

MIÉRT NEM KEDVELIK A GOMBASZÚNYOGOK A GOMBAKOMPOSZTOT– AZ ÁTSZÖVETETT CSIPERKEGOMBA KOMPOSZT ILLATANYAGOK REPULZÍV HATÁSA A GOMBASZÚNYOG NŐSTÉNYEKRE

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

ELKH Agrártudományi Kutatóközpont, Növényvédelmi Intézet, 1022 Budapest, Herman Ottó út 15.

*e-mail: molnar.bela.peter@atk.hu

A gombatermesztés legveszélyesebb kártevői a különböző gombaszúnyog fajok. Lárvaik felélik a komposztot és károsítják a csiperkegomba micéliumát, az imágók pedig különböző patogének vektorai. A hazai gombatermesztésben használt inszekticidek száma csekély és nem valószínű, hogy a közeljövőben új készítményt fognak engedélyezni gombaszúnyogok ellen. Az alternatív védekezési eljárások fontos előkövetelménye a célszervezet biológiájának ismerete. A legtöbb esetben valamilyen csalogató anyag azonosítása a cél, amellyel képesek vagyunk csapdázni a kártevőt. Ugyanakkor nem szabad megfeledkezni a repulzív anyagokról sem, amelyekkel a kártevőt tarthatjuk távol a kultúránktól. Kísérleteinkben csápdetektoros mérésekkel (GC-FID/EAD) azonosítottuk a II-es és a III-as komposzt fázisban, valamint friss és kolonizált takaró földben lévő csápakatív komponenseket. A termesztési alapanyagokkal és szintetikus vegyületekkel is megfigyeltük viselkedési vizsgálatokban a *Lycoriella ingenua* nőstények választási preferenciáját. Eredményeink alapján elmondható, hogy a termesztésben használt III-as fázisú csiperkekomposztot, valamint, az abból detektált csápakatív vegyületeket (1-heptén-3-ol, 1-oktén-3-ol, 3-oktanon) és azok keverékét a nőstény gombaszúnyogok szignifikánsan kevésbé választották, mint a többi alapanyagot.

Kulcsszavak: *Lycoriella ingenua*, *Agaricus bisporus*, komposzt illatanyagok, csiperke, gombaszúnyog

A gombatermesztés egy igen speciális szegmensét képezi a mezőgazdaságnak. A termesztéshez szükséges komposzt és szaporító anyag előállítása, valamint a gomba fejlődéséhez szükséges körülmények megteremtése teszik egyedivé ezt az ágazatot. Természetesen a termesztett gombáknak is vannak kártevőik. Régebben változatos kártevő együttesek is megjelentek, mint például rágcsálók, meztelencsigák, vagy ugróvillások, azonban a termesztési technológia fejlődésével ezek a fajok mára teljesen eltűntek, vagy csak igen ritkán fordulnak elő (Fletcher és Gaze 2008). Napjaink gombatermesztésében a veszélyesebbnek számító kártevők a Diptera rendhez tartoznak. A kétszárnyúak közül, a hazai termesztésben kevésbé jelentősebb púposhátú legyek (*Phorid* sp.) időszakosan előfordulhatnak, ugyanakkor jelenlétük jellemzően a hide-

gebb hónapok beköszöntével csökken (Geösel 2016). Azonban a gyászsúnyogok, vagy más néven, gombaszúnyogok (Diptera, Sciaridae) igen veszélyes kártevőknek számítanak nem csak hazánkban, hanem az egész világon is (White 1985; Shamshad 2010); szinte minden termesztett gomba kultúrában előfordulhatnak. A modern holland-típusú gombaházás termesztés lehetővé teszi a csiperkegomba egész éves termesztését, ez viszont a gombaszúnyogok számára is életteret biztosíthat szinte egész évben. A gombatermesztés egyik alapfeltétele az állandó, nedves körülmények biztosítása, ami sajnálatos módon a gombaszúnyogoknak is kedvez (*I. a, b ábra*). A gombaszúnyogok hamar képesek felszaporodni, a nőstények (fajtól függően) akár 200 tojást is lerakhatnak, amelyekből 4–6 nap elteltével kikelnek a lárvaik. A teljes fejlőd-

dési idő erősen függ a hőmérséklettől, 25 °C-on körülbelül 18–20 nap, míg 18 °C-on az imágók kikeléséig akár 40 nap is eltelhet (Frouz és Nováková 2001).



1. ábra. Hím (a) és nőstény (b) gombaszúnyogok csiperke termőtesteken

Több tényező együttese adja a gombaszúnyogok veszélyességét. Bár az imágók fizikailag nem tesznek kárt a termőtestekben, számos patogén szervezetet képesek bevinni, és tovább terjeszteni a természet létesítményen belül, például a zöld komposzt penész betegség kórokozóját (*Trichoderma aggressivum* fs. *aggressivum/europaeum*), amely a csiperketermesztés legveszélyesebb patogénjének

számít (Cloonan és mtsai 2016). A száraz mólé betegségért felelős *Lecanicillium fungicola* var. *fungicola* patogén gombát is képes a természetközeli termőtestekből tovább hurcolni (Shamshad 2008). Az imágókon túl, a lárvák is hozzájárulnak a kártételhez. A lárvák, erős kitines rágóikkal, a komposztot is felélik – ezzel tápanyagot és vizet vesznek el a csiperke micéliuma elől – továbbá táplálkozás közben elfogyasztják a csiperke micéliumát és a fejlődő termőtestkezdeményeket is károsíthatják (Fletcher és Gaze 2008). A lárvák ürüléke a micélium számára kedvezőtlen irányba tolhatja el a komposzt pH szintjét. A kártevő elleni védekezést nehezíti, hogy a difflubenzuron hatóanyag-tartalmú szerek kivonásával Magyarországon egyetlen növényvédő szer maradt engedélyezve csiperke kultúrában, az entomopatogén fonálférgeket tartalmazó biopreparátumok, pl. *Nemasys* (NÉBIH, *Nemasys* engedélyokirat). Ugyanakkor ezek a készítmények sem biztosítanak teljes körű megoldást. A többi termesztett gombafajnál (laskagomba és hibridjei, déli tőkegomba, ördögsekér laskagomba, shiitake stb.) sajnos egyetlen készítmény sincs engedélyeztetve hazánkban, így ezekben a kultúrákban óriási számban képesek felszaporodni a kártevők. A jövőben új készítmények engedélyezésére nem lehet számítani, hiszen a mezőgazdaságban kijuttatott növényvédő szerek mennyiségét az Európa Unió közel 50%-kal szeretné csökkenteni (EU Farm to Fork Direktíva). Léteznek alternatív, agrotechnikai megoldások is, ilyenek például a szellőzők borítása kis lyukméretű hálózattal, szerves hulladékok (lehumult takaróföld, komposzt, termőtest maradék) eltávolítása, helyes szedési sorrend betartása, de ezek sem nyújtanak tökéletes védelmet a rovarok ellen (Geösel 2016).

