

ADATOK A VADGESZTENYELEVÉL-AKNÁZÓMOLY
(*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič 1986, Lepidoptera, Gracillariidae)
BIOLÓGIÁJÁRÓL, ELTERJEDÉSÉRŐL ÉS AZ ELLENE VALÓ
VÉDEKEZÉSRŐL

DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

Kovács Zoltán

Témavezető: Dr. Lakatos Ferenc

ERDÉSZETI ÉS VADGAZDÁLKODÁSI TUDOMÁNYOK DOKTORI
ISKOLA

Erdészeti tudományok doktori program

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM

Sopron

2003

ADATOK A VADGESZTENYELEVÉL-AKNÁZÓMOLY
(*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič 1986, Lepidoptera, Gracillariidae)
BIOLÓGIÁJÁRÓL, ELTERJEDÉSÉRŐL ÉS AZ ELLENE VALÓ VÉDEKEZÉSÉRŐL

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta:
Kovács Zoltán

Készült a Nyugat-Magyarországi Egyetem Erdészeti tudományok program
Erdei ökoszisztémák ökológiája és diverzitása (E1 jelű) alprogramja keretében

Témavezető: Dr. Lakatos Ferenc

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(alíírás)

A jelölt a doktori szigorlaton % -ot ért el,

Sopron/Mosonmagyaróvár

.....
a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr.) igen /nem

(alíírás)

Második bíráló (Dr.) igen /nem

(alíírás)

(Esetleg harmadik bíráló (Dr.) igen /nem

(alíírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján.....% - ot ért el

Sopron/Mosonmagyaróvár,

.....
a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése.....

.....
Az EDT elnöke

TARTALOMJEGYZÉK

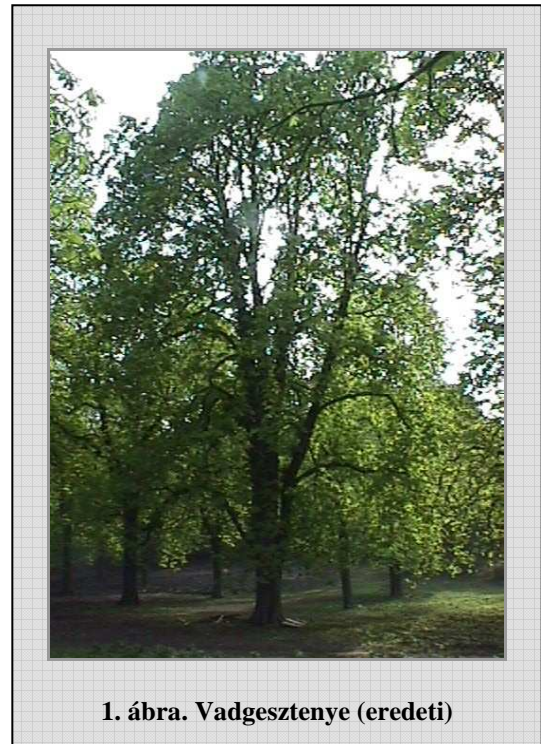
1. BEVEZETÉS	5
2. SZAKIRODALMI FELDOLGOZÁS	8
2.1. A vadgesztenyelevél-aknázómoly morfológiája	8
2.2. A vadgesztenyelevél-aknázómoly életmódja	11
2.3. A vadgesztenyelevél-aknázómoly elterjedése	15
2.4. A vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidjai	20
2.5. A vadgesztenyelevél-aknázómoly elleni védekezés	28
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	35
3.1. Áttelelés és rajzásdinamikai vizsgálatok	35
3.2. Fagyűrész vizsgálatok	37
3.3.1. Mintavétel	38
3.3.2. Kivonás, sokszorozás	40
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	43
4.1. Biológiai vizsgálatok	43
4.1.1. Áttelelés vizsgálatok	44
4.1.2. Rajzásdinamikai vizsgálatok	46
4.1.3. Fagyűrész vizsgálatok	51
4.1.4. Összefoglalás	54
4.2. Genetikai vizsgálatok	55
4.2.1. RAPD-PCR vizsgálatok	55
4.2.2. A COI mitokondriális génszakasz bázissorrendjének meghatározása	68
4.2.3. Összefoglalás	71
4.3. A gyarmatpusztai vadgesztenye fasorok és állományok növényvédelme	74
4.3.1. A terület bemutatása	74
4.3.2. A komplex védekezési technológia	76
4.3.3. Összefoglalás	79
5. ÖSSZEFOGLALÁS	81
6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	85

„Feketeárnyú gesztenye
szélrázta nyári sátram, a
vízre csüggeszted ágaid,
úgy iszik szomjas leveled,
feketeárnyú gesztenye!”

(Részlet Conrad Ferdinand Meyer:
Feketeárnyú gesztenye c. verséből)

1. BEVEZETÉS

A költőt is megihlető, valóban szemet gyönyörködtető vadgesztenye (*Aesculus hippocastanum* L.) vagy bokrétafa (1. ábra) Európa szinte valamennyi parkjának impozáns, már-már elengedhetetlen alkotóeleme. Clusius közvetítésével 1576-ban Törökországból került Bécsbe, ahol parkok, fasorok meghatározó fafajává vált (Gencsi és Vancsura, 1992). A következő korok parképítészeti divatja azután hozzásegítette ahhoz, hogy Nyugat- és Közép-Európában szinte mindenütt megjelenjen. Napjainkra számos kultivárja alakult ki, amelyek között jelentős különbségek mutatkoznak a lombfakadás és a virágzás idejében, valamint a virág színében. Ma a



1. ábra. Vadgesztenye (eredeti)

vadgesztenye változatai jellemzően lakott települések parkjaiban, fasoraiban fordulnak elő, ritka kivételként találkozhatunk erdeinkbe állományszerűen telepített példányaival. Ez utóbbira példa a Sándor-Metternich uradalom területén, Gyarmatpusztán, a századfordulón telepített, 15 ha területű elegyetlen vadgesztenye állomány, amely – méretét tekintve – Közép-Európában egyedülálló.

A sokak által kedvelt fafajnak hazánkban (de elterjedési területének nagy részén) az 1990-es évek elejéig nem volt számottevő kórokozója, károsítója és a városainkban tapasztalható egyre növekvő környezeti terhelést is jól tűrte. Nem véletlen tehát, hogy fokozott érdeklődést váltott ki a Macedóniából érkező közlemény, amely szerint új, a bokrétafán károsító rovarfajt fedeztek fel.

Az új károsító egy a Gracillariidae családba tartozó aknázómoly faj, a vadgesztenyelevel-aknázómoly (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič, 1986, Lep. Gracillariidae), amelyet 1986-ban, Macedóniában az Ohridi-tó mellől írt le Deschka és Dimič (1986). A feltételezések szerint emberi közvetítéssel 1989-ben Ausztriába került faj addig nem tapasztalt károsítása következtében a fák levelén június elejétől kezdve mind nagyobb sárgásbarna, elhalt foltok tűntek fel. A vadgesztenyelevel-aknázómoly nemzedékek kifejlődésének nyomán a fák augusztus közepére levélzetük nagy részét elvesztették, gyakran másodvirágzásra kényszerültek.

A károsítás mértékén túl további érdeklődést váltott ki az aknázómoly gyors terjedése. A faj 1989-ben jelent meg Ausztriában, ezt követően az ezredfordulón már súlyos károkat okozott Európa szinte valamennyi országában. Az első prognózisok a vadgesztenyefák nagy mértékű pusztulását vetítették előre.

A vadgesztenyelevel-aknázómoly által okozott kár, valamint a faj gyors terjedése együttesen eredményezte, hogy számos kutatócsoport fordult az új probléma felé. Az első vizsgálatok – ismeretlen károsítóról lévén szó – természetesen morfológiai jellegűek voltak, illetve a károsító életmódjával, biológiájával foglalkoztak. Rövidesen megjelentek azonban a különböző védekezési eljárások eredményeit ismertető publikációk, valamint megindultak a károsító parazitológiai vizsgálatai. Az aknázómoly feromon vizsgálatai során hazánkban került kifejlesztésre az első, valóban hatékony szintetikus feromon. Napjainkban tovább folynak a parazitológiai vizsgálatok, ugyanakkor egyre erősebben foglalkoztatja a kutatókat a károsító származásának kérdése, hiszen mindinkább teret nyer az a hipotézis, amely szerint a faj sem a Balkán-félszigeten, sem Európa egyéb területein nem őshonos.

Dolgozatom célja a vadgesztenyelevel-aknázómoly biológiájával kapcsolatos ismeretek bővítése, pontosítása, valamint elterjedésével kapcsolatban új adatok szolgáltatása. Ennek megfelelően a károsító biológiájával kapcsolatban bemutatom a faj áttelelésének és rajzásdinamikájának eltérő élőhelyeken élő populációk közötti összehasonlító vizsgálataiból származó eredményeket. Ismertetem a faj fagyűrőkéességének vizsgálatát, amely szintén a faj biológiájával kapcsolatos új eredményeket nyújt. A vadgesztenyelevel-aknázómoly elterjedésével kapcsolatban bemutatom a faj Európán belüli elterjedési lehetséges elterjedési útvonalt, valamint a vizsgálatok során károsító esetében első ízben alkalmazott genetikai módszereket.

Dolgozatomban a vadgesztenyelevél-aknázómoly biológiájával és elterjedésének genetikai vonatkozásaival kapcsolatos vizsgálataim ismertetése mellett céлом az eddig megjelent vonatkozó irodalmi adatok mind szélesebb körű feldolgozása, hiszen csak így lehetséges egységes, átfogó ismereteket szolgáltatni e nagyon sokakat érdeklő, ugyanakkor kevésbé ismert témáról. E dolgozat keretein belül szeretnék kitérni a már említett, Gyarmatpusztán található vadgesztenye állomány megóvását célzó, általam kidolgozott védekezési eljárás ismertetésére is, amely a kutatási eredményeket ülteti át a gyakorlati növényvédelem megoldásaiba.

Munkám eredményeinek ismertetésével természetesen nem mondható az, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly vizsgálata lezárult, hiszen minden eredmény további új kérdések tucatjait veti fel, de reményeim szerint közelebb kerülhetünk a faj megismeréséhez, jó alapot szolgáltatva ezzel a jövőbeni kutatásokhoz.

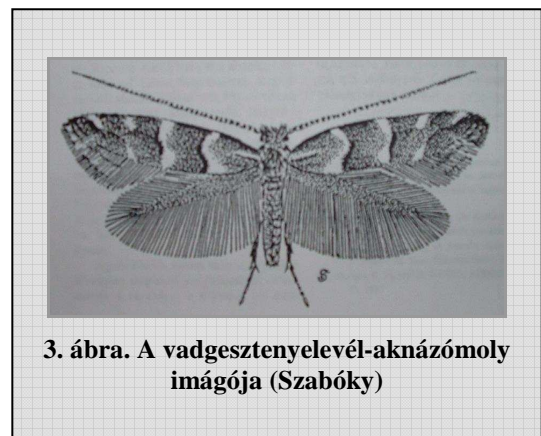
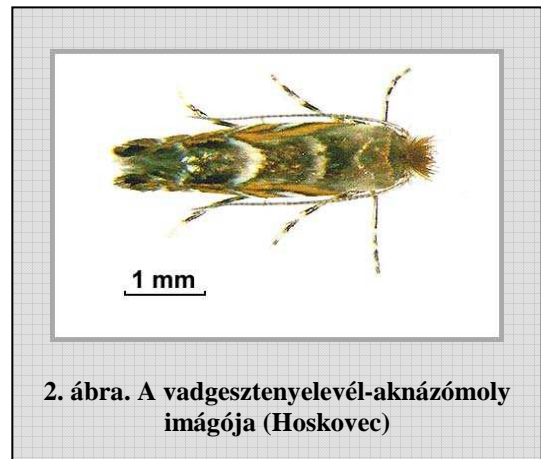
2. SZAKIRODALMI FELDOLGOZÁS

A vadgesztenyelevél-aknázómollyal kapcsolatos vizsgálatok, kutatások irodalma az utóbbi években mind gazdagabbá, ugyanakkor szerteágzóbbá vált. Az első – a károsító morfológiájával, életmódjával foglalkozó – publikációk megjelenése után egyre több kutató fordult egy-egy részterület aprólékos feltárásának irányába. Így külön irodalma jött létre a vadgesztenyelevél-aknázómoly elleni védekezési technológiáknak, a károsító parazitológiai vizsgálatainak, feromon vizsgálatainak és az utóbbi időben az elterjedés útvonalát, a károsító származását feltárni kívánó vizsgálatoknak. Ennek megfelelően dolgozatomban az irodalmi adatok feldolgozása során külön tárgyalom az egyes részterületek eredményeit.

2.1. A vadgesztenyelevél-aknázómoly morfológiája

Macedóniában, az Ohridi-tó mellett 1985-ben azelőtt ismeretlen, a rendszertan számára új lepkefajt fedeztek fel (Simova-Tosic és Filev, 1985). Morfológiai leírását 1986-ban Deschka és Dimič adta meg. Az új fajt az akkor még Lithocolletidae, később Gracillariidae családba tartozó *Cameraria* nemzetség tagjai közé sorolták, tudományos neve – felfedezésének helye után – *Cameraria ohridella* lett (Deschka és Dimič, 1986).

A faj morfológiai leírását az alábbiakban összegezhethetjük. Az imágó (2. ábra), amelyről több kutató is készített rajzot (3. ábra), a *Cameraria* nemzetségre jellemzően, dús homlokszőrzetet viselő, 6-8 mm szárnyfesztávolságú mikrolepke. Az elülső szárny aranylós felületét két összefüggő és két,



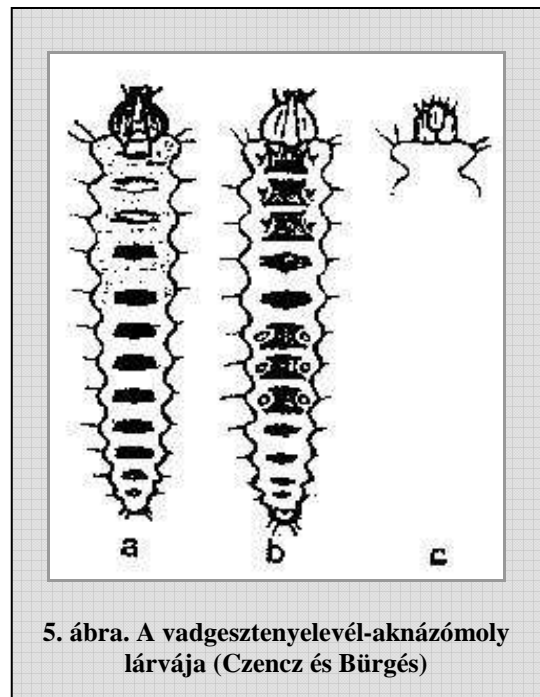
középtájon megszakadt fehér, a szárnycsúcs felől „töredezetten” feketével szegett keresztsáv díszíti. A szárnytőnél egy fehér csík fut be a szárny kb. 1/6 mélységéig, nyugalmi helyzetben mintegy folytatásaként a tori két fehér vonalnak. A hátulsó szárny ezüstszürke.

A tojások oválisak (0,3 x 0,5 mm), víztiszták, finom mintázatúak, a levél felszínén egyesével, leggyakrabban a mellékereken ülve találhatók.

A lárvák (4. ábra) a családra jellemző alakúak, laposak, háromszögletes fejűek. Testük hátoldalát barna, közel trapéz alakú - legélesebben az 1-7. Potrohszelvényen kirajzolódó - kitinmezők díszítik (5. ábra). Deschka és Dimič (1986) megállapításával ellentétben, amely szerint „a lárvák látszólag lábatlanok”, kúp alakú torlábaik, 3 pár haslábuk (ezeken 14-17 kapaszkodó sertével) és toló lábuk van. Az aknában talált fejtokok száma, valamint a nagyszámú lárva fejtokjának mérése alapján 5 lárvastádium különíthető el (Czencz és Bürgés, 1996). Az egyes stádiumokhoz tartozó fejtokszélességi és fejtokhosszúsági adatokat a táblázat tartalmazza (1. táblázat). Az L₅-ös stádiumú (bábkamrát készítő) lárva L₄-esnél kisebb fejtokszélessége abból adódik, hogy ebben a stádiumban már nem alakul ki a jellegzetes, háromszögletes „bukósisakszerű” kitines fejtok (5. ábra. c.).



4. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly lárvája (Hoskovec)



5. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly lárvája (Czencz és Bürgés)

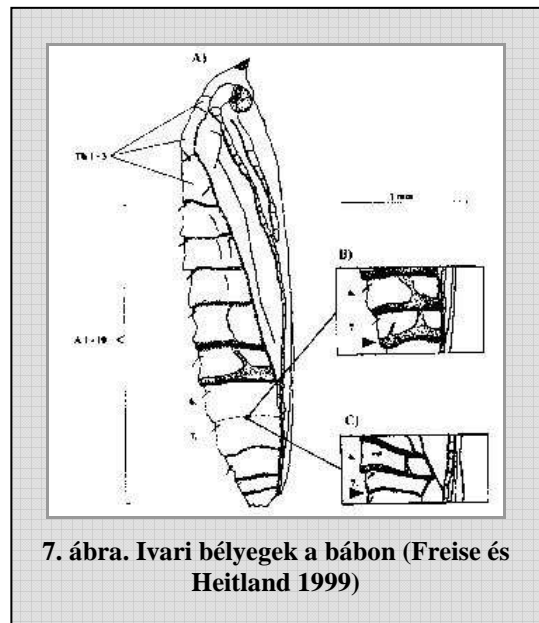
1. táblázat. A vadgesztenyelevél-aknázómoly lárva-stádiumai és azok jellemző méretei (Czencz és Bürgés, 1996)

Lárva-stádium	Fejtok-szélesség (mm)	Fejtok-hosszúság (mm)
L ₁	0,13-0,15	0,45-,075
L ₂	0,22-0,26	0,88-1,32
L ₃	0,35-,039	2,11-2,64
L ₄	0,52-0,57	2,86-4,62
L ₅	0,39-0,44	3,52-4,84

A báb (6. ábra) 3,5-3,8 mm hosszú, világos, majd egyre sötétedő barna színű, a homlokán 0,1 mm hosszú (a bábkamratető és a levélepidermisz felszakítását segítő) tövissel. A báb potrohának végén két nagyobb (0,1 mm-es) szarvszerű dorsalis és két kisebb ventralis dudor látható. A dobhártyaszerű bábkamratető átlagosan 4-5 mm széles és 6-7 mm hosszú. A vadgesztenyelevél-aknázómoly bábjának morfológiai leírása keretein belül meg kell jegyezni, hogy német kutatók munkájának eredményeként 1999 óta lehetőség van a bábok ivarának meghatározására is (Freise és Heitland, 1999). A vizsgált bábok egy részén, a hetedik hasi szelvény szélén egy viszonylag könnyen megtalálható kitingyűrűt fedeztek fel, míg a többi vizsgált báb csak a hatodik hasi szelvényen mutatta ezt az alakot, a hetedik szelvényén a kitingyűrű nem volt azonosítható (7. ábra). Az elkülönített bábokból kikelt imágók ivarának meghatározása során



6. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly bábja (Hoskovec)



7. ábra. Ivari bélyegek a bábban (Freise és Heitland 1999)

egyértelművé vált, hogy azokból a bábokból, amelyek hetedik hasi szelvényén a kitingyűrű megtalálható volt hím ivarú, míg a kitingyűrű nélküli hetedik szelvénnel rendelkezőkből nőivarú egyedek keltek ki. A 353 vizsgált báb esetében e módszer alkalmazása 100%-os sikert hozott. A vadgesztenyelevél-aknázómoly bábjainak ivari meghatározására kidolgozott módszer alkalmas arra, hogy az annak segítségével elkülönített egyedek további vizsgálatai (speciális feromonok vizsgálata, biológiai, ökológiai kérdések megválaszolása) elvégezhetőek legyenek.

Összefoglalva a fentieket: a vadgesztenyelevél-aknázómoly a Lepidoptera rend Gracillariidae családjába tartozó faj, melyet mindössze néhány éve, 1985-ben fedeztek fel Macedóniában. A faj morfológiai tulajdonságai a Gracillariidae család egyéb tagjaihoz hasonlatosak, szárnyfeszítávolsága 6-8 mm, elülső szárnyai erősen megnyúltak, keskenyek, végükön kissé meggömbültek. Hátsó szárnyai hegyes, ék alakúak, nagyon hosszú rojttal.

2.2. A vadgesztenyelevél-aknázómoly életmódja

A vadgesztenyelevél-aknázómoly fejlődése alapvetően a Lepidoptera rendbe besorolt fajok fejlődésmenetét követi. A pete, lárva, báb és imágó alakok kifejlődési idejéről és az egy éven belül megjelenő generációk számáról megállapítható, hogy azok évenként és földrajzi régióként különbözőek lehetnek.

Az imágó petéit a levelek felszínén, az oldalerek mentén helyezi el, azok száma levélként elérheti a 100, összetett levél viszonylatában a 300 darabot (Pschorn-Walcher, 1994). A petestádium ideje 2-3 hét, míg a lárvák kifejlődéséhez nyáron 3, ősszel 5 hétre van szükség. Az aknák, melyekben a lárvák fejlődnek, főként két oldalér között terjeszkednek. Levélként mintegy 30 lárva fejlődhet ki, míg a többi áldozatául esik a helyért és a táplálékért folytatott versenynek. A bábozódás az aknákon belül, selymes kokonban történik, a bábstádium ideje 2 hét, az áttelelő generáció esetében 6-7 hónap.

A faj rajzásmenete évenként és földrajzi régióként szintén változó lehet. Hazánkban az 1995. évi tavaszi rajzásmenetre vonatkozó adatok tanúsága szerint, a szabadföldi inszektáriumban elhelyezett őszi vadgesztenye avarból 1995. április 17-én indult meg az aknázómoly rajzása, ugyanakkor a napi középhőmérséklet 10 °C volt (Czencz és Bürgés, 1996). A rajzás április 22. körül, amikor 25-27 °C-s hőmérsékleti maximumok is kialakultak, felerősödött. A tavaszi generáció megjelenését évente általában további két generáció követi. Ennek megfelelően 1996-ban Budapesten a vadgesztenyelevél-aknázómolynak három nemzedéke fejlődött ki. Az egyes nemzedékek rajzásának csúcsait május 17-én, június 15-én és augusztus 11-én észlelték (Kerényiné Nemestóthy, 1997).

A környező országok közül Ausztriában a lepkének szintén három generációja fejlődik ki évente, melyek rajzáscsúcsa május, július és szeptember hónapokban jelentkezik (Pschorn-Walcher, 1997). Ettől eltérő lehet a hazánktól délebbre található vadgesztenyelevél-aknázómoly populációk rajzásmenete, ahol az egyes generációk kifejlődési ideje rövidebb is lehet, illetve a fajnak négy-öt generációja is kifejlődhet évente (Del Bene és mtsai, 2001).

Azonos éven és azonos régió belüli különbségeket szemlélteti az a vizsgálat, amely során az aknázómoly 1995. évi fejlődésmenetét rendszeres aknaboncolás segítségével követték nyomon két vizsgálati helyszínen, melyek az őszi lombeltakarítás tekintetében különböztek egymástól (Czencz és Bürgés, 1996). A vizsgálati évben a vadgesztenyelevél-aknázómolynak

Keszthely környékén három nemzedéke fejlődött ki. Egy-egy nemzedék kifejlődése 35-50 napot vett igénybe. A kártevő egyes fejlődési alakjainak szabadföldi jelenléte alapján az embrionális fejlődés idejét 8-12 napban, a lárvális szakaszt 20-26, a bábstádiumét 8-10 napban határozták meg. Érdekes megfigyelés, hogy az első nemzedék imágói előszeretettel ülnek a fák törzsének napos oldalán, továbbá e nemzedék imágói főként a fák koronájának alsó részét használják peterakásra (Kerényiné Nemestóthy, 1997). A következő nemzedékek a korona felsőbb szintjeiben találhatók nagyobb számban.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly egyedeinek áttelelése bábállapotban, a lehullott levelekben történik (8. ábra). Az áttelelés 1994 és 1995 telén végzett hazai vizsgálata során megállapítást nyert, hogy az adott évben, 100 avarlevélben átlagosan 163,7 bábkamra volt, melyeknek 72,1%-ában mutatkoztak egészségesnek a bábok (Czencz és Bürgés, 1996). Az egészséges bábok inszektáriumi továbbnevelését elemezve megállapították,



8. ábra. Áttelelő báb (eredeti)

hogy 100 avarlevélre vetítve átlagosan 96,7 imágó jött elő. Ez a szám az elkészített bábkamrákhoz viszonyítva 59%-ban, az egészségesnek ítélt bábok viszonylatában pedig 81,8%-ban sikeres áttelelést jelzett. Az 1995. október 30-i felméréskor 100 avarlevélben 342 zárt tetejű bábkamrát találtak, 76%-ban egészséges bábokkal. A kamrák száma levelenként 1-13 között változott. A fentiek jól szemléltetik, hogy az egyes populációk az áttelelés során viszonylag kis veszteségeket szenvednek el.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly károsítása a lárvák táplálkozása során jelentkezik. A petéből kikelő lárvák elsősorban a faj fő tápnövénye, a vadgesztenye (*Aesculus hippocastanum* L.) levéllemezei között található szövetekben táplálkoznak. A rágás nyomán jellegzetes aknák alakulnak ki, melyek általában a levélkék mellékerei között haladnak (9. ábra). A bábozódás a lárva által készített akna végében, a bábkamrában következik be. A károsított fák fotoszintézist folytató felülete a



9. ábra. Kárkép (Lethmayer)

lárva táplálkozása következtében csökken, egészségi állapotuk romlik. Az általában egyébként is szélsőséges helyen (városi környezetben, közutak mentén) álló vadgesztenyefák a káros hatások együttes fellépésének következtében akár el is pusztulhatnak.

A faj megjelenésétől számítva 1997-ig általánosan elfogadott volt, hogy az csak a vadgesztenyén károsít, más fafajokon, így például a rokon pirosvirágú vadgesztenyén (*Aesculus X carnea*) nem képes táplálkozni. 1997-ben fedezték fel, hogy a levélzetvesztést követően, valószínűleg a táplálék hiánya miatt a harmadik generáció néhány aknája a hegyi juhar (*Acer pseudoplatanus*) fafaj levelein is megjelent (Pschorn-Walcher, 1997). Az utóbbi



10. ábra. Aknák hegyi juhar leveleken (eredeti)

években a vadgesztenyelevél-aknázómoly szinte teljes elterjedési területén megfigyelhető, hogy elsősorban a vadgesztenyefák alatt vagy azok közelében található hegyi juharokon az utolsó generáció aknákat készít (10. ábra).

Összefoglalva: a faj életmódjára jellemző, hogy lárvája fő tápnövénye, a vadgesztenye levelének szöveteiben folytat táplálkozó rágást, majd a rágás során készített úgynevezett aknában bábozódik. Hazai viszonyok között évente három nemzedéke fejlődik ki, melyek rajzáscsúcsai május, július és augusztus hónapokban jelentkeznek. Az egyes nemzedékek kifejlődési ideje nagyban függ a környezeti viszonyoktól, átlagosan 35-50 nap. A harmadik nemzedék utódai báb alakban, a lehullott vadgesztenye levelekben telelnek át. A vonatkozó

kutatások eredményei szerint az áttelelést hazai viszonyok között jelentős korlátozó tényező nem befolyásolja.

A faj károsítása a vadgesztenyefák asszimilációs felületének csökkentésében jelentkezik. Ez együttesen a vadgesztenyékre ható egyéb káros hatásokkal (városi, közutak melletti környezet) a vadgesztenyefák legyengüléséhez, végső soron pusztulásához vezethet.

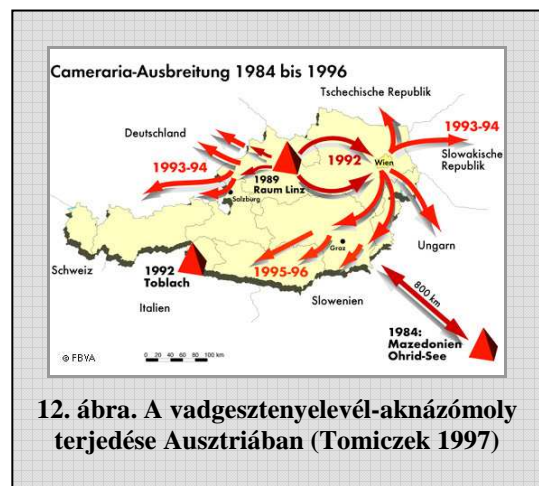
2.3. A vadgesztenyelevél-aknázómoly elterjedése

A vadgesztenyelevél-aknázómoly vizsgálata során egyik legérdekesebb témának a faj rendkívül gyors terjedése mutatkozik. Felfedezése óta gyakorlatilag Európa valamennyi országában megtalálható, ahol az esetek többségében, a vadgesztenyefák levélzet vesztésében jelentkező súlyos károkat okoz.

Az aknázómolyt 1985-ben, Macedóniában, az Ohridi-tó mellett (11. ábra) fedezték fel (Simova-Tosic és Filev, 1985). 1986-ban már Dél-Szerbiából jelezték jelenlétét (Dimič és Mihajlovič, 1993), majd 1989-ben Horvátországban, Zágráb mellett is megtalálták (Maceljiski és Bertić, 1995). Szintén ebben az évben az aknázómoly valószínűleg emberi közvetítéssel jutott Ausztriába, Linz térségébe (Puchberger, 1990). 1992-ben jelezték a faj jelenlétét St. Pölten és Alsó-Ausztria területéről (Holzschuh és Krehan, 1992) ugyanekkor azonban már Észak-Olaszországban (Hellrigl és Ambrozi, 2000) és Dél-Németországban (Butin és Führer, 1994) is megtalálták egyedeit. A faj Ausztrián belüli feltételezett elterjedése követhető nyomon az ábrán (12. ábra).



