

Kártevő bogarak kémiai kommunikációjának elektrofiziológiás és viselkedés-megfigyeléssel történő vizsgálata

Doktori értekezés tézisei

VUTS JÓZSEF

Eötvös Lóránd Tudományegyetem Biológia Doktori Iskola
(vezetője: Dr. Erdei Anna)

Zootaxonómia, Állatökológia, Hidrobiológia Doktori
Program (vezetője: Dr. Dózsa-Farkas Klára)

Témavezető: Dr. Tóth Miklós
Belső konzulens: Dr. Szentesi Árpád

Budapest, 2010

BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

Az utóbbi évtizedekben egyre nagyobb hangsúlyt kap az integrált növényvédelem, mint gazdálkodási mód, ahol agrotechnikai, biológiai és olyan kémiai módszereket, amelyek során a felhasznált vegyületek nem toxikusak, együttesen, összehangoltan alkalmazzák a növényvédő szerek minél kisebb mérvű felhasználása érdekében. Az integrált növényvédelem kémiai módszereinek körébe kártevő rovarok esetén az inszekticideken kívül a kártevők feromonjának vagy a táplálékukból származó illatanyagoknak a felhasználása is beletartozik. Erre alapvetően két lehetőség kínálkozik: az ún. légtérrelítéses módszer feromonok segítségével, illetve feromon- és növényi illatanyagok csapdák használata. A csapdákkal egyrészt észlelhetjük a kártevő megjelenését, nyomonkövethetjük rajzásmenetét, másrészt bizonyos esetekben akár közvetlen egyedszámgyérítést is végezhetünk velük (tömeges csapdázás).

Az Elateridae család (pattanóbogarak) és a Scarabaeoidea családsorozat Cetoniidae családjának (virágbogarak) kártevő fajai elleni, illatcsapdákat felhasználó növényvédelem fejlesztésében két lehetőség kínálkozik. Az egyik az adott faj szexferomonjának alkalmazása csalétekként, ami feltételezi az adott feromon komponenseinek szerkezetazonosítását és a szintetikus vegyületkeverékek hatásának optimalizálását. A másik lehetőség növényi eredetű illatanyagok felhasználása csalétekként, amikor az adott bogárfajra vonzó hatású allelokemikáliákat (esetünkben pl. virágillat-anyagot, erjedő gyümölcsökből származó vegyületeket) alkalmaznak. Ez utóbbi módszer kidolgozásához szintetikusan előállított allelokemikáliák, illetve a táplálékból származó illatanyagok laboratóriumi tesztelése, valamint szabadföldi sorozatos kipróbálása, és az aktívnak talált kombinációk optimalizálása szükséges. Munkánk során az Elateridae család két faja (*Agriotes lineatus* L., 1767 és *Agriotes proximus* Schwarz, 1891) esetében a már kutatócsoportunk által korábban azonosított szexferomonos csalétek hatékonyabbá tételében, a Scarabaeoidea családsorozat Cetoniidae családjának Cetoniinae alcsaládjába tartozó négy virágbogárfajnál [bundásbogár (*Epicometis hirta* (= *Tropinota hirta*) Poda, 1761), aranyos rózsabogár (*Cetonia a. aurata* L., 1758), rezes virágbogár (*Potosia cuprea* (= *Protaetia cuprea*) Fabr., 1775), sokpettyes virágbogár (*Oxythyrea funesta* Poda, 1761)] pedig egyrészt a már rendelkezésre álló, a fajok táplálkozási attraktánsaiból álló elegyek

további hatásnövelésében, másrészt új csalogatóanyagok kifejlesztésében láttuk a növényvédelmi előrelépési lehetőséget.

Az *A. lineatus* és *A. proximus* fajokkal kapcsolatos vizsgálatok

Célul tűztem ki, hogy zárt rendszerű illatanyag-gyűjtéses eljárással (lásd Alkalmazott módszerek fejezet) mintát veszek a két faj nőstényei körül keringetett levegőből abban a reményben, hogy sikerül a mintákban azonosítani a korábbi kísérletekben szabadföldön csalogató hatásúnak talált geranil-oktanoátot és geranil-butanoátot.

