

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE
FAKULTA TROPICKÉHO ZEMĚDĚLSTVÍ

Chemická ekologie živočichů

Doc. RNDr. Irena Valterová, CSc.



Chemická ekologie živočichů

Autor

Irena Valterová

ISBN 978-80-213-2568-5

© Česká zemědělská univerzita v Praze
Praha 2015

Chemická ekologie živočichů

- **Předmět:** ekologicky důležité látky, které se vyskytují v živých organismech a zprostředkují komunikaci mezi těmito organismy (**chemická ekologie**)
-
- většina přírodních látek má více funkcí (účinků)
- parsimonie (šetrnost, úspornost přírody)
- dichotomie účinků (dvě či více funkcí některých přírodních látek)
- využití týchž látek různými organismy k různým funkcím
- biodiverzita a chemodiverzita

u vyhynulých druhů už nikdy nezjistíme, jaké látky produkovaly a k čemu mohly sloužit

Obsah

| | |
|---|----------|
| ■ Chemická ekologie - vymezení pojmu | snímek 3 |
| ■ Semiochemikálie - feromony, kairomony, obranné látky | 10 |
| ■ Klasifikace, příklady typů struktur, uplatnění feromonů v praxi | 11 |
| ■ Praktické využití feromonů | 60 |
| ■ Metody přípravy vzorků (isolace) v chemické ekologii | 70 |
| ■ Metody identifikace a určení struktury látek | 90 |
| ■ Metody testování biologické aktivity přírodních látek | 139 |
| ■ Příklady feromonů společenského hmyzu, organizace kolonie | 175 |
| ■ Feromony druhu Homo sapiens | 206 |
| ■ Přírodní látky jako model pro syntetické pesticidy | 267 |
| ■ Alternativy k insekticidům | 258 |
| ■ Hmyzí hormony, regulace vývoje a rozmnožování hmyzu | 267 |
| ■ Použitá literatura | 282 |

Ekologie (ecology)

vzájemné vztahy mezi organismy či skupinami organismů a jejich prostředím

Environmentální vědy (environmental science)

škodlivé vlivy na životní prostředí

Chemická ekologie (chemical ecology)

chemicky zprostředkované interakce mezi organismy

komunikace mezi organismy

Typy interakcí:

hmyz - hmyz (feromony, allomony, kairomony)

hmyz - rostlina (atraktanty z hostitelské rostliny, květní vůně)

rostlina - rostlina ("SOS signály")

interakce mezi mikroorganismy

tritrofické interakce (rostlina-hmyz-hmyz; rostlina-hmyz-rostlina;

rostlina-hmyz-pathogen)

Postup při výzkumu v oboru chemické ekologie

- těsná spolupráce biologa a chemika
- dobrá znalost chování živočicha, jehož chemické signály chceme studovat
- konkrétní představa o biologickém testu
- izolace aktivních sloučenin
- chemická analýza
- určení struktury
- syntéza aktivních látek
- biologický test - v laboratoři
- v polních podmínkách

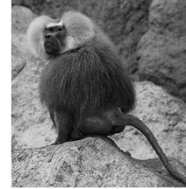
Komunikace

- předávání nebo výměna informací mezi organismy
- je zprostředkována souborem znaků nebo signálů sdílených odesilatelem i příjemcem



Komunikační prostředky živočichů optické

pohyby, posunky, mimika, výrazné zbarvení části těla



akustické

zpěv ptáků, bubnování do ozvučných
předmětů, stridulace hmyzu



© Luboš Mráz
www.naturfoto.cz

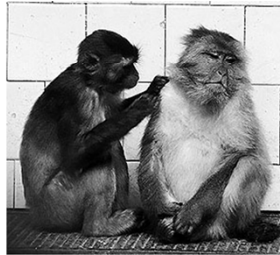
Komunikační prostředky živočichů

chemické

semiochemikálie ze sekretů exokrinních žláz

dotykové

kontaktní signály při páření,
péče o tělní povrch



elektrické

známé u některých čeledí ryb



dotykové – rozpoznávání u sociálního hmyzu (kutikulární uhlovodíky)

Veškeré organismy vypouštějí chemické signály a reagují na pachy ostatních

- chemické signály slouží pro rychlé, jednoduché a jednoznačné předání informací nezbytných pro život



- u člověka nemá chemická komunikace rozhodující roli



- u rostlin je chemická komunikace nejmladší disciplínou



Čichové a chuťové smysly hmyzu

- hledání potravy (kořisti)
- výběr partnera a páření
- výběr místa nebo hostitele pro kladení vajíček
- agregace pro překonání odporu hostitele
- regulace dostatečného prostoru a výživy
- poplach, obrana nebo útok
- organizace sociálního života

čich – přenos vzduchem (těkavé látky)

chuť – kontakt (netěkavé látky, rozpustné ve vodě)

Semiochemikálie

(chemická řeč, přenos informace mezi organismy)

buňky (imunitní odpověď)

hmyz (sexuální chování,
regulace sociálního života)

bakterie (chemotaxe)

obratlovci (dominance,
označení teritoria)

řasy (atrakce pohlavních buněk, gamet) člověk (imunita, sexuální
chování)

rostliny (lákání opylovačů)

Feromony

πηρερειν (nésti) ηορμον (vzrušovat)
(Karlson a Lüscher, 1959)

mezi jedinci stejného druhu

Allelochemikálie

kairomony, allomony
synomony

mezi různými druhy

pojem infochemikálie = semiochemikálie

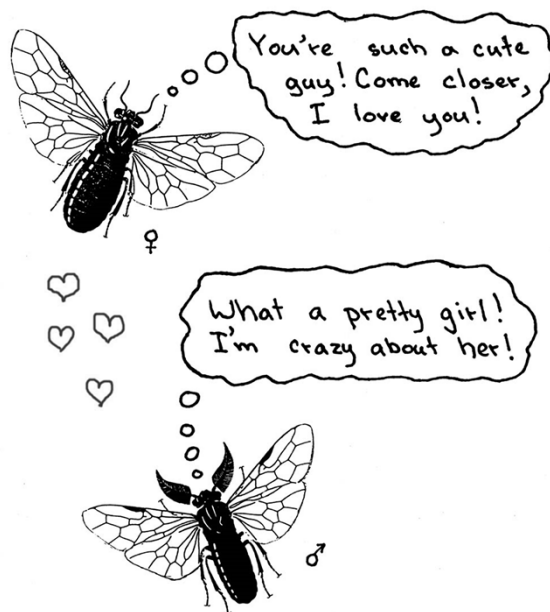
Feromony lze rozdělit dle biologické funkce na několik základních typů

- **Sexuální**
- **Agregační**
- **Stopovací**
- **Poplašné**
- **Značkovací (prostorové)**
- **Identifikační (sociální)**
- **Dispersní**

Typy feromonů

- **Sexuální feromony, jejichž funkcí je lákání a stimulace kopulačního chování u opačného pohlaví.**
- **Agregační feromony** jsou emitovány s cílem přivábit další jedince téhož druhu (sdružování před zimováním nebo kůrovci).
- **Stopovací feromony** aplikují členové sociálních kolonií k označení cest za potravou.
- **Poplašné feromony** jsou vylučovány společenským hmyzem (či hmyzem žijícím pospolitě - ruměnice) v případě ohrožení.
- **Značkovací feromony** používají buď paraziti k etiketaci hostitele, aby nedošlo k násobnému obsazení, či jiné druhy k ochraně teritoria.
- **Identifikační feromony** odlišují jednotlivé kolonie sociálního hmyzu, protože tvoří tzv. domovskou vůni.
- **Dispersní feromony** jsou signálem k rozprchnutí.

Sexuální feromon - láká jedince opačného pohlaví k páření



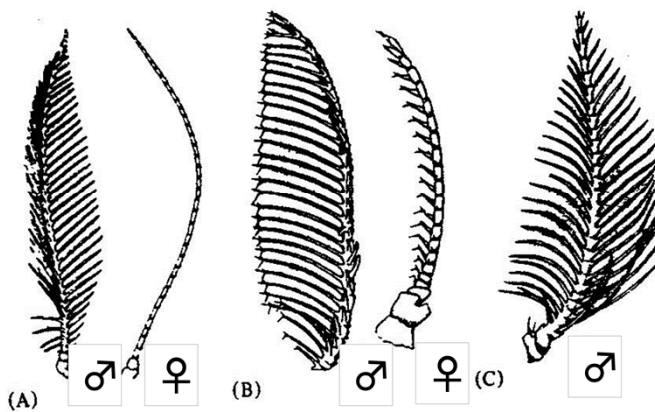
13

U většiny motýlů je producentem samička.

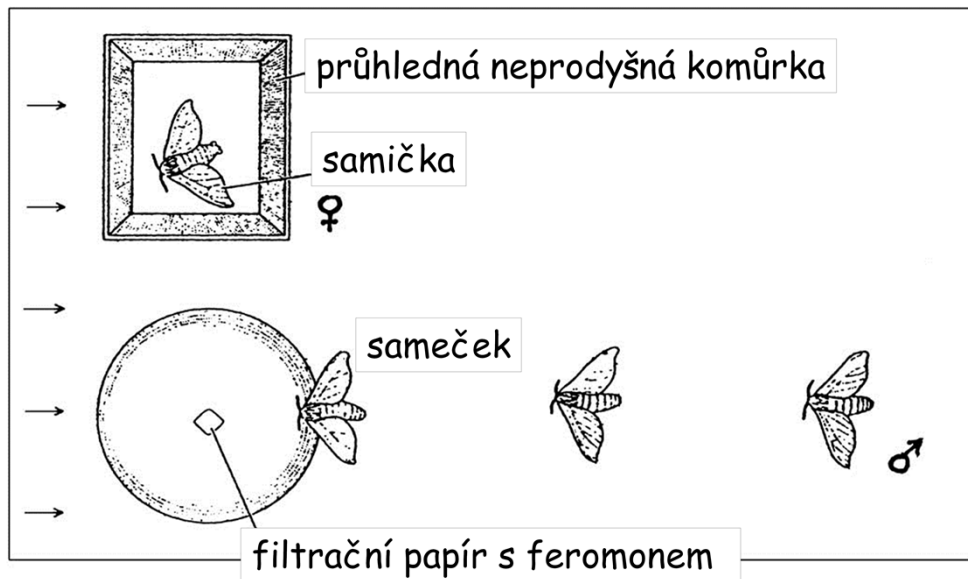
Sexuální dimorfismus u motýlů, rozdíl ve tvaru tykadel



bekyně mniška,
sameček



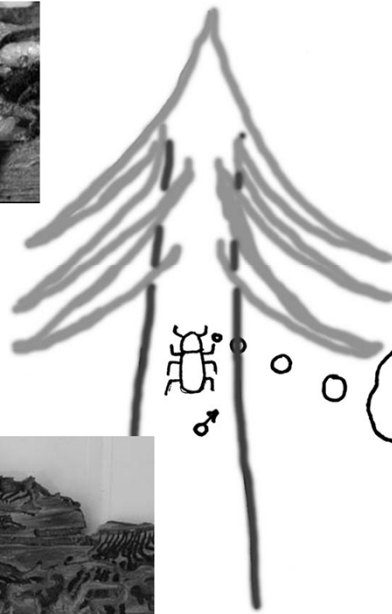
Pokus dokazující existenci a funkci sexuálního feromonu



Typy feromonů

- **Sexuální feromony**, jejichž funkcí je lákání a stimulace kopulačního chování u opačného pohlaví.
- **Agregační feromony jsou emitovány s cílem přivábit další jedince téhož druhu. Účel: shlukování před zimováním, sdružování na potravě, nebo masový atak a prolomení obrany hostitele.**
- **Stopovací feromony** aplikují členové sociálních kolonií k označení cest za potravou.
- **Poplašné feromony** jsou vylučovány sociálním hmyzem v případě ohrožení.
- **Značkovací feromony** používají buď paraziti k etiketaci hostitele, aby nedošlo k násobnému obsazení, či jiné druhy k ochraně teritoria.
- **Identifikační feromony** odlišují jednotlivé kolonie sociálního hmyzu, protože tvoří tzv. domovskou vůni.
- **Dispersní feromony** jsou signálem k rozprchnutí.

