

Zárójelentés

Psammotettix fajok (Homoptera: Cicadellidae) összehasonlító autökölógiai vizsgálata
(2007.07.01. – 2012.06.30., támogatás: 4,3 MFt)

A hazai kalászosok egyik domináns floémszívó kártevője a búza törpülés vírus (*Wheat dwarf virus*) vektoraként egyes években súlyos károkat okozó csíkos gabonakabóca (*Psammotettix alienus* (Dahlbom 1850)). Noha a *Psammotettix* nemzetségnek több faja is jelentős egyedsűrűségben fordul elő a szántóföldekkel szomszédos gyepeken, ezek előfordulása a *P. alienus* kivételével a gabonátblákon belül elhanyagolható. Munkánk fő célja olyan biológiai sajátosságok feltárása volt, melyek magyarázatot adnak a *P. alienus* faj kiugró sikerességére a nemzetség más fajaihoz képest a hazai gabonaállományokban. A kísérletsorozat másik célja volt, hogy új ismereteket nyújtsunk a *P. alienus* és az általa terjesztett búza törpülés vírus visszaszorítására irányuló további kutatásokhoz.

A vizsgálatokban a *P. alienus* fenológiáját és fejlődésmenetét, tápnövénykörét, valamint vírusátviteli képességét állandó gyepterületen gyakori *Psammotettix* fajkéval (*P. confinis*, *P. kolosvarensis*) hasonlítottuk össze. Lehetőségünk nyílt továbbá az eredeti pályázatban nem tervezett kisebb vizsgálatot végezni a gyakoribb hazai fajok egyes DNS szekvenciáinak összehasonlítására.

Psammotettix tenyészetek

A munka során gyakran korlátozó tényező volt az egyes fajokból a megfelelő számú kísérleti állat biztosítása. Mivel a *Psammotettix* fajoknál az egyedek faji azonossága csak a hímek esetében, és csak az állatok elpusztulásával járó vizsgálattal állapítható meg, ezért a kísérletekhez külön tenyészetek létrehozása volt szükséges. Ez a *P. alienus* illetve a *P. confinis* fajokból kisebb gondot jelentett. A *P. kolosvarensis* esetében csak a pályázati munka közben találtunk megfelelően domináns forráspopulációt, így az első évek vizsgálataiban a faj nem szerepelt.

1.) Fenológia és fejlődésmenet vizsgálata

Szabadföldi gyűjtések

2008 és 2011 között március végétől több helyszínen (Gödöllő, Bp-Adyliget, Pilisvörösvár) heti rendszerességgel végeztünk fűhálós felderítő gyűjtéseket, hogy megállapítsuk az egyes fajok imágóinak megjelenési időpontját. Az imágók megjelenését követően havonta végeztünk a gyűjtést. A vizsgált fajok imágói közel egy időben jelentek meg április végén - május elején. Az évek között nagyobb különbséget tapasztaltunk, mint a fajok között (1. táblázat). Az imágók november közepéig, egyes években végéig fűhálóval jelentős számban voltak foghatók.

A gödöllői repülőtér melletti legeltetett területen végzett gyűjtések jól reprezentálják azt a jelenséget, hogy számos gyepten májusban a *P. alienus* nem, vagy alig fogható, ellenben később nagy számban megjelenik. A gödöllői területet minden tavasszal a *P. helvolus* dominanciája jellemezte a kisebb számban előforduló *P. confinis* jelenléte mellett, ugyanakkor nyár közepétől jelentős arányban települt be *P. alienus* (1.ábra). A mezőgazdasági területek közé ékelt Bábolna autópálya-pihenőhelyen a *P. kolosvarensis* erős dominanciáját törte meg nyár közepére a *P. alienus* betelepülése.

A 2011. év során az egyes *Psammotettix*-fajok arányának szezonális változását 35 állandó gyepben (zömmel autópálya-pihenők mellett), évi 3 mintavétellel követtük nyomon. A májusban végzett mintavételek során a *P. confinis* fordult elő a legtöbb helyszínen (22), majd *P. kolosvarenis* (14), a *P. alienus* (10) és a *P. helvolus* (9) következett. A *P. alienus* mindössze 3 helyen volt domináns. A júliusban, illetve szeptemberben végzett mintavételek alkalmával ugyanakkor a *P. alienus* már 19 helyszínről előkerült, és több helyszínen dominánssá vált, míg a többi faj előkerülési helyeinek száma alig változott (2-3. táblázat).