11. ábra. Az Ohridi-tó



12. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly terjedése Ausztriában (Tomiczek 1997)

1993-ban az aknázómoly elterjedési területe tovább gyarapodott Németország területén. Ebben az évben Münchentől 20 km-re, egy autópálya parkolójában álló vadgesztenyefán bukkantak károsítása nyomaira (Heitland és Metzger, 1997). Szintén ebben az évben – valószínűleg Macedóniából indulva – az aknázómoly egyedeit Bosznia-Hercegovinában is megtalálták (Dautbasić és Dimić, 1999).

1994-ben a faj már megtalálható volt Szlovákiában, Pozsony környékén (Matlak, 1994 in Sivicek és mtsai, 1997), Magyarországon, Magyaregregyen (Szabóky, 1994), valamint Csehországban (Lastuvka, 1994). A faj hazai elterjedését jellemzi, hogy 1994 végéig nyugati irányból indulva a Duna vonaláig jutott, 1996-ra elérte a Tisza vonalát (Szabóky és Vas, 1997), s napjainkban az ország teljes területén megtalálható.

1995-ben a faj megjelent Lengyelországban (Wittenberger, 1998), valamint tovább terjeszkedett Németország, Olaszország, Magyarország, Csehország és Szlovákia területén. Szlovéniában szintén ebben az évben észlelték először a faj jelenlétét (Milevoj és Maček, 1997).

A vadgesztenyelevél-aknázómoly elterjedési területe 1996-ban gyakorlatilag Németország teljes területét (Heitland és mtsai, 2000), Ausztria, Magyarország, Csehország, Szlovákia teljes területét, valamint Észak-Olaszországot foglalta magába. Ezzel párhuzamosan valószínűleg a Balkán-félszigeten is folyt a faj terjeszkedése, azonban a régióban kialakult feszült politikai helyzet miatt nem rendelkezünk pontos adatokkal.

1998-ban és 1999-ben a faj eljutott Svájcba (Kenis és Forster, 1998), Hollandiába és Franciaországba (Interneten közzétett adatok <http://www.cameraria.de>).

2002-ben a vadgesztenyelevél-aknázómoly egyedeit és károsításának nyomait felfedezték Dániában, valamint Angliában, Wimbledonban is (Interneten közzétett adatok <http://www.cameraria.de>). Keleti irányban, a faj 2002-ben Ukrajnáig jutott. Aknáit a Kijevbe vezető tranzitút vonal mentén, Lviv városban találták meg (Akimov és mtsai, 2003).

A rendkívül gyors elterjedés hátterében az aknázómoly számára kedvező környezeti paraméterek mellett elsősorban emberi tényezők állnak. Az egyes országok közötti megnövekedett közúti, vasúti, vízi és légi forgalom elősegíti a kórokozók, károsítók természetes terjedési ütemének növekedését. Különösen így van ez abban az esetben, ha a károsított szervezet léte is emberi tevékenységhez köthető. A vadgesztenyelevél-aknázómoly terjedése jól szemlélteti a leírtakat, hiszen a károsító tápnövénye, a vadgesztenye jelenlegi elterjedési területének nagy részén lakott területeken, parkokban, fasorokban található. Az emberi segítséggel is terjedő aknázómoly (akár kifejlett egyedei, akár a lehullott levelekben

áttelelő báb példányai) így viszonylag nagy sebességgel képesek megtelepedni az egyes területek vadgesztenye egyedein.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly az Európában előforduló környezeti paraméterekkel szemben tág tűrésű fajnak tekinthető, hiszen egyedei napjainkban a Balkán félszigettől Lengyelorszáig, Angliától Ukrajnáig megtalálhatók. Jelenlegi ismereteink alapján nem tudunk olyan környezeti faktorról, amely az európai viszonyok között meggátolhatná terjedését (Akimov és mtsai, 2003), így a faj megjelenése Európa valamennyi olyan országában várható, ahol tápnövénye, a vadgesztenye megtalálható.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly Európán belüli elterjedésén túl rendkívüli fontossággal bír a faj eredetének meghatározása. Ennek megfelelően az Európán belüli elterjedési útvonalak vizsgálata mellett napjaink igazi kérdése az, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly Európában őshonos vagy a Balkán félszigetre behurcolt faj-e. A kérdés megválaszolását célzó kutatások jelenleg is folynak, a *Cameraria* nemzetség egyéb kontinensen élő fajainak egy része már ismert a kutatók előtt.

Eddigi ismereteink alapján megállapítható, hogy a nemzetség fajainak zöme Amerikában él, ugyanakkor számos faj található Ázsia területén is. Érdekes megfigyelés, hogy míg az Ázsia trópusi részein élő fajok tápnövénye a Leguminosae (Hüvelyesek) rend tagjai közül kerül ki, addig az Amerikában elterjedt fajok tápnövénye az Oleaceae (Olajfafélék), a Betulaceae (Nyírfélék), a Fagaceae (Bükkfafélék), az Aceraceae (Juharfafélék), az

2. táblázat. Az Ázsiában honos *Cameraria* fajok (Kumata 1993, 1995, 2000 nyomán)

Elterjedési terület	Faj	Tápnövény
Malajzia, Tajvan, Fülöp-szigetek	<i>C. pongamiae</i>	<i>Pongamia pinnata</i>
Fülöp-szigetek	<i>C. philippinensis</i>	<i>Bauhinia malaberica</i>
	<i>C. palawanensis</i>	<i>Derris elliptica</i>
Malajzia	<i>C. borneensis</i>	<i>Archidendron sp.</i>
	<i>C. milletiae</i>	<i>Milletia sericea</i>
	<i>C. fasciata</i>	<i>Spatholobus sp.</i>
	<i>C. trizosterata</i>	<i>Bauhinia sp.</i>
	<i>C. barlowi</i>	Ismeretlen
	<i>C. quadrifasciata</i>	<i>Bauhinia so.</i>
India	<i>C. magnisignata</i>	<i>Pongamia sp.</i>
	<i>C. bauhiniae</i>	<i>Bauhinia purpurea</i> <i>B. acuminata</i>
India, Nepál, Japán	<i>C. virgulata</i>	<i>Butea frondosa</i> <i>Desmodium sp.</i> <i>Pueraria montana</i>
Japán	<i>C. nipponica</i>	<i>Acer japonicum</i> <i>A. palmatum</i>
	<i>C. acericola</i>	<i>Acer carpinifolium</i> <i>A. mono</i>
	<i>C. hikosanensis</i>	<i>Viburnum sp.</i>
	<i>C. sp.</i>	<i>Salix sp.</i>
	<i>C. sp.</i>	<i>Aesculus turbinata</i>
	<i>C. sp.</i>	<i>Cornus sp.</i>
	<i>C. sp.</i>	<i>Ostrya sp.</i> <i>Betula sp.</i>

Ulmaceae (Szilfafélék), a Salicaceae (Fűzfafélék), a Caprifoliaceae (Bodzafélék), az Ericaceae (Erikafélék) és a Juglandaceae (Diófafélék) családba tartozik (Kumata, 1993). Az Ázsiában elterjedt fajokat és azok tápnövényeit ismerteti a táblázat (2. táblázat).

Az Európában elterjedt vadgesztenyelevél-aknázómoly az ázsiai *Cameraria* fajok közül, a genitáliák vizsgálata után, a *Cameraria nipponica* fajjal mutatta a legnagyobb hasonlóságot (Kumata, 2000, szóbeli közlés). Ez utóbbi faj tápnövénye az *Acer japonicum*, illetve az *Acer palmatum*. A vadgesztenyelevél-aknázómoly származásával kapcsolatos vizsgálatok szempontjából leginkább érdekes az a faj, amelynek egyedeit *Aesculus turbinata* fajról gyűjtötték Japánban, azonban eddig pontos meghatározása még nem történt meg (Kumata, 2000, szóbeli közlés). További fontos információ, hogy 1968-ban és 1983-ban, a Nepálban található vadgesztenye fajokon nem fordult elő a *Cameraria* nemzetségbe tartozó aknázómoly.

Az Amerikában található *Cameraria* fajok rendszertani revíziója jelenleg folyik (Davis, 2002, szóbeli közlés), ismereteink a tápnövények vonatkozásában is hiányosak. Az amerikai fajokat a táblázat tartalmazza (3. táblázat).

3. táblázat. Az Amerikában honos *Cameraria* fajok
<http://www.nearctica.com/nomina/lepid/lepg.htm#anchor373558>

<i>C. aceriella</i> Clemens 1859 (Lithocolletis)
<i>C. aesculisella</i> Chambers 1871 (Lithocolletis)
<i>C. affinis</i> Frey and Boll 1876 (Lithocolletis)
<i>C. agrifoliella</i> Braun 1908 (Lithocolletis)
<i>C. arcuella</i> Braun 1908 (Lithocolletis)
<i>C. australisella</i> Chambers 1878 (Lithocolletis)
<i>C. bethunella</i> Chambers 1871 (Lithocolletis)
<i>C. betulivora</i> Walsingham 1891 (Lithocolletis)
<i>C. caryaefoliella</i> Clemens 1859 (Lithocolletis)
<i>C. castaneaeella</i> Chambers 1875 (Lithocolletis)
<i>C. cervina</i> Walsingham 1907 (Lithocolletis)
<i>C. chambersella</i> Walsingham 1889 (Lithocolletis)
<i>C. cincinnatiella</i> Chambers 1871 (Lithocolletis)
<i>C. conglomeratella</i> Zeller 1875 (Lithocolletis)
<i>C. corylisella</i> Chambers 1871 (Lithocolletis)
<i>C. diabloensis</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. eppelsheimii</i> Frey and Boll 1878 (Lithocolletis)
<i>C. fasciella</i> Walsingham 1891 (Lithocolletis)
<i>C. fletcherella</i> Braun 1908 (Lithocolletis)
<i>C. gaultheriella</i> Walsingham 1889 (Lithocolletis)
<i>C. guttifinitella</i> Clemens 1859 (Lithocolletis)
<i>C. hamadryadella</i> Clemens 1859 (Lithocolletis)
<i>C. hamameliella</i> Busck 1903 (Lithocolletis)
<i>C. jacintoensis</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. lentella</i> Braun 1908 (Lithocolletis)
<i>C. leucothorax</i> Walsingham 1907 (Lithocolletis)
<i>C. lobatiella</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. macrocarpae</i> Freeman 1970 (Cameraria)
<i>C. macrocarpella</i> Frey and Boll 1878 (Lithocolletis)
<i>C. marinensis</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. mediodorsella</i> Braun 1908 (Lithocolletis)
<i>C. mendocinensis</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. nemoris</i> Walsingham 1889 (Lithocolletis)
<i>C. obstructella</i> Clemens 1859 (Lithocolletis)
<i>C. ostryarella</i> Chambers 1871 (Lithocolletis)
<i>C. pentekes</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. picturatella</i> Braun 1916 (Lithocolletis)
<i>C. platanoidiella</i> Braun 1908 (Lithocolletis)
<i>C. quercivorella</i> Chambers 1879 (Lithocolletis)
<i>C. saccharella</i> Braun 1908 (Lithocolletis)
<i>C. sadlerianella</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. sempervirensella</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. serpentinensis</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. shenaniganensis</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. superimposita</i> Braun 1925 (Lithocolletis)
<i>C. teldeni</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. temblorensis</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. tubiferella</i> Clemens 1860 (Lithocolletis)
<i>C. ulmella</i> Chambers 1871 (Lithocolletis)
<i>C. umbellulariae</i> Walsingham 1889 (Lithocolletis)
<i>C. walsinghami</i> Opler and Davis 1981 (Cameraria)
<i>C. wizlizeniella</i> Opler 1971 (Cameraria)

A vadgesztenyelevél-aknázómoly elterjedéséről összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az – feltehetően emberi hatások következtében is – Európán belül rendkívül gyorsan zajlott. Az 1985-ben történt felbukkanását követő 18 év alatt Európa szinte valamennyi olyan országát meghódította, ahol tápnövénye, a vadgesztenye megtalálható. Az elterjedési útvonalak vizsgálata folyamatban van, ugyanakkor elkezdődött a károsító őshonos vagy behurcolt voltának vizsgálata is. Eddigi ismereteink alapján számos Cameraria fajt ismerünk mind Ázsiában, mind Amerikában, azonban az Európában elterjedt Cameraria ohridella fajt eddig nem sikerült azonosítani egyikkel sem.

2.4. A vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidjai

Az aknázómoly mind nagyobb földrajzi területen történő elterjedésével és növekvő károsításával párhuzamosan fordult a figyelem a károsító fő természetes ellenségeinek, parazitoidjainak irányába. Napjainkban is több kutatócsoport foglalkozik részletesen a témával.

Általában elmondható, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidjai elsősorban egy-egy régió őshonos parazitoidjai közül kerülnek ki. Az évek folyamán mind több parazitoid faj települ rá az aknázómoly egyes populációira. 1996-ban végzett vizsgálatok megállapították, hogy az ősszel begyűjtött, ismeretlen számú bábbölcsőt rejtő mintából tavasszal 1814 vadgesztenyelevél-aknázómoly és 54 fürkészdarázs rajzott ki, a telelő populáció 2,8%-os parazitáltságára utalva (Czencz és Bürgés, 1996). Az 1995. évi tavaszi rajzás során, valamint az 1994 nyarán összegyűjtött fürkészdarázs anyagból 6 faj került azonosításra, melyek kivétel nélkül az Eulophidae családot képviselték. Ezek a fajok a következők voltak: *Pnigalio pectinicornis* (Linné 1785) (13. ábra), *Pediobius saulius* (Walker 1839), *Hemiptarsenus dropion* (Walker 1839), *Chrysocharis pentheus* (Walker 1839) (14. ábra), *Chrysocharis sp.*, *Baryscapus sp.* A

karcsú fémfürkészek egyes genusainak (*Chrysocharis* és *Baryscapus*) revíziója miatt néhány faj esetében a meghatározás csak genusig történt. A felsorolt fajok közül a *Pnigalio pectinicornis* volt jelen a legnagyobb arányban (55%-ban). A fentieknek megfelelő időszakban, Bécs különböző pontjain kiválasztott vadgesztenyefák aknázómoly populációinak parazitáltságát is vizsgálták. Az eredmények szerint a gradáció negyedik évében járó



13. ábra. *Pnigalio pectinicornis* Linné
(<http://cse.naro.affrc.go.jp/konishi>)



14. ábra. *Chrysocharis pentheus* Walker
(<http://cse.naro.affrc.go.jp/konishi>)

vadgesztenyelevél-aknázómoly lárvák és bábok mindössze 1-5%-ában volt megtalálható valamilyen parazitoid faj. Az azonosított, kivétel nélkül polifág ektoparazitoidok az *Eulophidae* családba tartoztak (Lethmayer és Grabenweger, 1997).

Más vizsgálatok szerint 1996-ban, szintén Bécs különböző területeiről gyűjtött avarlevelekből laboratóriumi körülmények között mintegy 6500 parazitoid egyedet sikerült kinevelni, melyek 20 különböző fajba voltak sorolhatók (Stolz, 1997).

Ellentmondásosnak tűnhetnek azok a hazai vizsgálatok is, amelyek kezdete 1996 őszére nyúlt vissza, s amelyek során az aknázómoly áttelelő bábjaiban és a nyári populációiban előforduló fürkészeket és a felbukkanó ragadozó fajokat tanulmányozták (Thúróczy és Reider, 1998). A kinevelt fürkészeket a Vas megyei Növényegészségügyi és Talajvédelmi Állomás (NTÁ) Rovar Parazitológiai Laboratóriumában határozták meg. Országosan mintegy 20 fürkészfajt azonosítottak, melyek az *Eulophidae*, *Pteromalidae*, *Eupelmidae* és *Ichneumonidae* családba tartoztak. A legnagyobb egyedszámban előforduló fajok a *Minotetrastichus ecus*, a *Pnigalio pectinicornis*, *P. agrales* és *Pteromalus semotus* voltak. Az aknázómoly 1996/97-ben áttelelő populációjának bábparazitáltságát a főváros egyes helyein 65-70%-osnak, a nyári populáció lárva- és bábparazitáltságát pedig 35-40%-osnak találták. A ragadozók közül a poloskák és a böde lárvák július-augusztusban jelentkeztek.

A rendkívül magas parazitáltsági arányt (35-70%) megerősítették azok a hazai vizsgálatok, melyeket 1996 és 1997 telén végeztek (Tóth és mtsai, 1999). A vizsgálatokat azokra az előzetes megfigyelésekre alapozták, melyek az aknázómoly parazitoidjai között 1995-ig mindössze két *Chalcididae* fajt figyeltek meg, illetve a károsító 1-2,8%-os parazitáltságát regisztrálták. Szintén az előzetes megfigyelések alapján 1997-ben ugyanez az adat már 28,2%, míg 1998-ban 65-70% volt Magyarország területén. Az 1996 ősztől folyó vizsgálatok feladata volt a vadgesztenyelevél-aknázómoly telelő és nyári nemzedékek parazitoidjainak kinevelése és meghatározása, a parazitáltság mértékének megállapítása, továbbá a fajok egyedszámának – nemenkénti megoszlásának – a kinevelt és domináns fajok magyarországi és azon belül megyénkénti előfordulásának vizsgálata. A telelő populáció vizsgálataihoz mintavételi helyenként 2x100 darab, a nyári nemzedékek vizsgálatához a várható rajzás előtt 100 darab levélaknában lévő bábót kis levélkével együtt kivágtak. Az így előkészített mintákat a Vas megyei NTÁ Rovar Parazitológiai Laboratóriumában értékelték ki. A bábkamrában lévő parazitáltságot vizsgálva, az 1996/97. évi áttelelő aknázómoly nemzedék

esetében országosan 18 parazitoid fajt neveltek ki. Ebből csak a főváros területén 14 faj rendszeresen előfordulónak mutatkozott. A vizsgálatok során összeállított fajlista valamennyi tagjára jellemző, hogy azok szinte minden aknázó életmódot folytató rovarban megtalálhatók, illetve várható megjelenésük. A vizsgálatok jellemző faja volt a *Closterocerus trifasciatus* (15. ábra).



A parazitáltság mértékének, az egyes parazitoid fajok megjelenésének, az aknázómoly populációkon történő megtelepedésének okai változatosak. A parazitoid fajok eltérő életmódja egyik magyarázata lehet ennek a változatosságnak. Az aknázómoly és a parazitoid fajok közötti kapcsolatok elemzésére végzett vizsgálatok során károsított vadgesztenyeleveleket gyűjtöttek Bécs különböző pontjain elhelyezkedő mintafák alsóbb ágairól (Grabenweger és Lethmayer, 1999). A gyűjtést heti rendszerességgel, 1997. május 16. és október 24. között folytatták, a gyűjtött leveleket tízesével műanyag dobozban, 22 °C hőmérsékleten, 65% relatív páratartalom és napi 17,5 órás megvilágítás mellett tárolták. A gyűjtés időpontjában a mintánként összesen 100 darab gyűjtött levélben lévő lárvák és bábok megszámlálásra kerültek, majd a műanyag dobozokat lezárták. Két hónap (az áttelelő generáció esetében 6 hónap) múlva a tároló edényeket felnyitották, a kifejlődött parazitoidokat begyűjtötték, majd meghatározták.. Az adatok kiértékelése során a levelekből a vadgesztenyelevél-aknázómoly 16 parazitoid fajt neveltek ki. E fajok jellemzően a Hymenoptera rend Ichneumonoidea és Chalcidoidea taxonjainak tagjai, melyek közül az előbbi mindössze néhány minta esetében képviseltette magát kevés számú egyeddel. A



13 Chalcidoidea faj három családba sorolható, melyek közül az Eulophidae család tűnt a legjelentősebbnek a maga 11 fajával. Leggyakoribb fajoknak a *Pnigalio agraulis* és a *Minotetrastichus frontalis* (16. ábra) bizonyultak, melyek minden minta esetében nagy – néha

90% feletti – egyedszámmal jelentek meg. A mintákból rendszeresen gyűjthetők voltak a *Chrysocharis pentheus*, *Chrysocharis nephereus*, *Closterocerus trifasciatus*, *Cirrospilus vittatus* és a *Pteromalus* cf. *semotus* fajok. A fennmaradó Chalcidoidea és Ichneumonoidea fajok meglehetősen ritkán fordultak elő a gyűjtött mintákban. Annak ellenére, hogy a felsorolt fajok kivétel nélkül nem a vadgesztenyelevél-aknázómoly specifikus parazitoidjai, életmódjukat tekintve polifágok, néhányuk előfordulásának gyakoriságában mégis megfigyeltek bizonyos, a gazdaszervezet egyes nemzedékeinek megjelenéséhez igazodó fluktuációt. Egyes parazitoid fajok megjelenésének eloszlása három csúcsideőszakot mutatott, melyek jól felismerhetően az egyes aknázómoly nemzedékek fejlődésének végén érték el maximumukat. Július elején a parazitáltság mértéke 11%, míg augusztus végén 21% körül mozgott. Általánosságban megfigyelhető volt, hogy az egyes aknázómoly nemzedékek fejlődésének kezdetén a kisebb lárvák kevésbé, míg a nemzedékek fejlődésének végén lévő nagyobb, bábozódás előtt álló lárvái erősebben parazitáltak voltak. Az elmondottak miatt az aknázómoly és a parazitoidjai átfedése közötti átlagos korrelációs index viszonylag alacsony ($r = 0,46$) volt. Természetesen az egyes fajok külön-külön eltérő megjelenési időrendet, eltérő adaptációt mutattak a gazdaszervezet megjelenéséhez igazodva. A fentieket jól példázza az alábbi három parazitoid faj életmódja:

A *P. agraulis* faj a vizsgálatok teljes időtartama alatt nagy számban volt jelen, három egyedszámú csúcsot mutatva, melyek mindig az egyes aknázómoly generációk megjelenésének végével estek egybe.

Szemben az előző parazitoid fajjal, a *Closterocerus trifasciatus* faj megjelenése, előfordulása a vizsgálatok alatt meglehetősen monoton képet mutatott. A faj fejlődésmenetében mindössze egyetlen kiemelkedő csúcspontot találtak augusztus végén, egyebekben a faj egyedszáma azonos eloszlásban került kimutatásra a vizsgálatok időtartama alatt.

A vizsgált parazitoidok közül a *Chrysocharis* fajok (*C. nephereus* és *C. pentheus*) előfordulása mutatta a legszabálytalanabb képet. Az őszi generációt illetően a két parazitoid meglehetősen ritkának mutatkozott, mindössze a generáció összeomlásának végén jelentkezett.

Összefoglalva az eredményeket, jól látható, hogy a *Chrysocharis* fajok abundanciájának csúcspontjai jól illeszkedtek a vadgesztenyelevél-aknázómoly egyes generációinak

összeomlásához. További fontos megállapítás e fajok erős preferenciája az aknázómoly tavaszi generációjához, szemben a nyári és az őszi generációkkal, melyek parazitáltsága tekintetében egyre kevésbé fontos szerepet játszanak.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidjai Európa szerte általánosan ismert, elterjedt fajok és legtöbbjük, például a *P. agraulis*, *M. frontalis*, *C. pentheus*, *C. nephereus*, *C. trifasciatus* és *C. vittatus* számos más levél-aknázómoly faj parazitoidjaiként is ismertek. Szemben ugyanakkor az egyéb levél-aknázómoly fajokkal a vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitáltsága meglehetősen alacsony, ami egyértelműen egyik oka a vadgesztenyefák erős fertőzöttségének. Delucchi (1958) *Lithocolletis messaniella* esetében végzett vizsgálatai 50%-os, Askew és Shaw (1979) *Phyllonorycter* fajokon történt vizsgálatai 50% feletti parazitáltságot mutattak, szemben a vadgesztenyelevél-aknázómoly legjobb esetében is 20%-os parazitáltsági értékével. Magyarozatként szolgálhat, hogy a helyi parazitoid populációk ez idáig nem tudtak sikeresen adaptálódni a közelmúltban betelepült vadgesztenyelevél-aknázómoly fajhoz, ez a folyamat hosszabb időt vesz igénybe. Annak ellenére, hogy az aknázómoly parazitáltsága jelenleg alacsony, a különböző parazitoidok adaptációja közötti különbségek egyértelműnek tűnnek. Ennek, valamint az előzőekben ismertetett kutatások eredményeinek alapján a vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidjait három csoportba sorolták (Grabenweger és Lethmayer, 1999). Első csoportba azok kerültek, amelyek esetében egyértelműen három csúcsot lehet megkülönböztetni az aknázómoly egyes nemzedékeinek megjelenésével összhangban. Ilyen faj például a *Pnigalio agraulis*, amely minden mintából előkerült és a gazdaszervezet valamennyi lárvastádiumához képes alkalmazkodni, ilyen értelemben jól adaptálódó fajnak nevezhető. A második csoport tagjainak megjelenése semmiféle korrelációt nem mutat a gazdaszervezet nemzedékeinek megjelenésével. A csoport tipikus tagja a *Closterocerus trifasciatus*, amelynek esetében sem egyedszámbeli ingadozást, sem a gazdaszervezet egyes nemzedékeivel való kapcsolatot nem mutattak ki. E fajok fejlődésmenetét egyéb tényezők (időjárás, hiperparazitizmus) befolyásolják, amelyek nem függenek az aknázómoly tulajdonságaitól. A harmadik csoportot azok a parazitoidok alkotják, amelyek ugyan mutatnak valamilyen fokú adaptációt a vadgesztenyelevél-aknázómolyhoz, de fejlődésüket egyéb, eddig nem pontosan tisztázott tényezők is erősen befolyásolják. Ilyen fajok például a *Chrysocharis* fajok, amelyek egyértelműen követik a gazda jellegzetes három csúcsot mutató fejlődésmenetét, azonban jelentőségüket a második és a harmadik generáció esetében fokozatosan elveszítik.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitáltsága a környezet diverzitásának függvényében is változó lehet. Ezt támasztják alá azok a hazai kutatások, amelyek során a parazitológiai vizsgálatokat az ország 9 pontján, 1997-től kezdődően végezték (Balázs és Thúróczy, 2000). A kimutatott dominancia viszonyok jelentős hasonlóságot mutatnak Lethmayer és Grabenweger (1999) bécsi kutatásainak eredményeivel. Érdekes eredményeket hozott a parazitáltság mértékének vizsgálata, hiszen ennek értéke a hazai vizsgálatok során 0,0 és 43,2% között mozgott. A fertőzött fák helyének és környezetének ismeretében megállapították, hogy míg a növényfajokban szegény, városias környezetben a parazitáltság mértéke mindössze 0,0 – 5,5%-ig terjedt, addig a fajgazdag, diverz ökológiai környezetben a 20 – 40%-ot is elérte. Ez utóbbi környezetben tehát kialakulhat olyan viszonylagos egyensúlyi helyzet, amelyben a polifág parazitoidok képesek kifejteni a vadgesztenyelevél-aknázómoly populációit korlátozó hatásukat. Sívár, városias környezetben kis egyedszámú, kevés parazitoid fajra számíthatunk.

Az előzőekben közölt, egymásnak látszólag ellentmondó parazitáltsági mutatók vizsgálata jelenleg is zajlik. Az ellentmondás oka sok esetben módszertani tényezőkre vezethető vissza, hiszen míg Ausztriában heti rendszerességgel gyűjtött vizsgálati anyaggal dolgoztak (Grabenweger és Lethmayer, 1999), addig Magyarországon rajzás előtti bábokat használtak ugyanezekhez a vizsgálatokhoz (Tóth és mtsai, 1999). A mennyiségi mutatók számítása során az előbbi esetben a kikelt parazitoidok számát a lárvák és bábok együttes számához viszonyították, utóbbi esetben értelemszerűen csak a bábok képezték a viszonyítási alapot. Annyi azonban bizonyosnak tűnik, hogy Magyarországon az átlagosnál gazdagabb, nagyobb fajszerűségű parazitoid populáció telepedett rá az újonnan megjelent vadgesztenyelevél-aknázómoly fajra (Grabenweger 2002, szóbeli közlés).

A fejezet keretein belül kell említést tenni a vadgesztenyelevél-aknázómoly gomba kórokozóirol is. 1996 és 1998 között Bulgáriában végzett vizsgálatok lárva és báb stádiumban lévő aknázómoly egyedeken mutatták ki *Entomophaga sp.* és *Zoophthora sp.* gombafajok jelenlétét, amely azok pusztulását okozta. Izolálták a *Beauveria bassiana* és a *Verticillium lecanii* egy törzsét lárva stádiumú aknázómoly egyedekből, továbbá felfedezték a *Trichothecium roseum* faj egy törzsét is, amely azonban a már elhalt aknázómoly lárvákon fejlődött ki (Draganova és Tomov, 2000).

A parazitoid fajokról jó összefoglalást ad, egyben az egyes földrajzi régiók közötti eltérést is szemlélteti az alábbi, Hellrigl (1998) alapján (Interneten <http://www.cameraria.de> közzétett adat) módosított táblázat (4. táblázat).

Az egyes parazitoid fajok ismertetésén túlmenően összefoglalva a vadgesztenyelevél-aknázómoly természetes ellenségeivel kapcsolatos kutatások, vizsgálatok eredményeit elmondható, hogy a fajra földrajzi régióként eltérő parazitoid populáció telepedett rá. Az aknázómoly természetes ellenségei minden esetben az őshonos, polifág parazitoid fajok közül kerültek ki. A parazitáltság mértékének vizsgálatakor jelentős különbségek adódtak az eltérő vizsgálati módszerek alkalmazásából, mégis elmondhatjuk, hogy az földrajzi régiók között és régiókon belül is változhat. A parazitáltság mértékét a környezet diverzitása jelentősen befolyásolja.

