arn H, Tóth M, Priesner E (1992) List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants. Organisation internationale de lutte biologique Section régionale ouest paléarctique (OILB-SROP)
- Arnqvist G (2006) Sensory exploitation and sexual conflict. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 361:375–386.
<https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1790>
- Awmack CS, Leather SR (2002) Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annu Rev Entomol* 47:817–844. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145300>
- Baker TC, Domingue MJ, Myrick AJ (2012) Working range of stimulus flux transduction determines dendrite size and relative number of pheromone component receptor neurons in moths. *Chemical Senses* 37:299–313.
<https://doi.org/10.1093/chemse/bjr122>
- Baker TC, Hansson BS, Löfstedt C, Löfqvist J (1988) Adaptation of antennal neurons in moths is associated with cessation of pheromone-mediated upwind flight. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:9826–9830. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.24.9826>

- Baker TC, Ochieng' SA, Cossé AA, et al (2004) A comparison of responses from olfactory receptor neurons of *Heliothis subflexa* and *Heliothis virescens* to components of their sex pheromone. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 190:155–165. <https://doi.org/10.1007/s00359-003-0483-2>
- Baker TC, Quero C, Ochieng' SA, Vickers NJ (2006) Inheritance of Olfactory Preferences II. Olfactory Receptor Neuron Responses from *Heliothis subflexa* × *Heliothis virescens* Hybrid Male Moths. *Brain Behav Evol* 68:75–89. <https://doi.org/10.1159/000093375>
- Baker TC, Zhou Q, Linn CE, et al (2022) Surface properties and architectures of male moth trichoid sensilla investigated using atomic force microscopy. *Insects* 13:423. <https://doi.org/10.3390/insects13050423>
- Bakke A, Kvamme T (1981) Kairomone response in *Thanasimus* predators to pheromone components of *Ips typographus*. *J Chem Ecol* 7:305–312. <https://doi.org/10.1007/BF00995753>
- Bardgett RD, Wardle DA (2003) Herbivore-mediated linkages between aboveground and belowground communities. *Ecology* 84:2258–2268. <https://doi.org/10.1890/02-0274>
- Bartels DW, Hutchison WD (1998) Comparison of Pheromone Trap Designs for Monitoring Z-Strain European Corn Borer (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of economic entomology* 91:1349–1354. <https://doi.org/10.1093/jee/91.6.1349>
- Beadle GW, Ephrussi B (1936) The differentiation of eye pigments in *Drosophila* as studied by transplantation. *Genetics* 21:225–247. <https://doi.org/10.1093/genetics/21.3.225>
- Behrens M, Foerster S, Staehler F, et al (2007) Gustatory expression pattern of the human TAS2R bitter receptor gene family reveals a heterogenous population of bitter responsive taste receptor cells. *J Neurosci* 27:12630–12640. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1168-07.2007>
- Bengtsson M, Gonzalez F, Cattaneo AM, et al (2014) A predicted sex pheromone receptor of codling moth *Cydia pomonella* detects the plant volatile pear ester. *Front Ecol Evol* 2:. <https://doi.org/10.3389/fevo.2014.00033>
- Bengtsson M, Jaastad G, Knudsen G, et al (2006) Plant volatiles mediate attraction to host and non-host plant in apple fruit moth *Argyresthia conjugella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 118:. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00359.x>
- Berg BG, Almaas TJ, Bjaalie JG, Mustaparta H (1998) The macroglomerular complex of the antennal lobe in the tobacco budworm moth *Heliothis virescens*: specified subdivision in four compartments according to information about biologically

- significant compounds. *J Comp Physiol A* 183:669–682.
<https://doi.org/10.1007/s003590050290>
- Biere A, Goverse A (2016) Plant-mediated systemic interactions between pathogens, parasitic nematodes, and herbivores above- and belowground. *Annu Rev Phytopathol* 54:499–527. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100245>
- Binder BF, Robbins JC (1997) Effect of terpenoids and related compounds on the oviposition behavior of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *J Agric Food Chem* 45:980–984. <https://doi.org/10.1021/jf960400z>
- Binder BF, Robbins JC, Wilson RL (1995) Chemically mediated ovipositional behaviors of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *J Chem Ecol* 21:1315–1327. <https://doi.org/10.1007/BF02027564>
- Birch MC (1974) *Pheromones*, Elsevier. New York
- Birkett MA, Bruce TJA, Martin JL, et al (2004) Responses of Female Orange Wheat Blossom Midge, *Sitodiplosis mosellana*, to Wheat Panicle Volatiles. *J Chem Ecol* 30:1319–1328. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000037742.05022.9f>
- Blomquist GJ, Figueroa-Teran R, Aw M, et al (2010) Pheromone production in bark beetles. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 40:699–712.
<https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2010.07.013>
- Blomquist GJ, Jurenka R, Schal C, Tittiger C (2012) Pheromone Production. In: *Insect Endocrinology*. Elsevier, pp 523–567
- Blum MS (1969) Alarm pheromones. *Annual Review of Entomology* 14:57–80.
<https://doi.org/10.1146/annurev.en.14.010169.000421>
- Borden JH (1974) Aggregation pheromones in the Scolytidae. In: *Pheromones*. Elsevier, New York, pp 135–160
- Bozsik G, Lakatos A, Szőcs G, Tóbiás I (2019) Screening some common molecular markers and a desaturase marker, linked to sex pheromone biosynthesis, in three Z-Strain and an E-Strain populations of the European corn brer, *Ostrinia nubilalis*, occurring in Central Europe. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 54:127–136.
<https://doi.org/10.1556/038.54.2019.911>
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72:248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- Brown William L (1968) An Hypothesis concerning the function of the metapleural glands in ants. *The American Naturalist* 102:188–191. <https://doi.org/10.1086/282536>
- Brown WL Jr, Eisner T, Whittaker RH (1970) Allomones and kairomones: Transspecific chemical messengers. *BioScience* 20:21. <https://doi.org/10.2307/1294753>
- Bruce TJA, Pickett JA (2011) Perception of plant volatile blends by herbivorous insects – Finding the right mix. *Phytochemistry* 72:1605–1611. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.04.011>
- Bruce TJA, Wadhams LJ, Woodcock CM (2005) Insect host location: a volatile situation. *Trends in Plant Science* 10:269–274. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2005.04.003>
- Butenandt A (1959) Über den sexual-lockstoff des seidenspinners *Bombyx mori*. reindarstellung und konstitution. *Z Naturforsch (B)* 14:283–284
- Buttery RG, Ling LC (1984) Corn leaf volatiles: identification using Tenax trapping for possible insect attractants. *J Agric Food Chem* 32:1104–1106. <https://doi.org/10.1021/jf00125a044>
- Camerini G, Groppali R, Rama F, Maini S (2015) Semiochemicals of *Ostrinia nubilalis*: diel response to sex pheromone and phenylacetaldehyde in open field. *Bulletin of Insectology*
- Cantelo WW, Jacobson M (1979) Corn silk volatiles attract many pest species of moths. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 14:695–707. <https://doi.org/10.1080/10934527909374907>
- Capurro A, Baroni F, Kuebler LS, et al (2014) Temporal features of spike trains in the moth antennal lobe revealed by a comparative time-frequency analysis. *PLOS ONE* 9:e84037. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084037>
- Cardé RT (2021) Navigation along windborne plumes of pheromone and resource-linked odors. *Annual Review of Entomology* 66:317–336. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-024932>
- Cardé RT, Kochansky J, Stimmel JF, et al (1975) Sex pheromone of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*): cis and trans responding males in Pennsylvania. *Environ Entomol* 4:413–414
- Cardé RT, Roelofs WL, Harrison RG, et al (1978) European corn borer: Pheromone polymorphism or sibling species? *Science* 199:555–556. <https://doi.org/10.1126/science.199.4328.555>