A fenológiai adatok a Psammotettix fajok hasonló fejlődésmenete mellett a P. alienus kiemelkedő migrációs hajlamára utalnak. Ebből a szempontból nemcsak az fontos, hogy valószínűleg részben a gabonafélék aratása okozta zavarás hatására jelentős betelepülés történik az állandó gyepekbe, hanem az a tény is, hogy a P. alienus ezekről a területekről a következő év tavaszára ismételten eltűnik. Eredményeink alapján érdemes áttekinteni Koppányi (1976, idézi Sáringer 1989) közleményét, aki a P. alienus imágók feltűnését lucernában csak június közepétől jelzi: valószínűsíthető, hogy a szerző nem a helyben kifejlődő, hanem a tömegesen migrálni kezdő imágókat észlelte.

Tenyészedényes vizsgálatok

Nyitott oldalú izolátorházban, külső hőmérsékleti és nappalhosszúsági viszonyok között, árpa növényeken hasonlítottuk össze a *P. alienus* és a *P. confinis* esetében az tojásrakástól az imágók megjelenéséig eltelt időtartamot. A 2007 június 27-n indult vizsgálatban két-két edényben 20-20 imágót helyeztünk a növényekre izolátorháló alá. Az utódnemzedék imágói mindkét faj esetében 25 nap elteltével jelentek meg nagyobb számban. Mivel a szülőnemzedéket nem vettük ki a hálók alól, az elhúzódó tojásrakás következtében vegyes korösszetételű állományok alakultak ki.

Klímakamrában 28°C-on, hosszúnappalos megvilágítás mellett árpa növényeken végzett kinevelés során a *P. alienus* és *P. confinis* kifejlődésének a tojásrakástól mért időtartama nem különbözött egymástól szignifikánsan (első húsz imágó kifejlődési ideje: $31,8 \pm 2,91$, illetve $33,5 \pm 2,68$ nap, átlag \pm SD), ugyanakkor a hímek rövidebb fejlődési ideje szignifikánsan kisebb volt (faj hatása $F=2,41$ $p=0,129$; nem hatása $F=6,84$ $p=0,012$) (2.ábra). Hasonló körülmények között, de másik évben vizsgálva a *P. kolosvarensis* fejlődési ideje ($37,5 \pm 4,0$) nap volt.

Az ősszel lerakott *P. alienus* és a *P. confinis* tojások áttelelését cserépedényes kísérletekben vizsgáltuk árpa növényeken. A háló alatt tartott állatok (20-20 imágó/edény) 2009. november elejétől rakhatták le tojásaikat külső hőmérsékleti és fényviszonyok mellett, izolátorházban.

1.) December 3-án klímakamrába (26/18 °C, 18/6 L/D) helyeztünk át 5-5 edényt. A klímakamrában a *P. alienus* esetében 30 napon belül jelentős számú lárva (edényenkénti átlag \pm szórás: $23,5 \pm 12,3$) kelt ki. A *P. confinis* esetében lényegesen kisebb volt a kikelő lárvák száma ($4,2 \pm 3,9$), két edényben egyáltalán nem kelt ki lárva.
2.) Az edények másik részét (5-5 edényt) temperált helységbe (0-10 °C) raktuk át, majd március 2-n helyeztük vissza külső hőmérsékleti viszonyok közé. Mindössze két, *P. confinis*-t tartalmazó cserépből keltek ki lárvák (11 db) április elején, amiben valószínűleg jelentős szerepe volt a tojásokat tartalmazó növényi részek előregedésének és leszáradásának. A *P. confinis* sikeresen kifejlődő utódai (5 hím+1 nőstény) későn, május 20 és június 7 között érték el az ivarérettséget, testméretük ($3,15 \pm 0,23$ mm; tibia hossza: $1,46 \pm 0,15$ mm) kisebb volt, mint a szülőgenerációé (hímek testhossza: $3,55 \pm 0,49$ mm; tibia hossza: $1,61 \pm 0,22$ mm).

3.) Az edények harmadik csoportját folyamatosan külső hőmérsékleti viszonyok mellett tartottuk. Ezekben az imágók az első komoly fagyok alkalmával, december 18. előtt elpusztultak. Tavasszal ezeknél az edényeknél nem keltek ki utódok.