Agregační feromon - láká jedince obou pohlaví na velkou vzdálenost (kůrovci)



Brothers and sisters!
Come here - I found
a nice hotel where
a good food is
served!

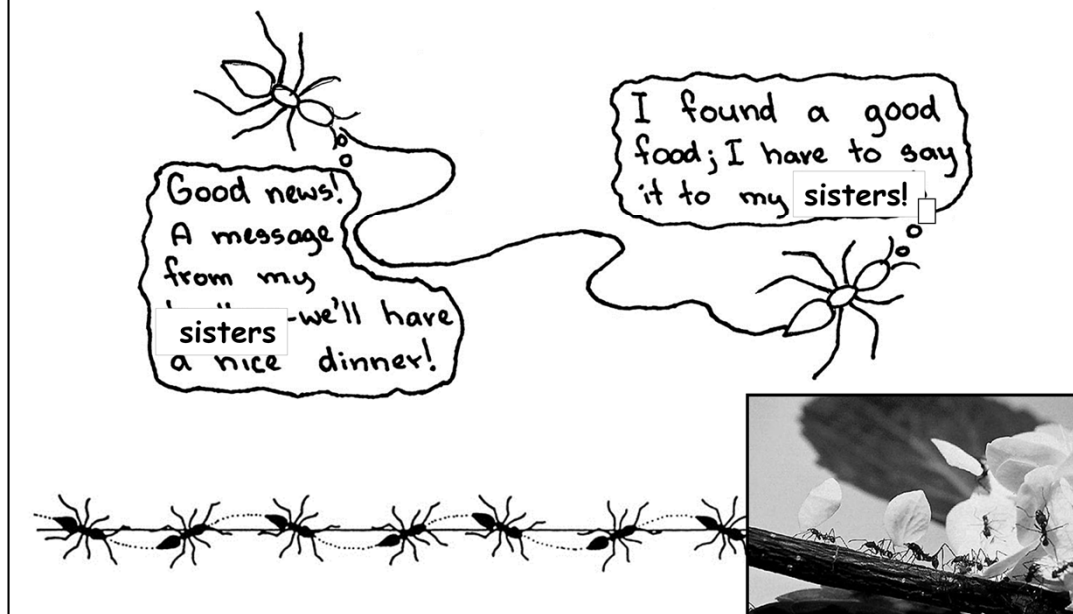


signalizuje vhodné místo pro potravu a rozmnožování

Typy feromonů

- **Sexuální feromony**, jejichž funkcí je lákání a stimulace kopulačního chování u opačného pohlaví.
- **Agregační feromony** jsou emitovány s cílem přivábit další jedince téhož druhu, neboť větší množství jedinců umožní prolomit obranu hostitele.
- **Stopovací feromony aplikují členové sociálních kolonií k označení cest za potravou.**
- **Poplašné feromony** jsou vylučovány sociálním hmyzem v případě ohrožení.
- **Značkovací feromony** používají buď paraziti k etiketaci hostitele, aby nedošlo k násobnému obsazení, či jiné druhy k ochraně teritoria.
- **Identifikační feromony** odlišují jednotlivé kolonie sociálního hmyzu, protože tvoří tzv. domovskou vůni.
- **Dispersní feromony** jsou signálem k rozprchnutí.

Stopovací feromon - označuje cestu ke zdroji potravy (společenský hmyz - mravenci, termiti...)



záleží i na koncentraci, pozná se směr k mraveništi (dáno těkavostí feromonu a jeho postupným odpařováním)

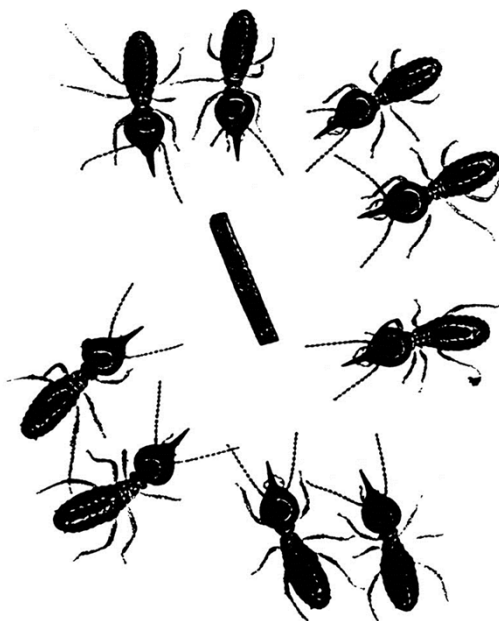
Typy feromonů

- **Sexuální feromony**, jejichž funkcí je lákání a stimulace kopulačního chování u opačného pohlaví.
- **Agregační feromony** jsou emitovány s cílem přivábit další jedince téhož druhu, neboť větší množství jedinců umožní prolomit obranu hostitele.
- **Stopovací feromony** aplikují členové sociálních kolonií k označení cest za potravou.
- **Poplašné feromony jsou vylučovány sociálním hmyzem v případě ohrožení.**
- **Značkovací feromony** používají buď paraziti k etiketaci hostitele, aby nedošlo k násobnému obsazení, či jiné druhy k ochraně teritoria.
- **Identifikační feromony** odlišují jednotlivé kolonie sociálního hmyzu, protože tvoří tzv. domovskou vůni.
- **Dispersní feromony** jsou signálem k rozprchnutí.

Poplašný feromon - vyvolává obranné chování u ostatních členů kolonie, především u vojáků (hlavně společenský hmyz - mravenci, termiti, ale i druhy žijící pospolitě – mšice, ploštice)



Pokus dokazující existenci a funkci poplašného feromonu
(vojáci termitů)



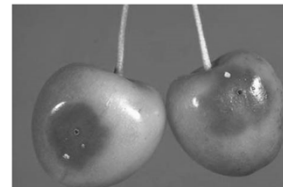
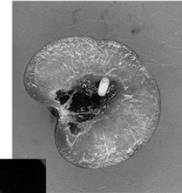
Typy feromonů

- **Sexuální feromony**, jejichž funkcí je lákání a stimulace kopulačního chování u opačného pohlaví.
- **Agregační feromony** jsou emitovány s cílem přivábit další jedince téhož druhu, neboť větší množství jedinců umožní prolomit obranu hostitele.
- **Stopovací feromony** aplikují členové sociálních kolonií k označení cest za potravou.
- **Poplašné feromony** jsou vylučovány sociálním hmyzem v případě ohrožení.
- **Značkovací feromony používají buď paraziti k etiketaci hostitele, aby nedošlo k násobnému obsazení, či jiné druhy k obraně teritoria.**
- **Identifikační feromony** odlišují jednotlivé kolonie sociálního hmyzu, protože tvoří tzv. domovskou vůni.
- **Dispersní feromony** jsou signálem k rozprchnutí.

Značkovací (prostorový) feromon - označuje okupované území (prostor), což zajišťuje dostatek potravy pro všechny jedince nové generace



vrtule
třešňová



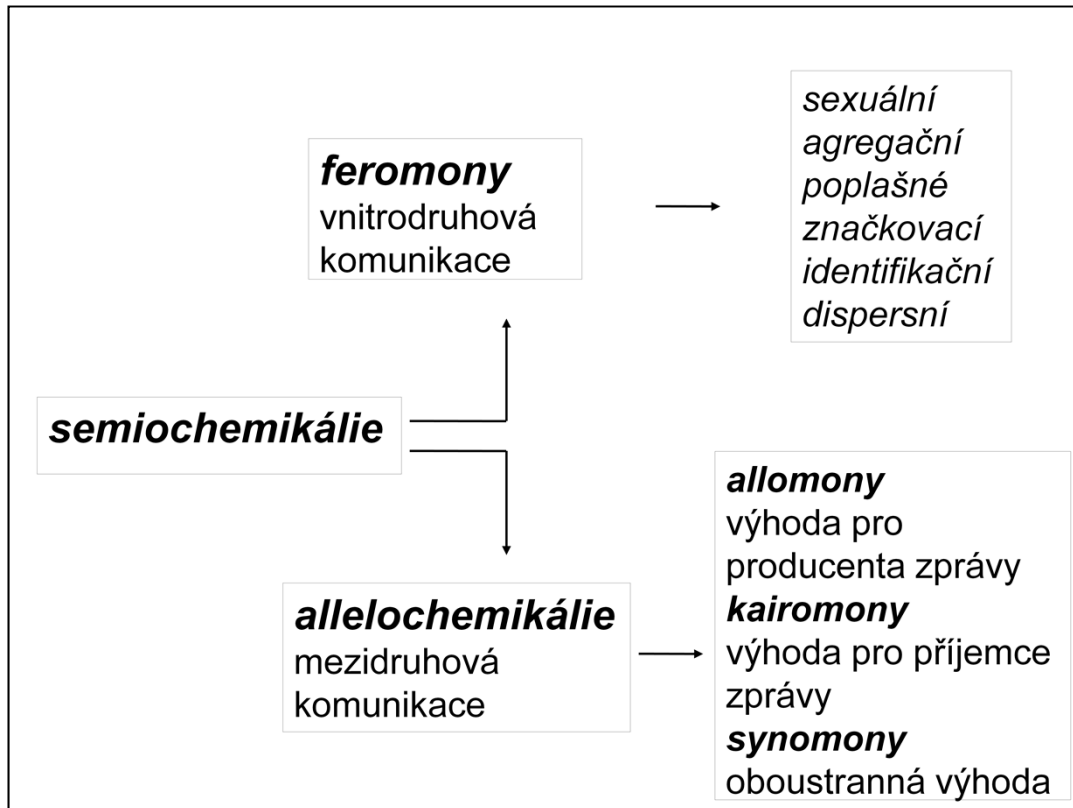
Nejednotnost v označení – značkovacím feromonem se míní i značka termitů, na kterém stromě mají žrát. Čmeláci – označení teritoria.

Typy feromonů

- **Sexuální feromony**, jejichž funkcí je lákání a stimulace kopulačního chování u opačného pohlaví.
- **Agregační feromony** jsou emitovány s cílem přivábit další jedince téhož druhu, neboť větší množství jedinců umožní prolomit obranu hostitele.
- **Stopovací feromony** aplikují členové sociálních kolonií k označení cest za potravou.
- **Poplašné feromony** jsou vylučovány sociálním hmyzem v případě ohrožení.
- **Značkovací feromony** používají buď paraziti k etiketaci hostitele, aby nedošlo k násobnému obsazení, či jiné druhy k obraně teritoria.
- **Identifikační feromony odlišují jednotlivé kolonie sociálního hmyzu, protože tvoří tzv. domovskou vůni.**
- **Dispersní feromony jsou signálem k rozprchnutí.**

25

Signálem pro rozprchnutí je někdy i poplašný feromon.