- Carraher C, Authier A, Steinwender B, Newcomb RD (2012) Sequence comparisons of odorant receptors among tortricid moths reveal different rates of molecular evolution among family members. PLoS ONE 7:e38391. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038391>
- Cha DH, Nojima S, Hesler SP, et al (2008) Identification and field evaluation of grape shoot volatiles attractive to female grape berry moth (*Paralobesia viteana*). J Chem Ecol 34:1180–1189. <https://doi.org/10.1007/s10886-008-9517-0>
- Chapman RF (2013) Chemical communication: pheromones and chemicals with interspecific significance. In: The insects structure and function. pp 704–740
- Chess A, Simon I, Cedar H, Axel R (1994) Allelic inactivation regulates olfactory receptor gene expression. Cell 78:823–834. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(94\)90562-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(94)90562-2)
- Christensen TA, Hildebrand JG (1987) Male-specific, sex pheromone-selective projection neurons in the antennal lobes of the moth *Manduca sexta*. J Comp Physiol 160:553–569. <https://doi.org/10.1007/BF00611929>
- Christensen TA, Hildebrand JG (2002) Pheromonal and host-odor processing in the insect antennal lobe: how different? Current Opinion in Neurobiology 12:393–399. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(02\)00336-7](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(02)00336-7)
- Clyne PJ, Warr CG, Freeman MR, et al (1999) A novel family of divergent seven-transmembrane proteins: Candidate odorant receptors in Drosophila. Neuron 22:327–338. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81093-4](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81093-4)
- Conte YL, Hefetz A (2008) Primer pheromones in social hymenoptera. Annual Review of Entomology 53:523–542. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091434>
- Cossé AA, Campbell MG, Glover TJ, et al (1995) Pheromone behavioral responses in unusual male European corn borer hybrid progeny not correlated to electrophysiological phenotypes of their pheromone-specific antennal neurons. Experientia 51:809–816. <https://doi.org/10.1007/BF01922435>
- Couto A, Alenius M, Dickson BJ (2005a) Molecular, Anatomical, and Functional Organization of the Drosophila Olfactory System. Current Biology 15:1535–1547. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.07.034>
- Couto, Alenius M, Dickson BJ (2005b) Molecular, anatomical, and functional organization of the Drosophila olfactory system. Current Biology 15:1535–1547. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.07.034>

- Coyne JA, Orr HA, Coyne JA, Orr HA (2004) Speciation. Oxford University Press, Oxford, New York
- Danner H, Brown P, Cator EA, et al (2015) Aboveground and belowground herbivores synergistically induce volatile organic sulfur compound emissions from shoots but not from roots. *J Chem Ecol* 41:631–640. <https://doi.org/10.1007/s10886-015-0601-y>
- Day RW, Quinn GP (1989) Comparisons of treatments After an analysis of variance in ecology. *Ecological Monographs* 59:433–463. <https://doi.org/10.2307/1943075>
- De Moraes CM, Mescher MC, Tumlinson JH (2001) Caterpillar-induced nocturnal plant volatiles repel conspecific females. *Nature* 410:577–580. <https://doi.org/10.1038/35069058>
- de Wit RJ, Konijn TM (1983) Identification of the acrasin of *Dictyostelium minutum* as a derivative of folic acid. *Cell Differ* 12:205–210. [https://doi.org/10.1016/0045-6039\(83\)90029-5](https://doi.org/10.1016/0045-6039(83)90029-5)
- Deisig N, Kropf J, Vitecek S, et al (2012) Differential interactions of sex pheromone and plant odour in the olfactory pathway of a male moth. *PLoS ONE* 7:e33159. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033159>
- Dekker T, Ibba I, Siju KP, et al (2006) Olfactory shifts parallel superspecialism for toxic fruit in *Drosophila melanogaster* sibling, *D. sechellia*. *Current Biology* 16:101–109. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.11.075>
- Derozari MB, Showers WB, Shaw RH (1977) Environment and the sexual activity of the European corn borer. *Environmental Entomology* 6:657–665. <https://doi.org/10.1093/ee/6.5.657>
- Derrick ME, Van Duyn JW, Sorenson CE, Kennedy GG (1992) Effect of Pheromone Trap Placement on capture of male European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in three North Carolina crops. *Environmental Entomology* 21:240–246. <https://doi.org/10.1093/ee/21.2.240>
- Dickens J (1986) Orientation of boll weevil, *Anthonomus grandis* Boh.(Coleoptera: Curculionidae), to pheromone and volatile host compound in the laboratory. *Journal of chemical ecology* 12:91–8. <https://doi.org/10.1007/BF01045593>
- Dobritsa AA, van der Goes van Naters W, Warr CG, et al (2003) Integrating the Molecular and Cellular Basis of Odor Coding in the *Drosophila* Antenna. *Neuron* 37:827–841. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(03\)00094-1](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(03)00094-1)

- Dobson HEM (1994) Floral Volatiles in Insect Biology. In: Insect-Plant Interactions (1993). CRC Press
- Domingue MJ, Haynes KF, Todd JL, Baker TC (2009) Altered olfactory receptor neuron responsiveness is correlated with a shift in behavioral response in an evolved colony of the cabbage looper moth, *Trichoplusia ni*. J Chem Ecol 35:405–415.
<https://doi.org/10.1007/s10886-009-9621-9>
- Domingue MJ, Musto CJ, Linn CE, et al (2007a) Evidence of olfactory antagonistic imposition as a facilitator of evolutionary shifts in pheromone blend usage in *Ostrinia* spp. (Lepidoptera: Crambidae). J Insect Physiol 53:488–496.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2007.01.009>
- Domingue MJ, Musto CJ, Linn CE, et al (2007b) Altered olfactory receptor neuron responsiveness in rare *Ostrinia nubilalis* males attracted to the *O. furnacalis* pheromone blend. J Insect Physiol 53:1063–1071.
<https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2007.05.013>
- Dopman EB, Bogdanowicz SM, Harrison RG (2004) Genetic mapping of sexual isolation between E and Z pheromone strains of the european corn Borer (*Ostrinia nubilalis*). Genetics 167:301–309. <https://doi.org/10.1534/genetics.167.1.301>
- Dopman EB, Robbins PS, Seaman A (2010) Components of reproductive isolation between North American pheromone strains of the European corn borer. Evolution 64:881–902. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00883.x>
- Dopman EB, Robbins PS, Seaman A (2009) Components of reproductive isolation between North American pheromone strains of the European corn borer. Evolution 64:881–902. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00883.x>
- Dorhout DL, Sappington TW, Rice ME (2008) Evidence for obligate migratory flight behavior in young European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) females. Environmental Entomology 37:1280–1290. <https://doi.org/10.1093/ee/37.5.1280>
- Dudareva N, Negre F, Nagegowda DA, Orlova I (2006) Plant volatiles: Recent advances and future perspectives. Critical Reviews in Plant Sciences 25:417–440.
<https://doi.org/10.1080/07352680600899973>
- Elkinton JS, Cardé RT (1984) Odor dispersion. In: Bell WJ, Cardé RT (eds) Chemical Ecology of Insects. Springer US, Boston, MA, pp 73–91
- Elmore T, Smith DP (2001) Putative *Drosophila* odor receptor OR43b localizes to dendrites of olfactory neurons. Insect Biochemistry and Molecular Biology 31:791–798.
[https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(00\)00184-3](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(00)00184-3)