A P. alienus és a P. confinis fejlődési ideje arra utal, hogy hazánkban mindkét fajnak három nemzedéke fejlődik ki, az elhúzódó tojásrakási időszak miatt a nemzedékek összefolynak. Ez a P. alienus vonatkozásában Sáringer (1989) megállapításának megerősítését jelenti. Az ősszel rakott tojásokkal végzett vizsgálat megmutatta, hogy sem a P. alienus sem a P. confinis ősszel lerakott tojásait nem védi obligát diapauza a késő őszi keléstől. A második két vizsgálat ugyanakkor nem bizonyult alkalmasnak arra, hogy a szabadföldi körülmények között történő áttelelésről, illetve tavaszi egyedfejlődésről képet kapjunk.

2.) Tápnövénykör vizsgálata

A *P. alienus*, *P. confinis* és *P. kolosvarensis* fajok állományai több nemzedéken keresztül egyaránt problémamentesen szaporodtak kizárólag árpa, búza vagy zab növényeken. A *P. alienus* számára a kukorica is több nemzedéken át megfelelő tápnövény volt. A kukoricán kifejlődő *P. confinis* imágók száma és testmérete is elmaradt az árpán fejlődőkéitől, míg *P. kolosvarensis* imágókat kukoricára helyezve azok néhány napon belül elpusztultak.

A három *Psammotettix* faj túlélését és szaporodását elsősorban állandó gyepekben gyakori pázsitfűfajokon vizsgálva megállapítottuk, hogy a *P. alienus* potenciális tápnövényköre a pázsitfűfélék között lényegesen szélesebb a másik két fajénál. Míg a *P. alienus* 18 vizsgált fajból mindössze négyen (22 %) nem volt képes hetekig fennmaradni, addig a *P. confinis* 17 fajból 7-n (41 %), a *P. kolosvarensis* pedig 13 fajból 8-n (38 %) nem maradt életben (4. táblázat).

A nem pázsitfű-féléken 2 ismétlésben 10-10 imágóval végzett túlélés-tesztekben a vizsgálatban szereplő növényfajokra (lucerna, paradicsom, ürömmelű parlagnyír, molyhos sás (*Carex tomentosa*), madárkeserűfű (*Polygonum aviculare*), pongyola pitypang (*Taraxacum officinale*), közönséges pipacs (*Papaver rhoeas*)) helyezett imágók (*P. alienus*, *P. kolosvarensis*, *P. confinis*) túlnyomó része 3 napon belül elpusztult, 7 napnál hosszabb túlélés nem fordult elő. A vizsgálatot az elektropetrográfus munka háttéréként később molyhos sás, parlagnyír, illetve árpa növényeken négy ismétléssel újra elvégeztük, hasonló eredménnyel (3. ábra).

Eredményeink alapján a növények minősége önmagában nem indokolja a P. confinis és a P. kolosvarensis hiányát a gabonátáblákon. Más részről a P. alienus szélesebb gazdanövényköre fontos előny lehet a faj számára, mikor a gabonátáblák egységes száradásakor (aratásakor) vándorlásra kényszerül. Eredményeink alapján valószínűsíthető, hogy a vizsgált Psammotettix fajok tápnövényei kizárólag a pázsitfű-félék közül kerülnek ki. Mivel növényhez való hozzáférés nélkül az állatok szobahőmérsékleten jellemzően 24 óra alatt elpusztulnak, a rendszeresen előforduló több napig túlélő egyedek arra utalnak, hogy az állatok valamilyen mértékben legalább folyadékforrásként képesek a nem pázsitfűfélékhez tartozó növényfajokat is hasznosítani.

Elektro-petrográfós vizsgálatok

A pályázathoz kapcsolódóan Magyarországon elsőként installáltunk és alkalmaztunk elektropetrográfós vizsgáló műszert (EPG), mellyel a szipókás rovarok táplálkozási viselkedésének elemei valós időben követhetők nyomon és rögzíthetők (4. ábra). A *P. alienus* szívása során 8 jellegzetes, ismétlődő EPG görbetípust definiáltunk. Meghatároztuk az egyes görbetípusok elektromos eredetét, ami a szipóka extracelluláris, illetve intracelluláris (szállítóedényekben is!) helyzetét jelzi. Az elektromotoros eredet, illetve az egyéb szipókás fajoknál leírt görbetípusokhoz való hasonlóság alapján megállapítottuk, hogy ezek közül kettő a floémből történő szíváshoz, egy pedig a xilémből, illetve a mezofillum sejtekből történő szíváshoz kapcsolódik. Megállapítottuk, hogy a *P. alienus* szívásai alapján definiált görbetípusok alkalmasak a *P. kolosvarensis* táplálkozási aktivitásának jellemzésére is.