ALLOMON

chemický signál výhodný pro producenta zprávy



Pavouk bolas

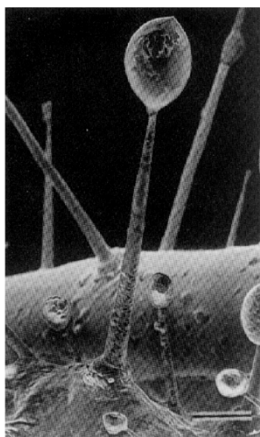
Mastophora cornigera

produkuje směs Z9-14:Ald,
Z11-16:Ald, Z9-14:Ac a Z11-16:Ac

láká a loví samce cca 15 druhů
můr, které používají stejné látky
jako své sexuální feromony

obranné látky jsou také allomony

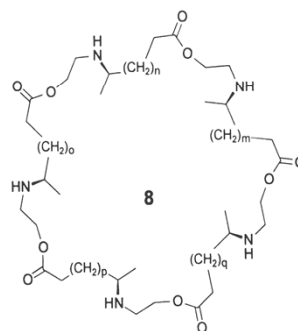
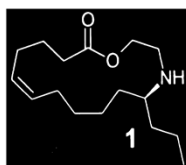
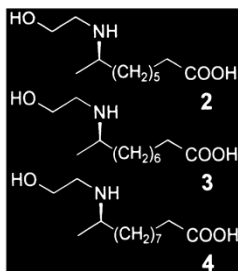
Chemická obrana (velmi častá a dobře prozkoumaná)



Schröder, Science
1998

Kukla slunéčka *Epilachna borealis*

je pokryta dutými vlásky, z kterých se vylučuje lepkavý exudát obsahující “kombinatorní” směs alkaloidů.



Chemická obrana u nepohyblivé kukly výrazně snižuje její požer ptáky, mravenci a jinými hmyzožravci.

KAIROMON
zpráva výhodná pro příjemce



Lumčík *Microplitis croceipes*
Housenka *Spodoptera exigua*

housenka produkuje signál,
který ji “zviditelní”

vosa nalezne housenku na
základě signálů z jejího trusu,
podobný princip u parazitoidů
hmyzích vajíček

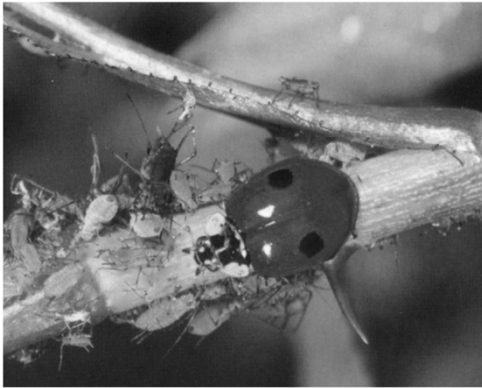
29

Lumčík = vosička

parazitoidi hmyzích vajíček vnímají sexuální feromony samic motýlů tím snadno naleznou nakladená vajíčka

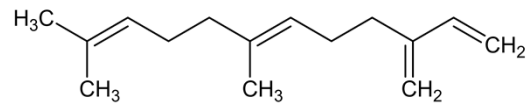
KAIROMON

zpráva výhodná pro příjemce



mšice x slunéčko

mšice produkují poplašný feromon (E-β-farnesen), který ale láká slunéčka, jejich predátory



(E)- β-Farnesen

SYNOMON

zpráva výhodná pro producenta i příjemce



typický příklad – květní vůně

rostlina poskytuje hmyzu nektar, hmyz opyluje její květy

ALE:



zemní orchideje (*Ophrys*)
lákají samce samotářských
včel směsí látek, která
je podobná feromonu
koncepifických samiček,
ale nemají nektar



Historie feromonů

- 1914 Fabre J.H. samci nočních motýlů jsou schopni lokalizovat samice na velké vzdálenosti
- 1925-1939 biologické důkazy vysoké druhové specifity samičích atraktantů
- 1939 Butenant A. první pokusy izolace atraktantu bource morušového
- 1950-1961 izolace a identifikace bombykolu
- 1961 syntéza všech 4 možných isomerů
- 1959 Karlson+Lüscher zavedli pojem „feromon“
(Nature 183, 55)

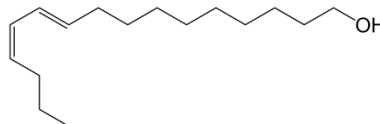


**bourec
morušový**



Isolace prvního sexuálního feromonu

- použito 10^6 zámotků bource morušového
- z 5×10^5 samic vyoperovány žlázy
- získáno 280 g lipidického extraktu
- neutrální frakce 125 g
- opakovanou extrakcí, zmýdlněním, srážením a rekrystalizací připravena surová frakce esterů se 4'-nitrobenzen-4-karboxylovou kyselinou (celkem 9 operací) získáno 5,6 g
- další série separačních kroků a rekrystalizace vedla k 6 mg nitroazobenzenkarboxylátu bombykolu
- spektrální analýza (IR, UV) a derivatizace vedly k určení struktury
- syntéza všech 4 isomerů



Feromony motýlů

- **Molekulová hmotnost 100-300** zaručuje vhodnou těkavost, ale i dostatečné množství strukturních obměn (10-18 atomů uhlíku)
- **Nejčastější typy sloučenin** – alifatické alkoholy, estery, aldehydy, ketony, kyseliny
- **Méně časté** – epoxidy, ketaly, acetaly, fenoly
- **Vysoká druhová specifita** – odlišné velikosti molekuly, počet dvojných vazeb, regioisomery, stereoisomery; více složek v určitém charakteristickém poměru
- Příbuzné druhy hmyzu mívají feromony podobných struktur (podobné enzymy pro biosyntézu)

Feromony motýlů

| | Samičí feromony | Samčí feromony |
|---------------------|------------------------|-------------------------|
| Účel | Reprodukce | Vábění a kompetice |
| Umístění žlázy | Konec zadečku | Různé části těla |
| Struktura | Alifatické látky | Často heterocykly |
| Množství / žláza | < 1 µg | > 1 µg |
| Biosyntéza | Z mastných kyselin | Z potravních prekurzorů |
| Doba expozice | Krátká až dlouhá | Velmi krátká |
| Receptory | Tykadla samců | Tykadla obou pohlaví |
| Specifita receptorů | Pro každou složku | Jen pro hlavní složky |

Biosyntéza řízena hormonálně PBAN peptidy

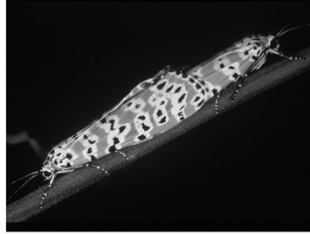


Chemie v životě můry *Utetheisa ornatrix*

T. Eisner & J. Meinwald, Cornell University, USA



dospělec



páření



larva
na živné rostlině
Crotalaria spectabilis

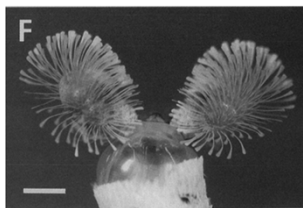


obrana

Samičí feromon *U. ornatrix*



námluvy



samčí koremata

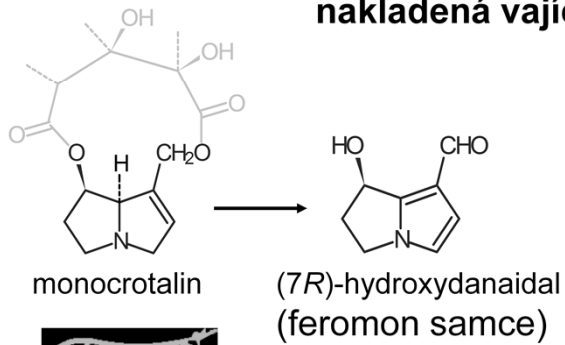
- Samice láká při západu slunce samce, emituje atraktant v 1,5 sec pulsech.
- Přivábený samec poletuje okolo samice a tře o ní svá koremata, po “přijetí” kopuluje.



složky samičího feromonu

Samčí feromon *U. ornatrix*

- feromon má afrodiziakální účinky na samice
- monocrotalin se dostane do samice při páření a chemicky chrání nakladená vajíčka



Crotolaria mucronata

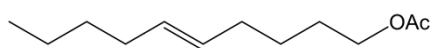
Samice je schopna podle "síly" feromonu určit, jaká množství alkaloidů může samec poskytnout a vybrat si "nejlepší" sperma

Utetheisa

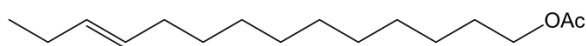
Samice se páří opakovaně, schraňuje sperma a rozlišuje ho, ztitruje množství alkaloidu a vybere to sperma, kde je nejvíc alkaloidu. Alkaloid pak použije od všech a ochrání jím vajíčka.

Typy látek ve feromonech různých živočichů

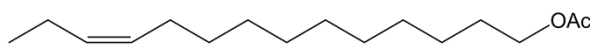
Motýli (Lepidoptera)



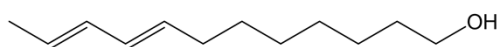
makadlovka broskvoňová
Anarsia lineatella



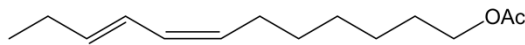
zavíječ kukuřičný
Ostrinia nubilalis



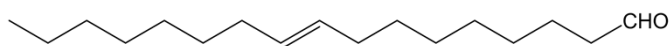
zavíječ kukuřičný
Ostrinia nubilalis



obaleč jablečný
Cydia pomonella

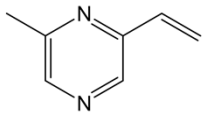


obaleč mramorovaný
Lobesia botrana (vinice)

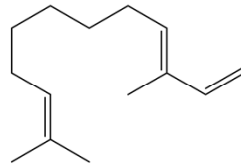
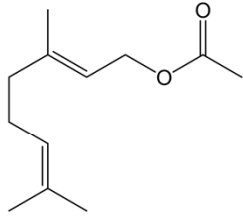


černopáska bavlníková
Heliothis armigera

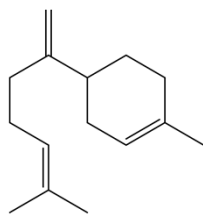
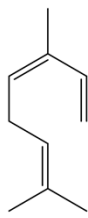
Mouchy (Diptera; fruit fly = vrtule)



Papaya fruit fly



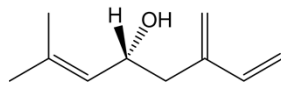
Mediterranean fruit fly



Caribbean fruit fly

Brouci
(Coleoptera):
kůrovci a nosatci

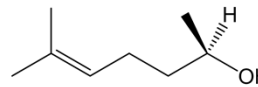
Ips pini



(R)-ipsdienol

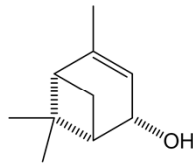
Ips typographus

Gnathotrichus sulcatus



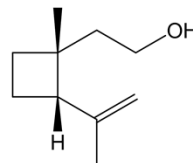
(R)-sulcatol

Anthonomus grandis



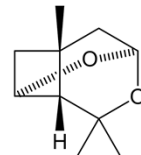
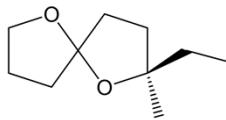
(S)-cis-verbenol

Pityogenes chalcographus



(1R,2S)-grandisol

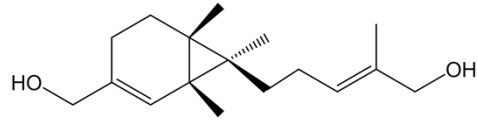
Trypodendron lineatum



41

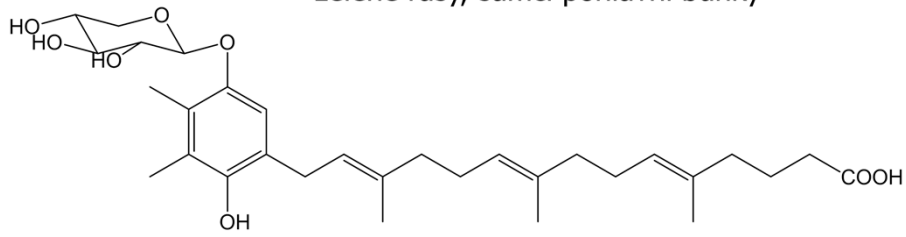
Anthonomus – květopas, tento škodí na bavníku