4. táblázat. A vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidjai (Hellrigl, 1998 alapján kiegészítve)

	Deschka 1995 Kelet- Ausztria	Pschorn- Walcher 1997 Közép- Ausztria	Szabóky 1997 Magyaró.	Stolz 1997 Bécs	Hellrigl 1998 Dél- Ausztria	Grabenweger és mtsai. 1999 Közép- Ausztria	Tóth és mtsai. 1999 Magyaró.	Thúróczy és mtsai. 2000 Magyaró.
<i>Achrysocharoides cf. latreilli</i>				+				
<i>Aprostocetus sp.</i>							+	
<i>B. (Tetrastichus) brevicornis</i>	+							
<i>B. (Tetrastichus) turionum</i>	+							
<i>Baryscapus nigroviolaceus</i>				+	+			
<i>Baryscapus sp.</i>			+		+		+	
<i>Chrysocharis nephereus</i>				+		+		
<i>Chrysocharis pentheus</i>		+	+	+	+	+	+	+
<i>Cirrospilus pictus</i>				+	+	+	+	+
<i>Cirrospilus singa</i>	+							
<i>Cirrospilus variegatus</i>				+				
<i>Cirrospilus viticola</i>				+		+	+	
<i>Cirrospilus vittatus</i>	+			+		+	+	
<i>Closterocerus trifasciatus</i>				+	+	+	+	+
<i>Conomorium patulum</i>	+							
<i>Eupelmus urozonos</i>				+	+	+	+	
<i>Eupelmus vesicularis</i>							+	
<i>Euplectrus bicolor</i>				+				
<i>Hemiptarsenus dropion</i>			+	+				
<i>Itopectis alternans</i>				+	+			
<i>Itopectis sp.</i>						+		
<i>Meopolobus sp.</i>							+	
<i>Minotetrastichus ecus</i>							+	
<i>Minotetrastichus frontalis</i>		+		+	+	+		+
<i>Minotetrastichus platanellus</i>					+			
<i>Pediobius saulius</i>			+		+	+	+	+
<i>Pnigalio agraulis</i>		+		+		+		
<i>Pnigalio pectinicornis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pnigalio populifoliella</i>	+							
<i>Pnigalio soemius</i>		+						
<i>Pteromalus semotus</i>		+		+	+	+	+	+
<i>Scambus annulatus</i>	+	+						
<i>Scambus sp.</i>						+		
<i>Sympiesis euspilapterigis</i>	+							
<i>Sympiesis gordius</i>				+				
<i>Sympiesis sericeicornis</i>				+	+		+	+

2.5. A vadgesztenyelevél-aknázómoly elleni védekezés

A vadgesztenyelevél-aknázómoly európai megjelenése, amely veszélybe sodorta az eddig szinte komolyabb károsító nélkül álló vadgesztenyefákat, számos kutató figyelmét fordította az ellene való védekezési eljárások kidolgozása felé. Napjainkban alapvetően három védekezési eljárás ismert, ezek a mechanikai, a kémiai, és a biológiai úton (feromoncsapda) segítségével történő védekezési módszerek. Az előző fejezetben tárgyalt parazitoid fajok védekezés során történő felhasználása napjainkban még nem támasztják alá a témában folytatott kutatási eredmények.

A mechanikai módszer lényege az ősszel lehullott lombzat – és vele együtt az áttelelő bábok – megsemmisítése komposztálás vagy égetés útján. A tapasztalatok szerint azokon a helyeken, ahol a lombzapot megsemmisítik, a következő évben a fák fertőzöttsége jóval alacsonyabbnak bizonyul (Kerényiné Nemestóthy, 1996). A módszer eredményessége kombinálva vegyszerezéssel és – amennyiben mód van rá – a fák öntözésével tovább fokozható (Marx, 1997).

A kémiai védekezés egyik lehetséges módja az inszekticides kezelés. Az aknázómoly megjelenése után a felhasználható vegyszerek közül elsőként a teflubenzuron 150g/liter (Nomolt 15 SC) 0,075%-os oldatát, illetve a deltametrin 25g/liter (Decis 2,5 EC) 0,05%-os oldatát használták, melyekhez a jobb tapadás végett tapadásfokozó anyagot adagoltak. A permetezés helyes időpontját a kirajzó tavaszi generációhoz igazítva, május elejében határozták meg (Kerényiné Nemestóthy, 1996). A következő évben, 1997-ben, Ausztriában három különböző szintetikus kitin szintézist gátló anyag, a difluorbenzuron (Dimilin), a triflumuron (Alsystin) és a fenoxikarb (Insegar) tesztelését végezték el (Blümel és Hausdorf, 1997). A fenti vegyszereket a bécsi Augarten 97 fáján tesztelték, a kísérletekbe vegyszerenként 23-24 fát bevonva. Az eredmények szerint a difluorbenzuron (Dimilin) 0,04%-os oldata, illetve a triflumuron (Alsystin) 0,06%-os oldatának évi kétszeri alkalmazása (május 3. és június 28. 1995-ben) a vadgesztenyelevél-aknázómoly lárvák mintegy 98%-át pusztította el. A fenoxikarb (Insegar) alkalmazása kevésbé bizonyult hatékonynak.

Hazai átfogó vizsgálatok során az ország több pontján 16 készítménnyel állítottak be védekezési kísérleteket (Avar és mtsai, 1998). A készítmények értékelése, kiválasztása során

a jó hatékonyság mellett az emberre és az állandó testhőmérsékletű állatokra kedvező toxikológia, a parazitoid fajok kímélése, valamint a hosszú hatástartam voltak a fő szempontok. Megbízhatóan jó eredményt (egyes helyeken 95% feletti hatékonyságot) a következő hatóanyagokkal rendelkező kitinszintézis-gátló készítmények mutattak: triflumuron (Alsystin 25 WP), flufenoxuron (Cascade 5 EC), difluorbenzuron (Dimilin 48 SC, 25 WP), hexaflumuron (Ekos 100 EC), lufenuron (Match 50 EC), teflubenzuron (Nomolt 15 SC), Rimon 10 EC. Az egyéb készítmények közül nem volt egyértelműen megítélhető a *Bacillus thuringiensis* hatóanyagú Dipel, amely esetében Vas megyében 30%, míg Komárom-Esztergom megyében 80% körüli hatékonyságot regisztráltak. A további vizsgált készítmények közül 50% körüli eredményt mutattak a benszultap hatóanyagú Bancol 50 WP, a flufenzin hatóanyagú Flumite 200 és a triazamat hatóanyagú Aztec 140 EW. A készítményekhez hozzáadott piretroid (Karate 5 EC) ugyan javította azok hatását, de a parazitoid fajok védelme érdekében használata nem javasolt.

Más források a felsorolt készítmények közül a teflubenzuron hatóanyagú Nomolt 15 SC (0,75 l/ha), a triflumuron hatóanyaggal rendelkező Alsystin 25 WP (0,7 kg/ha), flufenoxuron hatóanyagú Cascade 5 EC (2 l/ha), valamint a difluorbenzuron hatóanyagú Dimilin 25 WP (0,5 kg/ha) kitinszintézis-gátló szerek a használatát javasolják (Pap, 1998). A vegyszerekhez tapadásfokozó anyagot kell adagolni, s azokat nagy oldószermennyiséggel (15-20 l/fa) kell kijuttatni.

A különböző készítmények kijuttatásához a védendő fák mérete miatt a hagyományos permetezőgépek nem megfelelőek, helyettük az úgynevezett CDA (szabályozott cseppméretű permetezés) technológia alkalmazása szükséges (Bürgés és Töröcsik, 1998). E célnak megfelelő géptípus a Defenzor X15 Micron CDA, amely a 100-120 µm nagyságú cseppeket egy nagy teljesítményű axiálventillátor segítségével juttatja fel 20-25 m magasságba, azaz a védendő koronaszintbe. Ez a technika alkalmas a vízben oldott rovar- és gombaölő szerek ideális helyre történő kijuttatására és a megfelelő permetszepp-borítás biztosítására.

A védekezés az aknázómoly első- és második generációjának kirajzásakor végezhető el leghatékonyabban. Tekintve, hogy a rajzás ideje tájegységenként eltérő lehet, a védekezés időpontjának megválasztását a helyi adottságokhoz kell igazítani.

A mechanikai és a vegyszeres védekezés hatását, azok eredményességét vizsgálták 1998-ban, Keszthely város területén elszórva található mintegy 1500 vadgesztenyefát mintául véve (Józsa és Czencz, 2000). Az egyes fákat pozíciójuk (a fa elhelyezkedése környezetében, beleértve minden olyan tényezőt, amelyek a fa fertőzöttségi esélyére emberi beavatkozás nélkül hatnak vagy hathatnak) és szituációjuk (a pozíció és az emberi beavatkozás együttese) alapján négy alapszituációba sorolták. Az egyes szituációk páronkénti összehasonlítása az avareltakarítás jelentőségét emelte ki. Amennyiben ez vegyszeres védelemmel is kiegészült, úgy szinte tökéletes védelemben részesültek a fák.

A kémiai védekezési módszerek másik módja lehet a megtámadott fák injektálása. Kísérletek során az általános hatású inszekticid szer, a Confidor WG 70 80 mg/ml koncentrációjú oldatát használták az aknázómoly által megtámadott fák injektálására (Feemers, 1997). Tekintve, hogy a kezelést július 24. után hajtották végre, amikor az aknázómoly első nemzedékének egyedei már közel voltak a kirepüléshez, az csak a második és a harmadik nemzedék károsításának kontrolljára volt képes. Tizenegy héttel a kezeléseket után a kezelt fák levéltetvesztése 50%-nak, míg a kezeletlen, kontroll egyedek levéltetvesztése 80% körülinek mutatkozott. Más eredmények szerint az injektálással történő védekezés legkedvezőbb időpontja április végén, az első aknázómoly nemzedék kirajzásának kezdetén van. Kísérletek során a vizsgált fádba 200-400 ml 20%-os N-Methylpyrrolidon (Acetamiprid) oldatot juttattak, amely – az eredmények tanúsága szerint – a fák levéltet-vesztését kedvezően befolyásolta. Megjegyzendő azonban, hogy néhány esetben felfedezték a bejuttatott oldat fitotoxikus tulajdonságát, valamint a koronában történő egyenetlen eloszlását (Krehan, 1997).

Az injektálással történő védekezéssel kapcsolatban, hazánkban is folytak vizsgálatok. 1999-ben Keszthely környékén abamektin hatóanyagú inszekticiddel injektáltak megtámadott vadgesztenyefákat (Bürgés és Szidonya, 2000). Az injektáló műanyag



17. ábra. Injektálás (Bürgés és Szidonya)

flakonokat a fák törzsének föld feletti (5-10cm) részébe rögzítették (17. ábra) a ferdén, lefelé, 45° dőlési szögben fűrt lyukakba. A kísérletek kontrolljaként kezeletlen, illetve a közelben található, az év folyamán kétszer, triflumuron hatóanyagú Alsystin 25 WP inszekticiddal permetezett fasor egyedeit jelölték ki. Eredményeik szerint, míg a kezelések az első nemzedék lárváira nem gyakoroltak hatást, addig a második nemzedék lárváinak nagy részét (75%) L₂₋₃ stádiumban elpusztították. A lárvák pusztulása következtében a kezelt fák asszimilációs felületének közel 50-70 %-a ép maradt, ami fák egészségi állapotának a kontroll fákhoz viszonyított javulását eredményezte. A harmadik nemzedék lárvái már szinte a levélbe fúródás pillanatában elpusztultak. A hatékonyság késése valószínűleg a lassú transzlokációval magyarázható, ugyanakkor a megfigyelések szerint az a következő évre is áthúzódhat.

Napjainkban az injektálással kapcsolatos kísérletek tovább folynak, meg kell azonban jegyezni, hogy az aknázómoly elleni védekezés során jelenleg ez a módszer magas költségvonzata és viszonylag nagy élőmunka-igénye miatt kisebb szerepet kaphat az alternatív technikákkal szemben.

A '90-es évek végére a vadgesztenyelevél-aknázómoly elleni mechanikai és kémiai védekezési módszerek kidolgozása mellett a figyelem egyre inkább a moly szexferomonjának meghatározása, illetve az ezen alapuló feromoncsapdájának kifejlesztése felé fordult.

Az első megfigyelések – tévesen – a rokon almalevél-aknázómoly (*Phyllonorychter blancardella*) egyszerű, ragacslos feromoncsapdájának (18. ábra) alkalmazását javasolták a vadgesztenyelevél-aknázómoly rajzásának nyomon követésére (Blümel és Hausdorf, 1996). Ennek legnagyobb veszélye, hogy amennyiben az almalevél-aknázómoly feromoncsapdáját alkalmazzuk a



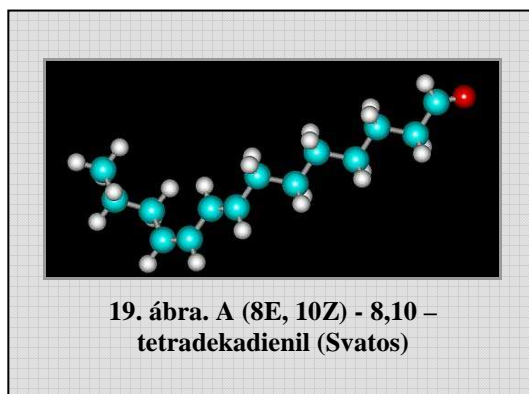
18. ábra. Ragacslos feromoncsapda
(eredeti)

vadgesztenyelevél-aknázómoly rajzásának nyomon követésére és az utóbbi elleni védekezés idejét ehhez igazítjuk, úgy az almalevél-aknázómoly egyedeit is fogó csapda eredményeihez igazított védekezés hatástalan marad. Ez a veszély akkor is fennáll, ha a csapdát vadgesztenyefára helyezük, hiszen az almalevél-aknázómolynak számos tápnövénye ismert, így egyedei nagy valószínűséggel fordulnak elő a vadgesztenyefák közelében is. A fő

problémát a két faj nagyfokú hasonlósága (méret, szín, szárnyrajzolat) jelenti, amely miatt a gyakorlatlan csapdázók nem vagy csak nagyon nehezen tudják elkülöníteni azokat, így a kémiai védekezés idejének meghatározásában komoly tévedésekre számíthatnak (Szócs és Tóth, 1998). Az elmondottakat konkrét példával is alátámasztották: Nagykovácsiban a Kastélypark vadgesztenyefáira 4 db almalevél-aknázómoly feromoncsapdát és 4 db ugyanolyan felépítésű, de csak ragacslapot (feromonkapszulát nem!) tartalmazó csapdát helyeztek ki. A fogási eredmények szerint a feromoncsapda és a csalogató anyag nélküli ragacslap azonos arányban fogott vadgesztenyelevél-aknázómoly egyedeket, míg az almalevél-aknázómoly egyedei kizárólag a saját feromonjukat tartalmazó csapdákból voltak megtalálhatók. A kísérlet másik fontos eredménye volt, hogy az almalevél-aknázómoly rajzása jóval a vadgesztenyelevél-aknázómolyé előtt bekövetkezett, így tehát, amennyiben a vadgesztenyefák védelmét ehhez igazították volna, úgy az hatástalan marad.

A hatékony feromoncsapda kifejlesztéséhez vezető út első állomása a vadgesztenyelevél-aknázómoly hím ivarú egyedek feromonforráshoz történő repülése napszaki ritmusának vizsgálata volt (Bajar és Szócs, 1998). Az eredmények azt mutatták, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly hím ivarú egyedek jellemzően 6 és 13 óra között kerültek a csapdába. A fogási csúcst (mintegy 1000 egyed óránként) 9 és 11 óra között észlelték. A magas fogási szám jól jelzi a nőtény által kibocsátott feromon vonzókéességét, hiszen ebben az időszakban a csalétek nélküli csapdák alig ötven, véletlenül berepülő egyedeket fogtak. Az eredményeket más fajok hasonló adataival is összevetették, így például a ribizkésztikár (*Synanthedon tipuliformis*) ugyancsak a nap egy rövid időszakában repül a feromoncsapdába, míg nyolc *Phyllonorycter* faj feromonkibocsátási, csalogató viselkedésének kezdete szintén a világos periódus kezdetére tehető.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly elleni védekezésben valóban hatásosan felhasználható feromoncsapda kifejlesztése egymástól függetlenül két kutatócsoportnak sikerült. Elsőként telített és telítetlen C12 és C14 vegyületek véletlenszerűen történő gázkromatográfiás-elektroantennográfiás sorozatvizsgálatában, a lepkecsáp detektorral észlelt retenciós időkre támaszkodva a (8E, 10Z) - 8,10 - tetradekadienil aldehidet (19. ábra)



jelölték meg a keresett feromon-molekulaként (Svatos és mtsai 1999, Interneten <http://www.cameraria.de> történő közlés).

Ezzel párhuzamosan 1995-től haladt a vadgesztenyelevél-aknázómoly szexferomonjának kémiai szerkezet-meghatározása (Szócs és mtsai, 2001). Ennek érdekében bábokat gyűjtöttek, majd a tömegesen kinevelt 1-5 napos szűz nőtényekből különböző módszerekkel a feromont kinyerték. A kivonatok biológiai aktivitásának ellenőrzése után azok kémiai analízisét kapcsolt gázkromatográfiás-tömegspektroszkópiai módszerrel végezték el. A vizsgálatok alapján megállapították, hogy a keresett feromonmolekula valamelyik 14 szénláncosszú, a C6 és C12 között, egymástól két szénatomnyira két kettős kötést tartalmazó aldehid. Az első kutatócsoport időközben megjelent eredményét megvizsgálva megállapították, hogy a Svatos és társai által meghatározott molekula minden tekintetben megegyezik az említett aldehiddel. Az így meghatározott, majd a Hamburgi Egyetemen szintetizált vegyületet kipróbálták. Az eredmények azt mutatták, hogy a csapda 2 óra alatt gyakorlatilag telítődött a vadgesztenyelevél-aknázómoly hímjeivel, míg más faj egyedeit nem vonzotta (20. ábra). A szintetizált vegyület hatását 4-6 hétig megőrizte, így alkalmasnak bizonyult a feromoncsapdában történő használatra.



Összefoglalva: a vadgesztenyelevél-aknázómoly elleni védekezésnek jelenleg három alapvető eljárása ismert, úgymint mechanikai, kémiai és biológiai védekezési eljárások. Az első, mechanikai eljárás lényege a lehullott lombzat és vele az áttelelő bábok megsemmisítése égetés vagy komposztálás útján.

Kémiai eljáráson inszekticides kezelést vagy injektálást értünk, amely során a vadgesztenyelevél-aknázómoly különböző fejlődési alakjainak megsemmisítése a cél. Általában az inszekticides kezelés során a kitin-szintézist gátló anyagok használata javasolt, amely a károsító faj lárva stádiumú egyedeinek pusztulását okozza. Az injektálással történő védekezés a kémiai védekezési eljárások közül az egyik leginkább környezetkímélő módszer, azonban magas költségvonzata és élőmunka igénye miatt kevésbé elterjedt.

A biológiai, feromonok segítségével történő védekezés napjainkra vált elérhetővé a felhasználók számára. Legelőnyösebb tulajdonsága, hogy lehetővé teszi a károsító rajzáscsúcsainak megállapítását, ezáltal az inszekticides kezelés időpontjának helyes meghatározását.

Általában elmondható, hogy a három eljárás kombinációja a védendő vadgesztenyefák környezetének függvényében adhatja a legeredményesebb megoldást.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

A vadgesztenyelevél-aknázómollyal kapcsolatos vizsgálataim anyagát szolgáltató mintavételi eljárások és az azokat analizáló vizsgálati módszerek ismertetését a vizsgálatok elvégzésének megfelelő bontásban ismertetem.

A fiziológiai, rajzásdinamikai vizsgálatok 1997-től kezdődően folytak a vadgesztenyelevél-aknázómoly adott évben kifejlődő generációi számának, az egyes generációk kifejlődési idejének, valamint az áttelelő populáció fejlődésének, egyedszáma változásainak megállapítása céljából. A Gyarmatpusztán található mintegy 22 ha területű elegyetlen vadgesztenye állomány, az egyéb faállományokba telepített vadgesztenye foltok és a csatlakozó vadgesztenye fasorok az összehasonlító vizsgálatok lehetőségét is megteremtették.

A genetikai vizsgálatok 1999-től kezdődően zajlottak az Universität für Bodenkultur, Wien Erdővédelmi Intézetének laboratóriumában, melyeknek célja az egyes vadgesztenyelevél-aknázómoly populációk genetikai mintázatának megismerése, összehasonlítása volt.

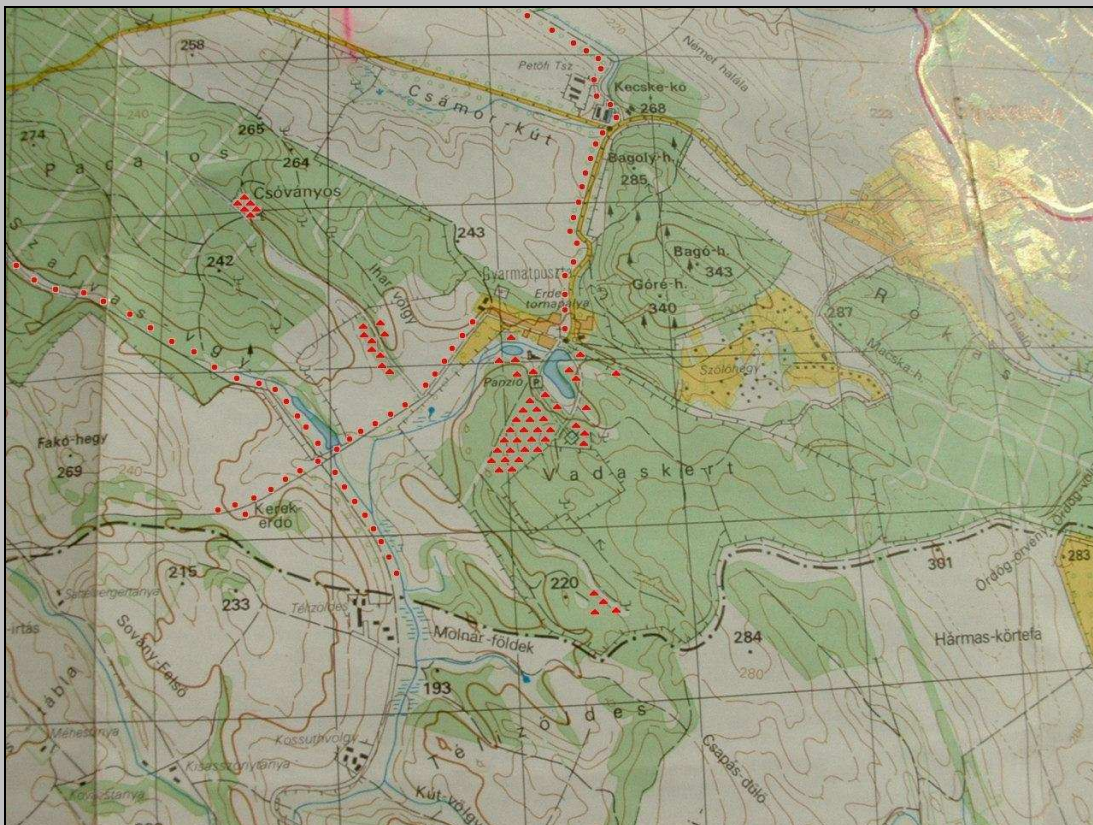
3.1. Áttelelés és rajzásdinamikai vizsgálatok

Az összehasonlító vizsgálatok alapjául a Gyermely községhatárban található vadgesztenye állományokban (5. táblázat) és a fasorokban (21. ábra) kijelölt mintafák szolgáltak.

5. táblázat. A vadgesztenye előfordulással érintett erdőrészeket üzemtervi adatai (A Bajnai Erdészet üzemterve 1995-2005)

Jel	T ha	S %	EA %	Er.	Kor év	H m	D _{1,3} cm	FTO	Fat. kép. m ³ /év	Z %	G m ² /ha	N 0,1 ha	Készl. m ³ /ha	F. növ. m ³ /év
46A	3,3	47	100	M	101	16	44	6	3	40	11,2	7	102	1,0
82B	4,5	83	100	M	91	17	50	5	4	70	20,2	10	191	6,8
84A	0,7	59	100	M	111	14	50	6	1	50	13,6	7	111	0,1
85B	9,7	59	100	M	111	16	50	6	3	50	14,0	7	129	1,9
87A	1,0	59	100	M	111	14	40	6	1	50	13,6	11	111	0,2
87E	2,7	71	100	M	111	15	50	6	2	60	16,7	9	142	0,8
42B	4,0	37	30	M	81	14	30	6	3	30	2,5	4	21	0,4
83B	2,5	71	25	M	106	18	46	5	4	70	4,3	3	45	0,3
81A	31,1	100	5	M	110	15	46	6	2	80	1,2	1	10	-

Az egyes fák kiválasztásakor törekedtem arra, hogy a minta az adott erdőrészletre, illetve fasor-szakaszra jellemző képet nyújtson, így az adott részletek nagyságával arányosan állapítottam meg a mintaként szolgáló fák számát. Az állományokban összesen 17 (elegyetlen állományban 13, elegyes állományban 4), míg a fasorokban 5 mintafa kijelölését végeztem el. Nem vettem mintát az állattartással érintett Gyermely 84A erdőrészletből, tekintettel arra, hogy az adott területen az áttelelés vizsgálatához szükséges értékelhető mennyiségű avar nem volt található.



21. ábra. Vadgesztenye fasorok és állományok Gyarmatpusztán (eredeti)

Az áttelelő vadgesztenyelevel-aknázómoly populáció nagyságának megállapításához 1997. április 23-án gyűjtött avarmintát használtam fel, az áttelelő populáció így a lehetőség szerinti leghosszabb időt tölthette természetes körülmények között. Mintaként az egyes kijelölt fák alatt 1 m^2 -en található avart gyűjtöttem össze. Közvetlenül a begyűjtés után a minták azonos körülmények között elhelyezett ($20\text{--}21\text{ }^\circ\text{C}$ hőmérséklet, fedett, jól szellőző hely) inszektáriumokba kerültek. Naponta megszámlálva a kifejlődött imágókat, az értékelést május

20-án végeztem el. Az avarmintát 105 °C hőmérsékleten kiszáritottam, tömegét analitikai mérlegemmel mértem.

Az aknázómoly rajzásdinamikai vizsgálataihoz a mintafákra hetente gyűjtött lombleveleket használtam. A leveleken található aknák boncolása során a talált lárvák, bábok és üres aknák száma feljegyzésre került. Az egyes fejlődési alakok számának változásából az adott évben kifejlődött generációk száma illetve az egyes generációk kifejlődéséhez szükséges idő megállapítható volt. A vizsgálatokat 1997. május 25. és szeptember 21. között végeztem.

3.2. Fagyűrész vizsgálatok

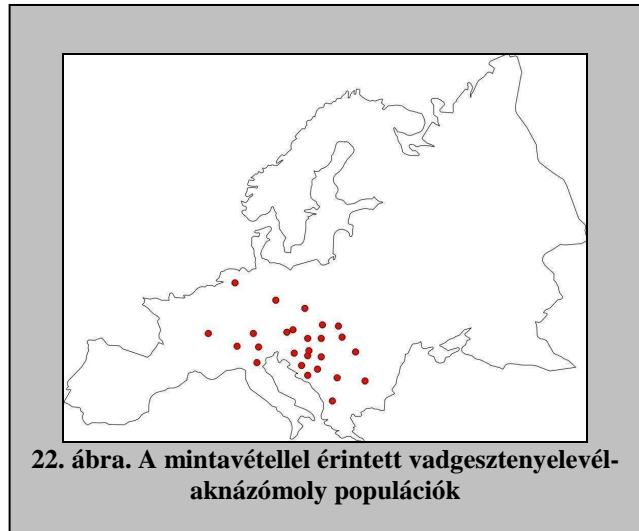
A faj áttelelését meghatározó tényezők közül a téli hőmérséklet hatását kiemelve megvizsgáltam, hogy milyen hőmérsékleti minimumot képesek elviselni a faj áttelelő bábjai. Az 1998. február és 2000. március közötti téli időszakokban gyűjtött bábokat az Universität für Bodenkultur Wien Erdővédelmi Intézetében analizáltam. A vizsgálatot több ismétléssel, havonta végeztem, közvetlenül a vizsgálat időpontja előtt, az egyes mintavételi helyeken gyűjtött áttelelő bábokon. A vizsgált bábokat „Lauda MGV” készülékkel, folyadékfürdőben, egyenletes 2 °C/perc sebességgel hűtöttem az úgynevezett „Supercooling point, (SCP)” eléréséig. A hűtési folyamatot és a keresett hőmérsékleti pont elérését a bábok testéhez rögzített termográf regisztrálta. A vizsgálat során nem vettem figyelembe azokat a bábokat, amelyekben parazitoidokat találtam.

3.3. Genetikai vizsgálatok

3.3.1. Mintavétel

A genetikai vizsgálatok első lépéseként a következő országokban található vadgesztenyelevél-aknázómoly populációkból származó genetikai mintagyűjtemény összeállítására került sor:

Ausztria, Bosznia-Hercegovina,
Bulgária, Csehország, Hollandia,
Horvátország, Lengyelország,
Macedónia, Magyarország, Németország,
Olaszország, Románia, Svájc,
Szlovákia, Szlovénia (22. ábra). A minták jegyzékét a táblázat tartalmazza (6. táblázat). A mintagyűjtés során fokozott hangsúlyt kapott a Balkán-félsziget, ezen belül az Ohridi-tó tágabb környezete, ahol a vadgesztenyelevél-aknázómoly első példányai megjelentek.



A gyűjtött minták jellemzően bábok voltak, néhány populáció esetében lárvák begyűjtésére is sor került. A begyűjtött mintákat egyedi jellel ellátott, etanolt tartalmazó üvegekben, a vizsgálatok ideje alatt +4 °C, a vizsgálatok közötti hosszabb időszakokban –20 °C hőmérsékleten tároltam.