Kimutattuk, hogy a *P. alienus* imágók a hosszútávú túlélésüket nem biztosító parlagfűvön, illetve molyhos sáson is viszonylag hosszú szívásokat végeznek (>30 perc). A korábban definiált görbetípusok alapján megállapítható, hogy az állatok a növények floémjéből is táplálkoznak. Mindazonáltal parlagfűvön és a molyhos sáson a *P. alienus* számos rövid szívási próbálkozása (<300 sec) jellemző, míg kedvező tápnövényen (árpán) a táplálkozás többórás egybefüggő szívási periódusokkal történik.

A két *Psammotettix* faj szívási viselkedésének kilenc paraméterre kiterjedő összevetéséből kiemelhető eredmény, hogy az árpa és parlagfű növényeken a *P. alienus* esetében szignifikánsan hosszabb volt a penetrációk időtartama, mint a *P. kolosvarensis* esetében, illetve hogy molyhos sáson a *P. kolosvarensis* imágók szignifikánsan hosszabb időt töltöttek a szállítószövetekből történő szívással, mint a *P. alienus*. Noha a *P. kolosvarensis* is intenzívebben fogyasztja az árpát, mint a molyhos sást, a két faj szívási viselkedésében tapasztalt különbségek arra utalnak, hogy a *P. kolosvarensis* az árpát a *P. alienus*-nál kevésbé kedveli, a molyhos sást ugyanakkor kitartóbban fogyasztja.

EPG-s vizsgálattal is igazoltuk, hogy a *P. alienus* a kukoricát tápnövényként fogadja el, az edénynyalábokig eljutva az árpához hasonlóan többórás szívásokat végez.

3. Vírusátviteli vizsgálatok

Vizsgálataink során búza törpülés vírussal fertőzött árpanövényeken tartott tenyészetekből származó vektorokat kétféle egészséges árpanövényeken rögzített mikroizolátorokba helyeztük. 10-10 *Psammotettix* imágó alkalmazásával kétnapos vírusleadási idő mellett a vírusátvitel a *P. alienus* esetében 100 %-os, (10/10) hatékonysággal megtörtént, míg a *P. confinis* és a *P. kolosvarensis* esetében nem történt vírusátvitel (0/10). Hasonló feltételek mellett egyetlen *P. alienus* imágó átviteli hatékonysága 50 %-os volt (5/10). Az EPG-os mérésekhez használt aranyszálas rögzítés mellett egyórás éheztetést követően 12 órás vírusleadási idő mellett az átvitel hatékonysága 15 %-os volt (6/40), míg négy-, illetve egyórás táplálkozási lehetőség egyáltalán nem eredményezett vírusátvitelt (0/24 ; 0/24). A zabon, árpán és búzán elvégzett vírusátvitelünk alapján a fentiekhez hasonló körülmények között 3-5 imágó 2-3 napos táplálkozási idő mellett a fogékony növényekre a vírust nagy biztonsággal átviszi.

4. Psammotettix fajok DNS szekvenciáinak összehasonlítása

A vizsgálat célja a vizsgált fajok egységességének, valamint néhány hazai Psammotettix fajjal való filogenetikai kapcsolatának felmérése volt. A mitokondriális CytB gén mintegy 800 bp-os szakaszának összehasonlításában 3-3 különböző hazai élőhelyről származó *P. alienus*, *P. confinis* és *P. helvolus* egyed szekvenciái fajon belül közel teljes egyezést mutattak (>99,8 %). A fajok közötti egyezés mértéke a *P. alienus*, *P. confinis*, *P. helvolus*, *P. kolosvarensis* és *P. slovacus* fajok között 85,3 % és 90,5 % közé esett. Az öt faj azonossága a Magyarországról a 90-es végén kimutatott, kevésbé ismert *P. agrestis* fajjal 69,7 % és 71,7 % közötti volt. A Deltocephalinae alcsaládba tartozó, de a Psammotettix nemzetségtől erősen eltérő *Neolaliturus fenestratus* és a Psammotettix fajok szekvenciáinak megfelelése mindössze 36,6 % és 40,1 % között volt. A vizsgált szekvencián alapuló kladsztikai elemzés szerint a *P. alienus*-hoz a *P. helvolus* áll a legközelebb, és közös ágra kerülnek a kanálkás végű hím párzószerével jellemezhető fajok (*P. alienus*, *P. helvolus*, *P. slovacus*, *P. agrestis*), míg külön ágra került az eltérő ivarszervű *P. kolosvarensis* és *P. confinis*.