Řasy a chaluhy



sirenin, *Allomyces*

zelené řasy, samčí pohlavní buňky

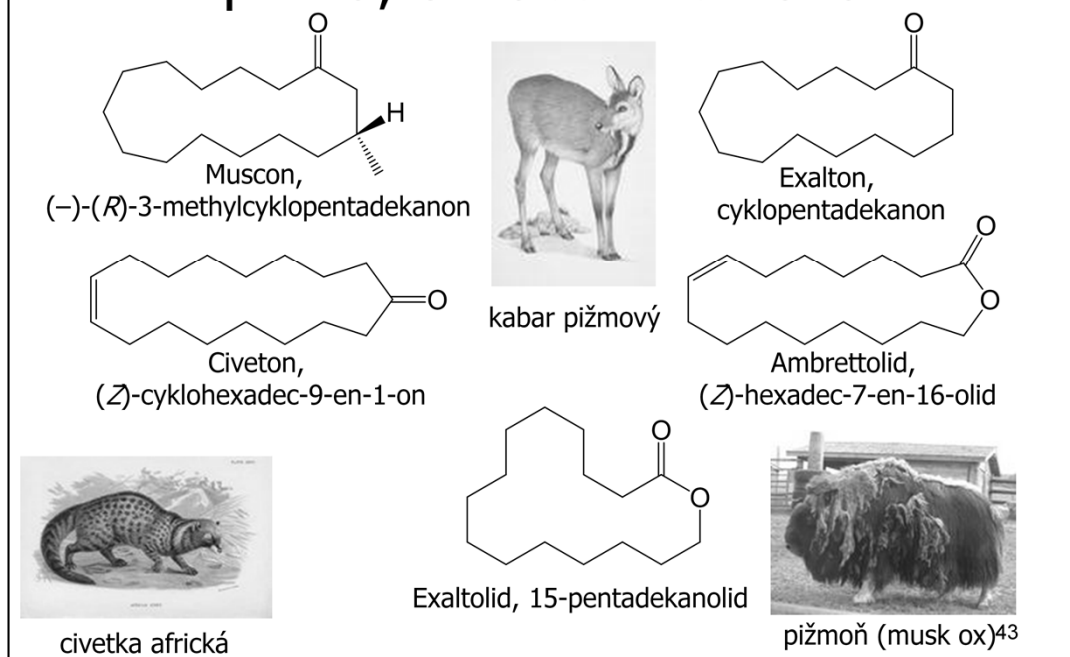


lurlene, *Chlamydomonas eugametos*

chaluhy

Obratlovci

pižma, označení teritoria



muscon – *Moschus moschiferus* L., kabar pižmový, žije v Himalajích, velikost srnce

civeton – *Viverra zibetha* L., civetka africká

exalton – *Viverricula indica* Desmarest, civetka indická

ambrettolid, exaltolid – pižmové vůně z rostlin (ibišek, angelika)

Family Moschidae

Himalayan Musk Deer, *Moschus chrysogaster*

Siberian Musk Deer, *Moschus moschiferus*

Dwarf Musk Deer, *Moschus brezovskii*

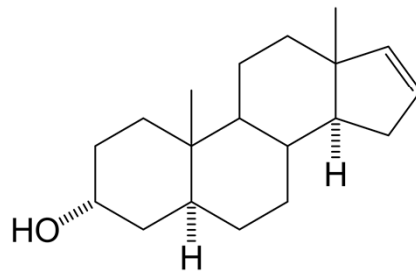
Black Musk Deer, *Moschus fuscus*

The variety which appears in commerce is a secretion of the musk deer; but the odor is also emitted by the musk ox and musk rat of India and Europe, by the Musk Duck (*Biziura lobata*) of southern Australia, the musk shrew, the musk beetle (*Calichroma moschata*), the alligator of Central America, and by several other animals.

In the vegetable kingdom it is present in the musk flower (*Mimulus moschatus*), the musk wood of the Guianas and West Indies, and in the seeds of *Abelmoschus moschatus* (musk seeds).

To obtain the perfume from the musk deer, the animal is killed and the gland completely removed and dried, either in the sun, on a hot stone, or by immersion in hot oil. It appears in commerce as "musk in pod" (i.e. the glands are entire) or as "musk in grain" (in which the perfume has been extracted from its receptacle).

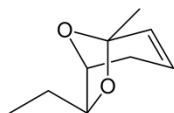
Člověk, steroidní látky



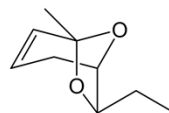
vomeroferin

Podobnosti struktur

myš domácí, *Mus domesticus*

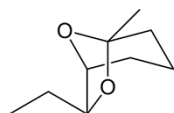


(*R,R*)-3,4-dehydro-*exo*-brevicomine

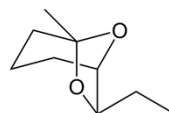


(*S,S*)-3,4-dehydro-*exo*-brevicomine

kůrovci, *Dendroctonus spp.*

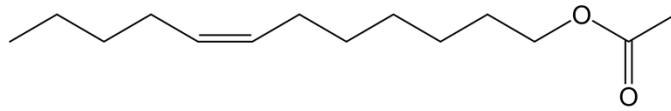


(*R,R*)-*exo*-brevicomine



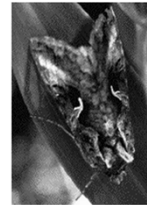
(*S,S*)-*exo*-brevicomine

Pojem parsimonie (dichotomie účinků)



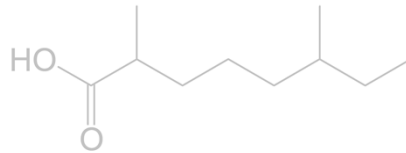
(Z)-9-dodecenylacetát

sexuální feromon řady druhů
nočních motýlů a současně
sexuální signál samice
afrického slona





Pojem parsimonie (šetrnost, úspornost)



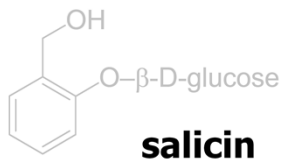
2,6-dimethyloktanová kyselina

složka vosků některých ptáků

- impregnuje peří
- desinfikuje (silné antibiotikum)

šetrnost přírody – buď používá stejný feromon u druhů, kde nehrozí zmatení, některá látka má více účinků podle situace, nebo látky v přírodě cirkulují (sekvestrace)

Kyselina salicylová a její deriváty



kůra, listy a květy vrby (*Salix*), kůra a listy neopadavé břízy

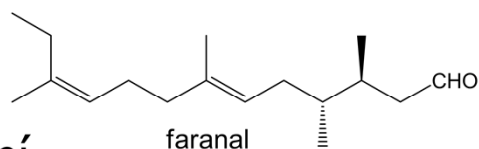
- antipyretické účinky u lidí
- pyretické účinky u květů (produkce tepla)
- signalizační „SOS“ kaskáda u rostlin



Chirální látky jako feromony

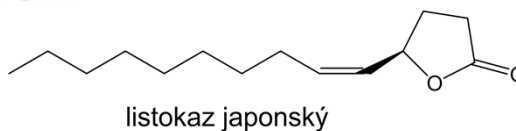
A. Produkován je pouze jeden enantiomer

1. antipod je méně aktivní nebo inaktivní
převážná část případů



2. antipod je stejně aktivní
několik případů

3. antipod je inhibítozem
dva případy

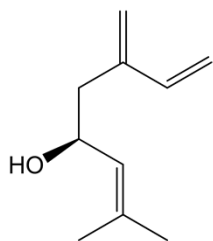


49

bod 1 – mravenec faraonský

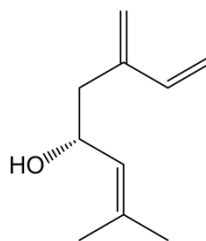
bod 3 – *Popillia japonica*, listokaz japonský

Různé druhy stejného rodu používají opačné enantiomery



(+)

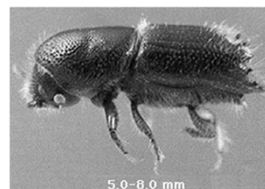
Ips paraconfusus



(-)

ipsdienol

Ips calligraphus

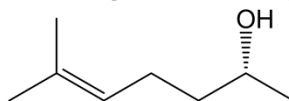


50

Chirální látky jako feromony

B. Produkovány jsou oba enantiomery

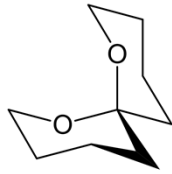
1. optimální reakce je na přírodní poměr enantiomerů
většina případů



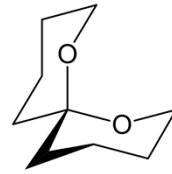
sulcatol

2. reakce na jeden je silnější než na druhý
nebo než na přírodní poměr
jeden případ
3. jeden z enantiomerů inhibuje
žádný případ

Jeden enantiomer je aktivní na samce, druhý na samice



(*R*)-(-)-olean
samci



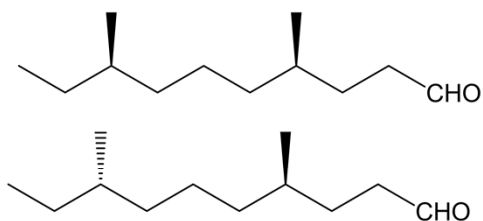
(*S*)-(+)-olean
samice



vtule *Dacus oleae*,
škůdce na olivách

Dacus oleae, olive fly

Jeden isomer je aktivní, jiný
(nepřírodní) aktivitu zvyšuje

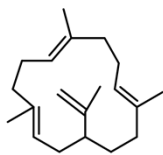


Tribolium castaneum,
potemník hnědý

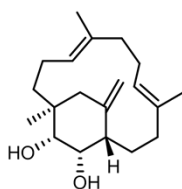


Obranné látky

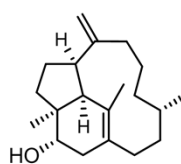
příklady struktur



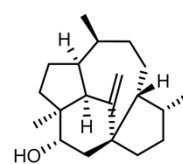
neocembrene A (1)



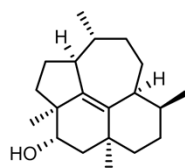
7,16-secotrinvitane (2)



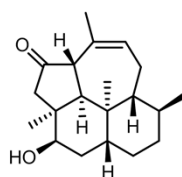
trinvitane (3)



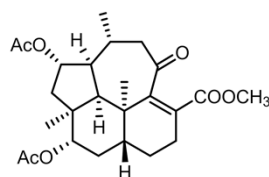
longipane (4)



rippertane (5)



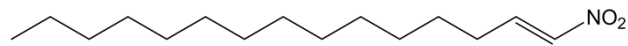
kempane (6)



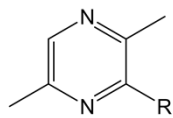
5α-kempane (7)

vojáci termitů používají chemické zbraně (Nasutitermitinae)

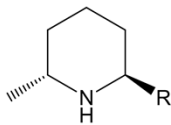
Další společenský hmyz



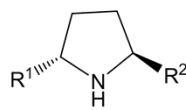
(*E*)-1-nitropentadec-1-en
termity, *Prorhinotermes simplex*