Megoldást jelenthetnek a csalogató anyagokkal foglalkozó kutatások, amelyek elősegíthetik a tömegesen fogó csapdák fejlesztését. Első lépésként a rovar tápnövényét, ebben az esetben gombakultúrát, érdemes megvizsgálni, hogy a komposztban lévő illékony komponensek milyen hatással vannak a gombaszúnyogokra. Kísérleteinkben viselkedési vizsgálatok-

kal teszteltük a csiperkegomba komposztjában, valamint a termesztésben használt takaró földben található egyes komponensek hatását a *Lycoriella ingenua* nőtényekre.

Anyag és módszer

Rovar tenyésztés

A kísérletekben használt *L. ingenua* imágók laboratóriumi tenyészetből származtak. A fajtiszta *L. ingenua* tenyészet alapításához a gombaszúnyogokat a Bio-Fungi Kft. ócsai telephelyén megtalálható gombatermesztő házakból gyűjtöttük. Az imágókat taxonómiai bélyegek alapján határoztuk meg a fajtiszta tenyészet alapításához (Menzel and Mohrig 2000, Oosterbroek 2015). Az imágókat laboratóriumi körülmények között, 23 ± 1 °C hőmérsékleten, 85% relatív páratartalom mellett tartottuk, 870 ml-es műanyag konténerben, 95%-os nedvesség tartalmú sterilizált felláp tőzegen (400 g) (Kekillä DSM 3 W, Kekillä Professional, Vantaa, Finnország). A lárváknak táplálékként továbbá étkezési zabpelyhet és élesztő granulátumot adtunk. A konténerek tartalmát minden gombaszúnyog nemzedék kifejlődése után frissre cseréltük elkerülve az atkásodást illetve a penészgombák megjelenését. Az alkalmazott tenyésztési módszerrel és körülményekkel, egy nemzedék átlagosan 16 nap alatt fejlődött ki.

Gombatermesztési anyagok

Az illatanyag-gyűjtéshez, az elektrofiziológiai- és a viselkedési vizsgálatokhoz az alábbi gombatermesztési alapanyagokat használtuk:

- II. fázisú csiperke komposzt: hőkezelésen átesett, de még a csiperke micélium által nem átszövetett komposzt;
- III. fázisú (átszövetett) csiperke komposzt: termesztésben használt vegetatív szaporítóanyaggal (szaknyelven: gombacsíra) összekevert II. fázisú komposzt. Üzemi körülmények között, körülbelül 14–16 nap szükséges, amíg megfelelő mértékben átszövi a csiperke micéliuma a komposztot;

- takaró föld: speciális tőzegkeverék, melyet a III. fázisú, már átszövetett komposzt tetejére rétegeznek 4–6 cm vastagságban, elősegítve ezzel a termőtest képződést;
- átszövetett takaró föld: a lappangási időszak alatt a micélium átszövi a takaró földet is, amelyhez körülbelül 6–9 nap szükséges.

A II. és a III. fázisú gombakomposztot, valamint a takaró föld mintákat a Bio-Fungi Kft. biztosította számunkra.

Dinamikus- és statikus illatanyag-mintavétel gombatermesztési anyagokról

A gombatermesztési anyagok illatmintázának megállapításához, összehasonlításához, illetve a gombaszúnyogokon elvégzett csápedektoros vizsgálatokhoz szükségünk volt illatanyaggyűjtésekre – azaz a kibocsátott illatok oldatba vitelére. Ehhez 15 g friss II., illetve III. fázisú gombakomposztot és 15 g friss, illetve átszövetett takaró földet mintáztunk. A mintákat üveghengerekbe helyeztük, amelyek mindkét végükön gyorscsatlakozóval voltak kialakítva a megfelelő átmérőjű (belső átmérő: 5 mm, falvastagság 1 mm) teflon cső csatlakoztatásához. A vákumpumpák segítségével (Thomas G 12/02 EB, Thomas GmbH, Fürstenfeldbruck, Germany) 1 liter/perc térfogatárammal levegőt szívunk át a rendszerbe illesztett aktív szén filteren (10 g) majd pedig a mintákat tartalmazó üveghengereken. A minták által a zárt légtérbe kibocsátott illékony vegyületeket egy nagy tisztaságú, 5 mg töltetű aktív szenet tartalmazó filteren (Brechtbühler AG, Schlieren, Switzerland) gyűjtöttük össze 4 óra alatt (Molnár és mtsai. 2015). Minden kezelés esetében 3 ismétlést végeztünk. Az illatanyagok gyűjtése után a filterekről a mintákat 100 µl diklórmétánnal (99,9% tisztaság, VWR Chemicals) oldottuk le, és felhasználásig –40 °C-on tároltuk. Az illatanyag mintákat bioszenzoros mérésekhez (GC-FID/EAD) és kémiai szerkezet meghatározáshoz (GC-MS) használtuk fel.

A III-as fázisú komposzt gőzterében lévő csápakatív komponensek arányát és illatanyag pro-

filját DVB/PDMS/CAR (StableFlex, 50/30 μm , Supelco, Sigma-Aldrich, Bellefonte, PA, USA) bevonatú szilárd fázisú mikroextrakciós (SPME) módszerrel vizsgáltuk. Az SPME szálat a 200 g gombatermesztési közeget tartalmazó mintatároló edény gőzterébe helyeztük, melyet előzetesen 10 percig telítettünk. A mintavétel szobahőmérsékleten 5 percig tartott. Az SPME mintavételt ötször ismételtük meg.