Annak érdekében, hogy kiderítsem, van-e elektrofiziológiai módszerrel (EAG) és szabadföldi csapdázásos kísérletekkel (viselkedés) kimutatható különbség a két faj feromon-érzékelésében, már ismert, mesterségesen előállított pattanóbogár szexferomon-komponenseket vizsgáltam az *A. lineatus* és *A. proximus* hímek csápján, illetve a két, szabadföldön csalogató hatású geranil-vegyületet dózissorban (0,0001-10 µg tartomány) kívántam tesztelni a bogárcsápokon. A nagy EAG-választ (lásd Alkalmazott módszerek fejezet) kiváltó vegyületeket szabadföldi csapdázásos kísérletekben terveztem kipróbálni.

Mivel a két faj morfológiailag nagyon hasonló, és a hímeket szabadföldön is hasonló összetételű elegyek csalogatják, föltettem a kérdést, hogy vajon a DNS-vizsgálatok milyen mértékű hasonlóságot mutatnak ki közöttük. Tisztában voltam vele, hogy az ilyen jellegű vizsgálatok nem tartoznak doktori munkám szorosan vett témájába, de úgy gondoltam, a DNS-összehasonlítás hasznos kiegészítője lehet a kémiai ökológiai vizsgálatoknak.

A Cetoniinae alcsaládba tartozó virágbogarakkal kapcsolatos vizsgálatok

A bundásbogárral, aranyos rózsabogárral és rezes virágbogárral kapcsolatos vizsgálataim célja az volt, hogy a már rendelkezésre álló csapdát javítsam a csalogatóanyag hatékonyságának növelésén keresztül. Ennek érdekében mesterségesen előállított virágillat-anyagokat terveztem EAG-vizsgálatokban tesztelni a fajok mindkét ivarának csápjain abból kiindulva, hogy számos esetben a csápból nagy EAG-választ

kiváltó vegyületek szabadföldön is csalogató hatást fejtenek ki a faj egyedeire.

Előzményként megemlítendő, hogy a bundásbogárnál egy kétkomponensű, (*E*)-fahéjalkohol és (*E*)-anetol 1 : 1 arányú elegyéből, az aranyos rózsabogár és a rezes virágbogár esetében pedig mindkét faj csalogatására alkalmas, 3-metil-eugenol, 1-feniletanol és (*E*)-anetol 1 : 1 : 1 arányú elegyéből álló csalétket fejlesztettünk ki korábban.

Az utóbbi években főként Dél-Európában, de hazánk egyes helyein is kártevőként fellépő sokpettyes virágbogár fogására eddig nem állt rendelkezésre csapda. Célunk az volt, hogy kémiai és esetleg a vizuális ingereket is kombináltan tartalmazó csapdát fejlesszünk ki, amely később a faj tömeges gyérítésére is alkalmas lehet. Ehhez főként korábbi, nem a sokpettyes virágbogár fogását célzó szabadföldi csapdázásos kísérletek eredményeiből indultunk ki, és EAG-vizsgálatokat terveztünk végezni a faj mindkét ivarának csápján, ahol - az előző három virágbogár fajhoz hasonlóan - szintetikus virágillat-anyagokat akartunk tesztelni.

További céljaim között szerepelt, hogy az újonnan kifejlesztett (sokpettyes virágbogár), a megnövelt csalogató hatású (aranyos rózsabogár, rezes virágbogár) illetve a már ismert (bundásbogár) csalétkék fajspecifikusságát párhuzamosan több európai országban összehasonlítsam. Azt szerettem volna megtudni, hogy van-e különbség az egyes országok között a csalétkék által csalogatott kártevő virágbogár fajok spektrumában, illetve, hogy mennyire fajspecifikusak a csalétkék, vagyis csak a célfajra, vagy esetleg több más olyan kártevő virágbogár fajra is vonzó hatásúak, melyek esetében eddig nem volt ismert a csalétkék valamely összetevőjének csalogató hatása.

Korábbi, az aranyos rózsabogár és rezes virágbogár csalétek-fejlesztésének lehetőségeit vizsgáló kísérleteinkben a két faj csalogatására kiválóan alkalmas háromkomponensű elegy mellé a csapdába erjedő almadarabokat téve szignifikáns fogásnövekedést észleltünk a háromkomponensű attraktánshoz képest. Ezt a fogásnövekedést kizárólag erjedő alma esetében tapasztaltuk, az összeszáradt alma már nem váltott ki hasonló hatást. Célul tűztem ki, hogy zárt rendszerű levegő-áramlásos eljárás során történő illatanyaggyűjtést követően azonosítom az erjedő almadarabokból kiáramló vegyületek közül azokat, melyek GC-EAD vizsgálatokban (lásd Alkalmazott módszerek fejezet) aktivitást váltanak ki a két faj csápjaiból. Mindezt abban a

reményben, hogy a későbbiekben ezen vegyületek között esetleg talállok olyat, amelyiket a jelenleg ismert attraktáns mellé téve egy még erősebb csalogató hatású csalétket kapok.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Elektrofiziológiás vizsgálatok a célfajok csápján (EAG, GC-EAD)