Ugyanezen fajok esetében egy mintegy 800 bp hosszú riboszómális DNS szakasz (ITS-2) szekvenciáját is meghatároztuk 2-2 egyed esetében. A szekvenciák fajon belül egyezése 99,5 - 100 % volt. A fajok közötti azonosság 96,1 és 99,9 % közötti volt, kivéve a *P. agrestis* fajt, amely ebben a szekvenciában a CytB szekvenciánál is jobban eltért a többi fajtól (azonosság 32,9 és 39,7 %).

Kiegészítés a közlemények listájához

A kutatás témakörében egy OTDK első helyezést nyert dolgozat, valamint két jelesre értékelt MSc szakdolgozat született:

Tholt Gergely: A csíkos gabonakabóca táplálkozási aktivitásának vizsgálata EPG módszerrel. XXX. OTDK, Agrártudományi Szekció, Növényvédelmi Tagozat

Tholt Gergely 2010: A csíkos gabonakabóca tápnövénykörének és táplálkozásának vizsgálata. ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék.

Nagy Veronika 2011: *Psammotettix* fajok táplálkozásának összehasonlító vizsgálata EPG módszerrel. ELTE TTK Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék.

A *Cereal Research Communication* folyóirat közleményünk benyújtásakor jelentős impakt faktor értékkel rendelkezett, melyet rajtunk kívül álló okok miatt veszített el a közlés évében. Az elektropetrográfus vizsgálatok eredményeiből készített, nemzetközi folyóirathoz küldött közleményünket részben az eltérő opponensi vélemények miatt a várhatónál jóval hosszabb idő után utasították el, átdolgozása folyamatban van. A *P. alienus* migrációjával, illetve a DNS szekvenciák összehasonlításával kapcsolatos eredményeink felhasználásával további közlemény készítését tervezzük.

Hivatkozott közlemény:

Sáringer Gy. 1989: Egyenlő szárnyú rovarok – Homoptera. Kabócák - Auchenorrhyncha. in: A Növényvédelmi állattan kézikönyve. szerkesztette: Jermy T. és Balázs K. Akadémia Kiadó, Budapest 13-75. o.

Táblázatok

fajok	2008	2009	2010	2011
<i>P. alienus</i>	május 9.	április 23.	május 7.	április 29.
<i>P. confinis</i>	május 9.	április 30.	május 7.	április 29.
<i>P. helvolus</i>	május 9.	április30.	május 13.	április 29.
<i>P. kolosvarensis</i>	-	-	-	április 30.

1. táblázat: *Psammotettix* fajok első imágóinak megjelenési időpontja Pest megyében

	május	július	szept.	változás
<i>P. alienus</i>	10	18	19	+ 9
<i>P. confinis</i>	22	24	26	+ 4
<i>P. kolosvarensis</i>	14	16	16	+2
<i>P. helvolus</i>	9	9	8	- 1

2. táblázat: *Psammotettix* fajok előfordulásának szezonális változása állandó gyepekben (35 vizsgált helyből az adott faj előfordulásával jellemezhető helyek száma)

	május	július	szept.	N
<i>P. alienus</i>	11,4 %	37,3 %	36,9 %	243
<i>P. confinis</i>	41,7 %	20,1 %	23,2 %	220
<i>P. kolosvarensis</i>	27,5 %	35,5 %	34,3 %	263
<i>P. helvolus</i>	19,4 %	7,1 %	5,7 %	77
	100 %	100 %	100 %	803