Rovarsáp detektoros gázkromatográfiás (GC-FID/EAD) vizsgálatok

Az elektrofiziológiásan aktív komponensek azonosítását gázkromatográf (GC) kapcsolt bioszenzoros csápdetektorral (GC-FID/EAD) végeztük el. A vegyületeket Agilent 6890N típusú gázkromatográf készülékkel, HP-5 típusú kapilláris oszlopon (30 m \times 0,32 mm \times 0,25 μm , J&W Scientific, Folsom, CA, USA) és egy lángionizációs detektort (FID, 280 $^{\circ}\text{C}$) alkalmazva választottuk el. Az extraktumokból 2 μl -t injektáltunk a 220 $^{\circ}\text{C}$ -os injektor portba „splitless” módban. A gázkromatográf hőmérsékleti programja az alábbi volt: induló hőmérséklet 50 $^{\circ}\text{C}$ volt, majd 1 perc után 10 $^{\circ}\text{C}/\text{perc}$ hőlépcsővel felfűtöttük 230 $^{\circ}\text{C}$ -ig, majd további 10 perc hőtartás következett. A kapilláris oszlopon vivőgázként nagy tisztaságú hélium gázt használtunk, állandó áramlási sebességgel (2,9 ml/perc). Az eluált vegyületeket a csápdetektor felé továbbító ún. transfer line egységet 220 $^{\circ}\text{C}$ -ra fűtöttük. A kifejlett egyedek csápjának preparálását Vuts és munkatársai (2018) leírása alapján végeztük. Minden preparált csápon csak egy mintát mértünk majd új csapot preparáltunk, a méréseket 5 ismétlésben végeztük.

Szerkezet meghatározás gázkromatográfiával kapcsolt tömegspektrográfiával (GC-MS)

A komposzt illatanyagok gőzfázisának összetételét és arányukat gázkromatográf (GC-MS, HP Agilent 5890 GC és 5975 MS) vizsgáltuk. Az SPME szálon adszorbeált illatminta injektálása splitless módban történt. Méréseink során HP-5MS UI típusú (30 m \times 0,25 mm \times 0,25

μm) (J&W Agilent Technologies, USA) apoláris kapilláris oszlopot használtunk. Az injektort 230 $^{\circ}\text{C}$ -ra fűtöttük és splitless módban használtuk (0,5 percig). Az SPME szálat minden mintavétel előtt újra kondicionáltuk 5 percig a GC injektor portjában.

Az oldószeres minták esetében 1 μl -t injektáltunk automata injektor segítségével. A GC-MS gázkromatográfjának hőmérsékleti programja megegyezett a GC-EAD mérések során használt hőprogrammal. A molekulák fragmentálása 70 eV ionizációs feszültséggel történt, a fragmenteket 29–300 m/z mérettartományban szkenneltük. A gázkromatográfiásan elválasztott komponenseket a tömegspektrumok alapján a NIST v15-ös könyvtár, és C8-C40 alkán standard sor injektálására után számolt Kováts retenciós index segítségével, valamint autentikus standard vegyületek 1-oktén-3-ol (98%, CAS 3391-86-4), 3-oktánon ($\geq 98\%$, CAS 106-68-3) és 1-heptén-3-ol ($\geq 98\%$, CAS 4938-52-7) (Sigma-Aldrich) injektálásával azonosítottuk a MassHunter programcsomag Qualitative Analysis szoftver (B.08.00., Agilent Inc.) segítségével.

Viselkedési vizsgálatok

A viselkedési vizsgálatokat egy általunk készített kísérleti arénában végeztük el. Az arénák készítésénél Tibbles és mtsai (2005), valamint Cloonan és mtsai (2016) munkái adtak segítséget. A kísérleti aréna központi kamrájaként egy Petri-csésze szolgált, amelybe a *L. ingenua* nőtényeket helyeztük. A központi kamrához egy-egy üvegfóliát csatlakoztatunk, melynek kupakján a furat a petri-csésze alján található furattal esett egybe. A két furatot tefloncső darabbal „béleltük”, mely belenyúlt a fóliába ezzel létrehozva a kísérleti aréna veremcsapda vagy ún. *pitfall* jellegét. Az arénából 10 db-ot készítettünk, és minden arénába 10 darab 2–3 napos nőtényt helyeztünk. A mintapárok összehasonlítását 5 ismétlésben végeztük el (*l. táblázat*), így kezelésként 500 nőtény választását jegyeztük fel. Szintetikus vegyületek vizsgálatok a vegyületeket analitikai minőségű *n*-hexánban hígítottuk 10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$

koncentrációra, majd pipettával mértük szűrőpapír korongokra Minden szűrőpapírra összesen 10 µl-t pipettáztunk. A szűrőpapír korongokat a fiolába kimért II. fázisú komposztminta tetejére helyeztük, majd a mérések elindítása előtt vártunk 2 percet, hogy az oldószer elpárologhasson. A 45 perces választási idő lejártával feljegyeztük a mintatartó fiolákban található nőstények számát, valamint a központi kamrában maradó, nem választott egyedek számát is.

A *Lycoriella ingenua* nőstényekkel végzett választásos kísérletben felhasznált gombatermesztési anyagok, szintetikus vegyületek és azok összehasonlító kombinációi a kísérletben felhasznált mennyiségekkel

Kezelés 1	Mennyiség (g)	Kezelés 2	Mennyiség (g)	Diszpenzer dózisa (µg)
II. fázis	4	III. fázis	4	–
II. fázis	4	II. fázis + 1-oktén-3-ol	4	100
II. fázis	4	II. fázis + 3-oktanon	4	100
II. fázis	4	II. fázis + 1-heptén-3-ol	4	100
II. fázis	4	II. fázis + 1-heptén-3-ol + 1-oktén-3-ol + 3-oktanon	4	3+1+96
II. fázis	4	Üres fiola	0	–
III. fázis	4	Üres fiola	0	–
III. fázis	4	steril desztillált víz	4	–
Üres fiola	0	Üres fiola	0	–
Takaró föld	4	Üres fiola	0	–
Takaró föld	4	csiperke micéliuma által kolonizált takaró föld	4	–

Statisztikai elemzés

Az összehasonlított mintapárok közötti különbséget az egyes fiolákban található nőstények száma alapján döntöttük el. A minták közötti különbséget egytényezős varianciaanalízissel (ANOVA) állapítottuk meg. Az adatok normalitása teljesült, mivel a rezidumok ferdeség és csúcosság értéke nem haladta meg az 1 abszolút értékét. A szórás-homogenitás csak bizonyos esetekben teljesült, így a páronkénti összehasonlításnál Games-Howel post hoc tesztet végeztünk el.