A méréseket az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetben végeztem. Mind a pattanóbogarak, mind a virágbogarak esetében az élő bogárról az alapjánál frissen levágott csápot két üvegapilláris-elektrod közé helyeztem, melyek 0,1 M KCl-oldattal voltak feltöltve. Az egyik elektrod földelve volt, a másik egy nagy belső ellenállású erősítőhöz csatlakozott. Amennyiben a csápon az adott vegyület érzékeléséért felelős receptorok találhatók, ezek egyszerre fognak „kisülni”. Ezt a receptorpotenciál-változást elektroantennogrammnak (EAG) hívjuk, ami felerősíthető és megjeleníthető.

Az általunk vizsgált kártevő bogárfajok kémiai kommunikációjának kutatása során az EAG-vizsgálatok mellett gázkromatográf után kapcsolt elektroantennográfiás detektor (GC-EAD) tesztek is végeztünk. Ha az adott rovarfajból vagy a tápnövényből készített kivonat néhány µl-nyi mennyiségét a GC-be injektáljuk, majd ennek egy részét az EAG-készülékre felpreparált rovarcsápra irányítjuk, a fennmaradó részt pedig egy gázkromatográf lángionizációs (FID) detektorára, akkor két nyomvonalat kapunk, amelyek időben megfeleltethetők egymásnak. Az EAD nyomvonal jelzi azokat az időpontokat, amikor ingerület keletkezett a csápon, míg a FID nyomvonal az anyagmennyiséget, amely az aktivitáshoz rendelhető.

Zárt rendszer levegő-áramlásos eljárás

A vizsgálatokat az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetben végeztem. A zárt rendszerben a levegőt egy pumpa keringteti, amely keresztülhalad a bogarakat vagy almadarabokat tartalmazó, két végén rozsdamentes acélhálós lezárt tartóüvegen, majd a tartóüvegben esetlegesen felszabaduló illatanyagokat az üvegcsőben elhelyezkedő szén szűrőn keresztül szállítja, amely nagy fajlagos felületén megkötö azokat. A szállítást végző

levegő tefloncsövön keresztül visszajut a pumpába, amely tovább keringteti azt a rendszerben. A szén szűrőn megkötődött vegyületek leoldása diklórmetánnal történt.

DNS-vizsgálatok

Az *A. lineatus* és *A. proximus* genetikai összehasonlítását a citokróm-oxidáz I génjeik szekvenciájának elemzésével végeztem az ELTE Mikrobiológia Tanszékén.

Szabadföldi csapdázásos kísérletek

A pattanóbogarakkal kapcsolatos csapdázásos kísérletek során felhasznált csapdatípus a Yatlor f volt; az illatanyagokat (100%-os töménységű, folyékony geranil-butanoát, geranil-oktanoát, geranil-propionát) különböző kombinációkban Kartell típusú kibocsátóba mértem. A Portugáliában, Bulgáriában és Magyarországon párhuzamosan futó kísérletekben a kezelésenkénti ismétlésszám 5 volt.

A virágbogarakkal kapcsolatos valamennyi csapdázásos kísérletben Csalomon[®] VARB3 típusú varsás csapdát használtam. A kibocsátó polietilén tasak volt, amelyre a tesztelni kívánt virágillat-anyagok 100%-os töménységű oldatát mértem.

A bundásbogár családfejlésztésénél az ismert kétkomponensű attraktáns, valamint a metil-szalicilát és a 4-metoxifenetil-alkohol kombinációit teszteltem Bulgáriában és Magyarországon, 5 ismétlésben, két szezont alatt.

Az aranyos rózsabogár és a rezes virágbogár esetében három kísérletben, 1 szezont át vizsgáltam a β -jonon, geraniol és (+)-lavandulol hozzáadásának hatását a fajok ismert, három összetevőből álló attraktánsához. Az ismétlésszám 5-10 között váltakozott. A kísérleti helyszín Magyarország volt.