- El-Sayed (2022) The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals
- El-Sayed, Cole L, Revell J, et al (2013) Apple volatiles synergize the response of codling moth to pear ester. *J Chem Ecol* 39:643–652. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0277-0>
- Erb M, Flors V, Karlen D, et al (2009) Signal signature of aboveground-induced resistance upon belowground herbivory in maize. *The Plant Journal* 59:292–302. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03868.x>
- Erb M, Köllner TG, Degenhardt J, et al (2011a) The role of abscisic acid and water stress in root herbivore-induced leaf resistance. *New Phytol* 189:308–320. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03450.x>
- Erb M, Robert CAM, Hibbard BE, Turlings TCJ (2011b) Sequence of arrival determines plant-mediated interactions between herbivores. *Journal of Ecology* 99:7–15. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2010.01757.x>
- Erb M, Ton J, Degenhardt J, Turlings TCJ (2008) Interactions between arthropod-induced aboveground and belowground defenses in plants. *Plant Physiology* 146:867–874. <https://doi.org/10.1104/pp.107.112169>
- Erb M, Veyrat N, Robert CAM, et al (2015) Indole is an essential herbivore-induced volatile priming signal in maize. *Nat Commun* 6:6273. <https://doi.org/10.1038/ncomms7273>
- Fónagy A (2006) Új eredmények a rovar-neuropeptid kutatásban: izolálások, meghatározások és hatásmechanizmusok
- Fraenkel GS (1959) The Raison d’Être of secondary plant substances. *Science* 129:1466–1470. <https://doi.org/10.1126/science.129.3361.1466>
- Fraser AM, Mechaber WL, Hildebrand JG (2003) Electroantennographic and behavioral responses of the sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles. *J Chem Ecol* 29:1813–1833. <https://doi.org/10.1023/a:1024898127549>
- Frolov AN, Audiot P, Bourguet D, et al (2012) From Russia with lobe: genetic differentiation in trilobed uncus *Ostrinia* spp. follows food plant, not hairy legs. *Heredity* 108:147–156. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.58>
- Fujii T, Fujii T, Namiki S, et al (2011) Sex-linked transcription factor involved in a shift of sex-pheromone preference in the silkworm *Bombyx mori*. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:18038–18043. <https://doi.org/10.1073/pnas.1107282108>
- Galizia CG (2014) Olfactory coding in the insect brain: data and conjectures. *European Journal of Neuroscience* 39:1784–1795. <https://doi.org/10.1111/ejn.12558>

- Galizia CG, Sachse S (2010) Odor coding in insects. In: The neurobiology of olfaction. New York, pp 35–70
- García-Robledo C, Horvitz CC (2012) Parent–offspring conflicts, “optimal bad motherhood” and the “mother knows best” principles in insect herbivores colonizing novel host plants. *Ecology and Evolution* 2:1446–1457. <https://doi.org/10.1002/ece3.267>
- Gemenio C, Sans A, López C, et al (2006) Pheromone antagonism in the European corn borer moth *Ostrinia nubilalis*. *J Chem Ecol* 32:1071–1084. <https://doi.org/10.1007/s10886-006-9046-7>
- Glover TJ, Campbell MG, Linn CE, Roelofs WL (1991) Unique sex chromosome mediated behavioral response specificity of hybrid male European corn borer moths. *Experientia* 47:980–984. <https://doi.org/10.1007/BF01929897>
- Glover TJ, Perez N, Roelofs WL (1989) Comparative analysis of sex-pheromone-response antagonists in three races of European corn borer. *J Chem Ecol* 15:863–873. <https://doi.org/10.1007/BF01015182>
- Godoy R, Aburto C, Lizana P, et al (2019) Antennal Morphology and Localization of a Pheromone-Binding Protein of *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera: Tortricidae). *Neotrop Entomol* 48:422–432. <https://doi.org/10.1007/s13744-018-0648-x>
- Goldman AL, Van Der Goes Van Naters W, Lessing D, et al (2005) Coexpression of two functional odor receptors in one neuron. *Neuron* 45:661–666. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.01.025>
- Gouinguéné SP, Turlings TCJ (2002) The effects of abiotic factors on induced volatile emissions in corn plants. *Plant Physiol* 129:1296–1307. <https://doi.org/10.1104/pp.001941>
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M, Roslin T (2010) A meta-analysis of preference–performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13:383–393. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01433.x>
- Groot A, Blankers T, Halfwerk W, Steel EB (2024) The evolutionary importance of intraspecific variation in sexual communication across sensory modalities. *Annual Review of Entomology* 69:21–40. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-030223-111608>
- Groot A, CLAßEN A, Staudacher H, et al (2010) Phenotypic plasticity in sexual communication signal of a noctuid moth: Phenotypic plasticity in a moth pheromone

- signal. *Journal of Evolutionary Biology* 23:2731–2738.
<https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2010.02124.x>
- Große-Wilde E, Gohl T, Bouché E, et al (2007) Candidate pheromone receptors provide the basis for the response of distinct antennal neurons to pheromonal compounds. *Eur J of Neuroscience* 25:2364–2373. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05512.x>
- Gulyás AI, Megías M, Emri Z, Freund TF (1999) Total number and ratio of excitatory and inhibitory synapses converging onto single interneurons of different types in the CA1 area of the rat hippocampus. *J Neurosci* 19:10082–10097.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-22-10082.1999>
- Guo H, Wang C-Z (2019) The ethological significance and olfactory detection of herbivore-induced plant volatiles in interactions of plants, herbivorous insects, and parasitoids. *Arthropod-Plant Interactions* 13:161–179. <https://doi.org/10.1007/s11829-019-09672-5>
- Ha TS, Smith DP (2022) Recent insights into insect olfactory receptors and odorant-binding proteins. *Insects* 13:926. <https://doi.org/10.3390/insects13100926>
- Hajdu C, Molnár BP, Waterman JM, et al (2024) Volatile-mediated oviposition preference for healthy over root-infested plants by the European corn borer. *Plant, Cell & Environment* 47:2228–2239. <https://doi.org/10.1111/pce.14876>
- Halitschke R, Stenberg JA, Kessler D, et al (2008) Shared signals –‘alarm calls’ from plants increase apparency to herbivores and their enemies in nature. *Ecology Letters* 11:24–34. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01123.x>
- Hallberg E, Hansson BS (1999) Arthropod sensilla: Morphology and phylogenetic considerations. *Microscopy Research and Technique* 47:428–439.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19991215\)47:6<428::AID-JEMT6>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19991215)47:6<428::AID-JEMT6>3.0.CO;2-P)
- Hallberg E, Hansson BS, Löfstedt C (2003) Sensilla and proprioceptors. In: Christensen N (ed) *Handbook of Zoology, Vol. IV. Part 36. Lepidoptera, moths and butterflies. Vol. 2., Morphology, physiology, and development.* De Gruyter, pp 267–288
- Hallberg E, Hansson BS, Steinbrecht RA (1994) Morphological characteristics of antennal sensilla in the European cornborer *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Tissue Cell* 26:489–502. [https://doi.org/10.1016/0040-8166\(94\)90002-7](https://doi.org/10.1016/0040-8166(94)90002-7)
- Hallem EA, Ho MG, Carlson JR (2004) The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna. *Cell* 117:965–979. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.05.012>