Poneridae



mravenci, čeledi:

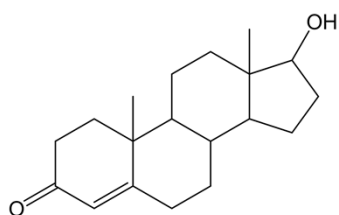


Myrmicidae

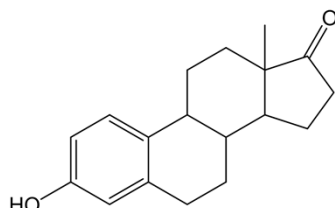
Prskavec menší a prskavec větší (*Brachynus*)



Další brouci

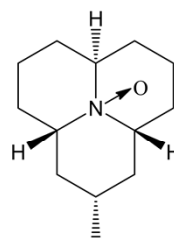


testosteron



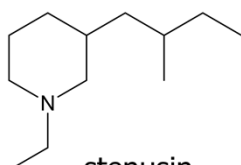
estron

potápník,
předohrudní žláza



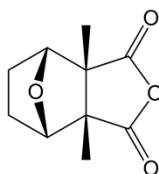
coccinellin

slunéčko sedmítečné,
Coccinella septempunctata



stenusin

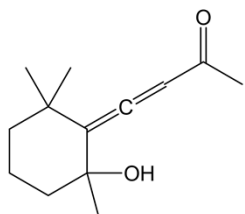
drabčík *Stenus comma*



cantharidin
majka (Meloidae)

popsány otravy cantharidinem u dětí

Strukturní kuriozity jako obranné látky hmyzu



romallenon
kobylka *Romalea microptera*

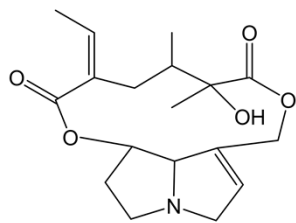
NH_3 , 4,5 %

mrchožrout obecný,
Nicrophorus vespilio

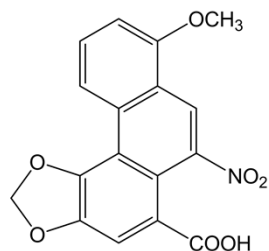
HCN

stonožky a mnohonožky,
Chilopoda a Diplopoda

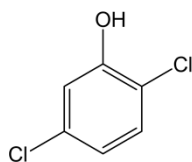
Sekvestrace z potravy



senecionin
můra *Callimorpha jacobaeae*



aristolochová kyselina
otakárek *Pachlioptera aristolochiae*



kobylka *Romalea microptera*

Proč studujeme feromony?

- mnoho druhů hmyzu jsou vážní škůdci, způsobující značné škody na zemědělských produktech:
- obilí
- ovoci a zelenině
- skladovaných potravinách (mouka)
- lesích a dřevě
- látkách a šatech (vlna, kožišiny)

- **Insekticidy** - chemikálie hubící hmyz (neselektivně)
- Potřeba vyvinout metody ochrany rostlin, které by neškodily životnímu prostředí.
- **Integrovaná ochrana rostlin** (Integrated **Pest Control** *nebo* Integrated **Pest Management**)

Nevýhody použití insekticidů

- aplikace velkých množství syntetických chemikálií, které zůstávají neodbourané v životním prostředí
- toxicita, nespecificita k cílovému škůdci
- nutnost opakovaného použití
- vývoj rezistence
- současné vyhubení užitečných druhů hmyzu

Výhody použití feromonů

- nízké koncentrace
- specifická k cílovému druhu hmyzu
- netoxické

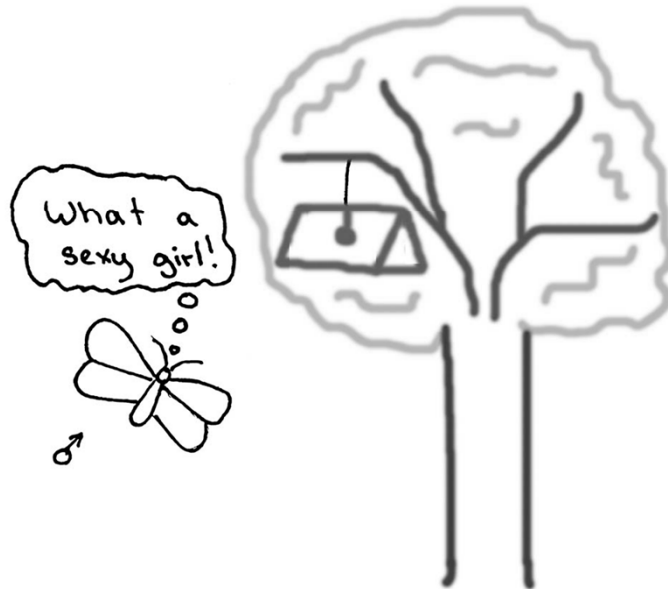
Nevýhody použití feromonů

- drahá výroba
- nároky na aplikaci, obsluhu lapáků, vyhodnocení

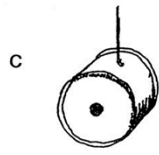
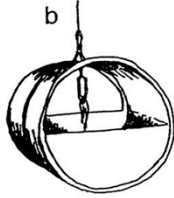
Způsoby využití feromonů

- **Monitorování** (*monitoring*) doby letu a hustoty populace škůdce; feromonový odparník nahrazuje samičku a láká samce; feromonový lapák
- **Masový odchyt** (*mass trapping*) - použití agregačního feromonu při vysoké hustotě populace; láká obě pohlaví (*attract and kill*)
- **Desorientace** (*mating disruption*) - nasycení atmosféry sexuálními feromony; samci nejsou schopni lokalizovat samičku, proto nedojde ke spáření.

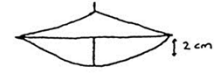
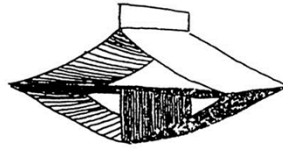
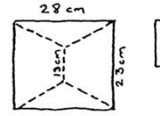
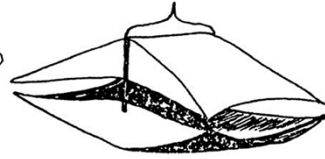
Monitorování (*monitoring*) doby letu a hustoty populace škůdce; feromonový odparník nahrazuje samičku a láká samce; feromonový lapák



Pheromone traps

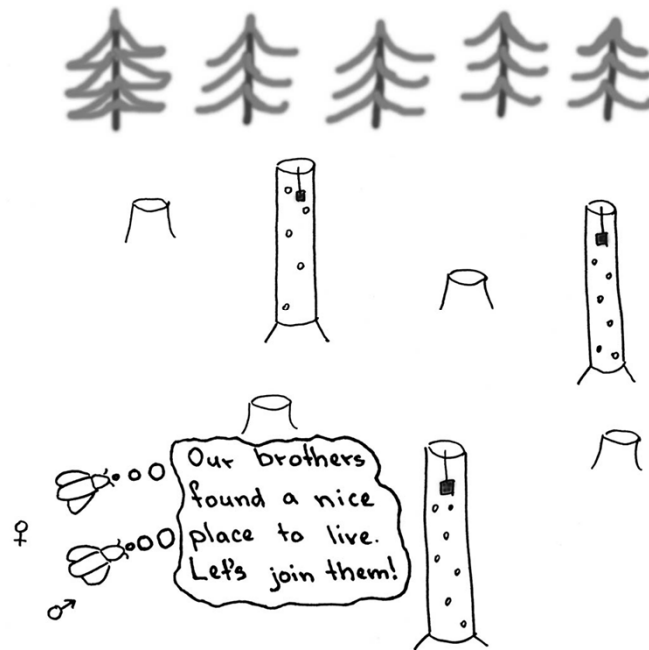


Feromonový odparník a lapák



Masový odchyt (*mass trapping*) - použití

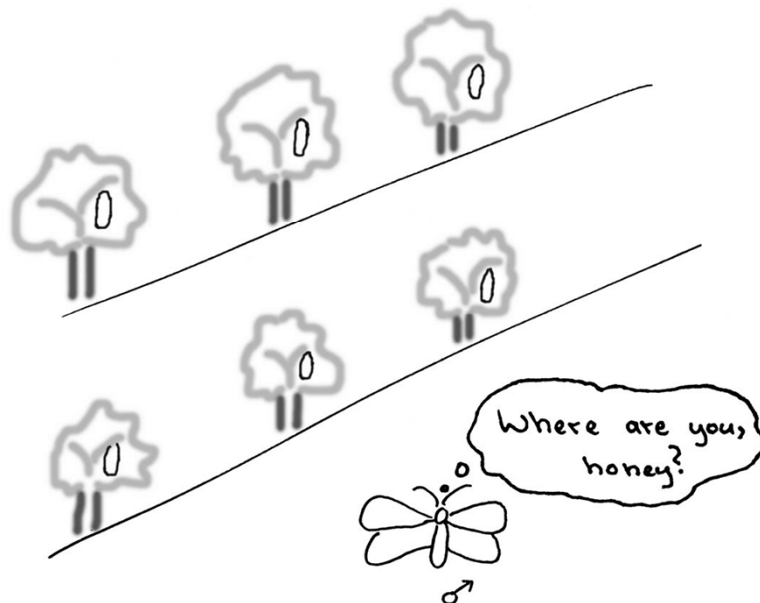
agregačního
feromonu
při vysoké hustotě
populace;
láká obě pohlaví



67

Ips typographus – na obsazeném stromě je asi 5000 brouků, z toho se v jedné generaci vylíhne 200 tis. jedinců nové generace. Počítáme-li s 11 % parazitací a nepříznivými podmínkami, řekněme, že přežije 100 tis. brouků (tj 20tinásobek) v jedné generaci. Kůrovec má 2 generace do roka.

Desorientance (*mating disruption*) - nasycení atmosféry sexuálním feromonem; samci nejsou schopni lokalizovat samičku, proto nedojde ke spáření



Použití metod IPM ve světě

| | |
|------------------|--------|
| Monitoring | 32.1 % |
| Mass trapping | 23.3 % |
| Attract-and-kill | 2.2 % |
| Confusion | 42.4 % |

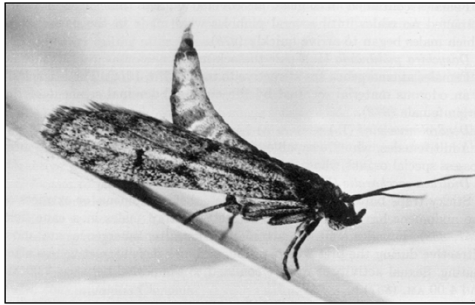
Údaje ze začátku 90. let, 25 zemí. Ošetřované plochy představovaly 1 % obdělávaných ploch.