A sokpettyes virágbogár fogására VARB3z zöldessárga felsőrészű csapdát használtam 5 ismétlésben. A kezelések (*E*)-anetol, 2-feniletanol és (+)-lavandulol különböző kombinációiból álltak. A kísérleti helyszín szintén Magyarország volt.

Az egész szezontos, több közép- és dél-európai országban futó csapdázások helyszínei: Horvátország (3 hely), Bulgária (2 hely), Olaszország (2 hely), Magyarország (1 hely). Az alkalmazott ismétlésszám 4 volt.

SAJÁT EREDMÉNYEK ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

- 1) Zárt rendszerű levegő-áramlásos eljárás segítségével sikerült kimutatnom, hogy mind az *Agriotes proximus*, mind az *A. lineatus* pattanóbogár faj szexferomonja geranil-butanoátot és geranil-oktanoátot tartalmaz. Ezek 1 : 1 arányú keveréke szabadföldön vonzó hatású volt a két fajra.
- 2) Sikerült kimutatnom, hogy az *A. proximus* és az *A. lineatus* pattanóbogár fajok nagyon hasonlóak egymáshoz a szintetikus pattanóbogár-feromonkomponensekre adott csápválaszuk tekintetében, illetve a citokróm-oxidáz I gén egy DNS fragmentumának szekvenciáját illetően.
A nagyfokú hasonlóság, ami vizsgálataink alapján a két pattanóbogárfaj között fennáll, evolúciobiológiai szempontból igen érdekes fajsztérválási folyamatra utalhat, gyakorlati szempontból pedig egy olyan csalétkkel ellátott csapda áll rendelkezésre, amely mindkét fajt eredményesen fogja.
- 3) Elektrofiziológiás vizsgálatokra építve, szabadföldi kísérletek során bebizonyosodott, hogy a bundásbogár kétkomponensű csalétkének vonzó hatását növeli, ha 4-metoxifenil-alkoholt adunk a kétkomponensű elegyhez.
- 4) Elektrofiziológiás vizsgálatokra építve, szabadföldi kísérletek során kiderült, hogy az aranyos rózsabogár és a rezes virágbogár háromkomponensű attraktánsának aktivitása növelhető (\pm)-lavandulol hozzáadásával.
- 5) Sikerült kimutatnom, hogy a 2-feniletanolból és (\pm)-lavandulolból álló 1 : 1 arányú elegy vonzza a sokpettyes virágbogarat, s az ezzel csalétkezett nagy fogókapacitású csapda alkalmas a faj megjelenésének pontos előrejelzésére és rajzáskövetésére.
- 6) Több európai országban, egész szezonn át tartó szabadföldi csapdázás során sikerült rámutatnom, hogy az aranyos rózsabogár és a rezes virágbogár továbbfejlesztett attraktánsa a célfajokon kívül a bundásbogár, a *Tropinota squalida* faj és a suta virágbogár rajzásának követésére is alkalmas.
- 7) Erjedő almából olyan vegyületeket mutattam ki (1-hexanol, ecetsav, butánsav, izovaleriánsav, hexánsav, 3-metil-fenol), amelyeket az aranyos rózsabogár és rezes virágbogár csápja érzékel. Ezen eredmények alapján képezhetik további csalétek-optimalizációs vizsgálatoknak a két fajjal kapcsolatban.

A TÉZISEK ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Tudományos cikkek

TÓTH M, FURLAN L, XAVIER A, VUTS J, SUBCHEV M, TOSHOVA T, SZARUKÁN I, YATSYNIN V (2007): New sex attractant for *Agriotes proximus*: similarities in pheromonal communication with *A. lineatus* (Coleoptera: Elateridae). *IOBC wprs Bulletin* 30: 59-64.

TÓTH M, FURLAN L, XAVIER A, VUTS J, TOSHOVA T, SUBCHEV M, SZARUKÁN I, YATSYNIN V (2008): New sex attractant composition for the click beetle *Agriotes proximus*: similarity to the pheromone of *A. lineatus*. *J Chem Ecol* 34: 107-111.

VUTS J, IMREI Z, TÓTH M (2008): Development of an attractant-baited trap for *Oxythyrea funesta* Poda (Coleoptera: Scarabaeoidea, Cetoniidae). *Z Naturforsch C* 63: 761-768.