- Hansson BS, Almaas TJ, Anton S (1995) Chemical communication in heliothine moths. *J Comp Physiol A* 177:535–543. <https://doi.org/10.1007/BF00207183>
- Hansson BS, Anton S (2000) Function and morphology of the antennal lobe: New developments. *Annu Rev Entomol* 45:203–231. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.203>
- Hansson BS, Hallberg E, Löfstedt C, Steinbrecht RA (1994) Correlation between dendrite diameter and action potential amplitude in sex pheromone specific receptor neurons in male *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Tissue and Cell* 26:503–512. [https://doi.org/10.1016/0040-8166\(94\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0040-8166(94)90003-5)
- Hansson BS, Löfstedt C, Foster SP (1989) Z-linked inheritance of male olfactory response to sex pheromone components in two species of tortricid moths, *Ctenopseustis obliquana* and *Ctenopseustis sp.* *Entomologia Experimentalis et Applicata* 53:137–145. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1989.tb01298.x>
- Hansson BS, Löfstedt C, Roelofs WL (1987a) Inheritance of olfactory response to sex pheromone components in *Ostrinia nubilalis*. *Naturwissenschaften* 74:497–499. <https://doi.org/10.1007/BF00447935>
- Hansson BS, Löfstedt C, Roelofs WL (1987b) Inheritance of olfactory response to sex pheromone components in *Ostrinia nubilalis*. *Naturwissenschaften* 74:497–499. <https://doi.org/10.1007/BF00447935>
- Hansson BS, Stensmyr MC (2011) Evolution of insect olfaction. *Neuron* 72:698–711. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.11.003>
- Harmon JP, White JA, Andow DA (2003) Oviposition behavior of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) in response to potential intra- and interspecific interactions. *Environ Entomol* 32:334–339. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-32.2.334>
- Harrewijn P, Minks AK, Mollema C (1994) Evolution of plant volatile production in insect-plant relationships. *Chemoecology* 5:55–73. <https://doi.org/10.1007/BF01259434>
- Hartstack AW, Witz JA, Buck DR (1979) Moth traps for the tobacco budworm. *Journal of Economic Entomology* 72:519–522. <https://doi.org/10.1093/jee/72.4.519>
- Haupt SS, Sakurai T, Namiki S, et al (2010) Olfactory information processing in moths. In: Menini A (ed) *The Neurobiology of Olfaction*. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (FL)

- Hillier NK, Baker TC (2016) Pheromones of heliothine moths. In: 21. Pheromones of Heliothine Moths. University of California Press, pp 301–334
- Huang C-H, Yan F-M, Byers JA, et al (2009) Volatiles induced by the larvae of the Asian corn borer (*Ostrinia furnacalis*) in maize plants affect behavior of conspecific larvae and female adults. *Insect Science* 16:311–320. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2009.01257.x>
- Hudon M, LeRoux MJ, Harcourt DG (1989) Seventy years of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) research in North America. *Agricultural Zoology Reviews* 3:53–96
- Ibba I, Angioy AM, Hansson BS, Dekker T (2010) Macroglomeruli for fruit odors change blend preference in *Drosophila*. *Naturwissenschaften* 97:1059–1066. <https://doi.org/10.1007/s00114-010-0727-2>
- Jacobson M (2012) *Insect sex pheromones*. Elsevier
- Jaenike J (1978) On optimal oviposition behavior in phytophagous insects. *Theoretical Population Biology* 14:350–356. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(78\)90012-6](https://doi.org/10.1016/0040-5809(78)90012-6)
- Jermey T (1984) Evolution of Insect/Host Plant Relationships. *The American Naturalist* 124:609–630. <https://doi.org/10.1086/284302>
- Jönsson M (2005) Responses to oilseed rape and cotton volatiles in insect herbivores and parasitoids. SLU, Sweden
- Kalinova B, Minaif A, Kotera L (2013) Sex pheromone characterisation and field trapping of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae), in South Moravia and Slovakia. *EJE* 91:197–203
- Kanzaki R, Ando N, Sakurai T, Kazawa T (2008) Understanding and reconstruction of the mobiligence of insects employing multiscale biological approaches and robotics. *Advanced Robotics* 22:1605–1628. <https://doi.org/10.1163/156855308X368949>
- Karlson P, Luscher M (1959) Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature* 183:55–56. <https://doi.org/10.1038/183055a0>
- 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. <https://doi.org/10.1242/jeb.017319>
- Kárpáti Z, Fejes-Tóth A, Bognár C, et al (2016) Pheromone-based monitoring of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) in Hungary. *Maydica* 61:

- Kárpáti Z, Molnár B, Szöcs G (2007) Pheromone titer and mating frequency of E-and Z- strains of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis*: Fluctuation during scotophase and age dependence. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 42:331–341
- Kárpáti Z, Olsson S, Hansson BS, Dekker T (2010) Inheritance of central neuroanatomy and physiology related to pheromone preference in the male European corn borer. *BMC Evol Biol* 10:286. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-286>
- Kárpáti Z, Tasin M, Carde RT, Dekker T (2013) Early quality assessment lessens pheromone specificity in a moth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110:7377–7382. <https://doi.org/10.1073/pnas.1216145110>
- Keil TA (1999) Morphology and development of the peripheral olfactory organs. In: *Insect olfaction*. Springer Netherlands, Berlin, Germany, pp 5–47
- Keng-Hong T, Nishida R (2005) Synomone or kairomone? – *Bulbophyllum apertum* flower releases raspberry ketone to attract *Bactrocera* fruit flies. *J Chem Ecol* 31:497–507. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-2023-8>
- Kessler A, Baldwin IT (2001) Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* 291:2141–2144. <https://doi.org/10.1126/science.291.5511.2141>
- Keszthelyi, Nowinszky L, Puskás J (2006) Spreading examination of European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) flight types in the background of Péczely's climate districts. *Cereal Research Communications* 34:1283–1290. <https://doi.org/10.1556/CRC.34.2006.4.270>
- Keszthelyi S (2006) Comparative light trap studies in Hungary on the flight of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* hübner) in 1999 – 2001. *Archives Of Phytopathology And Plant Protection* 39:15–23. <https://doi.org/10.1080/03235400500103851>
- Kleineidam CJ, Obermayer M, Halbich W, Rössler W (2005) A macroglomerulus in the antennal lobe of leaf-cutting ant workers and its possible functional significance. *Chem Senses* 30:383–392. <https://doi.org/10.1093/chemse/bji033>
- Klun JA, Brindley TA (1970) cis-11-tetradecenyl acetate, a sex stimulant of the European corn borer. *J Econ Entomol* 63:779–780. <https://doi.org/10.1093/jee/63.3.779>
- Klun JA, Chapman OL, Mattes KC, et al (1973) Insect sex pheromones: minor amount of opposite geometrical isomer critical to attraction. *Science* 181:661–663. <https://doi.org/10.1126/science.181.4100.661>