Eredmények

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

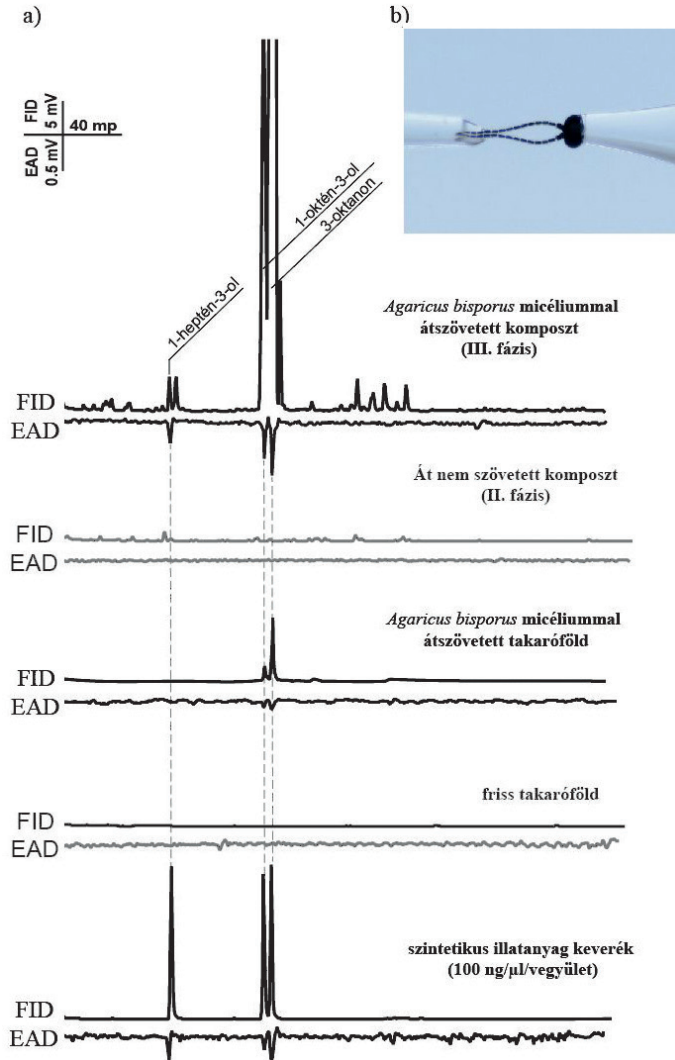
A III. fázisú komposzt gőzteréből gyűjtött vegyületek közül 3 vegyület esetében mutatunk ki erőteljes, megismételhető fiziológiai válaszokat a nőstények csápjáról ($0,091 \pm 0,005$ mV, $0,362 \pm 0,003$ mV és $0,381 \pm 0,004$ mV; N=5) (2. ábra).

1. táblázat

A gázkromatográf kromatogramján az említett vegyületek 3,30; 4,52 és 4,65 percnél jelentkeztek. A komponenseket 1-heptén-3-ol (CAS 4938-52-7), 1-oktén-3-ol (CAS 3391-86-4) és 3-oktanon (CAS 106-68-3) vegyületként azonosítottuk és szintetikus standard vegyületekkel igazoltuk a meghatározást. A részletes illatált természetesi alapanyagok illékony komponenseit a 2. táblázat foglalja össze.

A II. fázisú komposzt illatprofiljából 12 vegyületet detektáltunk, míg a III-as fázisú komposztból 19-et (2. táblázat). Bár két komposzt

minta sok megegyező vegyületet tartalmaz, ezek abundanciája jelentősen eltér. A III. fázis, a II. fázishoz képest megemelkedett mennyiségű 1-heptén-3-ol, 3-heptanon, 1-oktén-3-ol, 3-oktanon, és linalool vegyületet tartalmazott. A csiperke micéliumával kolonizált takaró föld profilja hasonló volt a III. fázishoz, ugyanakkor a vegyületek mennyiségében itt is voltak különbségek: a kolonizált takaró földben jellemzően alacsonyabb mennyiségben voltak jelen a vegyületek.



2. ábra. a) *Lycoriella ingenua* nőtények elektrofiziológiai csápválaszai gombatermesztési anyagok illatanyagaina b) nőtény *Lycoriella ingenua* csáppreparátuma csápdetektoros gázkromatográfiás vizsgálatban

Viselkedési vizsgálatok

A minták összehasonlításánál, a II. és III. fázisú komposzt esetében, a kísérletben felhasznált nőtények 79,4%-a (397 db) választotta a mintapár valamelyikét. A 397 nőtény 68%-a a II-es, míg 32%-uk a III-as fázisú komposztot választotta ($p < 0,001$). A takaró föld minták vizsgálatánál nem volt szignifikáns különbség a takaró föld és a csiperke micélium által már kolonizált takaró föld között ($p = 0,297$).

A GC-FID/EAD vizsgálatokban fiziológiásan aktívnak bizonyult vegyületekkel is végeztünk viselkedési kísérleteket. A kísérlet során arra kerestük a választ, hogy kiválthatjuk-e a gombaszünyogok III. fázissal szemben mutatott viselkedését, ha a III. fázisban azonosított, fiziológiásan aktív vegyületeket szintetikus formában hozzáadjuk a II. fázis-hoz. A vegyületeket külön-külön, illetve mindhárom egyszerre is hozzáadtuk a II. komposzt fázis-hoz, majd ezeket a keverékeket hasonlítottuk össze kezeletlen II-es fázissal. A kezeletlen II-es fázis minden esetben szignifikánsan több nőtényt csalogatott.