Isolační a analytické techniky výzkumu přírodních látek

- ◆ Metody získání vzorku, isolační techniky
- ◆ Metody určení struktury, identifikační techniky
- ◆ Určení absolutní konfigurace přírodních látek v mikroměřítku
- ◆ Biologické metody testování aktivity izolovaných přírodních látek

Dobrá znalost životního cyklu organismu

- ◆ produkuje chemické signály?
- ◆ kdy je maximum produkce?
- ◆ ve kterém orgánu jsou produkovány?



volající motýlí samička

Metody získání vzorku

- ◆ destilace s vodní parou (silice)
- ◆ extrakce rozpouštědlem (univerzální)
- ◆ „head-space“ techniky (těkavé látky)
- ◆ mikroextrakce na pevné fázi (těkavé látky)
- ◆ nástřik pevného vzorku (hmyzí žlázy)

Destilace s vodní parou

- ◆ Clevengerův nástavec
- ◆ rozmělněný rostlinný materiál se vaří s vodou
- ◆ silice těká s vodní parou, tvoří horní vrstvu

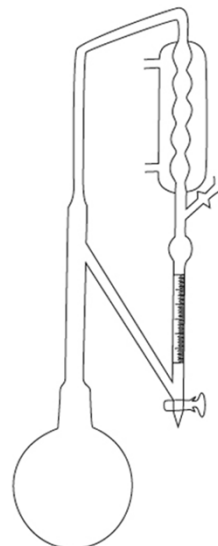


Figure 1. Clevenger-type apparatus – *Appareil à type Clevenger.*

Destilace s vodní parou

Výhody

ve velkém měřítku

Nevýhody

nebezpečí artefaktů (oxidace)

vhodná pro rostliny, ne pro živočišné
vzorky

Extrakce rozpouštědlem

Shrnutí výhod a nevýhod při extrakci přírodního materiálu rozpouštědlem

výhody

nevýhody

jednoduchost

přítomnost balastních látek

možnost opakovat

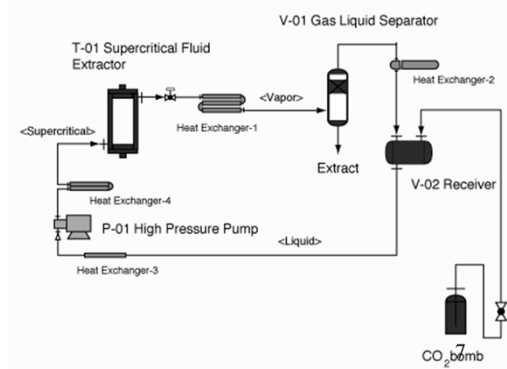
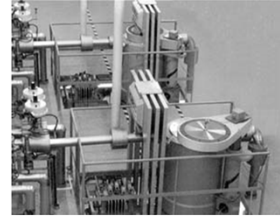
někdy nízká koncentrace vzorku

analýzu

(odpovídá množství produkované látky v okamžiku extrakce)

Superkritická extrakce

- ◆ superkritická kapalina se tvoří za superkritických podmínek teploty a tlaku
- ◆ nejpoužívanější CO₂
- ◆ vysoká rozpouštěcí účinnost pro některé látky
- ◆ extrakce je rychlá



Supercritical fluid extraction technique is a new separation technique, which is developed by use of the fluid, which has the ability of dissolution at the supercritical pressure and the supercritical temperature. The supercritical fluid extraction technique has many characteristics, such as high extraction efficient, simply separation technology, no need solvent recovery equipment, easy operation condition, widely used future, etc. Supercritical fluid extraction technique is always completed in the room temperature. Since it is no poisonous, no residual, and green manufacture, there are more and more studies and applications about it home and abroad in recent years.

Physical properties of supercritical fluid carbon dioxide

The density is similar to that of a liquid, and offers higher dissolving capability for various substances.

Because the viscosity is similar to that of a gas and the diffusion coefficient is larger than that of a liquid, substance extraction is faster.

Superkritická extrakce

Výhody

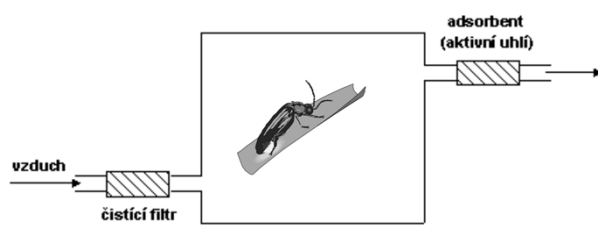
značný extrakční potenciál
laboratorní teplota
recyklace rozpouštědla
CO₂ - „green chemistry“
bezpečný pro potravinářské procesy
levný, jednoduché zacházení, netoxický
použitelné v průmyslovém měřítku

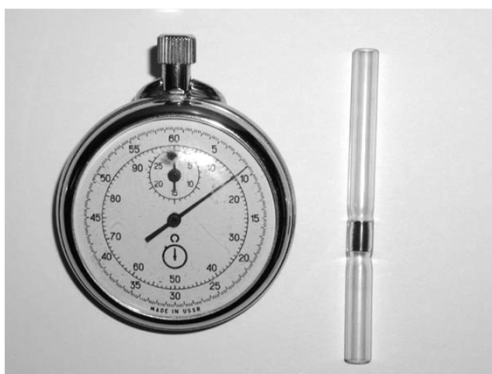
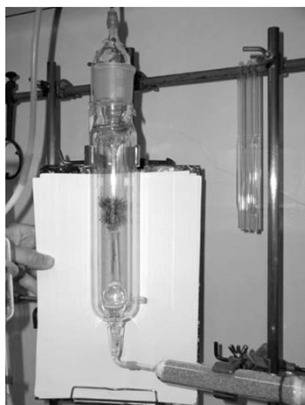
Nevýhody

drahá aparatura
CO₂ je skleníkový plyn

„Head-space“ techniky

- ◆ statická
- ◆ dynamická





◆ **jímání látek:**

◆ **sorbenty:**

◆ aktivní uhlí

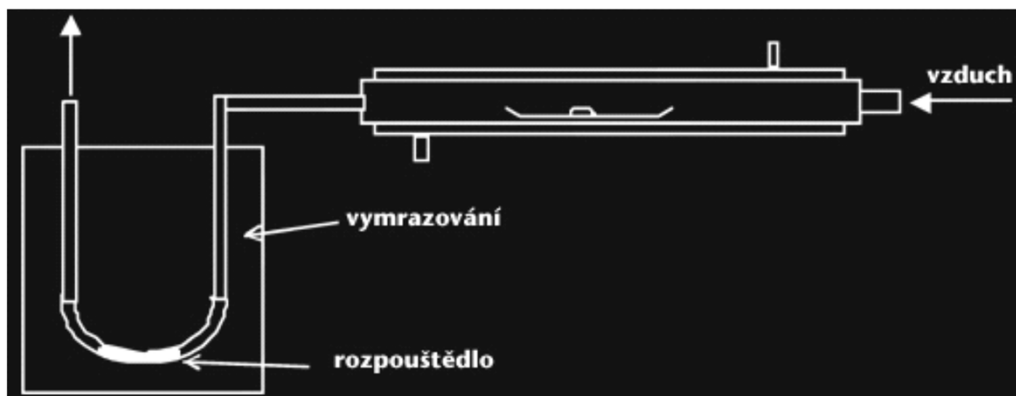
◆ Porapak Q

◆ Tenax

◆ eluce
rozpouštědlem

◆ vymrazování

„Head-space“ techniky



„Head-space“ techniky

Shrnutí výhod a nevýhod při „head-space“ technikách

výhody

nevýhody

přesnější složení

nároky na aparaturu

vyšší koncentrace než při extrakci

nároky na čistotu rozpouštědla

možnost opakovat analýzu

nebezpečí „break-through“

možnost uzavřené smyčky

možnost kontaminace smyčky

Obaleč jablečný (*Cydia pomonella*)

◆ žláza

- ◆ 10:OH
- ◆ 12:OH
- ◆ E9-12:OH
- ◆ E8E10-12:Ald
- ◆ E8E10-12:Ac
- ◆ E8E10-12:OH
- ◆ Z8E10-12:OH
- ◆ E8Z10-12:OH
- ◆ 14:OH
- ◆ 16:OH
- ◆ 18:OH
- ◆ 18:Ac
- ◆ 20:Ac

◆ ovzduší

- ◆ 10:OH
- ◆ 12:OH
- ◆ E9-12:OH
- ◆ -
- ◆ -
- ◆ E8E10-12:OH
- ◆ Z8E10-12:OH
- ◆ E8Z10-12:OH
- ◆ 14:OH
- ◆ 16:OH
- ◆ 18:OH
- ◆ -
- ◆ -

Mikroextrakce na pevné fázi

- ◆ solid phase microextraction (**SPME**)
- ◆ původně vyvinuta pro stopová množství organických látek ve vodných roztocích
- ◆ adsorpce na tenký film polysiloxanu
- ◆ tepelná desorpce v GC injektoru



SPME



SPME

Shrnutí výhod a nevýhod při mikroextrakci na pevné fázi

výhody

nevýhody

bez rozpouštědla

jediná analýza

vysoká citlivost

drahé zařízení

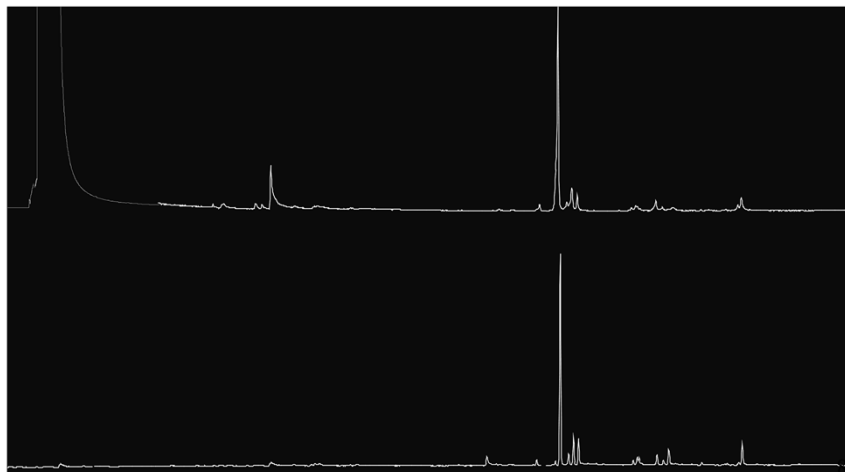
jednoduchost

použití v přírodě

Chromatogram při DHS a SPME

head-space

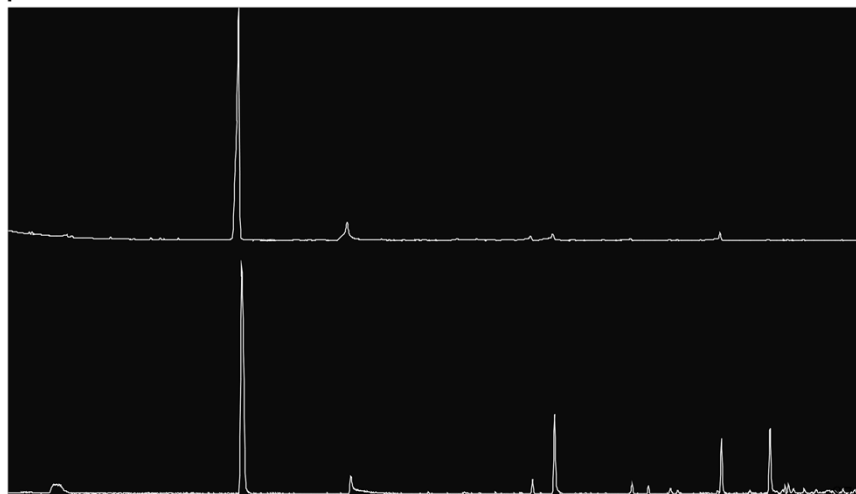
SPME

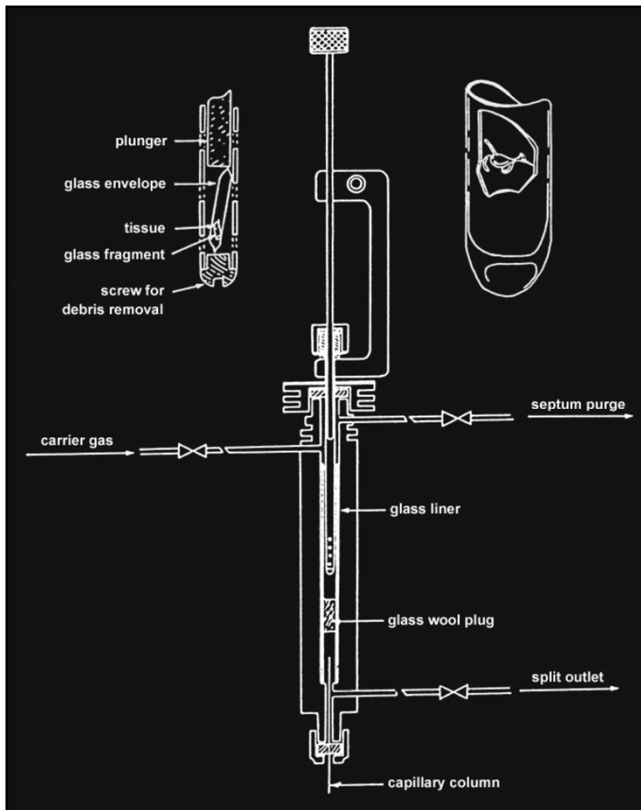


Diskriminace „lehčích“ molekul (preference „těžších“ molekul)

head-space

SPME





Nástřik pevného vzorku

- ◆ biologický materiál (žláza) zataven v kapiláře
- ◆ nutná úprava nástřikového systému
- ◆ zplynění těkavých složek přímo v nástřikovém systému