- Klun JA, Cooperators (1975) Insect Sex Pheromones: Intraspecific Pheromonal Variability of *Ostrinia nubilalis*1 in North America and Europe2. *Environmental Entomology* 4:891–894. <https://doi.org/10.1093/ee/4.6.891>
- Klun JA, Huettel MD (1988) Genetic regulation of sex pheromone production and response: Interaction of sympatric pheromonal types of European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *J Chem Ecol* 14:2047–2061. <https://doi.org/10.1007/BF01014249>
- Klun JA, Maini S (1979) Genetic basis of an insect chemical communication system: the European corn borer. *Environmental Entomology* 8:423–426. <https://doi.org/10.1093/ee/8.3.423>
- Koutroumpa FA (2014) Shifts in sensory neuron identity parallel differences in pheromone preference in the European corn borer. *Front Ecol Evol* 2:. <https://doi.org/10.3389/fevo.2014.00065>
- Koutroumpa, Kárpáti Z, Monsempes C, et al (2014) Shifts in sensory neuron identity parallel differences in pheromone preference in the European corn borer. *Front Ecol Evol* 2:. <https://doi.org/10.3389/fevo.2014.00065>
- Kristoffersen L, Hallberg E, Wallén R, Anderbrant O (2006) Sparse sensillar array on *Trioza apicalis* (Homoptera, Triozidae) antennae-an adaptation to high stimulus levels? *Arthropod Struct Dev* 35:85–92. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2006.04.001>
- Kuebler LS, Schubert M, Kárpáti Z, et al (2012) Antennal lobe processing correlates to moth olfactory behavior. *J Neurosci* 32:5772–5782. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6225-11.2012>
- Kumar GL, Keil TA (1996) Pheromone stimulation induces cytoskeletal changes in olfactory dendrites of male silkmoths (Lepidoptera, Saturniidae, Bombycidae). *Naturwissenschaften* 83:476–478. <https://doi.org/10.1007/BF01144018>
- Kunert M, David A, Becher J, Boland W (2009) Volatile Sampling from Biological Sources by the Closed-Loop-Stripping Technique. *Cold Spring Harb Protoc* 2009:pdb.prot5233. <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5233>
- Kymre JH, Liu X, Ian E, et al (2021) Distinct protocerebral neuropils associated with attractive and aversive female-produced odorants in the male moth brain. *eLife* 10:e65683. <https://doi.org/10.7554/eLife.65683>
- Lassance J-M, Löfstedt C (2009) Concerted evolution of male and female display traits in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *BMC Biology* 7:10. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-7-10>

- Law JH, Regnier FE (1971) Pheromones. Annual Review of Biochemistry 40:533–548.
<https://doi.org/10.1146/annurev.bi.40.070171.002533>
- Leal WS (2013) Odorant Reception in Insects: Roles of Receptors, Binding Proteins, and Degrading Enzymes. Annu Rev Entomol 58:373–391.
<https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153635>
- Leary GP, Allen JE, Bunger PL, et al (2012) Single mutation to a sex pheromone receptor provides adaptive specificity between closely related moth species. Proceedings of the National Academy of Sciences 109:14081–14086.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1204661109>
- Leppik E, Frérot B (2012) Volatile organic compounds and host-plant specialization in European corn borer E and Z pheromone races. Chemoecology 22:119–129.
<https://doi.org/10.1007/s00049-012-0104-z>
- Leppik E, Tammaru T, Frérot B (2014) A View of Diel Variation of maize odorscape. American Journal of Plant Sciences 5:811–820. <https://doi.org/10.4236/ajps.2014.56095>
- Levi-Zada A, Byers JA (2021) Circadian rhythms of insect pheromone titer, calling, emission, and response: a review. Sci Nat 108:35. <https://doi.org/10.1007/s00114-021-01746-w>
- Lewis LC (1975) Natural regulation of crop pests in their indigenous ecosystems and in Iowa agroecosystems: bioregulation of economic insect pests. Iowa State J Res 49:435–445
- Linn CE, Campbell MG, Roelofs WL (1987) Pheromone Components and Active Spaces: What Do Moths Smell and Where Do They Smell It? Science 237:650–652.
<https://doi.org/10.1126/science.237.4815.650>
- Linn CE, Domingue MJ, Musto CJ, et al (2007) Support for (Z)-11-Hexadecanal as a pheromone antagonist in *Ostrinia nubilalis*: flight tunnel and single sensillum studies with a New York population. J Chem Ecol 33:909–921.
<https://doi.org/10.1007/s10886-007-9268-3>
- Linn CE, Roelofs WL (1985) Response specificity of male pink bollworm moths to different blends and dosages of sex pheromone. J Chem Ecol 11:1583–1590.
<https://doi.org/10.1007/BF01012203>
- Linn CE, Young MS, Gendle M, et al (1997) Sex pheromone blend discrimination in two races and hybrids of the European corn borer moth, *Ostrinia nubilalis*. Physiol Entomol 22:212–223. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1997.tb01161.x>

- Liu YB, Haynes KF (1994) Evolution of behavioral responses to sex pheromone in mutant laboratory colonies of *Trichoplusia ni*. *J Chem Ecol* 20:231–238.
<https://doi.org/10.1007/BF02064433>
- Löfstedt C (1993) Moth pheromone genetics and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*.
<https://doi.org/10.1098/rstb.1993.0055>
- Löfstedt C, Hansson BS, Roelofs W, Bengtsson BO (1989) No linkage between genes controlling female pheromone production and male pheromone response in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera; Pyralidae). *Genetics* 123:553–556. <https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.553>
- Lopes LE, Frank ET, Kárpáti Z, et al (2023) The alarm pheromone and alarm response of the clonal raider ant. *J Chem Ecol* 49:1–10. <https://doi.org/10.1007/s10886-023-01407-4>
- Machado, McClure M, Hervé MR, et al (2016) Benefits of jasmonate-dependent defenses against vertebrate herbivores in nature. *eLife* 5:e13720.
<https://doi.org/10.7554/eLife.13720>
- Machado, Zhou W, Ferrieri AP, et al (2017) Species-specific regulation of herbivory-induced defoliation tolerance is associated with jasmonate inducibility. *Ecol Evol* 7:3703–3712. <https://doi.org/10.1002/ece3.2953>
- Maini S, Burgio G (2001) *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lep., Pyralidae) on sweet corn: Relationship between adults caught in multibaited traps and ear damages. *Journal of Applied Entomology* 123:179–185. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.1999.00331.x>
- Maini S, Burgio G (1990) Influence of trap design and phenylacetaldehyde upon field capture of male and female *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lepidoptera: Pyralidae) and other moths. *Boll 1st Entomol Univ Stud Bologna* 45:157–165
- Malausa T, Bethenod M-T, Bontemps A, et al (2005) Assortative mating in sympatric host races of the European corn borer. *Science* 308:258–260.
<https://doi.org/10.1126/science.1107577>
- Malausa T, Leniaud L, Martin J-F, et al (2007) Molecular differentiation at nuclear loci in French host races of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*). *Genetics* 176:2343–2355. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.072108>
- Martel C, Réjasse A, Rousset F, et al (2003) Host-plant-associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. *Heredity* 90:141–149.
<https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800186>

- Martínez G, Soler R, Dicke M (2013) Behavioral ecology of oviposition-site selection in herbivorous true bugs. In: *Advances in the Study of Behavior*. pp 175–207
- Mason CE, Stromdahl EY, Pesek JD (1997) Placement of pheromone traps within the vegetation canopy to enhance capture of male European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 90:795–800.
<https://doi.org/10.1093/jee/90.3.795>
- Mayhew PJ (1997) Adaptive patterns of host-plant selection by phytophagous insects. *Oikos* 79:417. <https://doi.org/10.2307/3546884>
- Mayhew PJ (2001) Herbivore host choice and optimal bad motherhood. *Trends in Ecology & Evolution* 16:165–167. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)02099-1](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02099-1)
- McLeod DGR, Starratt AN (1978) Some factors influencing pheromone trap catches of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Píralidae). *Can Entomol* 110:51–55. <https://doi.org/10.4039/Ent11051-1>
- Meng LZ, Wu CH, Wicklein M, et al (1989) Number and sensitivity of three types of pheromone receptor cells in *Antheraea pernyi* and *A. polyphemus*. *J Comp Physiol* 165:139–146. <https://doi.org/10.1007/BF00619188>
- Mika K, Benton R (2021) Olfactory receptor gene regulation in insects: Multiple mechanisms for singular expression. *Front Neurosci* 15:738088.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2021.738088>
- Mitsuno H, Sakurai T, Murai M, et al (2008) Identification of receptors of main sex-pheromone components of three Lepidopteran species. *European Journal of Neuroscience* 28:893–902. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06429.x>
- Miura N, Nakagawa T, Tatsuki S, et al (2009) A male-specific odorant receptor conserved through the evolution of sex pheromones in *Ostrinia* moth species. *Int J Biol Sci* 5:319–330. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5.319>
- Miura N, Nakagawa T, Touhara K, Ishikawa Y (2010) Broadly and narrowly tuned odorant receptors are involved in female sex pheromone reception in *Ostrinia* moths. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 40:64–73.
<https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2009.12.011>
- Molnár BP, Tóth Z, Fejes-Tóth A, et al (2015) Electrophysiologically-Active Maize Volatiles Attract Gravid Female European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*. *J Chem Ecol* 41:997–1005. <https://doi.org/10.1007/s10886-015-0640-4>