Az 1-heptén-3-ol esetében a 318 választó nőtény 73%-a ment a II. fázist tartalmazó fiolába, míg a maradék 27% a II. + 1-heptén-3-ol tartalmazó mintatartóba ment ($p < 0,001$) (3. ábra). Az 1-oktén-3-ol vegyületet tartalmazó komposzt mintát az aktív nőtények (290) 23%-a választotta a kezeletlen II. fázissal szemben ($p < 0,001$). Hasonló eredményt kaptunk, amikor a hozzáadott komponens 3-oktánon volt; a választó nőtények 71%-a a tiszta II. fázist preferálta ($p < 0,001$). Amikor mindhárom csápkatív vegyületekből készült keveréket is hozzáadtuk a II. fázis-hoz, a *L. ingenua* nőtények szintén a kezeletlen II. fázist választották és csak 21%-uk választotta a szintetikus keveréket is tartalmazó fiolát ($p < 0,001$).

A termesztésben használt anyagokat (II-es fázis, III-as fázis, takaró föld) üres fiolával szemben is megvizsgáltuk, és minden esetben a termesztésben használt anyagot tartalmazó fiolát választották a nőtények ($p < 0,001$). Ugyanakkor, amikor a III-as fázist desztillált vízzel hasonlítottuk össze, akkor egyik fiola között

2. táblázat

A kísérletekben használt egyes gombatermesztési anyagok illatanyag összetétele százalékos megjelenítésben

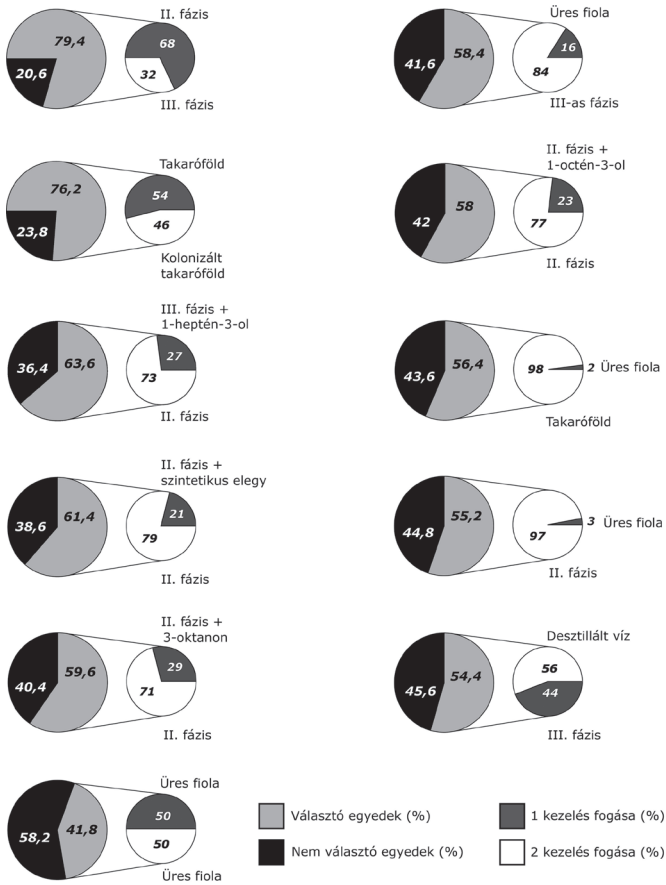
#	Retenciószám index NIST	Vegyületek	CAS	III. fázis	II. fázis	Kolonizált takarófeld	Friss takarófeld
				Area %	Area %	Area %	Area %
1	875	<i>m</i> -xylene	108-38-3	0,38	17,06	0,20	0,00
2	890	2,6-dimethylpyridine	108-48-5	0,38	0,00	0,72	0,00
3	892	1-heptén-3-ol	4938-52-7	0,65	0,00	0,00	0,00
4	987	1-oktén-3-ol	3391-86-4	18,94	8,49	20,93	0,00
5	993	3-oktanon	106-68-3	66,84	0,00	64,40	0,00
6	1000	3-oktanol	589-98-0	3,25	0,00	2,34	0,00
7	1034	2-ethylhexanol	104-76-7	0,63	20,80	4,72	100,00
8	1037	limonene	138-86-3	0,44	7,92	0,13	0,00
9	1082	(<i>Z</i>)-linalool oxide	5989-33-3	1,57	1,68	0,00	0,00
10	1092	3-nonanon	925-78-0	0,52	0,00	0,06	0,00
11	1097	(<i>E</i>)-linalool oxide	34995-77-2	0,48	0,00	0,00	0,00
12	1106	linalool	78-70-6	1,22	4,65	5,80	0,00
13	1127	ismeretlen 1	–	0,27	0,00	0,00	0,00
14	1286	ismeretlen 2	–	0,23	7,27	0,00	0,00
15	1332	ismeretlen 3	–	0,22	7,96	0,00	0,00
16	1469	β -barbatene	53060-59-6	1,99	5,50	0,71	0,00
17	1482	2,6-di-tert-butylquinone	719-22-2	1,46	10,79	0,00	0,00
18	1487	α -cedrene	469-61-4	0,35	1,47	0,00	0,00
19	1579	ismeretlen 4	–	0,00	6,42	0,00	0,00
20	1745	ismeretlen 5	–	0,18	0,00	0,00	0,00
	Összesen:			100,00	100,00	100,00	100,00

se volt szignifikáns különbség ($p=0,230$). Két üres fiola vizsgálatánál nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,230$), az egyedek ugyanolyan gyakorisággal választották az egyik vagy a másik fiolát.

Következtetések

A *Bradysia impatiens* fajnál megállapították, hogy a különböző bakteriális és gomba eredetű illatanyagok befolyásolták a nöstények viselkedését (Braun és mtsai 2012). A csiperkegomba II-es fázisú komposztjában is megtalálható *Scytalidium thermophilum* és *Chaetomium* spp. sugárgombafajok pozitívan hatottak a *Lycoriella ingenua* nöstények

tojásrakására és a lárvák fejlődésére is, ha táplálékként kínáltak fel ezeket (Cloonan és mtsai 2016b). Habár egyes gombafajokról megállapították, hogy kedvezőek tojásrakási és lárvafejlődési szempontból, a kétspórás csiperkegomba esetében az ellenkezőjéről is beszámoltak már (Kielbasa és Snetsinger 1981). Ugyanakkor az *A. bisporus* micélium elkerülése gombaszúnyog fajok között feltehetően különbözik. A *Bradysia impatiens* fajnál ellentétben sem a *Lycoriella castanescens* fajnál (Tibbles és mtsai 2005), sem a *L. ingenua* fajnál nem volt preferencia különbség az átszövetett és nem átszövetett komposzt között olfaktométeres vizsgálatokban (Cloonan és mtsai 2016).