Nástřik pevného vzorku

Shrnutí výhod a nevýhod při nástřiku pevného vzorku

výhody

nevýhody

bez rozpouštědla

jediná analýza

bez ztráty hmoty

speciální úprava GC nástřiku

kontaminace GC nástřiku

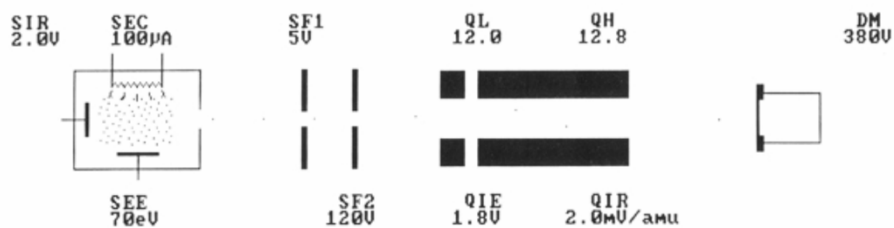
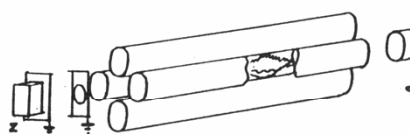
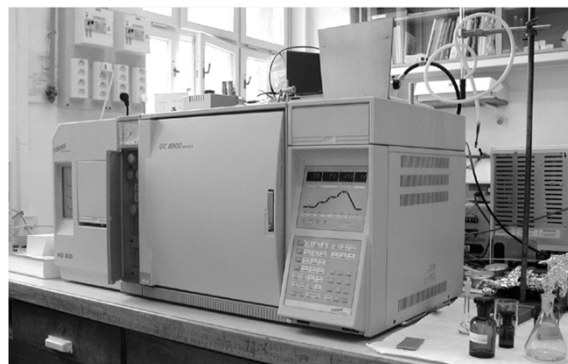
Metody určení struktury

- ◆ klasické spektrální metody (IČ, NMR, MS, UV, CD) při větším množství vzorku
- ◆ příprava derivátů, odbourávání, X-ray
- ◆ „pomlčkové techniky“ (GC-MS, LC-MS, GC-IR) při mikrokvantech
- ◆ GCxGC-MS (nejnovější technika)
- ◆ 2D-GC pro určení absolutní konfigurace (standardy)

GC-MS

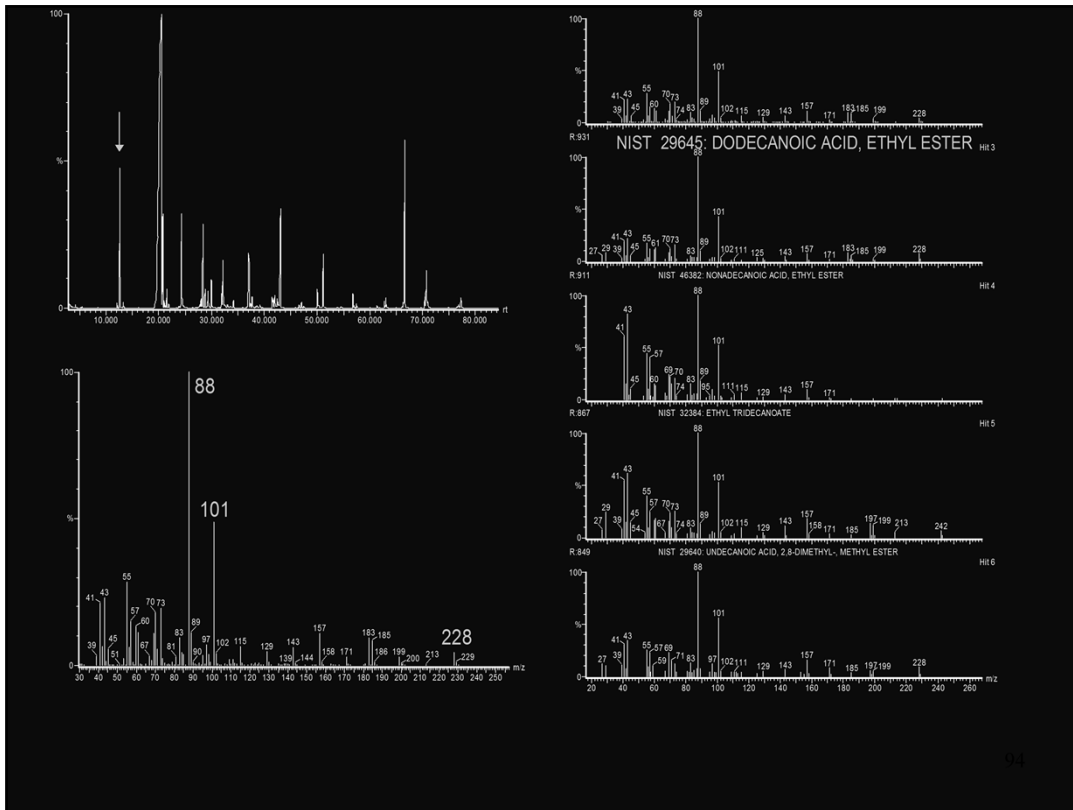
- ◆ stolní přístroj, obvykle bez možnosti přímého vstupu
- ◆ křemenná kapilární kolona, obvyklý průměr 0,25 mm, nosný plyn helium
- ◆ konec kolony zaveden přímo do iontového zdroje
- ◆ 2 klasické typy - kvadrupól a iontová past
- ◆ nový typ – průletový analyzátor (**T**ime **O**f **F**light)

Kvadrupólový GC-MS



Kvadrupólový GC-MS

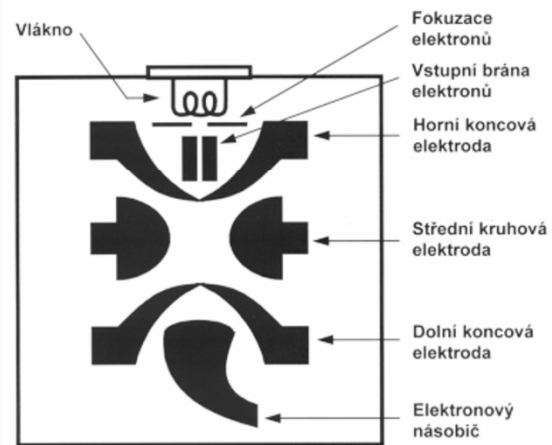
- ◆ ionty vznikají v iontovém zdroji
- ◆ elektronová ionizace (EI)
- ◆ možnost registrace kladných i záporných iontů
- ◆ chemická ionizace (CI) – určení molekulové hmotnosti
- ◆ změna z EI na CI je u některých modelů časově náročná



Kvadrupólový GC-MS

- ◆ spektra dobře srovnatelná se sektorovými spektrometry
- ◆ porovnání s knihovny **National Institute of Standards and Technology** (přes 60 000 spekter) a **Wiley Library** (230 000 spekter)
- ◆ citlivost lze zvýšit metodou **Selective Ion Monitoring**

Iontová past

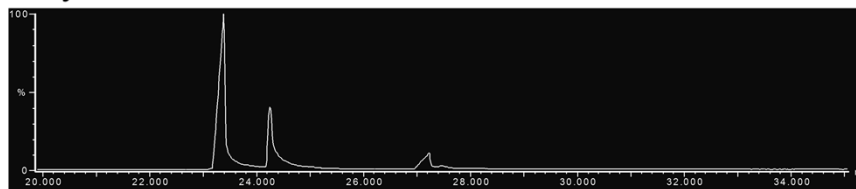


Iontová past

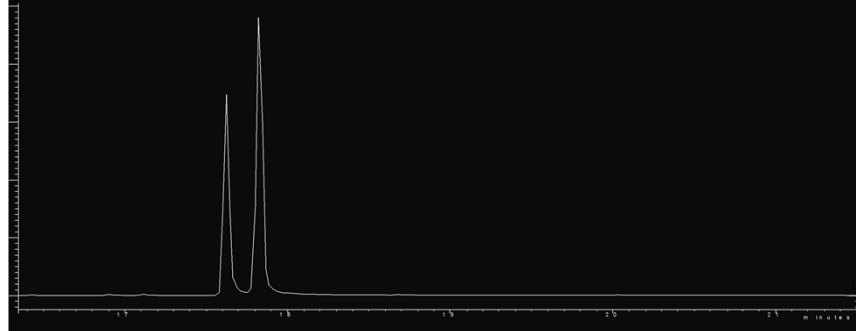
- ◆ klasická - s interní ionizací
- ◆ ionty vznikají v iontové pasti, kde se dále skladují a analyzují
- ◆ vyšší citlivost než kvadrupólový GC-MS
- ◆ změřená spektra jsou někdy odlišná od sektorových spektrometrů
- ◆ v jednom nástřiku lze měřit EI i CI
- ◆ tandemová technika MS/MS a MS⁽ⁿ⁾

Srovnání kvadrupól – IT (selektivita detekce)

kvadrupólový GC-MS



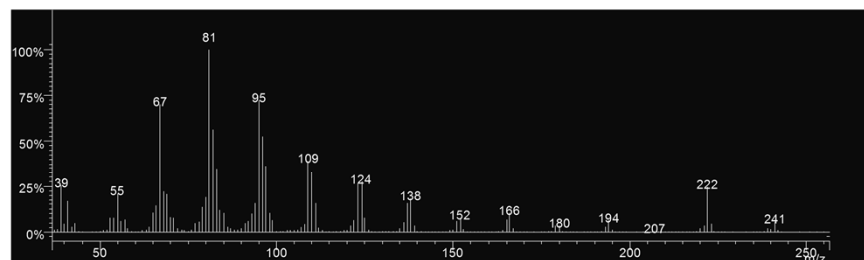
iontová
past



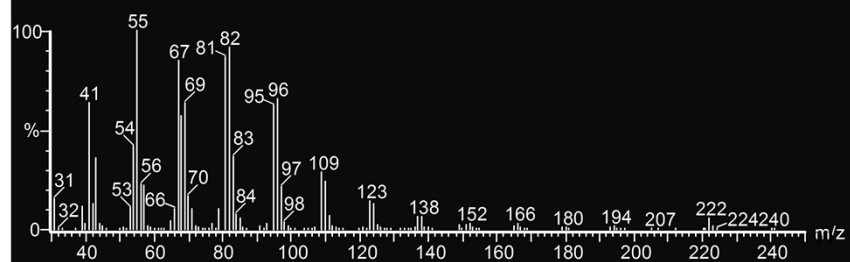
extrakt labiální žlázy samce čmeláka skalního (hexadecenol, hexadekanol, hexadecenová kyselina)