- Morgan ED (2009) Trail pheromones of ants. *Physiological Entomology* 34:1–17.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2008.00658.x>
- Murali-Baskaran, Sharma KC, Kaushal P, et al (2018) Role of kairomone in biological control of crop pests-A review. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 101:3–15.
<https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.07.004>
- Nagai T (1983) On the relationship between the electroantennogram and simultaneously recorded single sensillum response of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 1:85–91.
<https://doi.org/10.1002/arch.940010109>
- Nagakawa T, T S, T N, K T (2005) Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors. *Science (New York, NY)* 307:..
<https://doi.org/10.1126/science.1106267>
- Nagy B (1993) Kukoricamoly (*Ostrinia nubilalis*). In: A növényvédelmi állattan kézikönyve. Akadémiai kiadó, Budapest, pp 495–529
- Nagy B (1970) Rearing of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) on a simplified artificial diet. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae* 5:73–79
- Natale D, Mattiacci L, Hern A, et al (2003) Response of female *Cydia molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) to plant derived volatiles. *Bull Entomol Res* 93:335–342.
<https://doi.org/10.1079/ber2003250>
- Nation JL (2015) *Insect Physiology and Biochemistry*, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton
- Nault LR, Montgomery ME (1977) Aphid pheromones. In: Harris KF, Maramorosch K (eds) *Aphids As Virus Vectors*. Academic Press, pp 527–545
- Ngollo ED, Groden E, Dill JF, Handley DT (2000) Monitoring of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) in Central Maine. *J Econ Entomol* 93:256–263.
<https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.2.256>
- Niimura Y, Nei M (2005) Evolutionary dynamics of olfactory receptor genes in fishes and tetrapods. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:6039–6044.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0501922102>
- Nordlund DA, Lewis WJ (1976) Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *J Chem Ecol* 2:211–220.
<https://doi.org/10.1007/BF00987744>

- Oland LA, Tolbert LP, Mossman KL (1988) Radiation-induced reduction of the glial population during development disrupts the formation of olfactory glomeruli in an insect. *J Neurosci* 8:353–367. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.08-01-00353.1988>
- Olsson SB, Kesevan S, Groot AT, et al (2010) *Ostrinia* revisited: Evidence for sex linkage in European Corn Borer *Ostrinia nubilalis* (Hubner) pheromone reception. *BMC Evol Biol* 10:285. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-285>
- Palmer DF, Schenk TC, Chiang HC (1985) Dispersal and voltinism adaptation of the European corn borer in North America, 1917-1977
- Pelosi P (1998) Odorant-binding proteins: Structural aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences* 855:281–293. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb10584.x>
- Pélozuelo L, Avand-Faghih A, Espahbodi A, et al (2006) Efficiency of pheromone baited traps for monitoring of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Crambidae) in Mazandaran province. 73:19–31
- Pélozuelo L, Frérot B (2006) Behaviour of male European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lep.; Crambidae) towards pheromone-baited delta traps, bucket traps and wire mesh cone traps. *Journal of Applied Entomology* 130:230–237. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2006.01058.x>
- Pélozuelo L, Frérot B (2007) Monitoring of European corn borer with pheromone-baited traps: review of trapping system basics and remaining problems. *J Econ Entomol* 100:1797–1807. [https://doi.org/10.1603/0022-0493\(2007\)100\[1797:moecbw\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-0493(2007)100[1797:moecbw]2.0.co;2)
- Pelozuelo L, Malosse C, Genestier G, et al (2004) Host-plant specialization in pheromone strains of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* in France. *J Chem Ecol* 30:335–352. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000017981.03762.ed>
- Pena A, Arn H, Buser H-R, et al (1988) Sex pheromone of European corn borer: *Ostrinia nubilalis*: polymorphism in various laboratory and field strains. *J Chem Ecol* 14:1359–1366. <https://doi.org/10.1007/BF01020140>
- Pineda A, Soler R, Pozo MJ, et al (2015) Above-belowground interactions involving plants, microbes and insects. *Front Plant Sci* 6:. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00318>
- Priesner E (1988) (Z)-3- and (Z)-5-Decenyl Acetates, Sex-Attractant Components for Male *Eustrotia uncula* Cl. (Lepidoptera: Noctuidae). *Zeitschrift für Naturforschung C* 43:961–962. <https://doi.org/10.1515/znc-1988-11-1226>

- Putnam AR (1988) Allelochemicals from plants as herbicides. *Weed Technology* 2:510–518. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00032371>
- Rafaeli A (2009) Pheromone biosynthesis activating neuropeptide (PBAN): Regulatory role and mode of action. *General and Comparative Endocrinology* 162:69–78. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2008.04.004>
- Raffa KF (2001) Mixed messages across multiple trophic levels: the ecology of bark beetle chemical communication systems. *Chemoecology* 11:49–65. <https://doi.org/10.1007/PL00001833>
- Regnier FE, Law JH (1968) Insect pheromones. *Journal of Lipid Research* 9:541–551. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)42699-9](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)42699-9)
- Riffell JA, Lei H, Hildebrand JG (2009) Neural correlates of behavior in the moth *Manduca sexta* in response to complex odors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:19219–19226. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910592106>
- Ritter FJ (1979) Chemical ecology, odour communication in animals. Elsevier/North Biomedical Press
- Robert C, Erb M, Hiltbold I, et al (2013) Genetically engineered maize plants reveal distinct costs and benefits of constitutive volatile emissions in the field. *Plant Biotechnology Journal* 11:628–639. <https://doi.org/10.1111/pbi.12053>
- Robert C, Ferrieri RA, Schirmer S, et al (2014) Induced carbon reallocation and compensatory growth as root herbivore tolerance mechanisms. *Plant, Cell & Environment* 37:2613–2622. <https://doi.org/10.1111/pce.12359>
- Robert C, Schirmer S, Barry J, et al (2015) Belowground herbivore tolerance involves delayed overcompensatory root regrowth in maize. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 157:113–120. <https://doi.org/10.1111/eea.12346>
- Robert C, Zhang X, Machado RA, et al (2017) Sequestration and activation of plant toxins protect the western corn rootworm from enemies at multiple trophic levels. *eLife* 6:e29307. <https://doi.org/10.7554/eLife.29307>
- Roelofs (2016) Reminiscence of the early days. In: Pheromone communication in moths. University of California Press, pp 1–10
- Roelofs, Glover T, Tang XH, et al (1987a) Sex pheromone production and perception in European corn borer moths is determined by both autosomal and sex-linked genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84:7585–7589. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.21.7585>