6. táblázat. A genetikai vizsgálatok során használt minták jegyzéke

<i>Minta</i>		<i>Gyűjtés</i>		<i>Gyűjtő neve</i>
<i>száma</i>	<i>jele</i>	<i>helye</i>	<i>ideje</i>	
1	SA	Sarajevo (Bosznia-H.)	1999. 06. 12.	Mirza Dautbasic
2	BR	Brcko régió (Bosznia-H.)	1999. 06. 19.	
3	PO	Postojna (Szlovénia)	1999. 07. 11.	Roman Pavlin
4	GO	Gozd Martuljek (Szlovénia)	1999. 06. 24.	
5	LJ	Ljubljana (Szlovénia)	1999. 06. 10.	
6	KR	Kranj (Szlovénia)	1999. 06. 05.	
7	MA	Maribor (Szlovénia)	1999. 06. 13.	
8	NO	Novo Mesto (Szlovénia)	1999. 06. 17.	
9	VR	Vrhpolje (Szlovénia)	1999. 06. 25.	
10	DJ	Djurdjevac (Horvátország)	1999. 06. 13.	
11	CA	Cakovec (Horvátország)	1999. 06. 13.	
12	ZA	Zagreb (Horvátország)	1999. 06. 17.	
13	BA	Baden (Ausztria)	1998. 10. 20.	Christian Stauffer
14	WI	Wien (Ausztria)	1998. 10. 20.	
15	BE	Bern (Svájc)	1999. 06. 20.	Marc Kenis
16	NY	Nyitra (Szlovákia)	1999. 04. 26.	Kovács Zoltán
17	VY	Vysne (Csehország)	1999. 07. 15.	Markus Riegler
18	OR	Oradea (Románia)	1999. 04. 25.	Kovács Zoltán
19	MI	Miskolc (Magyarország)	1999. 04. 26.	
20	GY	Gyermely (Magyarország)	1998. 10. 18.	
21	KE	Keszthely (Magyarország)	1998. 06. 05.	Lakatos Ferenc
22	SO	Sopron (Magyarország)	1999. 07. 19.	Kovács Zoltán
23	BN	Brno (Csehország)	1999. 07. 30.	Lakatos Ferenc
24	ZV	Zvolen (Szlovákia)	1999. 07. 30.	
25	SC	Schlanders (Olaszország)	1999. 09. 05.	Axel Schopf
26	ER	Erfurt (Németország)	1999. 08. 15.	U. Baier
27	ZB	Zagreb 2 (Horvátország)	1999. 06. 15.	Boris Hrasovec
28	KW	Krakow (Lengyelország)	1999. 08. 14.	W. Grodzki
29	ZG	Zagreb 3 (Horvátország)	1999. 07. 30.	Roman Pavlin
30	SE	Seca (Szlovénia)	1999. 08. 27.	
31	DI	Divaca (Szlovénia)	1999. 08. 27.	
32	DO	Doklezovje (Szlovénia)	1999. 08. 11.	
33	KL	Klagenfurt (Ausztria)	1999. 07. 15.	
34	VE	Verona (Olaszország)	1999. 10. 15.	Christian Stauffer
35	VE/B	Verona (Olaszország)	1999. 10. 15.	
36	MU	Munchen (Németország)	1999. 10. 22.	
37	FR	Freiburg (Németország)	1999. 11. 07.	H. Bogenschütz
38	OHR	Ohrid (Macedónia)	1999. 11. 07.	Rumen Tomov
39	DER	Dervisha reserve (Macedónia)	2000. 03. 14.	
40	SOF	Sofia (Bulgária)	1999. 11. 14.	
41	SHU	Shumen (Bulgária)	2000. 03. 17.	
42	NET	Naalwijk (Hollandia)	2000. 06. 13.	Moraal

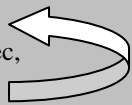
3.3.2. Kivonás, sokszorozás

Az egyes genetikai vizsgálatok alapját képező polimeráz-lánreakció (Polymerase Chain Reaction, PCR) kivitelezéséhez szükséges dezoxi-ribonukleinsav (DNS) kivonására alkalmazott eljárás nátrium-klorid oldat és kloroform használatán alapult (Hoy, 1994), melyet az aknázómoly bábokra optimalizáltam. A módszer alkalmazása során több lépésben jutottam el a DNS-t mind nagyobb koncentrációban tartalmazó mintához (23. ábra). A preparált minták tárolása a megfelelő jellel ellátott eppendorf edényekben +4 °C hőmérsékleten történt.

A *Cameraria ohridella* bábokból származó DNS-t két módszerrel hasonlítottam össze. Mindkét módszer esetében HYBAID típusú PCR gépet használtam. Az alkalmazott sokszorozási program (24. ábra) csatlakozási hőmérséklete a használt primer függvényében változott. A csatlakozási hőmérséklet meghatározása számítással ($T_m=4*(G+C)+2*(A+T)$, ahol T_m : az optimális csatlakozási hőmérséklet Celsius fokban, G, C, A, T: az egyes nukleotidok száma a primerben) és tapasztalati úton, gradiens reakciók eredményeinek kiértékelésével történt. A RAPD-PCR (Random Amplified

1. a bábót eppendorf csőbe helyezni,
2. 400 µl homogenizáló oldatot (100 mM Tris, 100 mM EDTA, 1% SDS) hozzáadni,
3. a bábót homogenizálni,
4. 5 µl Proteinase K-t hozzáadni,
5. 12 órán át inkubátorba helyezve 56°C hőmérsékleten, 600/min fordulaton tartani,
6. 10 sec centrifugálni 13.000/min fordulaton,
7. az oldatot (~400 µl) a szilárd alkotók nélkül új eppendorf csőbe helyezni,
8. 250 µl NaCl-t (4,5M) és 650 µl Kloroformot hozzáadni, összerázni,
9. 15 min centrifugálni 13.000/min fordulaton,
10. a felső, vizes réteget kivenni, új eppendorf csőbe helyezni,
11. 500 µl Kloroformot hozzáadni, összerázni,
12. 15 min centrifugálni 13.000/min fordulaton,
13. a felső, vizes réteget kivenni, új eppendorf csőbe helyezni,
14. kétszeres mennyiségű EtOH-t (96%) és 10% mennyiségű NaAC-t (3 M) hozzáadni, összerázni,
15. -20 °C hőmérsékleten, 30 min tárolni,
16. 10 min centrifugálni 13.000/min fordulaton,
17. az oldatot a DNS-t tartalmazó pellet nélkül kiönteni,
18. 500 µl EtOH-t (70%) hozzáadni, összerázni,
19. 10 min centrifugálni 13.000/min fordulaton,
20. az oldatot a DNS-t tartalmazó pellet nélkül kiönteni,
21. a felesleges EtOH-t elpárologtatni,
22. 30 µl TE-t (Tris 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8) hozzáadni.

23. ábra. DNS kivonása *Cameraria ohridella* bábokból

1. 92 °C, 5 min,
 2. 92 °C, 30 sec,
 3. X °C, 1 min 30 sec,
 4. 72 °C, 2 min,
 5. 72 °C, 5 min,
 6. 25 °C, 1 min.
- 

24. ábra. PCR program

1.	puffer	3 µl
2.	dNTP	0,75 µl
3.	primer	0,75 µl
4.	<i>Sigma</i> Taq	0,3 µl
5.	dd H ₂ O	23,7 µl
6.	DNS minta	1,5 µl
		30 µl

25. ábra. RAPD-PCR reakció komponensei

Polymorphic DNA) módszer esetében az egyes reakciók eppendorf edényekben, 30 µl mennyiségben zajlottak, a reakciók komponenseit mutatja a 25. ábra (25. ábra). A reakciók eredményét 1%-os agaróz gélen (1g agaróz, 100 ml TBE, 1 µl Etídium-Bromid) futtatva, UV fényel megvilágítva tettem láthatóvá. A módszer alkalmazása során 37 primert teszteltem (26. ábra), melyek közül mindössze 12 bizonyult alkalmasnak a faj vizsgálatára. A vizsgálatokat hét populáció 71 egyedén végeztem el. Az adatok statisztikai analízisét PopGen 32 szoftver segítségével oldottam meg.

A második módszer során a mintákból származó egy, a citokróm-oxidáz I (COI) előállításáért felelős mitokondriális DNS szakasz szekvenálását végeztem el. Első lépésként a szekvenálni kívánt DNS szakasz sokszorozását hajtottam végre a mintákból. A COI DNS szakasz kiválasztásához használt primer pár az úgynevezett Pat&Dick előremenő (forward) és visszamenő (reverse) primerek voltak. A sokszorozás során alkalmazott reakció mennyisége 50 µl volt (27. ábra), a sokszorozást szintén HYBAID gépen végeztem. A reakciók végtermékét agaróz gélen futtattam, majd a keresett DNS szakaszt tartalmazó kivágott gél-darabokat QIA-kit

OPA A14	AAC GGG CCA A
OPA A5	GGC TTT AGC C
OPA B1	CCG TCG GTA G
OPA B3	TGG CGC ACA C
OPA B8	GTT ACG GAC C
OPA C11	CCT GGG TCA G
OPA C12	GGC GAG TGT G
OPA C13	GAC CCG ATT G
OPA C5	GTT AGT GCG G
OPA C7	GTG GCC GAT G
OPA C9	AGA GCG TAC C
OPA16	AGC CAG CGA A
OPA2	TGC CGA GCT G
OPA4	AAT CGG GCT G
OPA4n	AAT CGG GCT G
OPA9	GGG TAA CGC C
OPV1	TGA CGC ATG G
OPY17	GAC GTG GTG A
OPV6	ACG CCC AGG T
PAC3	CAC TGG CCC A
R1	TAC CAG AGG C
R10	TAT AGC GCA C
R12	CAT CGA AGT GCC GAC TCG AA
R13	CAA TGC CAT TGC GCC GTA GG
R14	AAG GGT TCG GAA ATC CGG CC
R15	AAC TGC CCG GTT GGA CGA GC
R16	AGT CTC AGC GAT TAG CAC GT
R17	GGT TAA CCG CTA CGA CTC GA
R1n	TAC CAG AGG C
R2	GAT TCC AGT C
R3	TGG CTA CAC G
R4	CCA AGT TGC C
R5	ATC CGT GCA G
R7	CCA GTG GAT C
R9	CGA AAG CTT T
R8	ACC CTG GGA T

26. ábra. RAPD-PCR vizsgálatok során alkalmazott primerek bázissorrendje

1.	puffer	5 µl
2.	dNTP	1 µl
3.	f primer	1 µl
4.	r primer	1 µl
5.	<i>Sigma</i> Taq	0,4 µl
6.	dd H ₂ O	33,6 µl
7.	DNS minta	8 µl
		50 µl

27. ábra. Szekvenálás reakció komponensei

segítségével tisztítottam meg. A PCR reakciókat a Sanger által kidolgozott eljárás (Hoy, 1994) szerint jelölt nukleotidok használatával megismételtem. A második PCR után a kiválasztott DNS szakaszt tartalmazó terméket nátrium acetát (NaAC) oldat segítségével tisztítottam meg (28. ábra). Az így előkészített minták bázissorrendjét az

1. PCR terméket eppendorf csőbe helyezni,
2. 2 μ l NaAC-t (3M) és 50 μ l EtOH-t (95%) hozzáadni, összerázni,
3. 15 min szobahőmérsékleten tárolni,
4. 20 min centrifugálni 13.000/min fordulaton,
5. az oldatot a DNS-t tartalmazó pellet nélkül kiönteni,
6. 250 μ l EtOH-t (70%) hozzáadni, összerázni,
7. 5 min centrifugálni 13.000/min fordulaton,
8. az oldatot a DNS-t tartalmazó pellet nélkül kiönteni,
9. a felesleges EtOH-t elpárologtatni.

28. ábra. Szekvenálás reakció megtisztítása NaAC oldattal

Universität für Bodenkultur Wien Erdő és Faanyagvédelmi Intézetében automata szekvenáló-géppel határozottam meg. A hét populáció összesen kilenc egyedének szekvenálása során kapott eredmények statisztikai analízisére – az eredmények azonossága miatt – nem volt szükség.

Mindkét genetikai vizsgálati eljárás során hét populáció egyedeit vizsgáltam (Bécs, Erfurt, Krakkó, Naalwijk, Ohrid, Szarajevó, Verona). A vizsgálatok során figyelemmel kellett lennem a rendelkezésre álló erőforrásokra, időre, így a begyűjtött negyvenkét populációból hét, a vadgesztenyelevél-aknázómoly európai elterjedési területét jól reprezentáló populációt választottam ki. A kiválasztás legfontosabb szempontja az volt, hogy a hét kiválasztott, egymástól távolabb fekvő populáció tekintetében az előzetes várakozások szerint nagyobb eséllyel mutathatók ki genetikai különbségek, ezáltal elterjedési, leszármazási viszonyok, mint egymáshoz közeli minták esetében. Az így kapott eredmények ismeretében aztán a későbbiekben lehetőség nyílik a minták „besűritésére”, az eredmények pontosítására.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A vadgesztenyelevél-aknázómollyal kapcsolatos kutatások kezdete nemzetközi szinten a faj európai, míg hazai szinten magyarországi megjelenéséhez köthető. A téma irodalmi vonatkozásainak áttekintése során – a vizsgált részterületek nagyléptékű tagolásán túl – igyekeztem az egyes publikációkat kronológiai sorrendben ismertetni. Saját vizsgálataim az ismertetett, vonatkozó kutatásokkal párhuzamosan haladva 1997-től kezdődtek, célom a vadgesztenyelevél-aknázómoly mind mélyebb szintű, ugyanakkor mind szélesebb körű megismerése volt. Vizsgálataim eredményei 1998-tól folyamatosan adódtak, célszerű tehát azokat az irodalmi áttekintésben szereplő, hasonló vizsgálatok eredményeivel összevetni, együtt értékelni.

Első vizsgálataim a vadgesztenyelevél-aknázómoly 1997. évi áttelelésére, rajzásmenetére irányultak, összehasonlítva fasorból és állományból származó adatokat. Ezt követte az áttelelő aknázómoly bábok fagytűrőképességének jellemzésére szolgáló úgynevezett „Supercooling Point, SCP” vizsgálatok elvégzése 1998-2000. között. 1999-től kezdődően vizsgálataim a faj genetikai tulajdonságainak megismerése felé fordultak, s az addig kizárólag hazai populációk vizsgálata mellett a vadgesztenyelevél-aknázómoly ismert elterjedési területéről származó minták is a vizsgálatok részévé váltak. 2001-től kezdődően lehetőségem nyílt a Gyarmatpusztán található vadgesztenye állomány (21. ábra) védelmét célzó eljárás kidolgozására, eredményeinek nyomon követésére.

Eredményeim bemutatása során is a fentiekben vázolt kronológiai sorrendet igyekszem követni. Az egyes eredmények ismertetésénél kitérek a hasonló vizsgálatok eredményeinek értékelésére is, összevetve azokat az általam elértekkel.

4.1. Biológiai vizsgálatok

A vadgesztenyelevél-aknázómollyal kapcsolatos vizsgálataim első részében a faj egyes biológiai tulajdonságainak megismerésével foglalkoztam. A vizsgálatok keretein belül áttelelés-, rajzásdinamikai-, illetve fagytűrési vizsgálatok elvégzésére került sor.

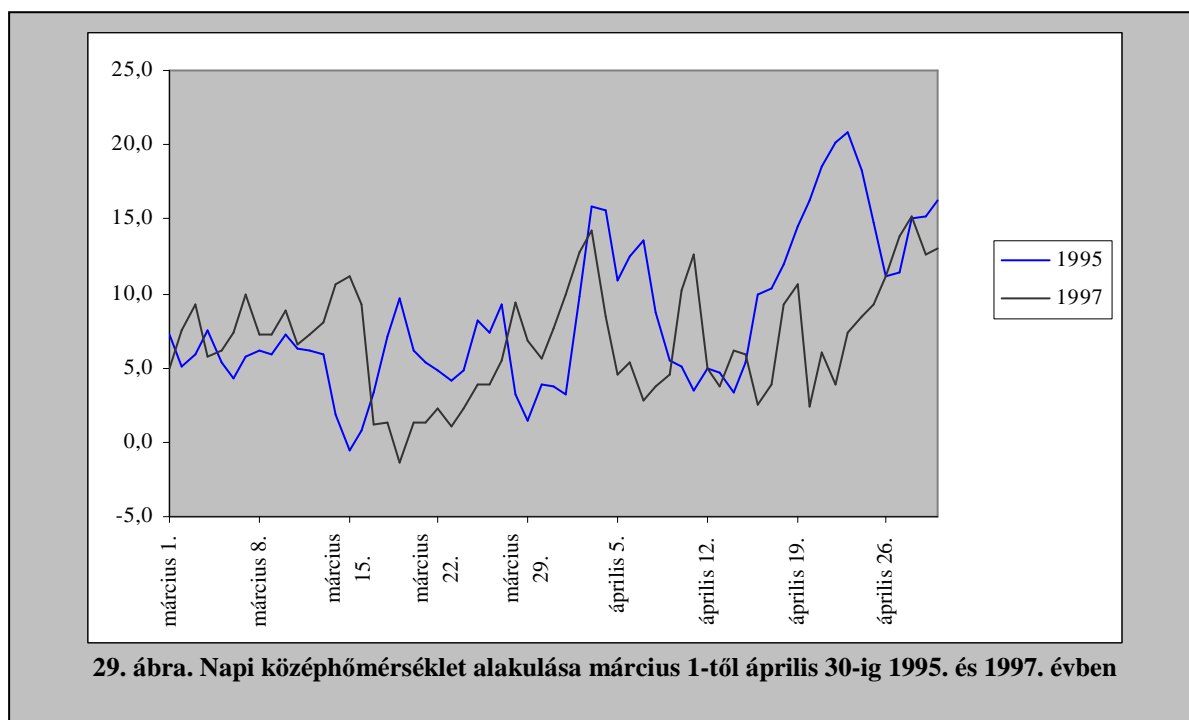
4.1.1. Átteelés vizsgálatok

A vadgesztenyelevél-aknázómoly rajzásdinamikai vizsgálatai 1997-ben, az átteelő populáció kirepülésének vizsgálatával kezdődtek. Az inszektáriumokban elhelyezett avarmintából az első aknázómoly egyedek április 29-én repültek ki. A fasorokból, illetve az elegyetlen és elegyes állományokból gyűjtött minták között a kirepült egyedek számának viszonylatában jelentős különbség mutatkozott (7. táblázat).

7. táblázat. Az átteelés vizsgálatának eredményei

Hely	Mintaszám (db, m ²)	Levéltömeg (g)	Levél száraztömeg (g)	Relatív levéltömeg (g/m ²)	Relatív levél száraztömeg (g/m ²)	Kifejlődött példány (db)	Relatív kifejlődött példány (db/100g)
Fasorok	5	1011	881	202	176	208	24
Elegyetlen állomány	13	6136	5348	472	411	490	9
Elegyes állomány	4	2121	1849	530	462	159	9

Míg 100 g avarmintára vonatkoztatva a fasorban 7 és 40 közötti, átlagosan 24 aknázómoly egyed fejlődött ki, addig az állományokban ugyanez az érték 6 és 20 között, átlagosan 9 egyedszámot mutatott.



A kirepülés ideje (április 29.) késést mutat az 1995-ben, Keszthely környékén tapasztaltakhoz viszonyítva, ahol április 17-én indult meg a rajzás (Czencz és Bürgés, 1996). A keszthelyi vizsgálatok a rajzás kezdetét a napi középhőmérséklet alakulásával összefüggésben vizsgálva megállapították, hogy a rajzás kezdetekor az +10 °C volt, amely tartósan meg is maradt (29. ábra). Az 1997-ben tapasztalt rajzás késésének oka feltehetően az időjárási körülményekben keresendő. Az ábráról leolvasható, hogy 1997-ben mintegy két héttel később érte el a napi középhőmérséklet a tartósan +10 °C értéket. Ez a tény magyarázatot adhat a rajzás kezdetének szintén körülbelül két hetes késésére.

Az áttelelés sikerességét vizsgálva a szerzők 100 darab avarlevélre vonatkoztatva átlagosan 96,7 imágó kifejlődéséről számolnak be 1995-ben, s megállapítják, hogy az áttelelő populáció egyedei a tél folyamán viszonylag kis veszteségeket szenvednek el. Eredményeim hasonlóan sikeres áttelelést támasztanak alá, 100 gramm tavasszal gyűjtött avarlevél viszonylatában 6-40 imágó kifejlődésével. Az eltérő viszonyítási alap (darab, illetve gramm) a gyűjtés időpontjában kereshető, hiszen míg ősszel jól kivehetően begyűjthető 100 darab avarlevél, addig tavasszal már csak grammban fejezhető ki ennek mennyisége.

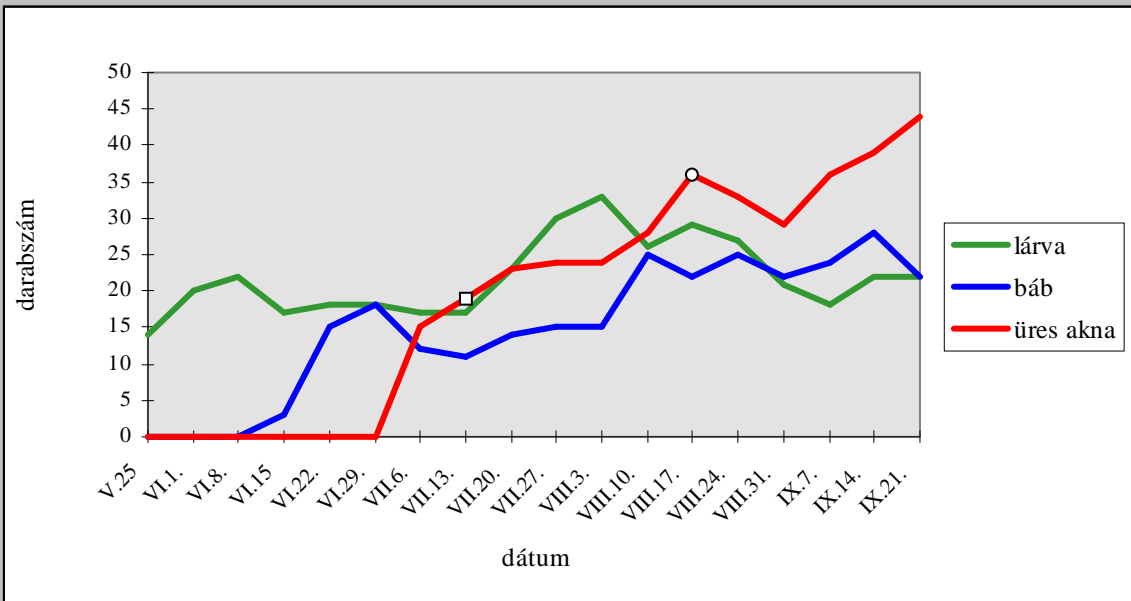
Eredményeim – továbblépve az 1995-ben, Keszthelyen végzett vizsgálatokon – azt is mutatják, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly áttelelő nemzedéke 1996/97-ben nagyobb sikerrel telelt át a vadgesztenye fasorokban, mint az állományokban. Mi lehet ennek az oka? Magyarázhatná a jelenséget, ha eltérés lenne az áttelelés során tapasztalható környezeti, időjárási viszonyokban, azonban ez – tekintve, hogy a fasorok és az állományok szinte egy helyen találhatók – nem valószínű. Válaszolhatnánk, hogy a fasorban eleve nagyobb egyedszámban fordul elő az aknázómoly, de jelenlegi ismereteink tükrében ez a feltevés sem megalapozott. A kérdésre adható válaszok legvalószínűbbike, hogy a fasorban áttelelésre készülő aknázómoly lárvák nagyobb eséllyel fejezték be a bábozódást a téli hideg időjárás beköszönte előtt, mint az állományban élők. Ez utóbbi feltevést igazolták az 1997-ben végzett rajzásdinamikai vizsgálatok.

4.1.2. Rajzásdinamikai vizsgálatok

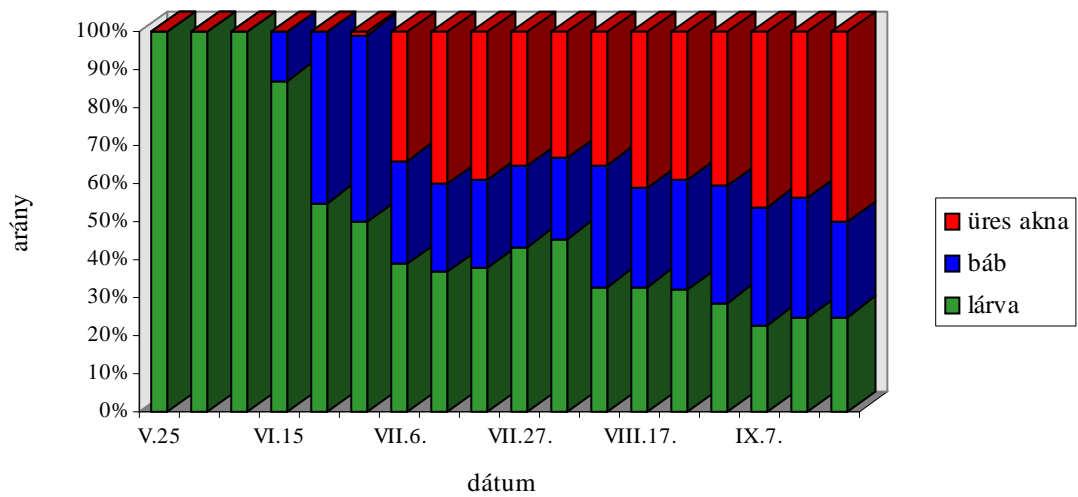
A heti, rendszeres aknaboncolás jegyzőkönyvi eredményeinek szemléltetésére legalkalmasabb módszernek a grafikonon, illetve az oszlopdiagramon történő ábrázolás kínálkozott (30-35. ábra). A grafikonok vízszintes tengelyére a felvételi időpontok, míg függőleges tengelyére az adott időpontban talált lárvák, bábok, illetve üres aknák száma került. Az oszlopdiagramok szerkesztési elve hasonló, azzal a különbséggel, hogy a függőleges tengelyen az egyes fejlődési alakok százalékos aránya kapott helyet. A gyűjtött minták eredményeit három csoportra (fasor, elegyetlen állomány, elegyes állomány) osztottam, s az átlagos értékeket ábrázoltam. A grafikonokon az üres aknák növekedési ütemének maximumát felkeresve az egyes generációk rajzási időpontja állapítható meg.

A grafikonokból levonható következtetések közül első, hogy 1997-ben a vizsgált területek mindegyikén a károsítónak 3 generációja fejlődött ki. Ez a megállapítás több szerző (Kerényiné Nemestóthy, 1997; Pschorn-Walcher, 1997; Czencz és Bürgés, 1996) következtetésével is megegyezik, földrajzi régióknak (Kárpát-medence) viszonylatában tehát általánosan elfogadható. Természetesen különleges időjárási viszonyok esetén, vagy egyedi mikroklímával rendelkező helyeken a generációk száma ettől eltérő is eltérő lehet.

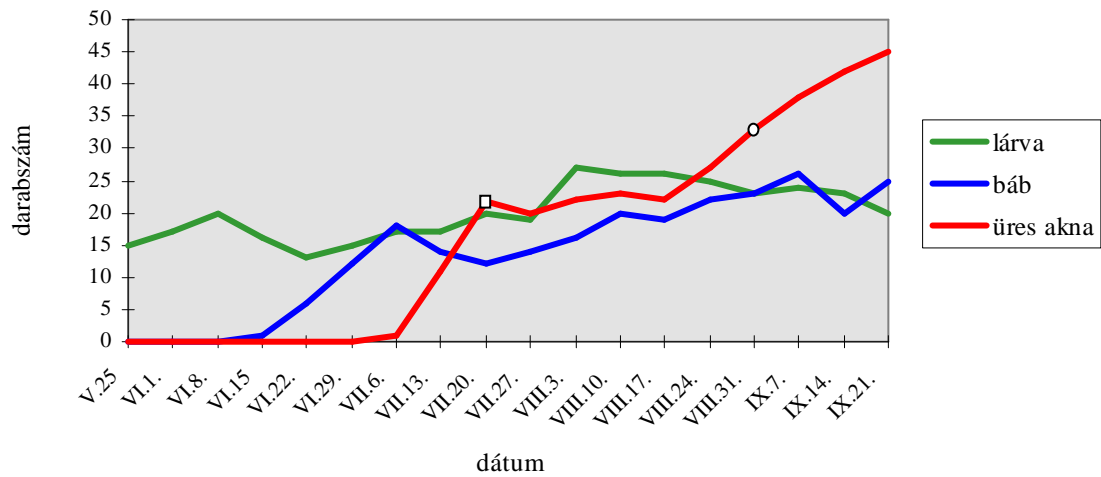
Második fontos következtetés, hogy az egyes nemzedékek kifejlődéséhez a grafikon szerint a fasorban átlagosan 35, az elegyetlen állományban 42, míg az elegyes állományban 49 napra volt szükség. Tekintettel azonban arra, hogy a trendvonalak futása a két állomány viszonylatában rendkívül hasonló, fogalmazhatunk úgy, hogy 1997-ben a károsító egyes nemzedékeinek kifejlődéséhez a fasorban átlagosan 35, az állományokban átlagosan 45 napra volt szükség. Ez a megállapítás megegyezik az 1995-ben végzett keszthelyi vizsgálatok eredményeivel, ahol a károsító egyes nemzedékeinek kifejlődési idejét 35-50 napban határozták meg (Czencz és Bürgés, 1996).