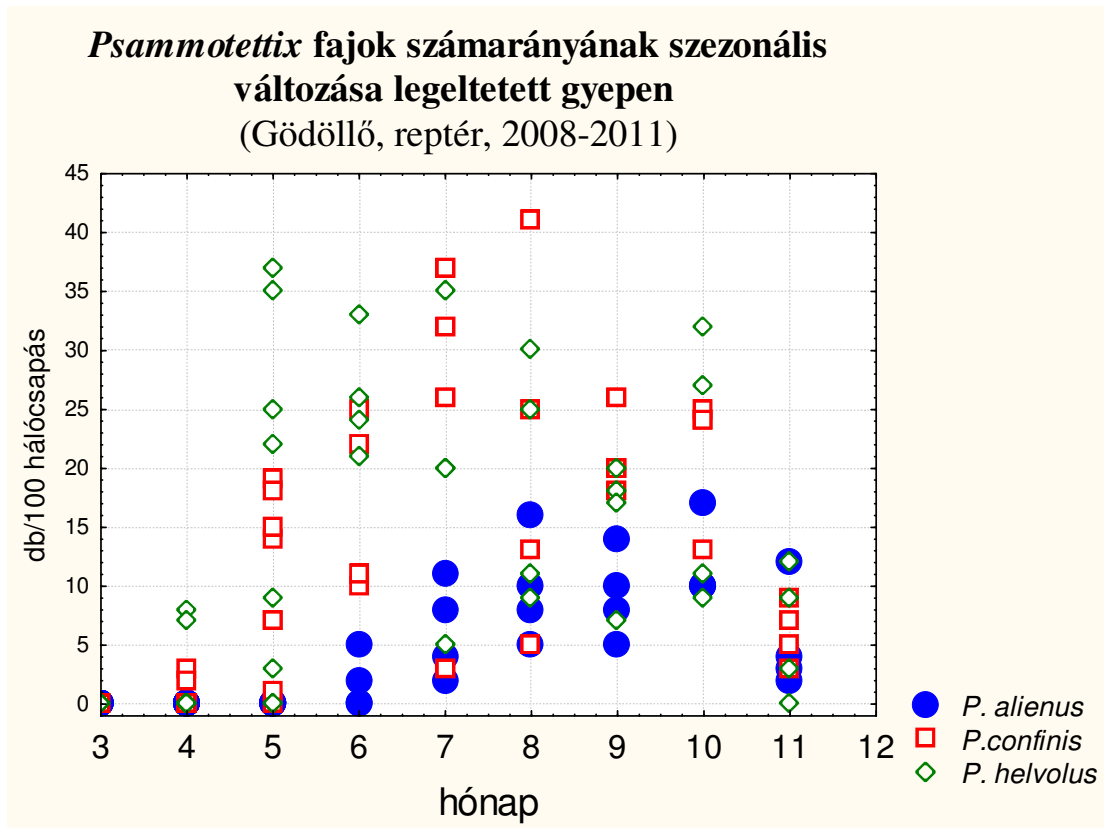
3. táblázat: *Psammotettix* fajok összesített dominanciája a 35 vizsgált gyepben

fajnév	<i>P. alienus</i>	<i>P. confinis</i>	<i>P. kolosvarensis</i>
<i>Setaria italica</i>	0	0	0
<i>Poa pratensis</i>	0	0	-
<i>Bromus inermis</i>	0	0	0
<i>Agrostis stolonifera</i>	1	0	-
<i>Phleum pratense</i>	1	0	0
<i>Festuca pratensis</i>	2	2	0
<i>Bromus erectus</i>	2	0	0
<i>Puccinella distans</i>	2	-	-
<i>Dactylis glomerata</i>	2	2	2
<i>Lolium perenne</i>	2	2	2
<i>Alopecurus pratensis</i>	2	0	-
<i>Arrhenatherum elatius</i>	2	1	2
<i>Bromus arvensis</i>	2	0	0
<i>Avena strigosa</i>	2	2	2
<i>Lolium multiflorum</i>	2	2	-
<i>Echinochloa crus-galli</i>	2	2	0
<i>Lolium temulentum</i>	2	2	2
<i>Setaria glauca</i>	0	0	0