3. ábra: *Lycoriella ingenua* nőtényekkel végzett választásos viselkedési vizsgálatok eredményei: A nagy kördiagram mutatja választó (világos szürke) és nem választó (fekete) egyedek arányát az egyes választásos tesztekben. A kis kördiagram pedig a választó egyedek megoszlását mutatja az aktuális két kezelés között

Korábban közölt eredményekben beszámoltak arról, hogy a *L. ingenua* fejlődésének nem alkalmas a III-as fázisú csiperkekomposzt (Kecskeméti és mtsai 2018). Kísérleteinkből egyértelműen kiderült, hogy a *L. ingenua* nőtény, ha teheti, akkor elkerüli a III-as fázisú, azaz, a csiperke micéliumával átszövetett komposztot. Minden esetben a II-es fázist preferálták a nőtények. A jelenség kémiai hátterét is megvizsgálva a III-as komposztfázis illékony vegyületei közül az 1-heptén-3-ol, 3-oktanon és 1-oktén-3-ol vegyületeket bizonyultak csápaktívnak kifejtett nőtények csápján. Ezen vegyületek felhasználásával végzett kísérletekből kiderült, hogy a komponensek külön-külön,

illetve egyesítve is elkerülő magatartást váltanak ki a nőtényeknél.

A nagyobb 1-heptén-3-ol, 3-heptanon, 1-oktén-3-ol, 3-oktanon mennyiség minden bizonnyal a komposztban, vagy a takaró földben jelenlévő csiperke micélium eredménye. A 3-oktanon és 1-oktén-3-ol a gombák anyagcsere folyamatának a terméke: az oxilipin szintézis során szabadul fel. Ezeket a vegyületeket Grove és Blight (1983) kimutatták már a csiperkegomba által kolonizált komposzt gőzteréből. Ugyanakkor csiperkegombával foglalkozó tanulmányokban idáig nem közölték az 1-heptén-3-ol jelenlétét. A vegyületet azonban a *Lactarius camphoratus* és *Boletus edulis* termőtestek gőzterében azonosították (Zhang és mtsai 2018; Aisala és mtsai 2019).

Minden jel arra mutat, hogy a nőtények egyértelműen elkerülik a csiperkegomba komposztjának illatát, legyen szó III-as fázisú komposztról, vagy a főbb illatkomponenseiről. Ugyanakkor elhamarkodott következtetések levonása előtt érdemes más

egyéb dolgokat is megvizsgálni. A jellemző vegyület, a gombalkohol (1-oktén-3-ol) Cloyd és mtsai (2011) megállapítása szerint számos gombát fogyasztó rovarnál riasztó hatást váltott ki. Ugyanakkor később Holighaus és Rohlf (2016) kifogásolta a kísérletben használt vegyület túl magas koncentrációját. A koncentráció fontosságára Tibbles és mtsai (2005) kísérlete mutatott rá, ahol a *Megaselia halterata* púposhátú légyfaj koncentrációtól függően érdeklődött, vagy elkerülte az 1-oktén-3-ol és 3-oktanon vegyületeket.

Eredményeink alapján arra következtetünk, hogy a kísérletben felhasznált III. fázisú csiperkekomposzt, valamint a felhasznált szintetikus

vegyületek az alkalmazott dózisban elkerülő magatartást váltottak ki *L. ingenua* nőstényekből. Ugyanakkor nem tartjuk kizártnak, hogy ez a repellencia dóziszfüggő lehet és az averzió feltételezhetően egy bizonyos koncentráció felett következhet csak be. Ezt a feltételezést erősítheti a két takaró föld minta összehasonlító vizsgálata. A micéliummal átszövetett takaró föld és az átszövetett komposzt illatmintázata minőségileg hasonló volt (2. táblázat), ugyanakkor a takaró föld mintában jelenlevő komponensek mennyiségi mutatói jelentősen alacsonyabbak voltak. A vizsgálat eredményéből kiderült, hogy a kevésbé „gombaillatú” mintát (a III-as fázishoz képest) a nőstények nagyobb arányban fogadták el. Választás tekintetében a takaró föld és kolonizált takaró föld között nem volt különbség.

A gombaszúnyogok választását befolyásolhatta a felkínált anyagok víztartalma is. Általánosan elmondható, hogy a gombaszúnyogok legfontosabb környezeti igénye a magas páratartalom: azokon a helyeken tudnak nagy számban felszaporodni, ahol a vizes környezet állandóan biztosított (Olson és *mtsai* 2002; Meers és Cloyd 2005). A csiperketermesztésben a termőtestek megfelelő fejlődése érdekében a takaró földet rendszeresen öntözik, így ez egy állandóan nedves élőhelyet ad a gombaszúnyogoknak. Az üres fiolákkal való párosításkor elképzelhető, hogy a friss takaró föld esetében a páratartalom alapján választottak a nőstények, mivel különösebb illatkomponenseket nem detektáltunk a takaró földmintákból GC-MS műszerrel. A páratartalom kardinális fontosságát bizonyíthatják továbbá a III-as komposzttal végzett viselkedési vizsgálatok. A nőstények minden esetben elkerülték a III-as fázist, kivéve, ha üres fiolával volt összehasonlítva. Ugyanakkor ez a szignifikáns választás a III-as fázis javára megszűnt, ha második választási opciónak steril desztillált vizet kínáltunk fel. Tehát a gombaszúnyog nőstények számára, ha nem volt választási lehetőség, akkor a „gombaillat” mennyiségétől függetlenül is felkeresték a III-as fázist. Ugyanakkor, ha nagy nedvességtartalmú, illatmentes anyagot kínáltunk fel nekik, máris kevésbé érdeklődtek a III-as fázis iránt.

Továbbá fontos megemlíteni, hogy a csiperkegomba micéliumát kalcium-oxalát kristályok borítják. Whitney és Arnott (1987) a csiperke micéliumáról készített elektronmikroszkópos felvételek alapján munkájukban rafid szerű kristályokról számolnak be. A kalcium-oxalát felhasználását a gombatermesztésben, mint potenciális „növényvédő szer” Binns (1980) és White (1997) is tesztelték. Mindketten beszámoltak arról, hogy a kalcium-oxalátos kezelés késleltette, és csökkentette a kikelő imágók számát. Feltételezhető, hogy a hegyes rafidkristályok károsítják a lárvák bélrendszerét. Elképzelhető, hogy a nőstények közvetett módon e miatt kerülnek el a micéliummal jól átszövetett komposztot.