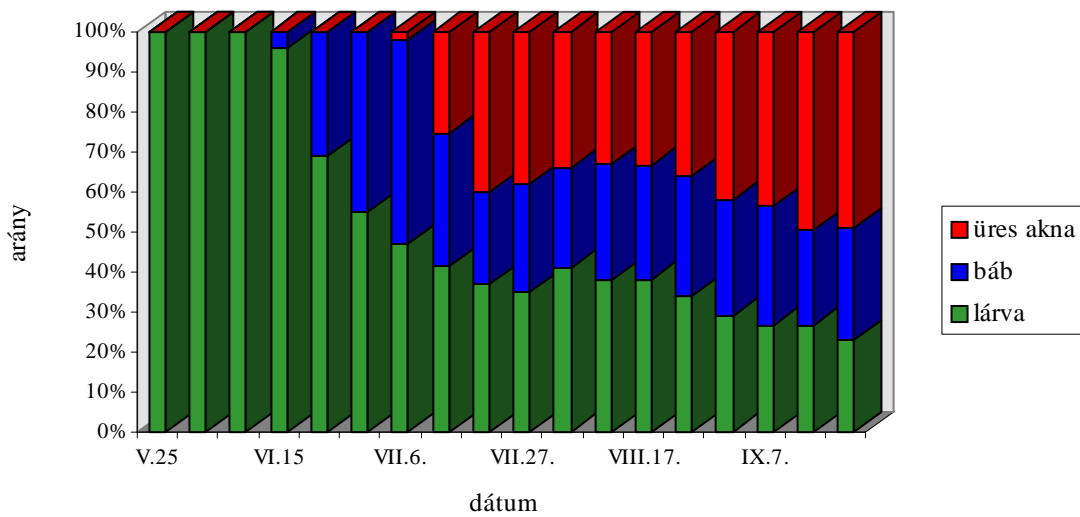
30. ábra. Az egyes fejlődési alakok számának változása az idő függvényében, fasorban



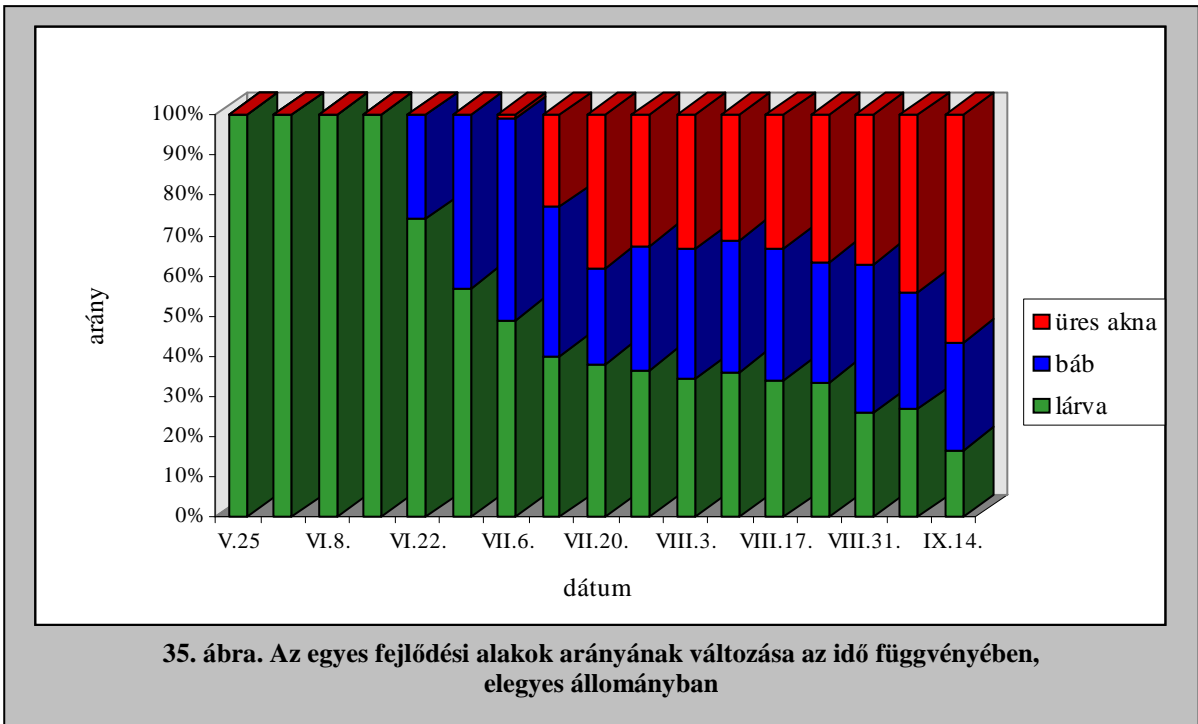
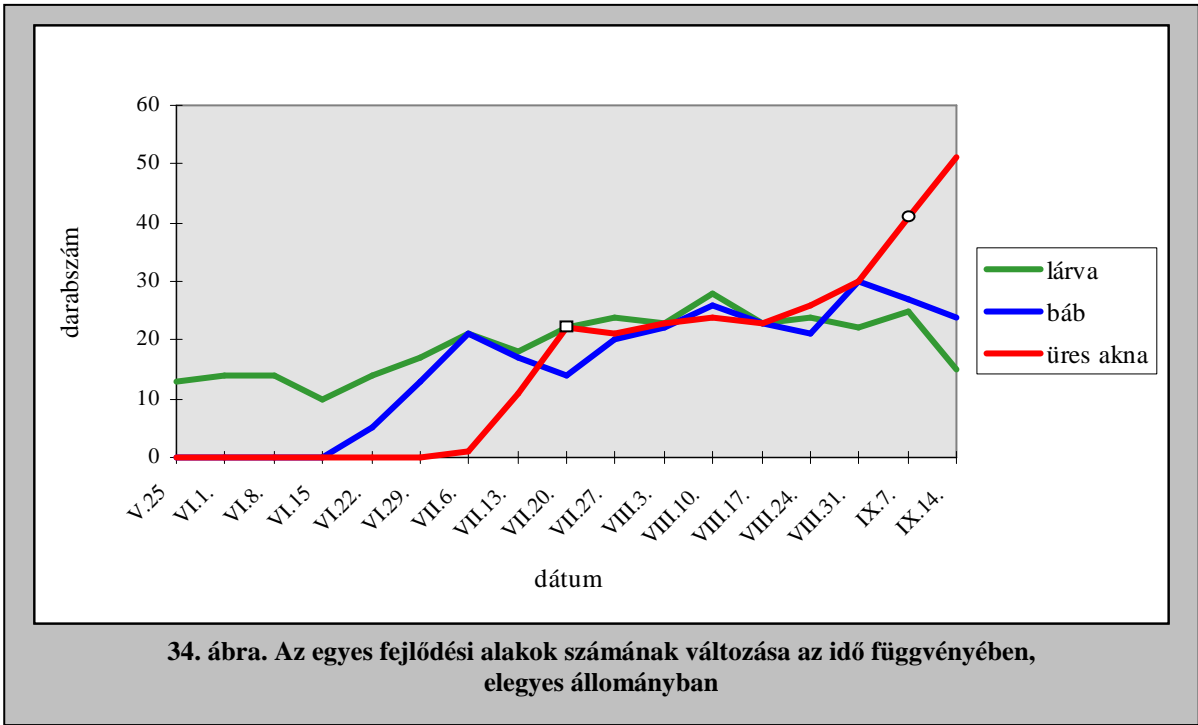
31. ábra. Az egyes fejlődési alakok arányának változása az idő függvényében, fasorban



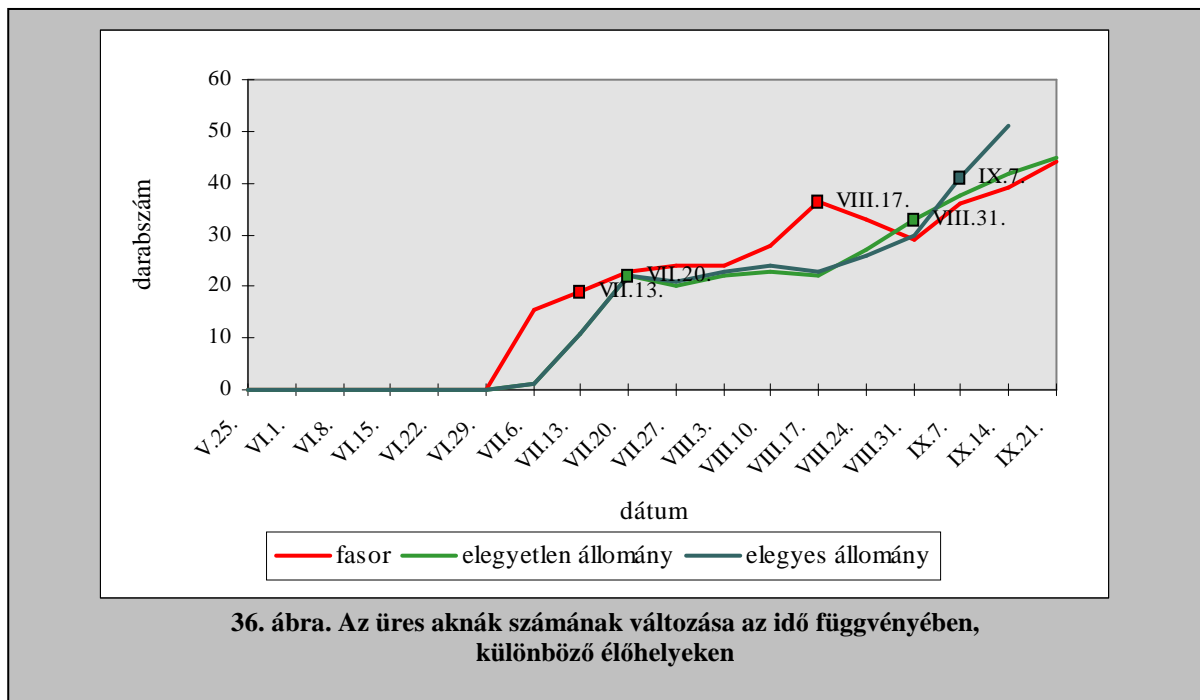
32. ábra. Az egyes fejlődési alakok számának változása az idő függvényében, egyetlen állományban



33. ábra. Az egyes fejlődési alakok arányának változása az idő függvényében, egyetlen állományban



Harmadik megállapítás, hogy 1997-ben a vadgesztenyelevél-aknázómoly második és harmadik generációja rajzásának csúcspontjai a fasorban július 13-án és augusztus 17-én, az elegyetlen állományban július 20-án és augusztus 31-én, az elegyes állományban július 20-án és szeptember 7-én következtek be (36. ábra). A vonatkozó vizsgálatok 1996-ban Budapest környékén az aknázómoly második és harmadik generációi rajzásának csúcspontjait június 15-én és augusztus 11-én észlelték (Kerényiné Nemestóthy, 1997).



Az eltérő rajzási időpontokat a két vizsgálati év eltérő időjárása indokolhatja, meg kell azonban jegyezni, hogy az 1996-ban meghatározott rajzáscsúcsok (június 15. és augusztus 11.) 56 napos kifejlődési időt jelentenének a második és a harmadik generáció között, azonban ez a vonatkozó vizsgálatok szerint 35-50 nap.

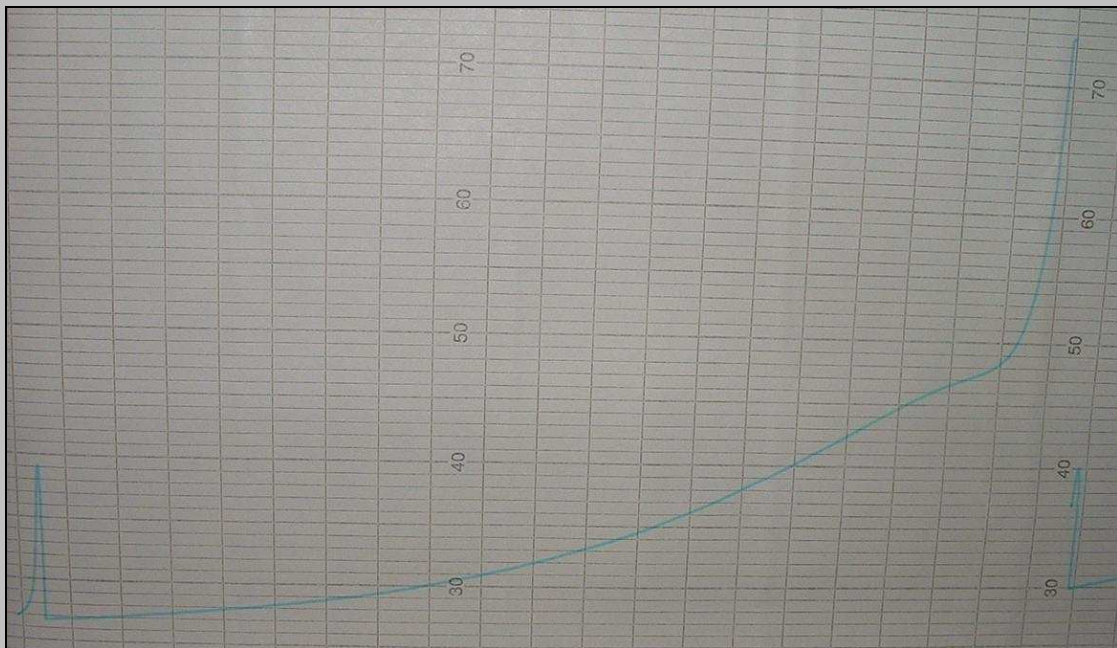
Az eddig végzett vizsgálatokhoz képest további eredményt jelent, hogy az állományok és a fasor viszonylatában különbséget tapasztalunk a rajzás csúcának időpontjában, hiszen a napsütötte fasorban a második generáció egy héttel (július 13. – július 20.), a harmadik generáció két – két és fél héttel (augusztus 17. – augusztus 31., szeptember 7.) előbb érte el rajzásának csúcspontját az állományokhoz viszonyítva. Ez a tény magyarázatot adhat az áttelelés vizsgálata során tapasztalt különbségekre, hiszen a fasorban előbb kirajzó harmadik generáció hamarabb rakhatja le a petéit, így az azokból hamarabb kifejlődő lárváknak nagyobb az esélyük a sikeres bábozódásra.

4.1.3. Fagyűrész vizsgálatok

A vadgesztenyelevél-aknázómoly áttelelő bábjai a már ismertett vizsgálatok és egyéb források adatai alapján viszonylag kis veszteségeket szenvednek el a tél folyamán. Ez a megállapítás adta az indíttatását azoknak a vizsgálatoknak, amelyek során az áttelelő bábok fagyűrész képességét vizsgáltam.

A vizsgálatok eredményeinek megértéséhez szükséges az úgynevezett „*Supercooling*” folyamat ismerete. „*Supercooling*”-nak nevezik azt a folyamatot, mely lehetővé teszi egy élőlény testnedveinek 0 °C alá csökkenését anélkül, hogy az adott élőlény testében jégkristályok képződnének és ezek a formálódó jégkristályok a sejtek, szövetek rombolása során az élő szervezet pusztulását okoznák. Rovarok esetében általában a glicerol nevű vegyület az, amelynek bioszintézise a testet megvédi a jégkristályok képződésétől. A bioszintézis útja glycogen – glucose – glicerol, amely folyamat reverzibilis, tehát a glycogen és a glicerol aránya a szervezeten belül a külső körülmények hatására változik. Kémiailag bizonyított, hogy a testnedvekben növekvő arányban megjelenő glicerol megóvjá azokat a jégkristályok képződésétől. Természetesen más anyagok is részt vesznek a folyamatban, például sorbitol, mannitol és egyéb poliolo, melyek jelenléte fajoként változó lehet, hatásukat tekintve azonban, azonosak.

A hőmérséklet csökkenésére a rovar teste a különböző védő anyagok bioszintézisével válaszol. A bioszintézis üteme azonban folyamatosan lassul, hiszen a csökkenő külső hőmérséklet hatására a kémiai reakciók sebessége csökken. A folyamat végén a rovar teste nem tudja követni a külső hőmérséklet csökkenését, nem képes több védő anyagot előállítani, a jégkristályok képződése megkezdődik. Az ezen a ponton mért hőmérsékletet nevezzük úgynevezett „*Supercooling Point*”-nak. A formálódó kristályok elpusztítják a sejteket, szöveteket, a rovar elpusztul. A jégkristályok képződése azonban jelentős hőfelszabadulással jár, melyet megfelelő műszerekkel regisztrálni lehet, így a „*Supercooling Point*” mérése lehetővé válik. A folyamat regisztrálása thermográf segítségével történik, ennek eredményét mutatja az alábbi ábra (37. ábra).



37. ábra. A „Supercooling” folyamat regisztrálásának eredménye

A vadgesztenyelevél-aknázómoly áttelelő bábjain végzett vizsgálatok eredményeit táblázatban foglaltam össze (8. táblázat).

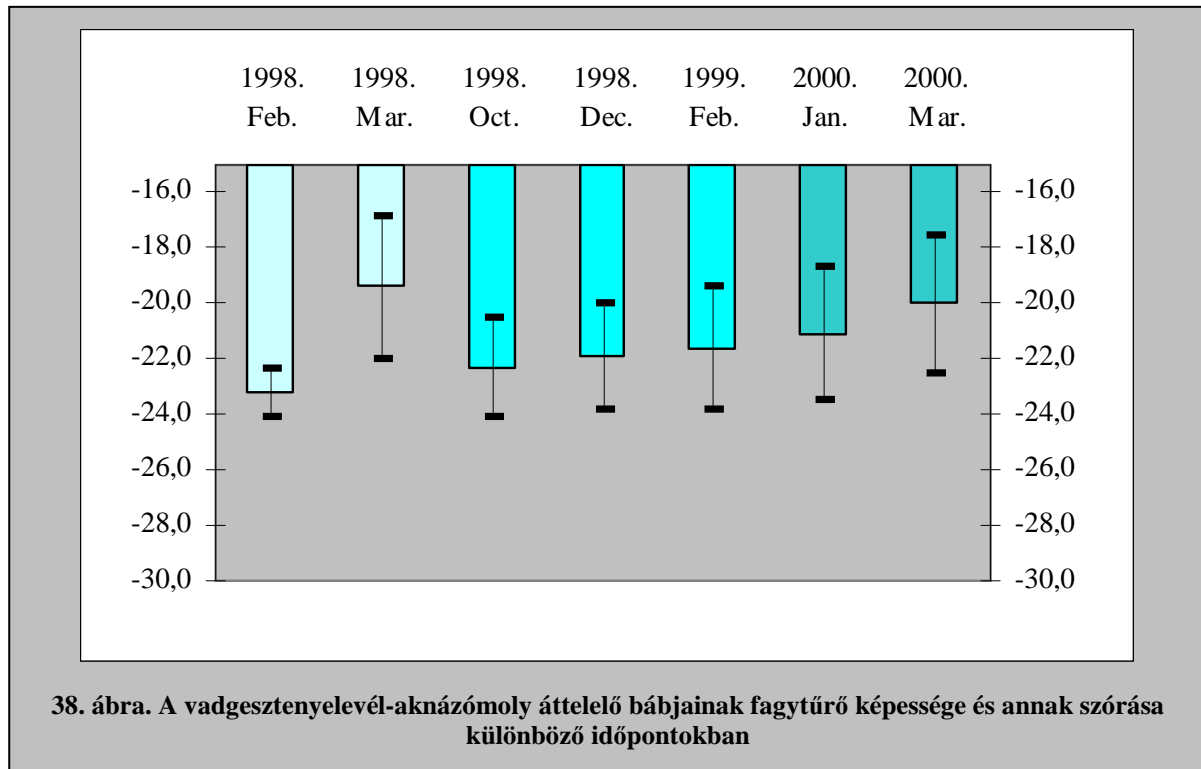
8. táblázat. „Supercooling point” vadgesztenyelevél-aknázómoly áttelelő bábok esetében

Dátum	1998. február	1998. március	1998. október	1998. december	1999. február	2000. január	2000. március
Adatok száma	24	23	13	10	16	12	12
Átlag (°C)	-23,2	-19,4	-22,3	-21,9	-21,6	-21,1	-20,0
Szórás	0,9	2,6	1,8	1,9	2,2	2,4	2,5

Az eredményeket vizsgálva megállapíthatjuk, hogy a vadgesztenyelevél aknázómoly áttelelő bábjai jelentős fagyűrő képességgel rendelkeznek, hiszen az ismertett értékek (-19,4 valamint -23,2 °C) általában a hűvösebb szélességi fokok élőhelyein élő rovarokra jellemzőek. Összehasonlításként néhány adat: A *Thyridopteryx ephemeraeformis* (Lepidoptera, Psychidae), az Észak-Amerika keleti partjain élő zsákhordó moly áttelelő petéi -24,4 °C hőmérsékleten érik el fagyűrő képességük határát (Riddle, 1986). A *Papilio canadensis* és a *Papilio glaucus* fajok áttelelő bábjainak fagyűrő képességét (elterjedési területük északi

határaival összefüggésben) vizsgálva megállapították, hogy az $-23,5$ és $-27,0$ °C között változik (Kukal és mtsai, 1991).

A vadgesztenyelevél-aknázómoly bábjai fagytűrő képessége kapcsán tehát megállapítható, hogy a vadgesztenyefák elterjedési területén tapasztalható hőmérsékleti viszonyok nem korlátozzák a károsító vadgesztenyelevél-aknázómoly elterjedését. Ha az eredményeket diagramon ábrázoljuk (38. ábra) további megállapításokat tehetünk.



A grafikon jól szemlélteti, hogy az áttelelési időszak végéhez közeledve az átlagos fagytűrő képesség fokozatosan csökken, ugyanakkor az áttelelő populáció egyes tagjainak fagytűrő képessége közötti különbség (szórás) fokozatosan nő. Az első jelenséget a raktározott tápanyagok (glycogen) fokozatos csökkenése magyarázza, melynek következtében a bábok az áttelelési időszak végén kisebb „*Supercooling point*”-tal rendelkeznek. Az áttelelési időszak végén jellemző mind nagyobb szórás magyarázata egyrészt a tél folyamán eltérő mennyiségű tápanyag használat, másrészt a bábokon belüli átalakulási folyamatok kezdetének eltérő időpontja. A márciusban mért átlagosan -20 °C körüli értékek azonban még mindig nem jelentenek a vadgesztenyelevél-aknázómoly áttelelése szempontjából olyan korlátot, amely a vadgesztenyefák elterjedési területén történő károsítását megakadályozná.

4.1.4. Összefoglalás

Összefoglalva a vadgesztenyelevél-aknázómoly biológiai vizsgálatainak eredményeit, a következő megállapításokat tehetjük: az aknázómoly áttelelő bábjaiból kifejlődő imágók kirepülési ideje – összefüggésben a napi középhőmérséklet $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ fölé emelkedésével – április közepére, végére tehető. A kifejlődő imágók száma alapján megállapíthatjuk, hogy az áttelelő populáció Magyarország éghajlati körülményei között viszonylag kis veszteségeket szenved el a tél folyamán. A fasorokban és az állományokban végzett vizsgálatok eredményeinek különbözősége rámutat arra, hogy a két élőhely viszonylatában eltérő mennyiségű imágó fejlődik ki az áttelelő bábokból.

A jelenség magyarázata a két élőhelyen tapasztalható, az egyes generációk kifejlődéséhez szükséges eltérő időtartam. A fasorokban ez átlagosan 35, az állományban 45 nap alatt következik be. A fasorban korábban kifejlődő utolsó generáció lárvái így nagyobb eséllyel bábozódnak be, mint az állományban fejlődő lárvák, tehát a tavasszal kirepülő generáció is nagyobb egyedszámmal található meg a fasorokban, mint az állomány alatt.

Az áttelelés kis veszteségeinek kapcsán került sor a faj „Supercooling Point” hőmérsékleti értékének meghatározására. Az eredményül kapott $-19,4$ valamint $-23,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ igazolta, hogy a Magyarországon tapasztalható téli hőmérsékleti viszonyok nem játszanak jelentős korlátozó szerepet a faj elterjedése szempontjából. Az áttelelési időszak végéhez közeledve a fagyűrő képesség csökkenését, valamint az egyes adatok közötti szórás értékének emelkedését tapasztaltam. Ezt a jelenséget a tél folyamán folyamatosan csökkenő tápanyagmennyiség és a bábban belül tavasszal, eltérő időben elkezdődő átalakulási folyamatok tápanyag felhasználása magyarázza.

4.2. Genetikai vizsgálatok

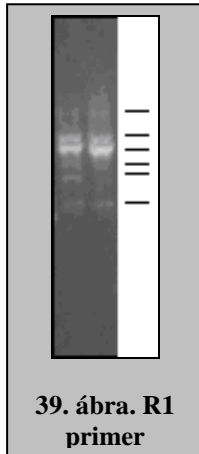
Az élő szervezetek genetikai tulajdonságainak feltárása az elmúlt évtizedekben rohamos fejlődésnek indult. A fejlődés következtében mind újabb vizsgálati módszerek, technikák, eszközök terjedtek el, s váltak elérhetővé egyre több, biológiai tudományos munkával, kísérlettel foglalkozó intézet számára. Az 1990-es évek közepére a rovarfajta kutatásokkal foglalkozók is felismerték az új technológiában rejlő lehetőségeket, amit a genetikai módszerekkel kivitelezett vizsgálatokról szóló publikációk növekvő száma is jelez. Az első időkben enzim szintű, míg a későbbiekben DNS, illetve egyes DNS szakasz szintű vizsgálatok is szerepet kaptak a genetikai irányú vizsgálatok során. Napjainkban a rovarokkal foglalkozó vizsgálatok kivitelezésében az enzim vizsgálatok, a PCR alapú technikák (RAPD, RFLP, AFLP, stb.), a bázissorrend meghatározás (elsősorban COI, COII), valamint a mikroszatelliták vizsgálata kapnak hangsúlyos szerepet.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly vizsgálata során két módszer, a RAPD-PCR, valamint a DNS COI szakasza szekvenálásának alkalmazására került sor.

4.2.1. RAPD-PCR vizsgálatok

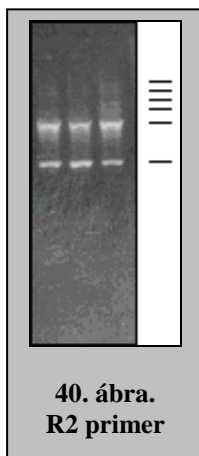
A RAPD-PCR vizsgálatok során véletlenszerűen kiválasztott, rövid (általában 10-12 bázispár hosszúságú) primerek alkalmazásával a DNS állományból szakaszokat vágunk ki, melyek megsokszorozva agaróz gélen láthatóvá tehetők. A DNS állománytól függően változik a primer becsatlakozási helye, ezáltal a sokszorozott szakasz hossza. Az agaróz gélen elektromos térben történő futtatáskor az egyes szakaszok hosszuk szerint elkülönülnek, a hosszabb szakaszok azonos idő alatt kisebb utat tesznek meg, mint a rövidebbek, így a DNS állományra jellemző mintázatot alkotnak. Amennyiben különböző DNS állománnyal rendelkező élő szervezeteket vizsgálunk azonos primer bevonásával, úgy a DNS állomány különbözőségét jól leolvashatjuk az agaróz gélen kirajzolódó mintáról. Természetesen azt a vizsgálat nem mutatja meg, hogy a DNS mely szakaszán találhatóak a különbségek, azonban egy genetikailag ismeretlen faj populációinak vizsgálatakor nagyon jól használható eredményt ad.

A vadgesztenyelevél-aknázómoly vizsgálata során 37 különböző primer alkalmazására került sor. A használt primerek közül mindössze 12 adott értékelhető eredményt (mintázatot), ezek a következők voltak: R1, R2, R7, R8, R9, R13, R14, OPA4, OPAB1, OPAB8, OPAC11, OPAC13. Az egyes primerek vadgesztenyelevél-aknázómoly mintákra jellemző rajzolatát és fontosabb tulajdonságait a következőkben adom meg:



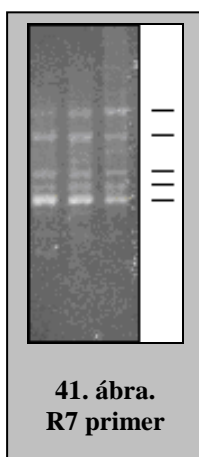
R1 primer (39. ábra): jellemző rajzolata egy gyengébb, majd két erősebb mintát adó, hosszabb DNS szakasz (ábra felső részén), további három gyengébb mintát adó, rövidebb (az ábra alsó részén) (összesen hat) DNS szakasz.

Bázissorrendje: TAC CAG AGG C. Optimális csatlakozási hőmérséklete 32 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



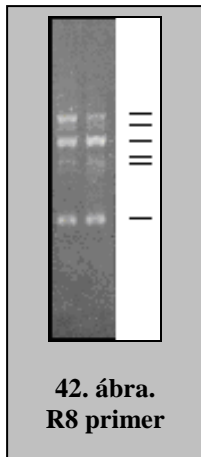
R2 primer (40. ábra): jellemző rajzolata négy gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további két erősebb mintát adó, rövidebb (összesen hat) DNS szakasz.

Bázissorrendje: GAT TCC AGT C. Optimális csatlakozási hőmérséklete 30 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



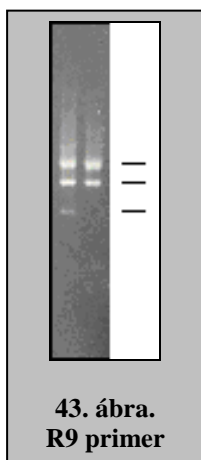
R7 primer (41. ábra): jellemző rajzolata két gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további két gyengébb mintát adó, rövidebb DNS szakasz, majd egy erősebb mintát adó, rövidebb (összesen öt) DNS szakasz.

Bázissorrendje: CCA GTG GAT C. Optimális csatlakozási hőmérséklete 32 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



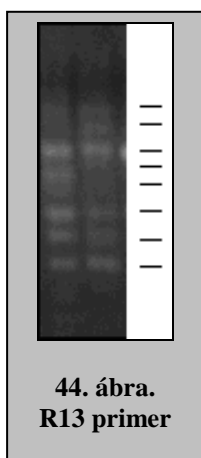
R8 primer (42. ábra): jellemző rajzolata egy erősebb, egy gyengébb, majd szintén egy erősebb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további két gyengébb mintát adó, rövidebb DNS szakasz, majd egy erősebb mintát adó, rövidebb (összesen hat) DNS szakasz.