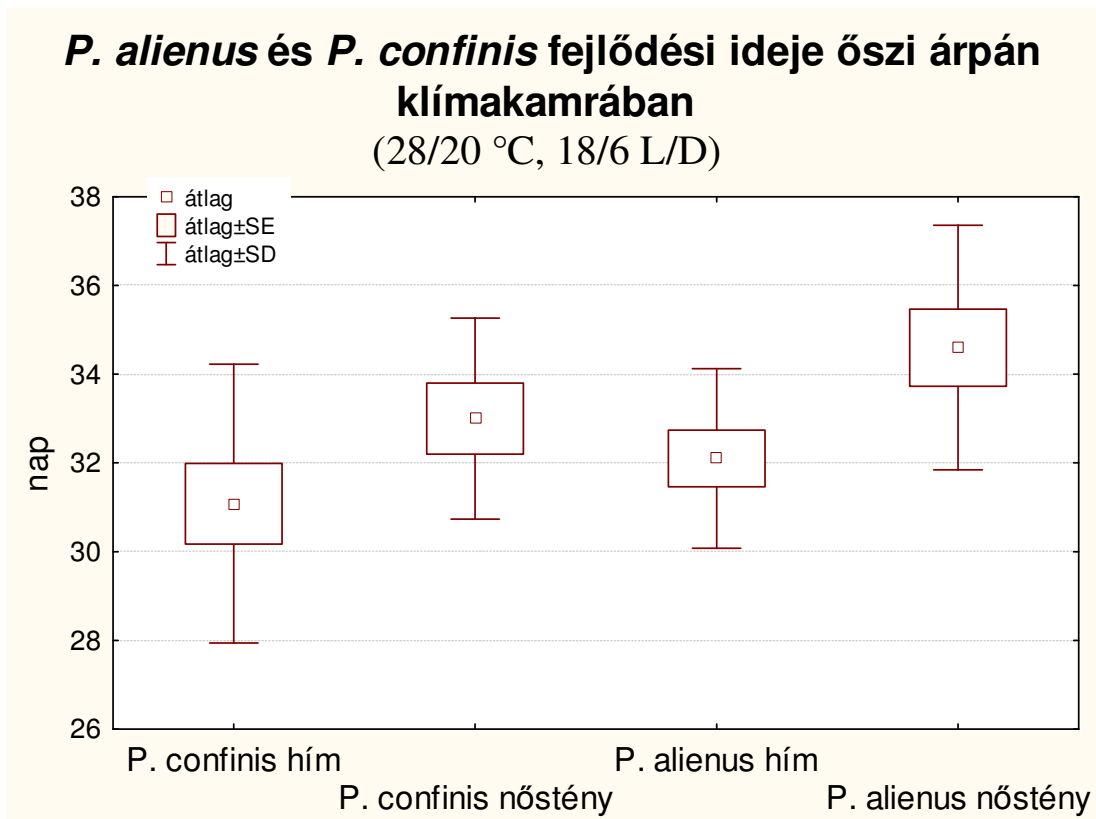
4. táblázat: *Psammotettix* fajok túlélése és szaporodása 4 hét elteltével különféle pázsitfűféléken (0: nincs túlélés; 1: ráhelyezett egyedek részben életben vannak; 2: utódnemzedék megjelenik (lárvák); -: nincs adat)

Ábrák

1. ábra:

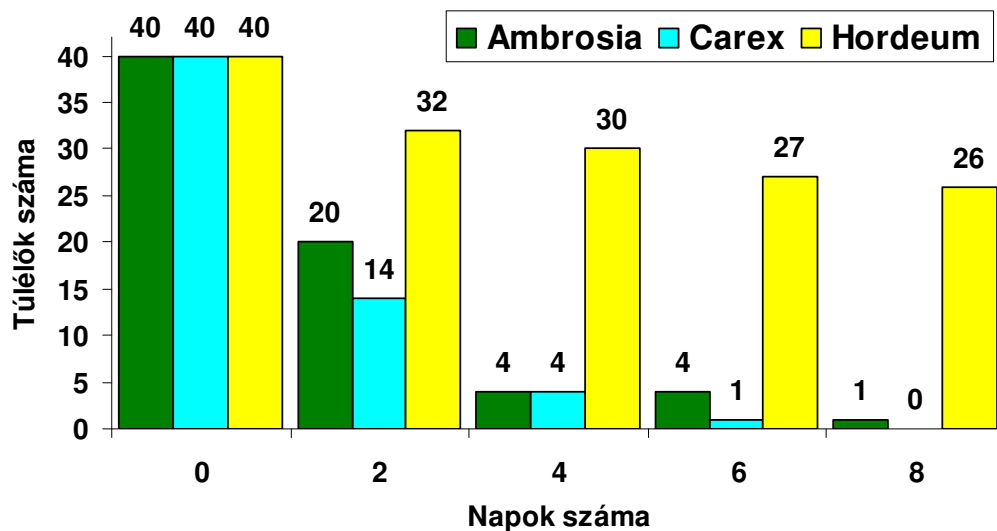


2. ábra:



3.ábra:

***P. alienus* imágók túlélése árpnán, molyhos sáson és parlagfűvön.**



4.ábra:

Elektropenetrográf (EPG) sematikus vázlata