Összegzésként arra a következtetésre jutunk, hogy a detektált csápaktív vegyületek feltehetőleg koncentrációtól függően váltanak ki specifikus viselkedési választ a *L. ingenua* nőstényből. A vegyületek alacsony abundanciája aktívan növekvő micélium jelenlétére utalhat, amelyek bizonyos esetekben csalogathatják a *L. ingenua* nőstényeket. Ezt támaszthatja alá, hogy a kolonizált takaró földnél nem volt szignifikáns elutasító magatartás, míg a III-as fázist rendszerint nem választották a nőstények. Érdeemes megvizsgálni a kérdést, hogy mit is jelenthet a nőstény számára, ha nagy koncentrációban érzi a (jellemzően gomba eredetű) csápaktív komponenseket. Egyértelműen látszik kísérleteinkből, hogy ha teheti, akkor a nőstény a II-es fázist választja a III-as helyett. Tehát előnyösebb tojásrakási közeg a II-es fázis. Elképzelhető, hogy a csiperke micéliuma kompetitív szervezet a gombaszúnyog számára, amellyel közös forrásért, a II-es fázisú komposztért verseng. Egy olyan helyre nem biztos, hogy érdemes a nőstényeknek tojást rakni, amelyet már teljes egészében kolonizált egy másik szervezet, jelen esetben az *Agaricus bisporus* micéliuma. Megjegyzendő, hogy a gombaszúnyogok fejlődését (habár nem szükséges) elősegíti a gomba eredetű táplálék fogyasztása, és számos publikáció született arról, hogy különböző gombafajok, milyen módon befolyásolják a gombaszúnyogok egyedfejlődését (Kennedy 1974; Frouz és Nováková 2001; Kühne és Heller 2010). Ugyanakkor korábban

közölt eredményeinkből (Kecskeméti és mtsai 2018), mi úgy véljük, hogy az *A. bisporus* nem optimális tápláléka a *L. ingenua* fajnak. Továbbá, közvetett módon a nagy micéliumsűrűség a magas kalcium-oxalát tartalommal párosul. Nem szabad elfelejteni, hogy a vegyületek nagy abundanciája nem feltétlenül csak a nagy denzitásban jelenlévő micéliumból eredhet. A micélium sérülés következtében is felszabadulhatnak ezek a komponensek (Combet és mtsai 2009). A felszabaduló vegyületeket tehát úgy is értelmezheti a *L. ingenua* nőtény, hogy a közegben súlyosan károsított micélium van, ami a túlzott számban elszaporodott mikofág lárvák jelenlétét jelzi a komposztban, ezzel akadályozva a gombaszúnyog lárvák fejlődését.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozunk a Bio-Fungi Kft.-nek hogy biztosították a kísérletekhez szükséges gombatermesztési alapanyagokat és termesztő házakba történő mintavételeket, gyűjtéseket. A kutatás a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj, az Innovációs és Technológiai Minisztérium Bolyai+ Felsőoktatási Fiatal Oktatói, Kutatói Ösztöndíj ÚNKP-20-5-SZIE-6 (MBP), továbbá az ÚNKP-20-3-II (SZMO) Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával, illetve a GINOP-2.3.2-15-2016-00061 projekt támogatásával készült.

IRODALOM

- Binns, E.S.** (1980): Field and laboratory observations on the substrates of the mushroom fungus gnat *Lycoriella auripila* (Diptera: Sciaridae). *Ann Appl Biol*, 96: 143–152. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1980.tb02973.x>
- Braun, S.E., Sanderson, J.P., Daughtrey, M.L. and Wraight, S.P.** (2012): Attraction and oviposition responses of the fungus gnat *Bradysia impatiens* to microbes and microbe-inoculated seedlings in laboratory bioassays. *Entomol Exp Appl*, 145(2): 89–101. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2012.01315.x>
- Cloonan, K.R., Andreadis, S.S. and Baker, T.C.** (2016): Attraction of female fungus gnats, *Lycoriella ingenua*, to mushroom-growing substrates and the green mold *Trichoderma aggressivum*. *Entomol Exp Appl*, 159(3): 298–304. <https://doi.org/10.1111/eea.12439>
- Cloonan, K.R., Andreadis, S.S., Chen, H., Jenkins, N.E. and Baker, T.C.** (2016b): Attraction, Oviposition and Larval Survival of the Fungus Gnat, *Lycoriella ingenua*, on Fungal Species Isolated from Adults, Larvae, and Mushroom Compost. *Plos One*, 11(12): e0167074. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167074>
- Cloyd, R.A., Marley, K.A., Larson, R.A., Dickinson, A. and Arieli, B.** (2011): Repellency of naturally occurring volatile alcohols to fungus gnat *Bradysia sp. nr. coprophila* (Diptera: Sciaridae) adults under laboratory conditions. *J Econ Entomol*, 104(5): 1633–1639. <https://doi.org/10.1603/ec11066>
- Combet, E., Henderson, J., Eastwood, D.C. and Burton, K.S.** (2009): Influence of Sporophore Development, Damage, Storage, and Tissue Specificity on the Enzymic Formation of Volatiles in Mushrooms (*Agaricus bisporus*). *J. Agric. Food Chem.*, (57) 9: 3709–3717. <https://doi.org/10.1021/jf8036209>
- Cury, K.M., Prud'homme, B. and Gompel, N.** (2019): A short guide to insect oviposition: when, where and how to lay an egg. *J Neurogenet*, 33(2): 75–89. <https://doi.org/10.1080/01677063.2019.1586898>
- EU Farm to Fork Dierktíva:** https://ec.europa.eu/info/strategy/priorities-2019-2024/european-green-deal/actions-being-taken-eu/farm-fork_hu (Lekérdezve: 2021.02.15.)
- Fletcher, J.T. and Gaze, R.H.** (2008): Pests. In: Holleyman, C. (ed.): *Mushroom Pest and Disease Control: A Color Handbook*. Grafos S.A., Barcelona, Spain, 140–166.
- Frouz, J. and Nováková, A.** (2001): A new method for rearing the sciarid fly, *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae), in the laboratory: possible implications for the study of fly – fungal interactions. *Pedobiologia*, 45: 329–340. <https://doi.org/10.1078/0031-4056-00090>
- Geösel, A.** (2016): A termesztett csiperkegomba védelme. *Növényvédelem*, 52(9): 461–471.
- Holighaus, G. and Rohlf, M.** (2016): Fungal allelochemicals in insect pest management. *Appl Microbiol Biot*, 100: 5681–5689. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7573-x>
- Kecskeméti, S., Fail, J. and Geösel, A.** (2018): Development of *Lycoriella ingenua* and *Bradysia impatiens* on different phases of *Agaricus* composts. *Rev Agri Rur Develop*, 7 (1-2): 55-60. ISSN 2063-4803.
- Kennedy, M.K.** (1974): Survival and Development of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae) on Fungal and Non-fungal Food Sources, *Annals of the Entomological Society of America*, Volume, 67(5): 745–749. <https://doi.org/10.1093/aesa/67.5.745>
- Kielbasa, R. and Snetsinger, R.** (1981): The effect of mushroom mycelial growth on the reproduction