Bázissorrendje: ACC CTG GGA T. Optimális csatlakozási hőmérséklete 32 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



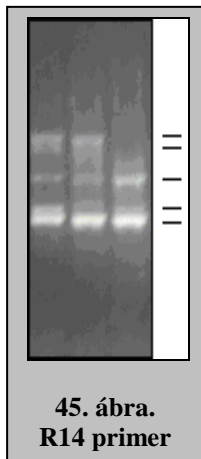
R9 primer (43. ábra): jellemző rajzolata két erősebb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további egy gyengébb mintát adó, rövidebb (összesen három) DNS szakasz.

Bázissorrendje: CGA AAG CTT T. Optimális csatlakozási hőmérséklete 28 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



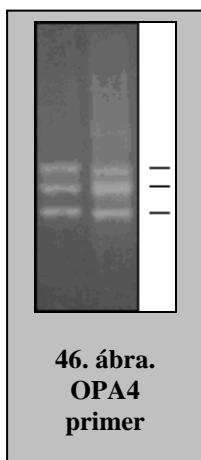
R13 primer (44. ábra): jellemző rajzolata két gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további egy erősebb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, majd két gyengébb és három erősebb mintát adó rövidebb (összesen nyolc) DNS szakasz.

Bázissorrendje: CAA TGC CAT TGC GCC GTA GG. Optimális csatlakozási hőmérséklete 64 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



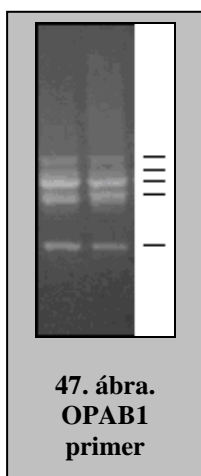
R14 primer (45. ábra): jellemző rajzolata két gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további egy gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, majd két erősebb mintát adó rövidebb (összesen öt) DNS szakasz.

Bázissorrendje: AAG GGT TCG GAA ATC CGG CC. Optimális csatlakozási hőmérséklete 64 °C. A vizsgált populációk viszonylatában következetesen kimutatható, értékelhető különbséget mutatott.



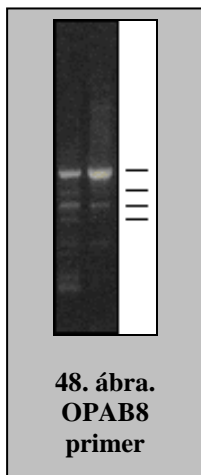
OPA4 primer (46. ábra): jellemző rajzolata két erősebb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további egy erősebb mintát adó, rövidebb (összesen három) DNS szakasz.

Bázissorrendje: TGC CGA GCT G. Optimális csatlakozási hőmérséklete 34 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



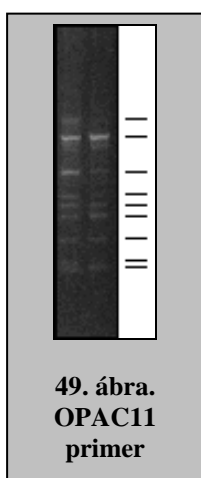
OPAB1 primer (47. ábra): jellemző rajzolata két gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, további két erősebb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, majd egy, gyengébb mintát adó rövidebb (összesen öt) DNS szakasz.

Bázissorrendje: CCG TCG GTA G. Optimális csatlakozási hőmérséklete 34 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



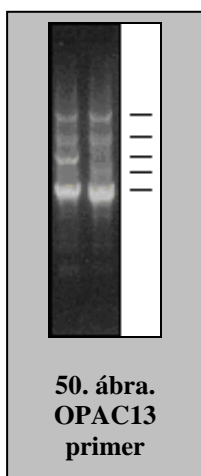
OPAB8 primer (48. ábra): jellemző rajzolata egy erősebb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, valamint három gyengébb mintát adó rövidebb (összesen négy) DNS szakasz.

Bázissorrendje: GTT ACG GAC C. Optimális csatlakozási hőmérséklete 32 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



OPAC11 primer (49. ábra): jellemző rajzolata egy gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, majd két erősebb mintát adó hosszabb DNS szakasz, valamint hat gyengébb mintát adó rövidebb (összesen kilenc) DNS szakasz.

Bázissorrendje: CCT GGG TCA G. Optimális csatlakozási hőmérséklete 34 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.



OPAC13 primer (50. ábra): jellemző rajzolata három gyengébb mintát adó, hosszabb DNS szakasz, majd egy gyengébb és egy erősebb mintát adó rövidebb (összesen öt) DNS szakasz.

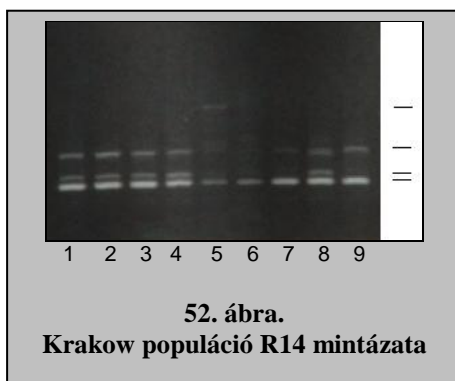
Bázissorrendje: GAC CCG ATT G. Optimális csatlakozási hőmérséklete 32 °C. A vizsgált populációk viszonylatában nem mutatott következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.

Az ismertett primerek a vizsgált populációkból származó minták esetében az R14 primer kivételével nem mutattak következetesen kimutatható, értékelhető különbséget.

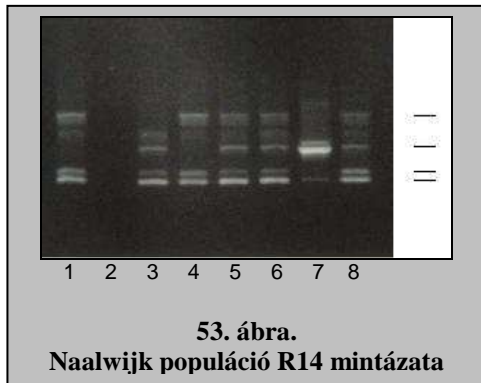
Az R14 primer segítségével 7 mintavételi hely, Erfurt (Németország), Krakow (Lengyelország), Naalwijk (Hollandia), Ohrid (Macedónia), Sarajevo (Bosznia-Hercegovina), Verona (Olaszország) és Wien (Ausztria) összesen 71 egyedet vizsgáltam meg. A vizsgált populációk a vadgesztenyelevél-aknázómoly európai elterjedési területén egyenletesen helyezkedtek el, további populációk vizsgálatára – az ismertett okok miatt – nem került sor. A vizsgált minták négy, jól elkülönülő és reprodukálható sávot szolgáltattak eredményül, melyek jelenléte vagy hiánya adja az egyes minták közötti változatosságot. A genetikai gyakorlatban szokásos jelölés szerint a látható sávokat 1, a hiányzókat 0 számjeggyel jelölve, a hosszabb szakaszoktól a rövidebb felé haladva írhatjuk le a mintázatot. Az egyes vizsgált populációk jellemző mintázatát az alábbiakban foglalom össze:



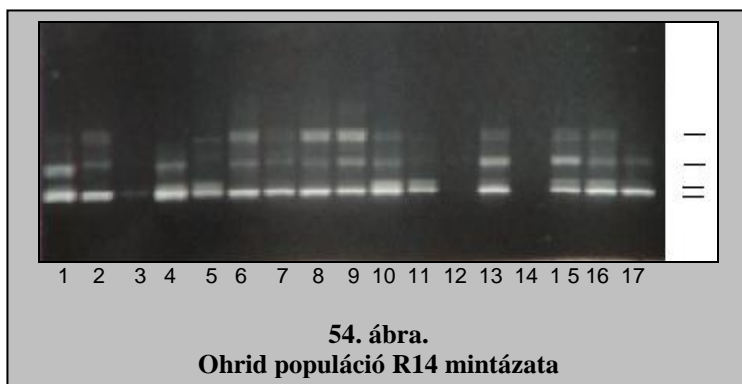
Erfurt (51. ábra): hat értékelhető minta viszonylatában két alaptípus fordult elő: 1011 és 0111 jellemző mintázattal. A két típus megoszlása a populáción belül azonos arányt mutatott. A populáció 8. és 11. számú mintája nem adott értékelhető eredményt.



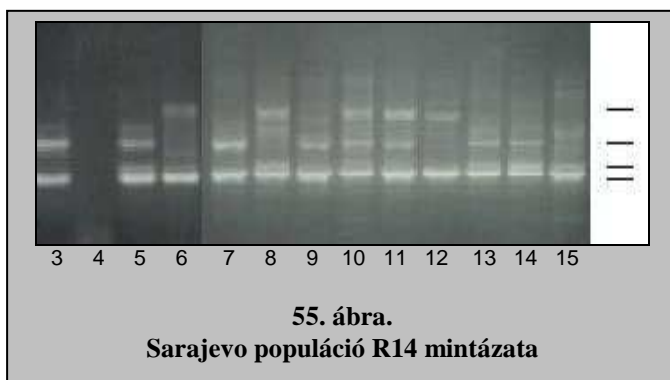
Krakow (52. ábra): hét értékelhető minta viszonylatában két alaptípus fordult elő: 0111 (5 minta) és 0101 (2 minta). A Krakow 5. és 6. számú minták eredményét az értékelés során nem vettem figyelembe, a reakciók megismételhetőségének problémái miatt.



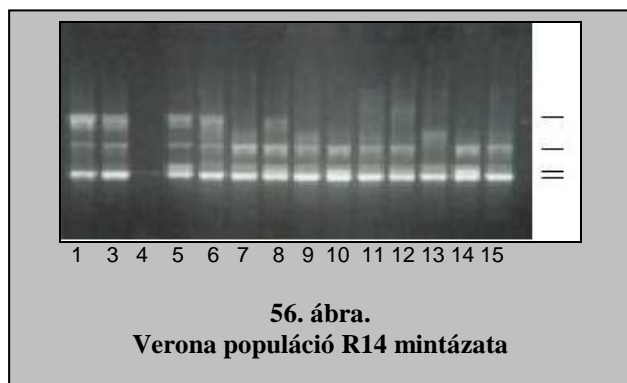
Naalwijk (53. ábra): hat értékelhető minta viszonylatában három alaptípus fordult elő: 1011 (2 minta), 0111 (1 minta) és 1111 (3 minta). A populáció 7 számú mintáját az értékelés során nem vettem figyelembe a minta valószínűsíthető idegen DNS szennyezettségének problémája miatt. A populáció 2. számú mintája nem adott értékelhető eredményt.



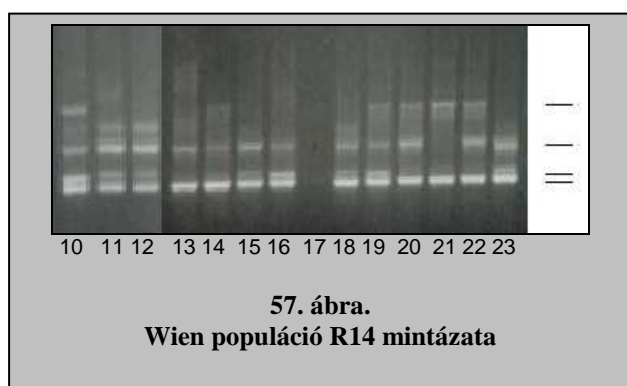
Ohrid (54. ábra): tizennégy értékelhető minta viszonylatában öt alaptípus fordult elő: 0111 (3 minta), 1101 (5 minta), 0011 (2 minta), 0101 (1 minta) és 1111 (3 minta). A populáció 3., 12. és 14. számú mintája nem adott értékelhető eredményt.



Sarajevo (55. ábra): tizenkét értékelhető minta vizsgálata hét alaptípust eredményezett: 0101 (1 minta), 0111 (4 minta), 1011 (2 minta), 1111 (2 minta), 1001 (1minta), 0011 (1 minta) és 1101 (1 minta). A populáció 4. számú mintája nem adott értékelhető eredményt.



Verona (56. ábra): tizenhárom értékelhető minta három alaptípust eredményezett: 1101 (3 minta), 1111 (2 minta) és 0111 (8 minta). A populáció 4. számú mintája nem adott értékelhető eredményt.



Wien (57. ábra): tizenhárom értékelhető minta öt alaptípusba sorolható mintázatot adott: 0101 (2 minta), 1111 (3 minta), 0111 (6 minta), 1001 (1 minta) és 1101 (1 minta).

A kapott vizsgálatok eredményeként kapott mintázatokat PopGen 32 szoftver segítségével értékeltem ki. Az egy származási helyről gyűjtött minták populáción belüli statisztikai analízisének eredményeit az alábbi táblázat szemlélteti (9. táblázat).

9. táblázat. Statisztikai analízis populáción belüli eredménye

Populáció	Nei (1973) féle gén diverzitás	Shannon információs index	Polimorfizmust mutató lókuszok
Erfurt	0,2071	0,3024	2
Krakow	0,1244	0,1727	1
Naalwijk	0,2428	0,3393	2
Ohrid	0,3436	0,4880	3
Sarajevo	0,3506	0,4948	3
Verona	0,2093	0,3034	2
Wien	0,3083	0,4497	3

A táblázat adatai között kiemelkedő jelentőségű az Ohrid minta adatsora, hiszen az irodalmi adatok szerint a vadgesztenyelevél-aknázómoly innen került Linz városba, s terjedt el Európá-szerte. A mintán belüli genetikai változatosság adatai (Nei, Shannon index) alátámasztják az irodalmi adatokat. Míg a legnagyobb genetikai változatosságot Szarajevó, Ohrid és Bécs mintában találhatjuk, addig ezek az értékek az elterjedés centrumaitól távolodva egyre csökkennek. A jelenség magyarázata összefügg az elterjedési folyamat lépéseivel, melynek folyamán a centrumtól távolodva időben és térben egyre kevesebb egyed található, egyfajta genetikai szegényedés jön létre. Ez a folyamat fokozottan érvényesül az emberi közvetítéssel terjedő fajok esetében, s a vonatkozó irodalmi adatok alapján a vadgesztenyelevél-aknázómoly is ilyen fajnak tekinthető.

A különböző helyről gyűjtött minták genetikai mintázata közötti összehasonlítás számítását két módon is elvégeztem. Nei 1972-ben és 1978-ban kidolgozott módszere szerinti genetikai azonosság és genetikai távolság (Nei, 1987) eredményeket szintén táblázatban foglalom össze (10. és 11. táblázat).

10. táblázat. Minták közötti genetikai azonosság és távolság* (Nei, 1972)

	Erfurt	Krakow	Naalwijk	Sarajevo	Ohrid	Verona	Wien
Erfurt	****	0.7397	0.9660	0.8175	0.9120	0.7674	0.8341
Krakow	0.3015	****	0.7051	0.9192	0.8718	0.9865	0.9672
Naalwijk	0.0346	0.3495	****	0.8149	0.8820	0.7722	0.8148
Sarajevo	0.2016	0.0843	0.2046	****	0.9746	0.9384	0.9866
Ohrid	0.0921	0.1372	0.1256	0.0257	****	0.8863	0.9636
Verona	0.2648	0.0136	0.2585	0.0636	0.1207	****	0.9744
Wien	0.1814	0.0334	0.2049	0.0135	0.0371	0.0260	****

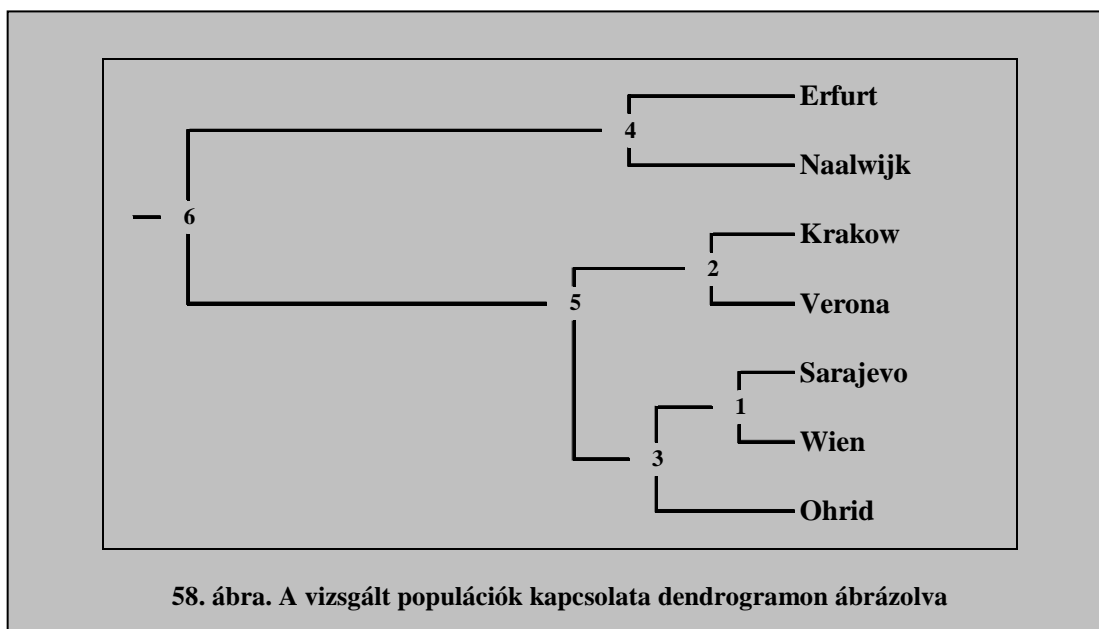
* a genetikai azonosság értékek az átló felett, a genetikai távolság értékek az átló alatt találhatók.

11. táblázat. Populációk közötti genetikai azonosság és távolság* (Nei, 1978)

	Erfurt	Krakow	Naalwijk	Sarajevo	Ohrid	Verona	Wien
Erfurt	****	0.7528	0.9923	0.8355	0.9341	0.7808	0.8518
Krakow	0.2839	****	0.7195	0.9334	0.8871	0.9972	0.9813
Naalwijk	0.0078	0.3292	****	0.8352	0.9058	0.7879	0.8344
Sarajevo	0.1798	0.0690	0.1801	****	0.9959	0.9527	1.0053
Ohrid	0.0682	0.1198	0.0989	0.0041	****	0.9017	0.9839
Verona	0.2474	0.0028	0.2383	0.0485	0.1035	****	0.9884
Wien	0.1604	0.0189	0.1811	-0.0053	0.0162	0.0117	****

* a genetikai azonosság értékek az átló felett, a genetikai távolság értékek az átló alatt találhatók.

A minták közötti genetikai kapcsolat szemléletes ábrázolása úgynevezett UPGMA (Unweighted Pair – Group Method using an Arithmetic average) módszerrel szerkesztett dendrogram segítségével történt (58. ábra).



A dendrogram pontjai közötti távolságok Nei 1972. és 1978. alapján táblázatban összefoglalva a következők (12. táblázat).

12. táblázat. Genetikai távolságok a dendrogram meghatározott pontjai között

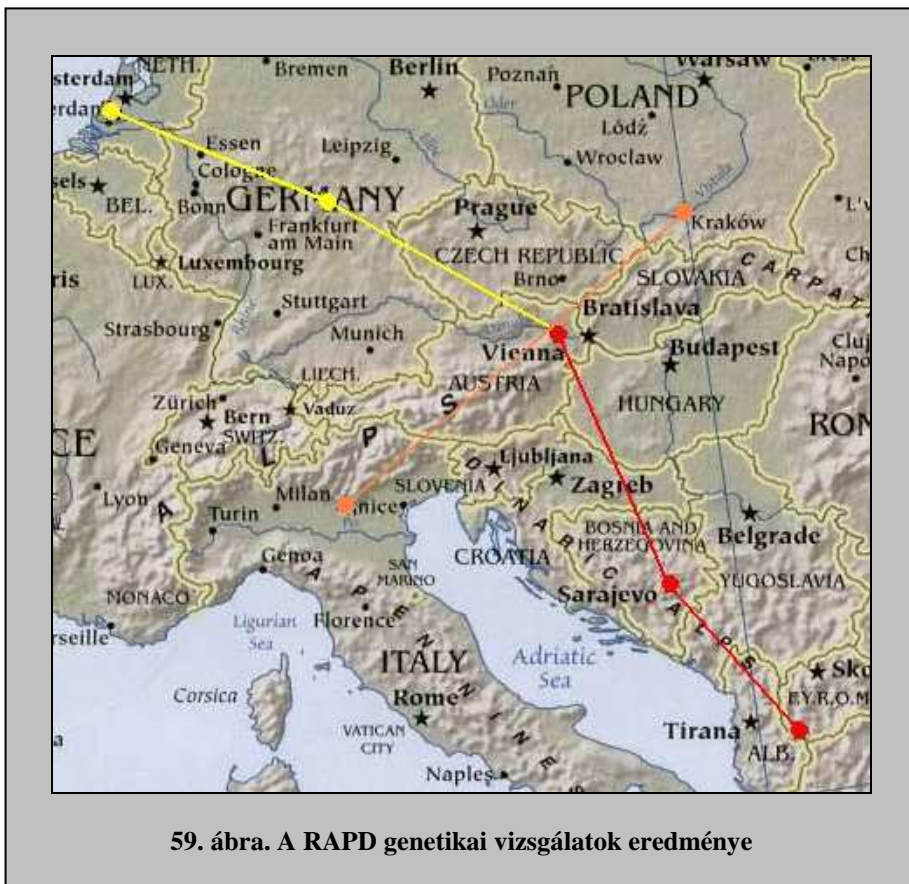
Szakasz	Távolság	
	Nei, 1972.	Nei, 1978.
6 és 4	9.19281	9.44825
4 és Erfurt	1.72878	0.38838
4 és Naalwijk	1.72878	0.38838
6 és 5	7.04644	6.74290
5 és 2	3.19369	2.95319
2 és Krakow	0.68147	0.14055
2 és Verona	0.68147	0.14055
5 és 3	2.30395	2.58584
3 és 1	0.89819	0.50790
1 és Sarajevo	0.67301	0.00000
1 és Wien	0.67301	0.00000
3 és Ohrid	1.57121	0.50790

Az adatok elemzése során a vizsgált minták három csoportja rajzolódik ki. Első és legfontosabb ezek közül az Ohrid, Bécs és Sarajevo mintáit tartalmazó csoport. E három minta nagyfokú hasonlósága a bécsi, illetve a sarajevói minták Ohrid környékéről történő származását erősíti. A sarajevói minta esetében az alacsony földrajzi távolság, a bécsi minta esetében az aknázómoly Linzbe történt behurcolása szolgálhat magyarázatként. Jól elkülönül az Erfurt és Naalwijk mintáit tartalmazó csoport is, mely valószínűleg a Linzből történő nyugati irányú elterjedési útvonalat jelzi. A krakkói és veronai

minták hasonlóságát az azonos helyről történő származás magyarázhatja, meg kell azonban jegyezni, hogy ilyen fokú hasonlóságuk nem támasztja alá az elterjedés publikált útvonalát.

Az elmondottak térképen is ábrázolhatóak, ahol az egy csoportba tartozó minták azonos színnel jelennek meg (59. ábra).

Összefoglalva az eredményeket: az első, piros színnel jelölt csoport tagjai Ohrid, Sarajevo és Bécs populációi. Az Ohridi-tó mellett a vadgesztenyelevél-aknázómolyt 1985-



59. ábra. A RAPD genetikai vizsgálatok eredménye

ben, Bosznia-Hercegovinában és Ausztriában 1989-ben fedezték fel, így ezek a populációk

tekinthető Európa legidősebb populációinak. Ezt a tényt alátámasztja a populációkon belül tapasztalt magas genetikai diverzitás is. A nagyfokú hasonlóság azonban feltételezi azt is, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly Linzbe történt behurcolása nem csupán néhány egyed betelepítését jelentette. Ahhoz, hogy Bécsben az Ohridi-tó környékén élő populációk genetikai diverzitásához hasonló értéket lehessen tapasztalni, több tucat aknázómolyt kellett Linzben szabadon bocsátani. A sárgával jelölt csoport tulajdonságai szintén jól magyarázhatók a Linz központból nyugati irányba történő terjeszkedéssel, és jól alátámasztják a német és holland adatokat az aknázómoly megjelenéséről. Németországban 1993/94-ben, Hollandiában 1999/2000-ben jelent meg a faj, valószínűleg emberi tevékenység (személy- és áruszállítás) hatására. A faj elterjedési folyamatában így mindig csak néhány egyed kapott jelentős szerepet, ez eredményezte az új megtelepedési helyeken, a populáción belüli viszonylag alacsony genetikai változatosságot. A krakkói és veronai mintákat tartalmazó csoport (narancssárga) adatai nem, vagy nagyon nehezen magyarázhatók. A Linz központú elterjedés hipotézisébe a populáción belüli alacsony genetikai diverzitás értékeik tökéletesen illeszkednek, azonban a két populáció nagyfokú hasonlósága inkább magyarázná a Veronából Krakkó irányába történő elterjedési útvonalat, mint a Linzből sugárirányba történő terjeszkedést. A faj Olaszországban 1992-ben, Lengyelországban 1995/96-ban jelent meg, így nem kizárt ez utóbbi lehetőség sem (ismét utalok az emberi tevékenység szerepére), azonban kevésbé valószínűnek látszik, mint a Linzből Krakkó irányába mutató terjeszkedési útvonal.

A RAPD vizsgálatok eredményei alapján mondhatjuk, hogy azok jó megközelítéssel alátámasztják az aknázómoly elterjedéséről szóló irodalmi adatokat. Nem szabad azonban eltekintenuk mindazoktól a hibaforrásoktól, amelyekkel a rovar populációk RAPD vizsgálatai általában és a vadgesztenyelevél-aknázómoly esetében is terheltek. Melyek ezek?

Első maga a vizsgálati módszer problémaköre. A vizsgálatok során a következetesen kimutatható, reprodukálható eredmény szempontjából fontos szerepet játszanak a reakció környezeti viszonyai, a különböző idegen DNS általi szennyeződések, a használt reakciókomponensek minősége. A RAPD-PCR reakciók eredményeit befolyásoló környezeti változók: a Mg ion koncentráció, a hőmérsékleti eltérések és az egyes komponensek mennyiségi eltérései. A Mg ion koncentráció, amennyiben azonos PCR puffer oldatot használunk, azonos. A túl magas koncentrációban jelen lévő Mg ion növeli a primer összekapcsolódások számát, ami DNS független adatok megjelenését eredményezheti, a túl alacsony koncentráció csökkenti a DNS alapján megjelenő adatok számát. A hőmérsékleti

viszonyok közül legfontosabb a primer helyes csatlakozási hőmérsékletének meghatározása. Csak az optimális csatlakozási hőmérsékleten csatlakozó primer ad jól értékelhető eredményt. Az egyes komponensek mennyiségi eltérései a reakció során képződő reakciótermék mennyiségét, ezáltal láthatóvá tételét befolyásolják. Az idegen DNS általi szennyeződések a vizsgálatok során bármikor előfordulhatnak, kimutatni azonban nem lehet azokat. Jelenlétükre szinte csak a megmagyarázhatatlan eredmények utalnak, fontos tehát a vizsgálatok folyamán a legszigorúbb „tisztasági” szabályok betartása a DNS minták kivonásától kezdődően a reakciók előkészítéséig. A használt reakciókomponensek minőségi változása szintén befolyásolhatja a reakció eredményét vagy annak láthatóvá tételét. A minőségi változások legegyszerűbb esete a különböző gyártóktól beszerzett komponensek alkalmazása, melynek következtében szintén eltérő eredmények adódhatnak. A RAPD-PCR vizsgálatok során fontos tehát a jó eredményt adó, megismételhetőnek bizonyult reakciók minden paraméterének feljegyzése és a felesleges változtatások elkerülése. A RAPD reakciók eredményeit ért valós alapokon nyugvó kritikák a fentiek figyelembevételével kivédhetők. Természetesen számos, megbízhatóbb eredményt szolgáltató vizsgálat elvégzésére is lehetőség van, azonban a RAPD-PCR egy genetikailag ismeretlen faj populációinak összehasonlítására viszonylagos egyszerűsége és kisebb erőforrás igénye miatt feltétlenül alkalmas.

Második hibaforrás a kiértékelt minták és az értékelés során használt primerek száma. Természetesen minél több mintát értékelünk ki egy-egy vizsgálati hely viszonylatában, minél több polimorfizmust mutató primert találunk vagy fejlesztünk ki, annál megbízhatóbbá válik az eredmény. Egy nagy földrajzi területet felölelő kutatás során azonban a minták beszerzése korlátokba ütközhet (pl. a balkáni háború). A használt primerek számát általában a rendelkezésre álló anyagiak és idő korlátozzák. A vadgesztenyelevél-aknázómoly esetében a DNS kivonás eljárásának kidolgozásához, a primerek teszteléséhez és az R14 primerrel végzett vizsgálatokhoz több, mint egy évre volt szükség.

Végül meg kell említenünk a harmadik „hibalehetőséget” az emberi tevékenységet. A vadgesztenyelevél-aknázómoly esetében sok esetben az emberi tevékenység határozta meg az elterjedés menetét. Az Európán belüli, megnövekedett személy- és áruforgalom jelentősen befolyásolja az elterjedés folyamatát genetikai alapokon vizsgálók eredményeit. Mintáimat 1999/2000-ben gyűjtöttem, így vizsgálataim eredménye is erre az időszakra értendő. Gondoljunk csak bele, hogy az elmúlt években hány aknázómoly „utazott” Horvátországból

közvetlenül Hollandiába a nyaralásukból hazatérő turisták kellemesen légkondicionált személyautójában!

Összefoglalva tehát: a RAPD vizsgálatok eredménye számos hibalehetőséggel terhelt, mégis azt mondhatjuk, hogy egy genetikailag ismeretlen faj megismerése szempontjából fontos adatokat szolgáltat. Ezek az eredmények teremtik meg azt az alapot, amin továbblépve a faj mind mélyebb szintű megismerése lehetővé válik.