- Roelofs WL, Du J-W, Tang X-H, et al (1985) Three European corn borer populations in New York based on sex pheromones and voltinism. *J Chem Ecol* 11:829–836. <https://doi.org/10.1007/BF01012071>
- Roelofs WL, Glover T, Tang X-H, et al (1987b) Sex pheromone production and perception in European corn borer moths is determined by both autosomal and sex-linked genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 84:7585–7589. <https://doi.org/10.1073/pnas.84.21.7585>
- Ruxton GD, Beauchamp G (2008) Time for some a priori thinking about post hoc testing. *Behavioral Ecology* 19:690–693. <https://doi.org/10.1093/beheco/arn020>
- Ryan MF (ed) (2002) Pheromones. In: *Insect Chemoreception: Fundamental and Applied*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 73–112
- Sakurai T, T N, H M, et al (2004) Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silkworm *Bombyx mori*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407596101>
- Sánchez-Gracia A, Vieira FG, Rozas J (2009) Molecular evolution of the major chemosensory gene families in insects. *Heredity* 103:208–216. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.55>
- Scheirs J, De Bruyn L, Verhagen R (2000) Optimization of adult performance determines host choice in a grass miner. *Proc Biol Sci* 267:2065–2069
- Schiestl FP (2010) The evolution of floral scent and insect chemical communication. *Ecology Letters* 13:643–656. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01451.x>
- Schiestl FP, Dötterl S (2012) The evolution of floral scent and olfactory preferences in pollinators: Coevolution or pre-existing bias? *Evolution* 66:2042–2055. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01593.x>
- Schlyter F, Svensson M, Zhang Q-H, et al (2001) A model for peak and width of signaling windows: *Ips duplicatus* and *Chilo partellus* pheromone component proportions- Does response have a wider window than production? *Journal of Chemical Ecology* 27:1481–1511. <https://doi.org/10.1023/A:1010377528683>
- Schneider D (1957) Elektrophysiologische untersuchungen von chemo- und mechanorezeptoren der antenne des seidenspinners *Bombyx mori* L. *Z Vergl Physiol* 40:8–41. <https://doi.org/10.1007/BF00298148>
- Scott EK, Reuter JE, Luo L (2003a) Dendritic development of *Drosophila* high order visual system neurons is independent of sensory experience. *BMC Neurosci* 4:14. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-4-14>

- Scott EK, Reuter JE, Luo L (2003b) Small GTPase Cdc42 is required for multiple aspects of dendritic morphogenesis. *J Neurosci* 23:3118–3123.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-08-03118.2003>
- Seki Y, Rybak J, Wicher D, et al (2010) Physiological and morphological characterization of local interneurons in the *Drosophila* antennal lobe. *Journal of Neurophysiology* 104:1007–1019. <https://doi.org/10.1152/jn.00249.2010>
- Sharma KR, Enzmann BL, Schmidt Y, et al (2015) Cuticular hydrocarbon pheromones for social behavior and their coding in the ant antenna. *Cell Reports* 12:1261–1271.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.07.031>
- Shorey HH (1973) Behavioral responses to insect pheromones. *Annual Review of Entomology* 18:349–380. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.18.010173.002025>
- Shorey HH (1974) Environmental and physiological control of insect sex pheromone behavior. In: *Pheromones*. American Elsevier, New York, pp 62–80
- Showers WB, Reed GL, Robinson JF, Derozari MB (1976) Flight and sexual activity of the European corn borer. *Environmental Entomology* 5:1099–1104.
<https://doi.org/10.1093/ee/5.6.1099>
- Siderhurst MS, Jang EB (2010) Cucumber volatile blend attractive to female melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett). *J Chem Ecol* 36:699–708.
<https://doi.org/10.1007/s10886-010-9804-4>
- Silbering AF, Okada R, Ito K, Galizia CG (2008) Olfactory information processing in the *Drosophila* antennal lobe: Anything goes? *J Neurosci* 28:13075–13087.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2973-08.2008>
- Solé J, Sans A, Riba M, Guerrero A (2010) Behavioural and electrophysiological responses of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* to host-plant volatiles and related chemicals. *Physiological Entomology* 35:354–363. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2010.00750.x>
- Sorenson CE, Kennedy GG, Schal C, Walgenbach JF (2005) Geographical Variation in Pheromone Response of the European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae), in North Carolina: A 20-Y Perspective. *Environ Entomol* 34:1057–1062.
<https://doi.org/10.1093/ee/34.5.1057>
- Sower LL, Vick KW, Tumlinson JH (1974) (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-ol: A chemical released by female *Plodia interpunctella* that inhibits the sex pheromone response of male *Cadra cautella*. *Environmental Entomology* 3:120–122.
<https://doi.org/10.1093/ee/3.1.120>

- Stengl M, Funk NW (2013) The role of the coreceptor Orco in insect olfactory transduction. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 199:897–909.
<https://doi.org/10.1007/s00359-013-0837-3>
- Stewart JG (1994) Monitoring Adult European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) in potatoes on Prince Edward island. *Environmental Entomology* 23:1124–1128.
<https://doi.org/10.1093/ee/23.5.1124>
- Stocker RF, Lienhard MC, Borst A, Fischbach KF (1990) Neuronal architecture of the antennal lobe in *Drosophila melanogaster*. *Cell Tissue Res* 262:9–34.
<https://doi.org/10.1007/BF00327741>
- Stökl J, Steiger S (2017) Evolutionary origin of insect pheromones. *Current Opinion in Insect Science* 24:36–42. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2017.09.004>
- Subchev M, Tóth miklós, Wu D, et al (2000) Sex attractant for *Diloba caeruleocephala* (L.), (Lep., Dilobidae)-(Z)-8-tridecenyl acetate. *Journal of Applied Entomology* 124:197–199. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.2000.00452.x>
- Suh E, Bohbot JD, Zwiebel LJ (2014) Peripheral olfactory signaling in insects. *Current Opinion in Insect Science* 6:86–92. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.10.006>
- Syed Z, Leal WS (2009) Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:18803–18808. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906932106>
- Symonds MRE, Elgar MA (2008) The evolution of pheromone diversity. *Trends in Ecology & Evolution* 23:220–228. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.11.009>
- Tabata J, Takanashi T, Ishikawa Y (2003) Pheromone analysis of wild female moths with a PBAN C-terminal peptide injection for an estimation of assortative mating in adzuki bean borer, *Ostrinia scapulalis*. *J Chem Ecol* 29:2749–2759.
<https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000008018.52213.65>
- Tanasković S, Popović B, Gvozdenac S, et al (2018) Level of larval attack on maize roots as a consequence of artificial infestation with Western corn rootworm eggs. *AGR* 2:.
<https://doi.org/10.7251/AGRENG1701132T>
- Thiele HU (1977) Defense mechanisms of carabids. In: *Carabid beetles in their environments*. Springer Netherlands, Berlin, Germany, pp 102–105
- Thiéry D, Le Quéré JL (1991) Identification of an oviposition-detering pheromone in the eggs of the European corn borer. *Naturwissenschaften* 78:132–133.
<https://doi.org/10.1007/BF01131491>