VUTS J, SZARUKÁN I, SUBCHEV M, TOSHOVA T, TÓTH M (2009): Improving the floral attractant to lure *Epicometis hirta* Poda (Coleoptera: Scarabaeoidea, Cetoniidae). *J Pest Sci* (in press).

VUTS J, IMREI Z, TÓTH M (2009): New co-attractants synergising attraction of *Cetonia a. aurata* and *Potosia cuprea* to the known floral attractant. *J Appl Entomol* (in press).

Konferencia-absztraktok:

TÓTH M, FURLAN L, XAVIER A, VUTS J, SUBCHEV M, TOSHOVA T, SZARUKÁN I, YATSYNIN V: Új szexattraktáns az *Agriotes proximus* pattanóbogárra: kémiai kommunikációbeli hasonlóságok a vetési pattanóbogárral (*A. lineatus*) (Coleoptera: Elateridae)., absztrakt in (HORVÁTH J; HALTRICH A;

- MOLNÁR J) 53. *Növényvédelmi Tudományos Napok* p. 14, Budapest, február 20-21., 2007.
- VUTS J, IMREI Z, TÓTH M: Improving the field activity of the synthetic floral bait in *Cetonia a. aurata* and *Potosia cuprea* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Cetoniidae)., abstract in (anonym) *23rd Annual Meeting, International Society of Chemical Ecology* p. 101, Jena, július 22-26., 2007.
- VUTS J, IMREI Z, TÓTH M: Az aranyos rózsabogár és a rezes virágbogár csalétkének továbbfejlesztése., pp. 176-183 in (KÖVICS GYJ; DÁVID I) *Proc. 12. Tiszántúli Növényvédelmi Fórum*, Debrecen, október 17-18., 2007.
- VUTS J: Studies on the chemical communication of some elateriid and cetoniin pests., abstract in (anonym) *3rd Sensory Ecology International Course for Postgraduates* p. 28, Lund, október 6-18., 2008.
- VUTS J, TÓTH M: Elektroantenográfiás válasz-spektrumok alkalmazása virágbogarak (Coleoptera: Scarabaeoidea: Cetoniidae) csalétekfejlesztésében., absztrakt in (anonym) *18. Keszthelyi Növényvédelmi Fórum* p. 153, Keszthely, január 30-feb 1., 2008.

A DOLGOZAT TÉMÁJÁBAN MEGJELENT TOVÁBBI PUBLIKÁCIÓK

Tudományos cikkek

TÓTH M, IMREI Z, SZARUKÁN I, VOIGT E, SCHMERA D, VUTS J, HARMINCZ K, SUBCHEV M (2005): Gyümölcs- ill. virágkárokat okozó cserebogárfélék kémiai kommunikációja: egy évtized kutatási eredményei. *Növényvédelem* 41: 581-588.

VOIGT E, TÓTH M, IMREI Z, VUTS J, SZÖLLÖS L, SZARUKÁN I (2005): A zöld cserebogár és az aranyos rózsabogár növekvő kártétele és a környezetkímélő védekezés lehetőségei. *Gyakorlati Agroforum* 16: 63-64.

VUTS J, TÓTH M (2008): Elektroantennográfiás válasz-spektrumok - mire jók és mire nem? *Növényvédelem* 44: 377-384.

Konferencia-absztraktok:

IMREI Z, TÓTH M, VUTS J: A gyakorlati alkalmazás küszöbén: Rózsabogár fajok (Coleoptera: Melolonthidae: Cetoniidae) virág-illatanyagokkal kapcsolatos kémiai kommunikációja., absztrakt in (KUROLI G; BALÁZS K; SZEMESSY Á) 50. *Növényvédelmi Tudományos Napok* p. 42, Budapest, február 24-25., 2004.

TÓTH M, VOIGT E, IMREI Z, SZARUKÁN I, SCHMERA D, VUTS J, HARMINCZ K, SUBCHEV M, SIVCEV I: Semiochemical-baited traps for scarab pests damaging fruits and blossoms., abstract in (anonym) *58th International Symposium on Crop Protection* p. 196, Gent, május 23., 2006.

VUTS J, FURLAN L, SZARUKÁN I, TÓTH M: Is the pheromone of *Agriotes* click beetles a "classical" sex pheromone?, abstract in (anonymus) *23rd IWGO Conference & 2nd International Conference of Diabrotica Genetics*, München, április 5-8., 2009.