4.2.2. A COI mitokondriális génszakasz bázissorrendjének meghatározása

A DNS szekvenálás egy adott DNS szakasz bázissorrendjének meghatározására irányuló eljárás. Két típusa a dideoxy chain-terminating, vagy Sanger és a kémiai vagy Maxam and Gilbert módszer ismert (Hoy, 1994). Munkám során a Sanger által kidolgozott eljárást követtem, melynek lényege, hogy a PCR reakció során ún. dideoxynukleotid-trifoszfát (ddNTP) hozzáadásával az újonnan képződő DNS szál polimerizációja az adott ddNTP beépülésével blokkolható. Ennek megfelelően elméletileg négy reakció kivitelezése szükséges, melyek a hozzáadott ddNTP típusában (ddATP, ddCTP, ddGTP és ddTTP) térnek el. Az egyes reakciók során az adott ddNTP beépülésének hatására különböző hosszúságú fragmentek képződnek, melyek elektroforézisével a helyes bázissorrend megállapítható. Az elektroforézis akrilamid gélen történik, az egyes fragmentek láthatóvá tételéért a reakció során alkalmazott ^{32}P , ^{35}S vagy fluoreszkáló komponensekkel jelölt nukleotidok felelősek. Az elektroforézis után a négy reakció produktumát egymás mellett futtatva, majd az adatokat megfelelő sorrendben leolvastva az eredeti DNS szakasz bázissorrendje adódik (Hoy, 1994).

Az eljárás gyakorlatilag két PCR reakciót foglal magába, ezek egyrészt az adott szakasz sokszorozását szolgáló reakció, másrészt a ddNTP segítségével végrehajtott, tényleges szekvenáló, egyben a fragmentek radioaktív jelölését elvégző reakció.

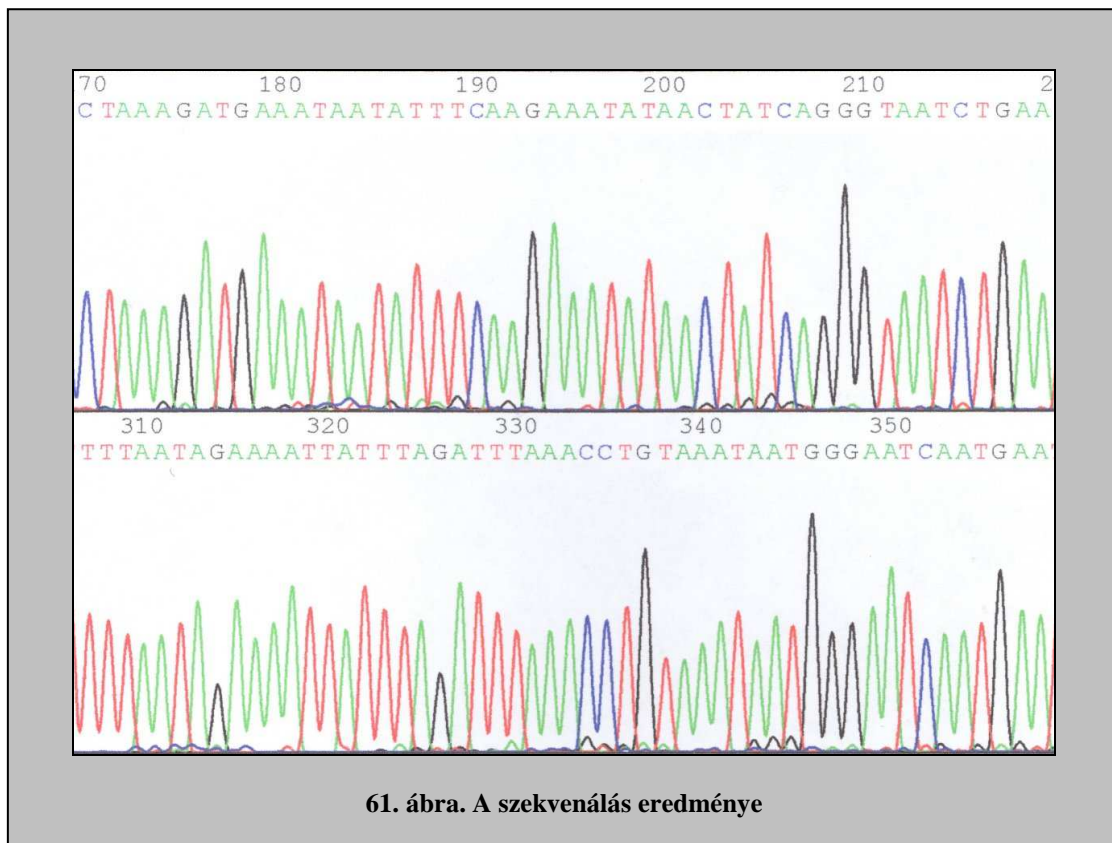
A vadgesztenyelevél-aknázómoly esetében a mitokondriális eredetű, citokróm-oxidáz I (COI) enzim előállításáért felelős génszakaszt választottam a vizsgálatok elvégzéséhez. A választást az indokolta, hogy a nevezett szakasz szekvenálása más rovarfajok esetében jól kidolgozott, a szekvenálás elvégzéséhez kellő elméleti és gyakorlati háttér állt rendelkezésre. Előnyös tulajdonság továbbá a COI szakasz mitokondriális eredete, mely kizárólagos anyai ágon

történő öröklődése következtében rendkívül jól használható populációgenetikai, leszármazási vizsgálatok elvégzésére.



A vizsgálatok során a RAPD-PCR vizsgálatokkal is érintett populációk összesen kilenc egyede COI génszakaszának bázissorrendjét kívántam meghatározni. Ohrid populációból három egyed, Bécs, Erfurt, Krakkó, Naalwijk, Szarajevó és Verona populációiból egy-egy egyed DNS mintája került vizsgálatra. Az első lépésben a COI szakasz sokszorozására, majd a reakciók termékének megtisztítására került sor. A

megtisztított reakciótermékek 5 µl-nyi részét ellenőrzésképpen agaróz gélen futtattam, melynek eredményét az alábbi ábra mutatja (60. ábra). Második lépésben a COI génszakaszt tartalmazó minták szekvenálását végeztem el. A szekvenálás reakciók után a minták bázissorrendjét automata szekvenáló-géppel határoztattam meg (61. ábra). A szekvenálás eredményinek értékelése során a citokrom-oxidáz I enzimet kódoló DNS szakasz összesen



173 egymás után következő bázisát sikerült meghatározni. Ezek az egyes populációk esetében tökéletesen megegyeztek és az ábrán bemutatott bázissorrendet követték (62. ábra).

```
. T T A A A T T T A A A G A A A A T A A A A C A A T T C G T T
T A A A A A T A A A A G A T T C T C A A A T A A T A A T T A A
T A T G A A A A T T A T A G C T A C T A T T G A A A T G T A A
G A C C C T A A T G A T G A T A C T A C A T T T C A T G A A A
T A T A T C T A T C T G G A A A A T C T G A A T A T C G T C G
T G G T A T T C C T G C T A A A C C T .
```

62. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly COI enzimét kódoló mitokondriális DNS szakasz 173 bázisa

A vizsgálatok során nem vezetett eredményre a COI enzimet kódoló teljes DNS szakasz bázissorrendjének meghatározása. Összesen 173 bázispár hosszú, a kilenc minta mindegyikében jól olvasható szakaszt sikerült meghatározni. Mi lehet a jelenség oka?

Első és legfontosabb a kivont DNS minták minősége. A rovargenetikai vizsgálatok szempontjából, mint általában a genetikai vizsgálatok szempontjából kiemelkedő fontossággal bír a vizsgálni kívánt egyedekből kivont DNS koncentrációja, tisztasága, az ép szakaszok hossza. A különböző kivonási, tisztítási eljárások vizsgálni kívánt fajra, fejlődési állapotra (lárva, báb, imágó) történő optimalizálása is ezt a célt szolgálja. A vadgesztenyelevél-aknázómoly esetében a dolgozatomban ismertetett vizsgálatok előtt nem történtek olyan genetikai vizsgálatok, amelyek DNS kivonást, tisztítást igényeltek volna, így az általam a RAPD-PCR vizsgálatokra optimalizált DNS kivonási eljárásra hagyatkozhattam. Elméletileg a kivonási eljárás során kapott DNS-t többször megvizsgáltam, s az mindannyiszor megfelelt a vele szemben támasztott minőségi követelményeknek, azonban előfordulhat, hogy a szekvenálás még tisztább, nagyobb koncentrációjú DNS mintát kívánt volna.

Második az alkalmazott primer minősége. Vizsgálataimhoz az Universität für Bodenkultur Erdővédelmi Intézetének anyagait használtam fel. Az Intézet által alkalmazott primerek kiválóan működtek más fajok COI szakaszának genetikai vizsgálatai során (pl. *Ips* fajok, *Rhagoletis cerasi*), azonban a vadgesztenyelevél-aknázómoly esetében, mivel ennek COI szakaszát még nem határozták meg, több primert is ki kellett volna próbálni. Erre a vizsgálatok magas anyagi- és időigénye miatt nem kerülhetett sor.

A vizsgálatok eredménye – bár nem a COI enzim teljes genetikai kódját tárta fel – egyértelmű. A kimutatott 173 bázispár hosszú mitokondriális DNS szakasz mindegyik mintában bázispáronként megegyezik. A mitokondriális eredetű COI enzim kizárólag anyai ágon öröklődik, így genetikai állományának megváltozásában csak a mutációk játszhatnak szerepet. Az öröklődő, tehát az utódokban is kimutatható mutációk bekövetkezéséhez azonban hosszú időre van szükség. A vadgesztenyelevél-aknázómoly 1985-ben bekövetkezett európai megjelenése a genetikai időszámítás szerint másodpercekben mérhető. Az eltelt közel két évtized alatt viszonylag kevés a valószínűsége olyan mitokondriális mutációk bekövetkezésének, amelyek öröklődnek, ezáltal az utódokban is kimutathatók. Amennyiben tehát az európai populációk eltérő mintázatot szolgáltatnának a mitokondriális DNS bázissorrendjének meghatározása során, úgy annak okát feltehetően a különböző leszármazási vonalakban kellene keresni. Vizsgálataim során azonban a kilenc populáció mindegyikében ugyanazt a mitokondriális DNS szakaszt találtam, ami az európai populációk egy helyről történő származásának – ami minden bizonnyal az Ohridi-tó környéke – hipotézisét erősíti.

4.2.3. Összefoglalás

A tényleges genetikai vizsgálatokat megelőző munka első eredménye egy 42 mintát számláló, a vadgesztenyelevél-aknázómoly európai elterjedési területét lefedő, genetikai vizsgálatok végzésére alkalmas gyűjtemény összeállítása volt. Hasonlóan fontos előzetes eredmény a mintákból történő DNS kivonás és tisztítás eljárásának optimalizálása, a minták RAPD-PCR vizsgálatai során alkalmazható primerek meghatározása.

Genetikai vizsgálatok elvégzésére hét populáció egyedeit választottam. A kiválasztás szempontja az volt, hogy a minták kellően reprezentálják a vadgesztenyelevél-aknázómoly elterjedési területét, ugyanakkor kellő távolságban legyenek egymástól ahhoz, hogy közöttük genetikai különbségeket lehessen kimutatni.

A RAPD-PCR vizsgálatok során 37 primer közül 12 adott értékelhető mintázatot, s mindössze egy mutatott a vizsgált minták viszonylatában polimorfizmust. A vizsgálatok eredménye megerősítette az irodalmi elterjedési adatokat, azonban a RAPD-PCR vizsgálatok ismertett problémái miatt azok további pontosítása szükséges. Előzetes eredményként, további vizsgálatok kiindulási alapjaként azonban a RAPD-PCR vizsgálatok eredményei fontos állomását képezik a vadgesztenyelevél-aknázómoly további genetikai vizsgálatainak.

A COI enzimet kódoló mitokondriális DNS szakasz bázissorrendjének meghatározása egy 173 bázispár hosszúságú DNS szakasz leírását eredményezte. A leírt szakaszok a vizsgált populációk között nem mutatottak különbséget, azok szekvenciái bázisonként tökéletesen megegyeztek. A jelenséget a mitokondriális DNS anyai ágon történő öröklődése magyarázhatja, továbbá, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly európai elterjedése minden bizonnyal egy pontból kiindulva zajlott le.

A genetikai eredmények ismertetése során többször hangsúlyoztam, hogy azokat kellő kritikával kell kezelni, az eredményeket és a hozzájuk fűződő magyarázatokat további vizsgálatokkal kell alátámasztani. A vadgesztenyelevél-aknázómoly mélyebb szintű genetikai vizsgálatára munkámat megelőzően nem került sor. Egy genetikai szempontból ismeretlen faj esetében már a vizsgálati módszerek meghatározása is problémákkal terhelt, hiszen ezek az eljárások még napjainkban is meglehetősen költség- és időigényesek. Fontos tehát a megfelelő elméleti háttér birtokában elsősorban a legbiztosabb eredményt szolgáltató eljárások kiválasztása. A kiválasztott eljárásokat a vizsgálandó fajra folyamatosan optimalizálni, fejleszteni kell, a kapott eredmények értékelésével. Az eredmények magyarázata során szintén mérlegelni kell, hogy a további vizsgálatok az eredményeket tovább módosíthatják, finomíthatják.

Vizsgálataim eredményei jól jelzik, hogy egy viszonylag rövid idő, mindössze két évtized alatt elterjedt faj populációi között nehéz genetikai különbségeket kimutatni. Az érzékeny RAPD-PCR vizsgálatok során is mindössze egyetlen primer mutatott polimorfizmust a vizsgált minták viszonylatában, a mitokondriális DNS egy szakaszának szekvenálása pedig tökéletesen azonos eredményt hozott minden vizsgált populáció között. Ennek tükrében vitathatónak tartom a vadgesztenyelevél-aknázómoly Ausztrián belüli elterjedésének izoenzim vizsgálatok segítségével történő meghatározását (Perny, 1997). Az izoenzim vizsgálat a genetikai vizsgálati eljárások egyik legrégebben kidolgozott módszere, széleskörűen alkalmazzák napjainkban is. Számos előnyös tulajdonsággal rendelkezik, szennyeződésekre kevésbé érzékeny, megbízható eredményeket ad, viszonylag kevésbé költségigényes, azonban egy mindössze két évtizede behurcolt faj, viszonylag szűk területen történő elterjedésének vizsgálata során, alacsonyabb érzékenysége miatt erősen vitatható az alkalmazhatósága.

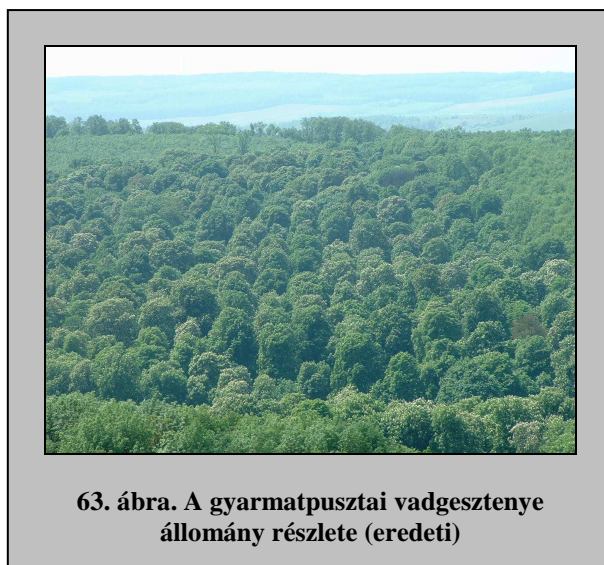
A vadgesztenyelevél-aknázómoly genetikai vizsgálatának további útja lehetne polimorfizmust mutató mikroszatelliták vizsgálata, amely eljárás rendkívüli érzékenysége miatt pontosabb eredményt szolgáltatna az elterjedés útjáról. Szintén a faj vizsgálatával kapcsolatos jövőbeni feladatok közé tartozik a *Cameraria* nemzetség egyéb fajainak vizsgálata, a rokonsági kapcsolatok meghatározása genetikai eljárások segítségével. Ez közelebb vihet a vadgesztenyelevél-aknázómoly származásának meghatározásához.

4.3. A gyarmatpusztai vadgesztenye fasorok és állományok növényvédelme

A biológiai és genetikai vizsgálatok elvégzése, értékelése mellett, 2001-től kezdődően munkám szerves részét képezte a Gyarmatpusztán található vadgesztenye állományok és fasorok védelmét célzó technológia kidolgozása. A legjobb védekezési eljárások meghatározásához igyekeztem felhasználni a már rendelkezésre álló kutatási, és a vonatkozó irodalmi adatokat. A megvédendő fák nagy száma, a kultúrtörténeti szempontból is értékes területen történő elhelyezkedése, a vadgesztenye egyedülálló állományszerű előfordulása külön kihívást jelentett.

4.3.1. A terület bemutatása

Szakmai berkekben is kevésbé ismert tény, hogy a Gerecse hegység déli, délkeleti nyúlványait képező dombvidéken, a Bajnai Erdészet kezelésében, Gyarmatpusztán található Közép-Európa legnagyobb elegenden vadgesztenye állománya, melynek telepítése a terület egykori birtokosa, a Sándor-Metternich család nevéhez fűződik. A gróf Sándor Móricz által az 1830-as években építtetett vadaskert falai közé minden bizonnyal vadtakarmányozási



63. ábra. A gyarmatpusztai vadgesztenye állomány részlete (eredeti)

céllal került a vadgesztenye, ám a kor parképítészeti irányzatának megfelelően, az egykori uradalom területén, számos helyen látható fasorainak, kisebb csoportjainak maradványa is (63. ábra).

A vonatkozó üzemtervi adatok szerint a történelmi vadaskertben található elegenden vadgesztenye állomány területe 22 ha, kora 115 év. A szabályos hálózatba telepített állomány mellett a vadaskert több erdőrészletében, csoportos elegyben is megtalálhatók a vadgesztenye idős, néhol pusztuló példányai. A történelmi vadaskert területére vonatkozó üzemtervi források szerint (Telki Állami Erdő és Vadgazdaság, Budakeszi, Bajnai Erdészetének Üzemterve az 1975-1984 időszakra) a kert középpontjából sugár irányban kialakított

nyiladékrendszer mellett szintén vadgesztenye fasorok húzódtak, napjainkban azonban e fasoroknak már csak néhány egyede látható. A vadgesztenye előfordulással érintett erdőrészeket a terület 1996-ban készült üzemterve alapján a 35. oldalon található táblázat (5. táblázat) és a 36. oldalon található ábra (21. ábra) mutatja.

A vadgesztenye állományokat és fasorokat is magába foglaló erdőterület az 1950-es évektől kezdődően zárt, kizárólag vadászati célokat szolgáló területként funkcionált. Csak a rendszerváltozás után évekkel, az 1990-es évek végén vált lehetővé látogatása. Ennek megfelelően a jelen munkában tárgyalt vizsgálatokon kívül mindössze egyetlen tudományos kutatás kötődik a gesztenyészhez, melynek során az állomány madár- és ugróvillás faunájának vizsgálatára került sor (Lakatos és mtsai, 2003).

A vadgesztenyelevél-aknázómolyt első ízben, 1996-ban fedezték fel az állományban, azonban súlyos károkat 1997-től okozott. A védekezés 1997-től indult meg, az állomány és a környező fasorok helikopterről történő vegyszerezésével. A vegyszerezés során kitinszintézis-gátló anyagokat (Nomolt, Alsystin) használtak, a megtámadott fákat évente kétszer vegyszerezték. A kezelés eredményessége elmaradt a várakozásoktól (szóbeli közlés). Mi lehetett az eredménytelenség oka?

Első a kezelések időpontjának megválasztása. A szóbeli tájékoztatás alapján a gazdálkodó nem végzett a rajzás menetére vonatkozó vizsgálatokat, így a kezeléseket sem tudta azokhoz igazítani. A kitinszintézis-gátló szerekkel történő védekezés esetén pedig legfontosabb éppen a helyes időpont megválasztása. Az elvégzett védekezések hatásossága tehát nagyon sok esetben csak a szerencsén múlt. Második kritikus pont a vegyszer helikopterről történő kijuttatása. A helikopter rotorja által szétszórt permetszer a fákra hullva elsősorban a korona felső, külső hányadát burkolja be. A tapasztalatok ugyanakkor azt mutatják, hogy a vadgesztenyelevél-aknázómoly első generációi inkább a fák alsó leveleit használják a szaporodás során, s a károsítás csak a későbbiekben kúszik fel a fa felsőbb régióiba. Az aknázómoly első generációi elleni ilyen védekezés tehát szinte hatástalan marad.

Az évek során egyértelművé vált, hogy a kizárólagos helikopteres vegyszerezés nem képes megvédeni az egyébként is idős, legyengült fákat. A megoldást csak egy ökológiai szempontokat is szem előtt tartó, környezetbarát, a parazitoid fajok betelepülését segítő, komplex védekezési módszer kidolgozása jelenthette.

4.3.2. A komplex védekezési technológia

A technológia során legfontosabb szempont az volt, hogy a károsító fajt lehetőleg minden fejlődési alakjában próbáljuk megtámadni, s így az egyes fejlődési alakok számának csökkentésével a kialakult aknák számát, méretét a minimálisra redukálni. A védendő fák nagy száma miatt figyelembe kellett venni a védekezés költség vonzatait, a környező erdőállományok érdekében pedig ügyelni kellett a lehető legkíméletesebb módszerek kiválasztására, alkalmazására.

A védekezés első lépéseként az áttelelő bábokat tartalmazó, lehullott lombot igyekeztünk megsemmisíteni. Ez kezdetben kizárólag összegyűjtéssel, majd elégetéssel történt, azonban egy több hektáros állomány esetében ez nem járható út. Hátrányos tulajdonsága továbbá az elégetésnek, hogy a parazitoid fajok áttelelő egyedeit is megsemmisíti, továbbá hogy a lehullott lombot kivonja az erdő tápanyagforgalmából. A megoldást a komposztálás egy sajátos módja, a tárcsázás jelentette. A művelet elvégzéséhez vezetőfülke nélküli erőgépet használtunk, amely alkalmas volt a fák lehajló ágai közötti munkavégzésre (64. ábra). A tárcsázás eredménye kettős: egyrészt az áttelelő bábok jelentős százalékának kirepülését meggátolja a rákerült föld (vonatkozó vizsgálatok folyamatban vannak), másrészt a vadaskertként funkcionáló területen



64. ábra. A lehullott lomb talajba forgatása (eredeti)

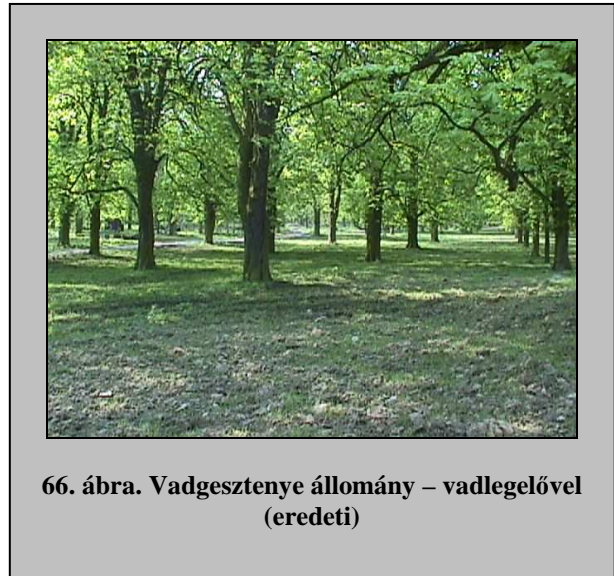


65. ábra. Tárcsázott talaj az állomány alatt (eredeti)

tapasztalható jelentős taposási kárt enyhíti a talaj felső rétegének fellazítása. A fellazított talaj, s a beforgatott lomb elősegíti a csapadék jobb megkötését, a talaj szellőzését, ezáltal kedvezőbb környezetet teremt az itt található fák számára (65. ábra).

A tárcsázás legkedvezőbb időpontja az ősz lenne, hiszen így a téli csapadék is be tudna szivárogni a talajba, azonban esetünkben az őszi – téli vadászigényekre is tekintettel kellett lenni, így a munkálatokat általában március végén, az imágók kirepülése előtt végeztük el.

A tárcsázás után tavasszal a művelt területeket bevetettük, így a későbbiek során részben eltüntettük a tárcsázás által okozott sebet, másrészt járhatóvá tettük az állományt a későbbi vegyszerezés számára, végül, de nem utolsósorban hozzájárultunk a vadaskerten belül található nagyvad állomány takarmányozásához (66. ábra).



66. ábra. Vadgesztenye állomány – vadlegelővel (eredeti)

Az így előkészített területen a kirepülő imágók számát korlátoztuk, egyúttal az idős, legyengült fák életkörülményeit javítottuk. Az eljárás okot adhat kritikai észrevételekre az erdő egyes elemeinek (aljnövényzet és a hozzá kapcsolódó fauna) károsítása tekintetében, azonban esetünkben figyelembe kell venni, hogy nem őshonos fafajokból álló, valószínűleg telepítések már hasonlóan köztes műveléssel kezelt faállományról van szó. A leírt eljárás ugyanakkor minden bizonnyal leginkább környezetkímélő módja a tavasszal kirepülő aknázómoly imágók száma csökkentésének.

A védekezési eljárás következő lépésében a tavasszal megjelenő petékből kikelő lárvák számát próbáltuk csökkenteni. A vegyszeres védekezés helyes időpontjának megválasztásához a faj egyedeit vonzó feromonnal felszerelt Csalomon ragacslos feromoncsapdát használtunk (67. ábra). A rajzás felerősödésekor került sor az első vegyszeres kezelésre a tatai



67. ábra. Ragacslos feromoncsapda (eredeti)

Növényegészségügyi és Talajvédelmi Állomás kivitelezésében. A védekezés során a teflubenzuron hatóanyagú Nomolt 15 SC szert alkalmaztuk, 0,75 l/ha kijuttatott mennyiségben. A kijuttatás talajról, Unimog típusú gépjárműre szerelt, irányítható sugarú, nagy teljesítményű axiálventillátor segítségével történt. A módszer számos előnnyel rendelkezik a helikopterről történő kijuttatással szemben: a fák koronájának alsó, belső hányadát is megfelelően fedi, jól irányítható és lényegesen költségkímélőbb. Az első generáció kikelő lárvái ellen a védekezést néhány nap elteltével másodszor is elvégeztük. A kétszeri védekezés jelentősen lecsökkentette a kialakuló aknák számát, az aknázómoly első nemzedéke gyakorlatilag csak a védekezéssel nem érintett helyeken fejlődött ki.

A nyár folyamán feromoncsapda alkalmazásával további megfigyeléseket végeztünk, elsősorban a védekezéssel nem érintett területeken, s a második generáció rajzását követően ismét vegyszeres védekezést alkalmaztunk a védett területeken. A nyári, harmadik kezelésre elsősorban a visszafertőzés megakadályozása miatt volt szükség. A kezeléssel nem érintett területek – melyek fekvésük vagy egyéb adottságaik miatt nem részesülhettek védelemben – aknázómoly populációjának nemzedéke így nem, vagy csak kis méretékben tudta fertőzni a kezelt területek fáit.

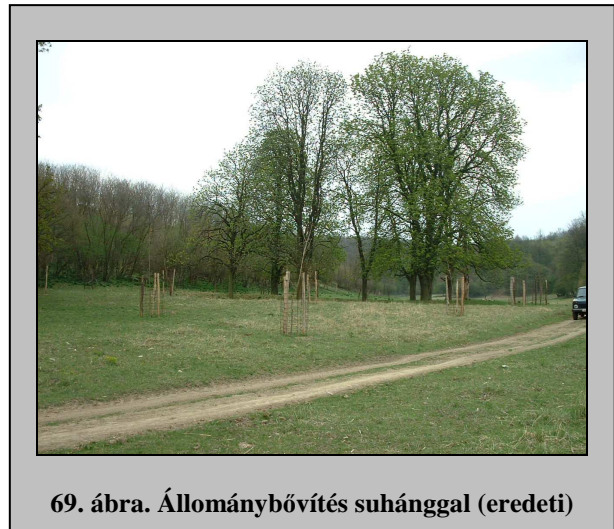
A fentiekben ismertetett, aktív beavatkozást jelentő védekezési eljárások meghatározása során, és általában is igyekeztem a terület biodiverzitását megőrizni, fenntartani, illetve azt az élőhelyek fejlesztésével javítani. Mit jelent ez a gyakorlatban?

A gyarmatpusztai vadgesztenye állományok kora száztíz, százhusz év közé tehető. A legyengült fák pusztulása természetes folyamat, melynek során a leszakadt ágak, törzsrészek után szinte csak az elhalt, jelentős méreteket elérő törzs marad vissza. Az elhalt, még álló törzs számos élő szervezet élőhelyeként szolgál, ezért ezeket az állományban meghagytuk (68. ábra).



68. ábra. Elhalt fa törzse az állományban (eredeti)

Az elpusztult fák pótlását nagy méretű suhánkkal, egyedi védelemmel végeztük, az elhalt törzsek már ismertetett megtartásával. A pótlások végrehajtása során az állomány eredeti térbeli rendjét igyekeztünk megtartani, ugyanakkor a területét – ahol lehetőség nyílt rá – bővítettük (69. ábra).



69. ábra. Állománybővítés suhánkkal (eredeti)

A leírt komplex védekezési technológiai sor folyamatos alakítások után 2002/2003-ban érte el ismertetett formáját. A technológia eredményességét igazoló adatok gyűjtése és kiértékelése folyamatban van, azonban az előzetes felmérések, valamint az állomány 2003. augusztusában mutatott képe (70. ábra) alapján a védekezési eljárás jól vizsgázott.



70. ábra. Kezelt vadgesztenye állomány augusztusban (eredeti)

4.3.3. Összefoglalás

A védekezési eljárás során tehát egyrészt konkrét beavatkozásokat (tárcsázás, kitinszintézis-gátlók kijuttatása), másrészt a biodiverzitás megőrzését, bővítését szolgáló élőhely védelmet alkalmaztunk. A védekezési eljárás eredményességét igazoló adatok gyűjtése és kiértékelése folyamatban van, azonban szubjektív értékelések alapján az állomány kondíciója az előző évekhez képest jelentősen javult.