- Thomas Y, Bethenod M-T, Pelozuelo L, et al (2003) Genetic isolation between two sympatric host-plant races of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner. I. Sex pheromone, moth emergence timing, and parasitism. *Evolution* 57:261–273. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2003.tb00261.x>
- Thompson JN (1988) Evolutionary ecology of the relationship between oviposition preference and performance of offspring in phytophagous insects. *Entomologia Exp Applicata* 47:3–14. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1988.tb02275.x>
- Todd JL, Haynes KF, Baker TC (1992) Antennal neurones specific for redundant pheromone components in normal and mutant *Trichoplusia ni* males. *Physiological Entomology* 17:183–192. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1992.tb01198.x>
- Tóth M, Szarukán I, Nagy A, et al (2016) An improved female-targeted semiochemical lure for the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hbn. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 51:247–254. <https://doi.org/10.1556/038.51.2016.2.9>
- Trona F, Anfora G, Balkenius A, et al (2013) Neural coding merges sex and habitat chemosensory signals in an insect herbivore. *Proc R Soc B* 280:20130267. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.0267>
- Verheggen FJ, Haubruge E, Mescher MC (2010) Alarm pheromones-chemical signaling in response to danger. In: Litwack G (ed) *Vitamins & Hormones*. Academic Press, pp 215–239
- Vermeulen A, Rospars J-P (2004) Why are insect olfactory receptor neurons grouped into sensilla? The teachings of a model investigating the effects of the electrical interaction between neurons on the transepithelial potential and the neuronal transmembrane potential. *Eur Biophys J* 33:633–643. <https://doi.org/10.1007/s00249-004-0405-4>
- Vickers NJ (2006a) Inheritance of olfactory preferences III. Processing of pheromonal signals in the antennal lobe of *Heliothis subflexa* x *Heliothis virescens* hybrid male moths. *Brain Behav Evol* 68:90–108. <https://doi.org/10.1159/000093376>
- Vickers NJ (2006b) Inheritance of olfactory preferences I. Pheromone-mediated behavioral responses of *Heliothis subflexa* x *Heliothis virescens* hybrid male moths. *Brain Behav Evol* 68:63–74. <https://doi.org/10.1159/000093374>
- Vickers NJ, Christensen TA (2003) Functional divergence of spatially conserved olfactory glomeruli in two related moth species. *Chem Senses* 28:325–338. <https://doi.org/10.1093/chemse/28.4.325>

- Visser JH, Ave DA (1978) General green leaf volatiles in the olfactory orientation of the Colorado beetle, *Lerptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24:738–749
- Vogt RG (2005) Molecular basis of pheromone detection in insects. In: *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, pp 753–803
- Vosshall LB, Amrein H, Morozov PS, et al (1999) A spatial map of olfactory receptor expression in the *Drosophila* antenna. *Cell* 96:725–736.
[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80582-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80582-6)
- Vosshall LB, Hansson BS (2011) A unified nomenclature system for the insect olfactory coreceptor. *Chem Senses* 36:497–498. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr022>
- Vosshall LB, Wong AM, Axel R (2000a) An Olfactory Sensory Map in the Fly Brain. *Cell* 102:147–159. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00021-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00021-0)
- Vosshall LB, Wong AM, Axel R (2000b) An olfactory sensory map in the fly brain. *Cell* 102:147–159. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)00021-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)00021-0)
- Vuts J, Koczor S, Imrei Z, et al (2018) Módszerek a kémiai ökológiában. 79:89–109
- Wang L, Anderson DJ (2010) Identification of an aggression-promoting pheromone and its receptor neurons in *Drosophila*. *Nature* 463:227–231.
<https://doi.org/10.1038/nature08678>
- Wang Y, Chen Q, Guo J, et al (2017) Molecular basis of peripheral olfactory sensing during oviposition in the behavior of the parasitic wasp *Anastatus japonicus*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 89:58–70.
<https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2017.09.001>
- Wanner KW, Nichols AS, Allen JE, et al (2010) Sex pheromone receptor specificity in the European corn borer moth, *Ostrinia nubilalis*. *PLoS ONE* 5:e8685.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008685>
- War AR, Sharma HC, Paulraj MG, et al (2011) Herbivore induced plant volatiles. *Plant Signal Behav* 6:1973–1978. <https://doi.org/10.4161/psb.6.12.18053>
- Webster, Bruce T, Pickett J, Hardie J (2010) Volatiles functioning as host cues in a blend become nonhost cues when presented alone to the black bean aphid. *Animal Behaviour* 79:451–457. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.11.028>
- Webster RP, Charlton RE, Schal C, Cardé RT (1986) High-efficiency Pheromone Trap for the European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 79:1139–1142. <https://doi.org/10.1093/jee/79.4.1139>

- Weiss LA, Dahanukar A, Kwon JY, et al (2011) The molecular and cellular basis of bitter taste in *Drosophila*. *Neuron* 69:258–272. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.01.001>
- Whittaker RH, Feeny PP (1971) Allelochemicals: chemical interactions between species. *Science* 171:757–770. <https://doi.org/10.1126/science.171.3973.757>
- Wilson EO (1963) Pheromones. In: *Scientific American*.
<https://www.scientificamerican.com/article/pheromones/>. Accessed 16 Apr 2024
- Wu W, Cottrell CB, Hansson BS, Löfstedt C (1999) Comparative Study of Pheromone Production and Response in Swedish and Zimbabwean Populations of Turnip Moth, *Agrotis segetum*. *J Chem Ecol* 25:177–196.
<https://doi.org/10.1023/A:1020849419193>
- Wyatt TD (2013) *Pheromones and Animal Behavior: Chemical Signals and Signatures*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge
- Wyatt TD (2017) Pheromones. *Current Biology* 27:R739–R743.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.06.039>
- Wyatt TD (2003) *Pheromones and animal behaviour: Communication by smell and taste*. Cambridge University Press
- Yu H, Feng J, Zhang Q, Xu H (2015) (Z)-3-hexenyl acetate and 1-undecanol increase male attraction to sex pheromone trap in *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae). *International Journal of Pest Management* 61:30–35.
<https://doi.org/10.1080/09670874.2014.986560>
- Z K, S O, BS H, T D (2010) Inheritance of central neuroanatomy and physiology related to pheromone preference in the male European corn borer. *BMC evolutionary biology*.
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-286>
- Zakir A, Sadek MM, Bengtsson M, et al (2013) Herbivore-induced plant volatiles provide associational resistance against an ovipositing herbivore. *J Ecol* 101:410–417.
<https://doi.org/10.1111/1365-2745.12041>
- Zhao Z, McBride CS (2020) Evolution of olfactory circuits in insects. *J Comp Physiol A* 206:353–367. <https://doi.org/10.1007/s00359-020-01399-6>

10. RÖVIDÍTÉSEK

E – transz izomer

Z – cisz izomer

E11-14Ac – transz-11-Tetradecenil acetát

Z11-14Ac – cisz-11-Tetradecenil acetát

Ac – acetát

OH – alkohol

Ald – aldehyd

HIPV (Herbivore Induced Plant Volatiles) – herbivorok által indukált növényi illatanyagok

PBP – pheromone binding protein

OBP – odorant binding protein

PBAN (Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide) – feromon bioszintézist serkentő neuropeptid

PBS (Phosphate Buffered Saline) - foszfáttal pufferelt sóoldat

OR (Olfactory Receptor) – szagló receptor

ORN (Olfactory Receptor Neuron) - szagló receptor neuron

AL (Antennal Lobe) - szaglólebeny

PN (Projection Neuron) – projekciós neuron

LN (Local Neuron) – helyi neuron

MGK – Makroglomeruláris komplex

IAC (Inner Antenna-Cerebral Tract) - belső csápidegköteg

OAC (Outer Antenna-Cerebral Tract) - külső csápidegköteg

EAG (Electroantennograph) – elektroantennográf

GC-EAD (Gas Chromatograph coupled with Electroantennography Detector) – gázkromatográfval kapcsolt elektroantennográf

FID (Flame Ionization Detector) – lángionizációs detektor

GC (Gas Chromatograph) – gázkromatográf

GC-MS (Gas Chromatograph coupled with Mass Spectrometry) - gázkromatográfval kapcsolt tömegspektrométer

SSR (Single Sensillum Recording) – egyedi érzékszőr idegi elvezetését mérő műszer

Delta – delta alakú csapda eredeti ragacsanyaggal

Delta+M - delta alakú csapda egérfogásra kifejlesztett ragacsanyaggal

Sátor - nagy fogókapacitású sátor alakú csapda