- of a mushroom infesting sciarid *Lycoriella mali*. Mels Entomol, S 31: 15–18.
- Kühne, Stefan and Heller, Kai.** (2010): Sciarid fly larvae in growing media- biology, occurrence, substrate and environmental effects and biological control measures. In: Proceedings of the International Peat Symposium. Netherlands, Amsterdam, October 11, 2010. 95–102.
- Meers, T.L. and Cloyd, R.A.** (2005): Egg-laying preference of female fungus gnat *Bradysia sp. nr. co-prophila* (Diptera: Sciaridae) on three different soilless substrates. J Econ Entomol, 98(6): 1937–42. <https://doi.org/10.1093/jee/98.6.1937>.
- Menzel, F. and Mohrig, W.** (2000): Revision der paläarktisch verbreiteten Sciariden. In: Stark A and Menzel F (eds): Revision der paläarktischen Trauermücken (Diptera, Sciaridae). [A Revision of the Palaearctic Black Fungus Gnats (Diptera: Sciaridae).]. Ampyx-Verlag, Halle, Germany, 67– 539.
- NÉBIH, Nemasys engedélykírat** https://novenyvedoszer.nebih.gov.hu/Engedelykereso/DocumentHandler.ashx?documentId=148388050es287347550&documentName=Nemasys-M_mod_20170508.pdf (Le-kérdezve 2021.02.15.)
- Olson, D.L., Oetting, R.D. and van Iersel, M.W.** (2002): Effect of soilless potting media and water management on development of fungus gnats (Diptera: Sciaridae) and plant growth. HortScience, 37(6): 919–923. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.37.6.919>.
- Oosterbroek, P.** (2015): The European Families of the Diptera, Identification – Diagnosis – Biology. (2nd edition) KNNV Publishing. Zeist, Netherlands, <https://doi.org/10.1163/9789004278066>.
- Shamshad, A.** (2010): The development of integrated pest management for the control of mushroom Sciarid flies, *Lycoriella ingenua* (Dufour) and *Bradysia ocellaris* (Comstock), in cultivated mushrooms. Pest Manag Sci, 66(10): 1063–1074.
- Shamshad, A., Clift, A. and Mansfield, S.** (2008): The effect of tibia morphology on vector competency of mushroom sciarid flies. J Appl Entomol, 13: 484–490. [10.1111/j.1439-0418.2008.01362.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2008.01362.x).
- Tibbles, L.L., Chandler, D., Mead, A., Jervis, M. and Boddy, L.** (2005): Evaluation of the behavioural response of the flies *Megaselia halterata* and *Lycoriella castanescens* to different mushroom cultivation materials. Entomol Exp Appl., 116: 73–81. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2005.00272.x>
- White, P.F.** (1985): Pest and Pesticides. In: Flegg, P.B., Spencer, D.M. and Wood, D.A. (eds) The Biology and Technology of the Cultivated Mushroom. John Wiley & Sons, New York, USA, 279–293.
- White, P.F.** (1997): The use of chemicals, antagonists, repellents and physical barriers for the control of *L. auripila* (Diptera: Sciaridae), a pest of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus*. Ann appl Biol, 131(1): 029–042. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1997.tb05394.x>
- Whitney, K.D. and Arnott, H.J.** (1987): Calcium Oxalate Crystal Morphology and Development in *Agaricus bisporus*. Mycologia, 79(2): 180–187. <https://doi.org/10.2307/3807650>.

WHY DOES *LYCORIELLA INGENUA* AVOID MUSHROOM COMPOST – THE REPULSIVE EFFECT OF COLONISED *AGARICUS* COMPOST ON FEMALES

S. Kecskeméti, M.O. Szelényi, A.L. Erdei and B.P. Molnár*

Plant Protection Institute Centre for Agricultural Research ELKH, Herman Ottó street 15. Budapest H-1022 Hungary
*e-mail: molnar.bela.peter@atk.hu

Throughout the world, fungus gnats are deemed to be the most dangerous pest on mushroom cultivation. The larvae feed on the compost and damage the mushroom hyphae, while the adults are important vectors of several pathogens. The number of locally used insecticides in Hungarian mushroom cultivation is scarce, and it is not probable that in the near future a new insecticide will be approved against fungus gnats for farmers to use. The fundamental basics of an alternative pest control strategy is the absolute understanding of the target organism's biology. In a lot of cases the goal is to find components, which can effectively lure a targeted insect species. Nevertheless, we should not forget about the potential of certain substances that may induce avoiding behaviour in pest organisms. In our experiments we detected the antennally active compounds from phase II and III *Agaricus* compost, as well as from fresh and mycelia colonised casing material with GC-FID/EAD. Furthermore, we established the preference of female *Lycoriella ingenua* in two-choice bioassays, using the cultivation materials and synthetic compounds of the active components. According to our data, we have determined that females always discriminated against phase III compost significantly, if the opportunity was given.

Keywords: *Lycoriella ingenua*, *Agaricus bisporus*, compost volatiles, button mushroom, fungus gnat

Érkezett: 2021. március 9.