A védekezési eljárás kritikája lehet az aljnövényzet és a hozzá kapcsolódó fauna károsodása, azonban a gyarmatpusztai vadgesztenye állomány esetében annak nem őshonos, telepített állomány volta felmentést adhat a kritika alól. A kezeléssel kapcsolatban meg kell jegyezni, hogy az állomány tág telepítési hálózata is minden bizonnyal az egykori köztes művelésre utal, így jelenleg alkalmazott technológia az egykori állapot rekonstruálásaként is felfogható.

A gyarmatpusztai vadgesztenye állomány megőrzése, fenntartása kultúrtörténeti okok miatt is feltétlenül indokolt, s a mindenkori gazdálkodó számára kiemelt feladat. A bemutatott védekezési eljárás, illetve annak továbbcsiszolt változata ennek a feladatnak a megoldásában segíthet.

5. ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt közel két évtized alatt a Deschka és Dimič által 1985-ben felfedezett vadgesztenyelevél-aknázómoly Európa egyik legismertebb károsítójává vált. Ismertsége a szinte minden lakott területen megtalálható és közkedvelt tápnövényének, valamint hihetetlenül gyors elterjedésének köszönhető. A faj felbukkanása óta megjelent számos tudományos és ismeretterjesztő publikáció, közlemény bizonyítja, hogy sokakat érdeklő téma került a rovarattal, növényvédelemmel foglalkozó kutatók asztalára.

A vadgesztenyelevél-aknázómollyal kapcsolatos kutatások több irányban folytak és folynak ma is. Míg a faj megjelenését követő években leginkább annak életmódja és az ellene irányuló védekezési módszerek adták a vizsgálatok gerincét, addig napjainkra a faj származásának és elterjedésének kérdése került a figyelem középpontjába.

Munkám során törekedtem a vonatkozó publikációk, tudományos közlemények mind teljesebb körű bemutatására, azokat a főbb kutatási irányvonalak szerint csoportosítva. Ennek megfelelően külön tárgyaltam a vadgesztenyelevél-aknázómoly életmódját és morfológiai tulajdonságait-, a faj természetes ellenségeit-, az ellene való védekezési módszereket-, valamint az elterjedését elemző publikációkat.

A munkám részét képező vizsgálatok három fő irányban folytak. Igyekeztem egyrészt kiegészíteni a faj életmódjára, biológiájára vonatkozó vizsgálatokat, másrészt annak alapfokú genetikai vizsgálataival hozzájárulni az elterjedéséről szóló kutatások eredményeihez. Munkám harmadik részét képezte a Gyarmatpusztán található, Közép-Európában egyedülálló vadgesztenye állomány növényvédelmi technológiai sorának kidolgozása.

Eredményeim az alábbiakban foglalhatók össze:

(1) A faj életmódjára, biológiájára vonatkozó vizsgálatok eredményeként megállapítottam, hogy az aknázómoly áttelelő bábjaiból kifejlődő imágók kirepülési ideje – összefüggésben a napi középhőmérséklet 10 °C fölé emelkedésével – április közepére, végére tehető. Az áttelelő populáció Magyarország éghajlati körülményei között viszonylag kis veszteségeket szenved el a tél folyamán. Eredményeim megfeleltek a vonatkozó irodalmi adatoknak, ugyanakkor a

fasorokban és az állományokban végzett vizsgálatokkal rámutattam arra, hogy a két élőhely viszonylatában eltérő mennyiségű imágó fejlődik ki az áttelelő bábokból.

(2) Heti rendszerességgel végzett aknaboncolás segítségével megállapítottam, hogy a jelenség magyarázata a két élőhelyen tapasztalható, az egyes generációk kifejlődéséhez szükséges eltérő időtartam. Míg a kifejlődéshez szükséges időtartam a fasorokban átlagosan 35, addig az állományban 45 nap. A fasorban korábban kifejlődő utolsó generáció lárvái így nagyobb eséllyel bábozódnak be, mint az állományban fejlődő lárvák, tehát a tavasszal kirepülő generáció is nagyobb egyedszámmal található meg a fasorokban, mint az állomány alatt.

(3) Az áttelelési adatok vizsgálata kapcsán munkám során meghatároztam a faj úgynevezett „Supercooling Point”, azaz fagyűrő képesség értékét. Az eredményül kapott -19,4 és -23,2 °C közötti érték igazolta, hogy a Magyarországon tapasztalható téli hőmérsékleti viszonyok nem játszanak jelentős korlátozó szerepet a faj elterjedése szempontjából. Az áttelelési időszak végéhez közeledve a fagyűrő képesség csökkenését, valamint az egyes adatok közötti szórás értékének emelkedését tapasztaltam. Ezt a jelenséget a tél folyamán folyamatosan csökkenő tápanyagmennyiség és a bábbon belül tavasszal, eltérő időben elkezdődő átalakulási folyamatok tápanyag felhasználása magyarázza.

Genetikai vizsgálatokkal a faj Európán belüli elterjedéséről szóló irodalmi adatokat igyekeztem alátámasztani. Munkám során két módszert a RAPD-PCR technikát és a citokróm-oxidáz I. enzimet kódoló génszakasz bázissorrendjének meghatározását alkalmaztam, hét populáció (Bécs, Erfurt, Krakkó, Naalwijk, Ohrid, Szarajevó és Verona) mintáit alapul véve.

(4) A genetikai vizsgálatok eredménye egy, a vadgesztenyelevél-aknázómoly európai elterjedési területét felölelő genetikai gyűjtemény összeállítása, valamint a faj genetikai vizsgálata szempontjából fontos alapvető eljárások (DNS kivonás, RAPD-PCR, szekvenálás), protokollok kidolgozása.

(5) Az érzékenyebb RAPD-PCR vizsgálatok során a legnagyobb genetikai változatosságot Bécs, Ohrid és Szarajevó, a legkisebbet Krakkó populációja esetében mutattam ki. Szintén a RAPD-PCR vizsgálatok szerint szoros kapcsolat mutatható ki Bécs, Ohrid és Szarajevó, valamint Erfurt és Naalwijk, Krakkó és Verona populációi között. A vizsgálat eredménye, bár

alátámasztotta az elterjedésről szóló irodalmi adatokat, a vizsgálati módszer ismertett problémái, valamint a mindössze egyetlen polimorfizmust mutató primer alkalmazása miatt nem tekinthető végleges eredménynek. Mégis, nagyon fontos ismét hangsúlyozni, hogy egy genetikailag ismeretlen faj esetében kiváló alapot szolgáltat a további kutatásoknak.

(6) A citokróm-oxidáz I. enzim bázissorrendjének meghatározása 173 egymást követő bázispár leírását eredményezte. Az eredményül kapott szakasz, a várakozásoknak megfelelően, a vizsgált hét populáció viszonylatában tökéletesen megegyezett. Az eredmény igazolta, hogy a faj Európán belül egy viszonylag szűk populációból kiindulva terjedt el, amely minden bizonnyal Ohrid környékén található.

(7) A munkám harmadik fő vonalát a gyarmatpusztai vadgesztenye állomány növényvédelmi eljárásainak kidolgozása jelentette. Az idős, legyengült fákat a vadgesztenyelevél-aknázómoly károsítása az elmúlt közel tíz év alatt érzékenyen érintette. A terület kezelője fontosnak tartotta a jelentős erdészeti-vadászati és kultúrtörténeti értéket képviselő állomány védelmét, így kerülhetett sor egy komplex, a terület vadászati és közjóléti hasznosítását is szem előtt tartó védekezési technológiai sor kidolgozására. Az eljárás lényege, hogy a károsító vadgesztenyelevél-aknázómoly egyedeit a lehető legtöbb fejlődési alakjában támadja. Ennek megfelelően a szabályos, tág hálózatban álló fák alatti terület tavasszal, az aknázómoly kirepülése előtt tárcsázásra kerül. Ez egyrészt a kirepülő populáció egyedeinek számát korlátozza, másrészt elősegíti a jelentős taposási kárral érintett talaj szellőzését, a tavaszi csapadék beszívódását. A tárcsázás után legelőkeverék vetésére kerül sor, ezáltal a talajról történő vegyszeres védekezés részére járhatóvá válik a terület. Nem elhanyagolható az így keletkező vadlegelő szerepe, s a terület esztétikai tulajdonságainak javítása sem. A vegyszeres védekezés a feromoncsapdával meghatározott rajzáscsúcsokhoz igazítva történik, általában évente két alkalommal. A védekezés során a kitinszintézis-gátló Nomolt 15 SC 0,75 l/ha dózisban történő kijuttatását végzik el az illetékes Növényegészségügyi és Talajvédelmi Állomás szakemberei Unimog típusú teherautóra szerelt axiálventillátor segítségével. Az első vegyszeres védekezést a hatékonyság fokozásának érdekében nyolc nap múlva megismétlik. A második védekezésre a rajzás erősségének függvényében kerül sor. Az állomány kezelésében fontos szerepet játszik az elpusztult, még álló fatörzsek kímélete. Az így keletkező élőhelyek jelentős súllyal járulnak hozzá a terület biodiverzitásának növekedéséhez. A pótlásokat az elpusztult törzsek helyén, nagy méretű ültetési anyaggal, egyedi védelemmel végzi a gazdálkodó.

A gyarmatpusztai vadgesztenye állomány esetében kidolgozott védekezési eljárás jól szemlélteti, hogy a vonatkozó tudományos eredmények felhasználásával, s a különböző érdekek összehangolásával megvalósítható az értékes erdőállományok mindenki számára elfogadható kezelése.

Munkám során törekedtem arra, hogy eredményeimmel hozzájáruljak egy Európában új faj, a vadgesztenyelevél-aknázómoly életmódjának, elterjedési folyamatának mind mélyebb szintű megismeréséhez. Bízom benne, hogy eredményeim az új ismeretek szolgáltatásán túlmenően jó alapot jelentenek a faj további vizsgálatainak során, hiszen mint általában egyetlen vizsgálat eredménye, úgy munkám eredménye sem tekinthető lezárt, támadhatatlan és vitathatatlan kinyilatkoztatásnak. Minden eredmény megválaszolando új kérdések tucatjait veti fel, s annak kidolgozója csak remélheti, hogy az általa elért eredményekre alapozva lesz, aki megválaszolja azokat.

6. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretném megköszönni mindazok munkáját, akik doktori tanulmányaim, kutatásaim és értekezésem elkészítése során segítségemre voltak.

Köszönetemet szeretném kifejezni témavezetőmnek, Dr. Lakatos Ferencnek tanulmányaim, kutatásaim és dolgozatom elkészítése során nyújtott önzetlen támogatásáért, hasznos tanácsaiért, türelméért.

Köszönettel tartozom az értekezés munkahelyi vitája keretében tett hasznos kritikai észrevételeiért tanárainak, Dr. Csóka Györgynek, Dr. Varga Ferencnek és Dr. Varga Szabolcsnak.

Köszönöm a bécsi Universität für Bodenkultur Erdővédelmi Intézete munkatársai Dr. Christian Stauffer, Dr. Axel Schopf és Dr. Markus Riegler segítségét a fagyűrész vizsgálatok és a genetikai vizsgálatok lehetőségének megteremtéséért, tanácsaikért, iránymutatásukért.

Köszönöm a Bajnai Erdészet munkatársainak, Áprily Róbertnek és Tóth Zoltánnak a gyarmatpusztai vadgesztenye állomány védelme kidolgozásához nyújtott támogatását, tanulmányaimmal szemben tanúsított türelmét.

Végül, de nem utolsósorban köszönettel tartozom családom tagjainak azért az áldozatos támogatásért, türelméért, amely lehetővé tette, hogy egyetemi éveimen túl is tanulmányaimra fordíthassam a figyelmemet.

IRODALOMJEGYZÉK

- Akimov, I. A., Zerova, M. D., Gershenson, Z. S., Narolsky, N. B., Kochanez, O. M., Sviridov, S. V. (2003): First record of horse-chestnut leaf-miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) on *Aesculus hippocastanum* (Hippocastanaceae) in Ukraine. Vestnik zoologii: nyomtatás alatt.
- Askew, R.R. és Shaw, M.R. (1979): Mortality factors affecting the leaf-mining stages of Phyllonorycter (Lepidoptera: Gracillariidae) on oak and birch. 2. Biology of the parasite species. Zoological Journal of the Linnean Society 67:51-64.
- Avar K., Szeőke K., Reider I., Tóth B., Herczig B., Havasréti B. és Urfiné Fogarasi K. (1998): Vadgesztenyelevél-aknázómoly (*Cameraria ohridella*) elleni környezetkímélő védekezések tapasztalatai 1997-ben. Növényvédelmi Tudományos Napok '98, Budapest, Összefoglaló, 39.
- Bajar H. és Szöcs G. (1998): Szűz nőstényes csapdák vadgesztenyelevél-aknázómoly (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič) (Lepidoptera, Lithocolletidae) fogásának napszaki ritmusa. Növényvédelem 9: 491-494.
- Bajnai Erdészeti Üzemterve 1995-2005.
- Balázs K. és Thúröczi Cs. (2000): A *Cameraria ohridella* Deschka & Dimič parazitáltsága a környezet függvényében. Növényvédelem 6: 281-287.
- Blümel, S. és Hausdorf, H. (1996): Erste erfahrungen über die Bekämpfung der Roßkastanien-miniermotte. Österreichische Forstzeitung 5: 39-41.
- Blümel, S. és Hausdorf, H. (1997): Versuche zur Kontrolle von *Cameraria ohridella* Deschka et Dimič mit insektiziden Wachstumsregulatoren. Forstschutz Aktuell 21: 16-18.
- Butin, H. és Führer, E. (1994): Die Kastanien-Miniermotte (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič) ein neuer Schädling an *Aesculus hippocastanum*. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. 46 (5): 89-91.
- Bürgés Gy. és Szidonya I. (2000): Endoterápiás kezelések a vadgesztenyelevél-aknázómoly ellen. Növényvédelmi Tudományos Napok, Budapest 2000. Összefoglalók p.48
- Bürgés Gy. és Töröcsik P. (1998): A vadgesztenye és a platán veszélyes károsítói, valamint az ellenük való védekezési lehetőségek, különös tekintettel az alkalmazás technikára. Növényvédelmi Tudományos Napok '98, Budapest, Összefoglaló, 47.
- Czencz K. és Bürgés Gy. (1996): A vadgesztenyelevél-aknázómoly (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič 1986, Lep. Lithocolletidae). Növényvédelem 9: 437-445.

- Dautbašić, M. és Dimić, N. (1999): Occurrence of *Cameraria ohridella* Deschka & Dimić in Bosnia-Herzegovina. Works of the Faculty of Forestry Univ. Of Sarajevo 1:11-14.
- Del Bene, G., Gargani, E., Landi, S. és A. Bonifacio (2001): *Cameraria ohridella* e malattie fogliari dell'ippocastano in Toscana. Italus Horus 8: 41-49.
- Delucchi, V. (1958): *Lithocolletis messianella* Zeller (Lep. Gracilariidae). Analysis of some mortality factors with particular reference to its parasite complex. Entomophaga, 3, 203-270.
- Deschka, G. és Dimič, N. (1986): *Cameraria ohridella* n.sp. aus Mazedonien, Jugoslawien (Lepidoptera, Lithocolletidae). Acta Entom. Jugosl. 22: 11-23.
- Dimić, N. és Mihajlović, Lj. (1993): Širenje areala minera lista divljeg kestena (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič, Lepidoptera: Lithocolletidae) i njegovi prirodni neprijatelji. XXI skup entomologa Jugoslavije, zbornik rezimea: 32.
- Draganova, S. és Tomov, R. (2000): Fungal pathogens on *Cameraria ohridella* DESCHKA & DIMIC (Lepidoptera: Gracillariidae) in Bulgaria. Plant Science 37: 316-318.
- Feemers, M. (1997): Versuche zur Bekämpfung von *Cameraria ohridella* Deschka & Dimič mittels Stamminjektion (Präparat: Confidor). Forstschutz Aktuell 21: 24-25.
- Freise, J. és Heitland, W. (1999): A brief note on sexual differences in pupae of the horse-chestnut leaf miner, *Cameraria ohridella* Deschka & Dimič (1986) (Lep., Gracillariidae), a new pest in Central Europe on *Aesculus hippocastanum*. J. Appl. Entom. 123: 191-192.
- Gencsi L. és Vancsura R. (1992): Dendrológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Grabenweger, G. és Lethmayer, Ch. (1999): Occurrence and phenology of parasitic Chalcidoidea on the horse chestnut leafminer, *Cameraria ohridella* Deschka & Dimič (Lep., Gracillariidae). J. Appl. Entom. 123: 257-260.
- Heitland, W. és Metzger, J. (1997): Die Kastanien-Miniermotte *Cameraria ohridella* DESCHKA et DIMIČ (Lep., Gracillariidae) in Bayern. LWF Aktuell 1997: 16-17.
- Heitland, W., Freise, J., Metzger, J. és Lohrer, T. (2000): Verbreitung der Roßkastanien-Miniermotte. Keine Sperrstunde in Bayerns Biergarten. LWFaktuell 24: 30-33.
- Hellrigl, K. és Ambrosi, P. (2000): Die Verbreitung der Roßkastanien-miniermotte *Cameraria ohridella* DESCH. & DIMIC (Lepid., Gracillariidae) in der Region Südtirol-Trentino. Journal of Pest Science 73: 25-32.
- Holzschuh, C. és Krehan, H. (1992): Blattschadling an Roßkastanie. Forstschutz Aktuell, Forstl. BVA Wien 9/10: 15-16.
- Hoy, M. A. (1994): Insect Molecular Genetics. Academic Press, London

- Józsa S. és Czencz K. (2000): A különböző védettségű vadgesztenyefák aknázómoly (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimič) fertőzöttségének összehasonlító vizsgálata. Növényvédelem 6: 291-300.
- Kenis, M. és Forster, B. (1998): Die Roßkastanien-miniermotte: neu in der Schweiz. Der Gartenbau 39: 16-17.
- Kerényiné Nemestóthy K. (1996a): Védekezzünk a vadgesztenyelevél-aknázómoly ellen! Kertészet és Szőlészet, 45 (38) 11.
- Kerényiné Nemestóthy K. (1997): A vadgesztenyelevél-aknázómoly (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič 1986) kártétele a főváros közterületein. Növényvédelem 1: 19-22.
- Krehan, H. (1997): Erste Erfahrungen mit Bauminfusionen gegen die Roßkastanien-miniermotte. Forstschutz Aktuell 21: 26.
- Kukal, O., M. P. Ayres és J. M. Scriber (1991): Cold tolerance of pupae in relation to the distribution of swallowtail butterflies. Canadian Journal of Zoology 69: 3028-3037.
- Kumata, T. (1993): A contribution to the knowledge of the Malaysian Lithocolletinae (Gracillariidae, Lepidoptera) with a revision of Indian *Cameraria* associated with Leguminosae. Insecta Matsumurana 48: 1-85.
- Kumata, T. (1995): Some species of the subfamily Lithocolletinae (Gracillariidae, Lepidoptera) collected in the Philippines. Insecta Matsumurana 52: 105-131.
- Lakatos F., Traser gy. És Kovács Z. (2003): A gyarmatpusztai vadgesztenyés. Erdészeti lapok, 5: 143-144.
- Lastuvka, Z. (1994): Faunistic Records from the Czech Republic – 18. Klapalekiana, 30: 197-206.
- Lethmayer, Ch. és Grabenweger, G. (1997): Natürliche Parasitoide der Kastanienminiermotte (*Cameraria ohridella*). Forstschutz Aktuell 21: 30.
- Maceljski, M. és Bertic, D. (1995): - Kestenov moljac miner - *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Lepidoptera Gracillariidae) – novi opasni stetnik u Hrvatskoj. Fragmenta phitomedica et herbologica, 23 (2), 9-18.
- Marx, F. (1997): Maßnahmen gegen die Kastanien-miniermotte (*Cameraria ohridella*) aus der Praxis des Stadtgartenamtes der Gemeinde Wien. Forstschutz Aktuell 21: 21-22.
- Milevoj, L. és Maček, J. (1997): Roßkastanien-miniermotte *Cameraria ohridella* in Slowenien. Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes 49: 14-15.
- Nei, M. (1987): Molecular Evolutionary Genetics. Columbia University Press, New York
- Pap E. (1998): Veszélyben a vedgesztenyék. Kertészet és szőlészet 47: 24-25.

- Perny, B. (1997): Erste Ergebnisse populationsgenetischer Untersuchungen von *Cameraria ohridella*. Forstschutz Aktuell 21: 13-15.
- Pschorn-Walcher, H. (1994): Freiland-Biologie der eingeschleppten Roßkastanien-miniermotte *Cameraria ohridella* Deschka et Dimič (Lep. Gracillariidae) im Wienerwald. Linzer biol. Beitr. 26: 633-642.
- Pschorn-Walcher, H. (1997): Zur Biologie und Populationsentwicklung der eingeschleppten Roßkastanien-miniermotte *Cameraria ohridella*. Forstschutz Aktuell 21: 7-10.
- Puchberger, K. M. (1990): *Cameraria ohridella* DESCHKA & DIMIČ (Lep. Lithocolletidae) in Oberösterreich. Steyrer Entom. Runde 24: 79-81.
- Riddle Wayne, A. (1986): Respiration and cold-hardiness in overwintering eggs of the bagworm moth, *Thyridopteryx ephemeraeformis* (Lepidoptera: Psychidae). Comp. Biochem. Physiol. 86: 497-501.
- Simova-Tosic, D. és Filov, S. (1985): Contribution to the horsechestnut miner. - Zastita bilja 36: 235-239.
- Sivicek, P., Hrubik, P. és Juhasova, G. (1997): Verbreitung der Roßkastanienminiermotte in der Slowakei [*Occurrence of Cameraria ohridella in Slovakia.*]. Forstschutz Aktuell, 21: 6.
- Stolz, M. (1997): Untersuchungen über Larval- und Puppenparasitoide von *Cameraria ohridella* in Hinblick auf ihre Eignung zur Laborzucht. Forstschutz Aktuell 21: 31.
- Szabóky Cs. (1994): A *Cameraria ohridella* (Deschka et Dimič 1986) előfordulása Magyarországon. Növényvédelem, 11: 529-530.
- Szabóky Cs. és Vas J. (1997): Újabb adatok a vadgesztenyelevél-aknázómolyról (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič 1986, Lep. Lithocolletidae). Növényvédelem, 33: 29-31.
- Szőcs G. és Tóth M. (1998): Vigyázat! Almalevél-aknázómolyok az almalevél-aknázómoly feromoncsapdában! Növényvédelem 4: 187-189.
- Szőcs G., Kárpáti Zs., Tóth M. és Wittko F. (2001): A vadgesztenyelevél-aknázómoly (*Cameraria ohridella*) szexferomonjának szerkezet-meghatározása és kártevő-specifikus, nagy vonzóképeségű feromoncsapda kifejlesztése. Növényvédelmi Tudományos Napok 2001, Budapest, Összefoglaló, 66.
- Thúróczy Cs. és Reider I. (1998): A vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitáltságának és a hasznos élő szervezeteknek a vizsgálata a fővárosi és a megyei NTÁ-k eredményei alapján. Növényvédelmi Tudományos Napok '98, Budapest, Összefoglaló, 74.

- Tóth B., Szántóné Veszelka M., Urfiné Fogarasi É., Thúróczy Cs. és Reiderné Saly K. (1999): Vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidok vizsgálata és határozása Magyarország területén 1996-1998. évig. Növényvédelmi Tudományos Napok '99, Budapest, Összefoglaló, 82.
- Wittenberger, G. (1998): Die Roßkastanien-Miniermotte in Nordböhmen nebst einigen Hinweisen zum Vorkommen in Schlesien (Polen). Ber. Offb. Ver. Naturkde. 98: 75-78.

ÁBRÁK JEGYZÉKE

1. ábra. Vadgesztenye (eredeti)	5
2. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly imágója (Hoskovec)	8
3. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly imágója (Szabóky)	8
4. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly lárvája (Hoskovec)	9
5. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly lárvája (Czencz és Bürgés)	9
6. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly bábja (Hoskovec)	10
7. ábra Ivari bélyegek a bábbon (Freise és Heitland 1999)	10
8. ábra. Áttelelő báb (eredeti)	12
9. ábra. Kárkép (Lethmayer)	13
10. ábra. Aknák hegyi juhar leveleken (eredeti)	13
11. ábra. Az Ohridi-tó	15
12. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly terjedése Ausztriában (Tomiczek 1997)	15
13. ábra. <i>Pnigalio pectinicornis</i> Linné (http://cse.naro.affrc.go.jp/konishi)	20
14. ábra. <i>Chrysocharis pentheus</i> Walker (http://cse.naro.affrc.go.jp/konishi)	20
15. ábra. <i>Closterocerus trifasciatus</i> Westwood (http://cse.naro.affrc.go.jp/konishi)	22
16. ábra. <i>Minotetrastichus frontalis</i> Nees (http://cse.naro.affrc.go.jp/konishi)	22
17. ábra. Injektálás (Bürgés és Szidonya)	30
18. ábra. Ragacs lapos feromoncsapda (eredeti)	31
19. ábra. A (8E, 10Z) - 8,10 – tetradekadienil (Svatos)	32
20. ábra. Aknázómolyok a feromoncsapdában (Svatos)	33
21. ábra Vadgesztenye fasorok és állományok Gyarmatpusztán (eredeti)	36
22. ábra. A mintavétellel érintett vadgesztenyelevél-aknázómoly populációk	38
23. ábra. DNS kivonása <i>Cameraria ohridella</i> bábokból	40
24. ábra. PCR program	40
25. ábra. RAPD-PCR reakció komponensei	40
26. ábra. RAPD-PCR vizsgálatok során alkalmazott primerek bázissorrendje	41
27. ábra. Szekvenálás reakció komponensei	41
28. ábra. Szekvenálás reakció megtisztítása NaAC oldattal	42
29. ábra. Napi középhőmérséklet alakulása március 1-től április 30-ig 1995. és 1997. évben	44
30. ábra. Az egyes fejlődési alakok számának változása az idő függvényében, fasorban	47
31. ábra. Az egyes fejlődési alakok arányának változása az idő függvényében, fasorban	47

32. ábra. Az egyes fejlődési alakok számának változása az idő függvényében, elegyetlen állományban	48
33. ábra. Az egyes fejlődési alakok arányának változása az idő függvényében, elegyetlen állományban	48
34. ábra. Az egyes fejlődési alakok számának változása az idő függvényében, elegyes állományban	49
35. ábra. Az egyes fejlődési alakok arányának változása az idő függvényében, elegyes állományban	49
36. ábra. Az üres aknák számának változása az idő függvényében, különböző élőhelyeken	50
37. ábra. A „ <i>Supercooling</i> ” folyamat regisztrálásának eredménye	52
38. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly áttelelő bábjainak fagyűrő képessége és annak szórása különböző időpontokban	53
39. ábra. R1 primer	56
40. ábra. R2 primer	56
41. ábra. R7 primer	56
42. ábra. R8 primer	57
43. ábra. R9 primer	57
44. ábra. R13 primer	57
45. ábra. R14 primer	58
46. ábra. OPA4 primer	58
47. ábra. OPAB1 primer	58
48. ábra. OPAB8 primer	59
49. ábra. OPAC11 primer	59
50. ábra. OPAC13 primer	59
51. ábra. Erfurt populáció R14 mintázata	60
52. ábra. Krakow populáció R14 mintázata	60
53. ábra. Naalwijk populáció R14 mintázata	61
54. ábra. Ohrid populáció R14 mintázata	61
55. ábra. Sarajevo populáció R14 mintázata	61
56. ábra. Verona populáció R14 mintázata	62
57. ábra. Wien populáció R14 mintázata	62
58. ábra. A vizsgált populációk kapcsolata dendrogramon ábrázolva	64
59. ábra. A RAPD genetikai vizsgálatok eredménye	65

60. ábra. Kilenc minta COI génszakaszának rajzolata	69
61. ábra. A szekvenálás eredménye	69
62. ábra. A vadgesztenyelevél-aknázómoly COI enzimét kódoló mitokondriális DNS szakasz 173 bázisa	70
63. ábra. A gyarmatpusztai vadgesztenye állomány részlete (eredeti)	74
64. ábra. A lehullott lomb talajba forгатása (eredeti)	76
65. ábra. Tárcsázott talaj az állomány alatt (eredeti)	76
66. ábra. Vadgesztenye állomány – vadlegelővel (eredeti)	77
67. ábra. Ragacs lapos feromoncsapda (eredeti)	77
68. ábra. Elhalt fa törzse az állományban (eredeti)	78
69. ábra. Állománybővítés suhánkkal (eredeti)	79
70. ábra. Kezelt vadgesztenye állomány augusztusban (eredeti)	79

TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

1. táblázat. A vadgesztenyelevél-aknázómoly lárva-stádiumai és azok jellemző méretei (Czencz és Bürgés, 1996)	9
2. táblázat. Az Ázsiában honos <i>Cameraria</i> fajok (Kumata 1993, 1995, 2000 nyomán)	17
3. táblázat. Az Amerikában honos <i>Cameraria</i> fajok (http://www.nearctica.com/nomina/lepid/lepg.htm#anchor_373558)	18
4. táblázat. A vadgesztenyelevél-aknázómoly parazitoidjai (Hellrigl, 1998 alapján kiegészítve)	27
5. táblázat. A vadgesztenye előfordulással érintett erdőrészek üzemtervi adatai (A Bajnai Erdészeti üzemterve 1995-2005)	35
6. táblázat. A genetikai vizsgálatok során használt minták jegyzéke	39
7. táblázat. Az áttelelés vizsgálatának eredményei	44
8. táblázat. „ <i>Supercooling point</i> ” vadgesztenyelevél-aknázómoly áttelelő bábok esetében	52
9. táblázat. Statisztikai analízis populáción belüli eredménye	62
10. táblázat. Minták közötti genetikai azonosság és távolság* (Nei, 1972)	63
11. táblázat. Populációk közötti genetikai azonosság és távolság* (Nei, 1978)	64
12. táblázat. Genetikai távolságok a dendrogram meghatározott pontjai között	65