Spektrum hexadec-9-en-1-olu

iontová past

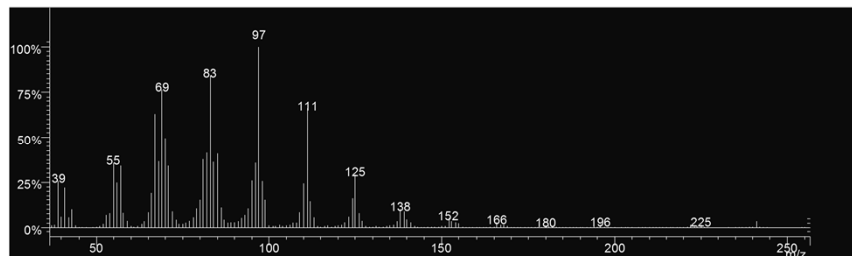


kvadrupól.
GC-MS

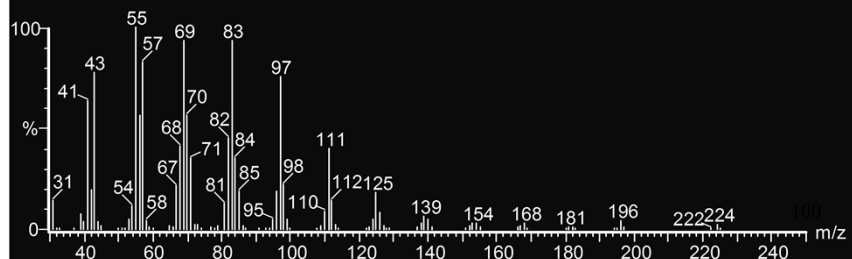


Spektrum hexadekan-1-olu

iontová past

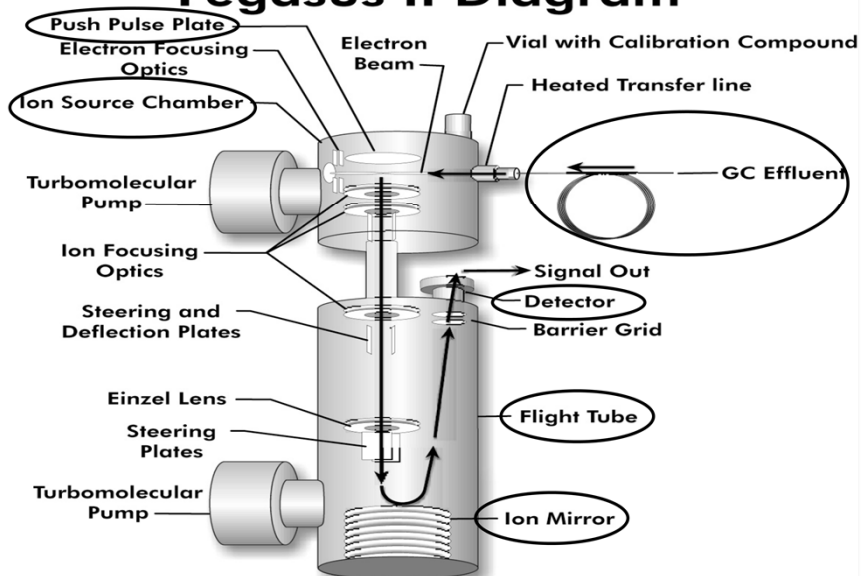


kvadrupól.
GC-MS



GC-TOF

Pegasus II Diagram



Principy TOF MS

- ◆ princip: Kinetická Energie $KE=1/2mv^2$
- ◆ měří se doba letu iontů
- ◆ první publikovaná GC-MS data: Gohlke, Anal. Chem. (1959)
- ◆ potenciál pro rychlý sběr MS dat
- ◆ vývoj analytické instrumentace teprve v posledním desetiletí s výkonnými počítači

102

Read the slide.

The objective of this slide is to establish that TOF is tried, tested, and proven MS technology. The reason for its resurgence is the development of high speed electronics and innovative ways of using these electronics to rapidly collect spectral data.

The unspoken objection you are attempting to address is that TOF is new and therefore may not generate classical spectra. TOF has been around longer than any other MS technique and has been in use constantly since its inception although it was used primarily or larger molecule analysis requiring higher mass ranges during the 1980's and 1990's.

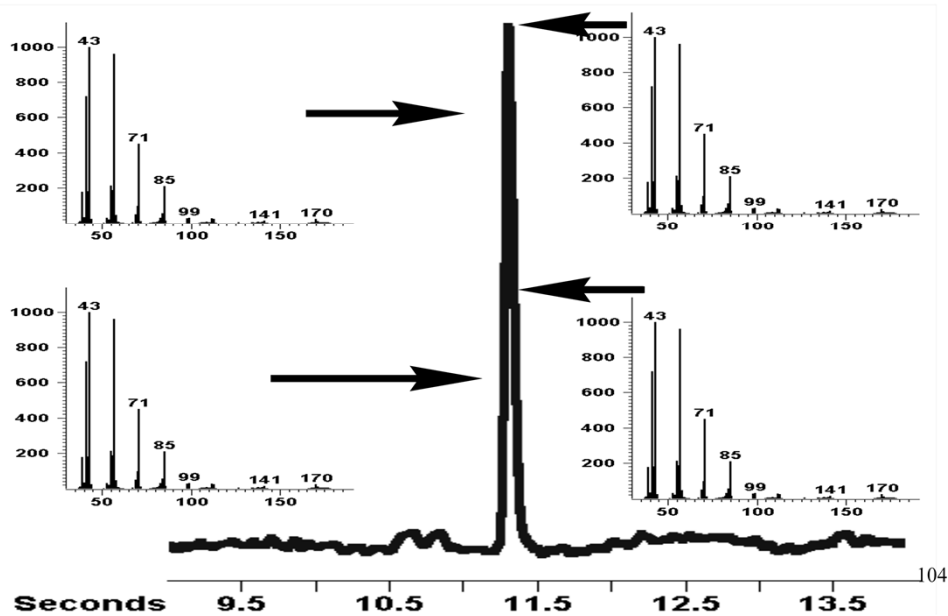
Výhody GC-TOF

- ◆ měření hmot s vysokým rozlišením (elementární složení iontů, ale pomalý sběr dat)

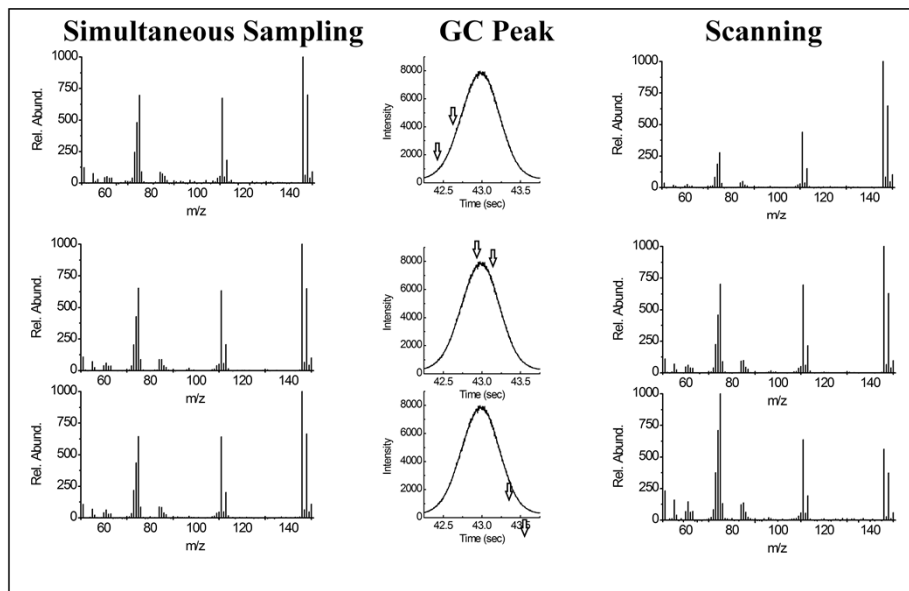
NEBO

- ◆ možnost dvourozměrného chromatografického uspořádání GCxGCxTOF (rychlý sběr dat, ale jednotkové rozlišení)

Hmotnostní spektrum je stejné přes celý chromatografický pík



Rozdíl mezi skenovací technikou a TOF



05

The previous slide addressed S/N and quantitative aspects of simultaneous sampling. In this slide we will consider qualitative aspects. Again, this is real data as in the previous slide of DCB at 500 spectra/sec, but at a higher concentration for better S/N in this comparison.

The GC peak is for m/z 146 and the arrows show the points at which the adjacent spectra were taken. For simultaneous sampling the spectrum is from the first arrow since whole spectra can be obtained at any point along the chromatographic peak. The simulated scanning is based on scanning from the first to second arrow. For illustration the scanning was done over 100 mass units which would be equiv. to 5 spectra/sec. Each m/z values corresponds to an increment of time along the chromatographic peak.

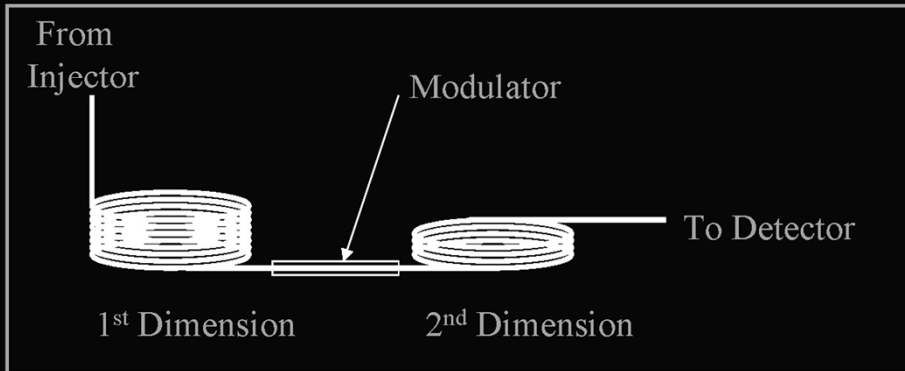
With simultaneous sampling the spectra are consistent over the chromatographic peak, concentration at any point along the peak has no effect. In contrast, sampling for scanning moves along the concentration profile of the peak producing skewed spectra. On the leading edge concentration is increasing and intensity increases with m/z value when scanning from high to low. While the top is reasonably flat the spectrum is similar to simultaneous sampling. And on the trailing edge the spectrum decreases from low to high as concentration decreases.

This difference is important in accurate spectra for library searching and for deconvoluting overlapping chromatographic peaks. In order to deconvolute mass spectra of coelutions the spectra must be consistent across the peak in order to attribute changes in the measured spectrum to different components rather than skewing.

Thus, simultaneous sampling has both quantitative and qualitative advantages over scanning.

GCxGC Principle

I) Two columns of DIFFERENT SELECTIVITY are coupled via a modulator



Chromatografické uspořádání

- ◆ první kolona klasická, nepolární, délka 30 m, vnitřní průměr 0,25 mm
- ◆ druhá kolona velmi krátká (1-2 m) s malým vnitřním průměrem (0,1 mm), polární fáze
- ◆ separace na druhé koloně je velmi rychlá, proto i sběr dat musí být rychlý

Rychlá GC: zkrácení doby analýzy

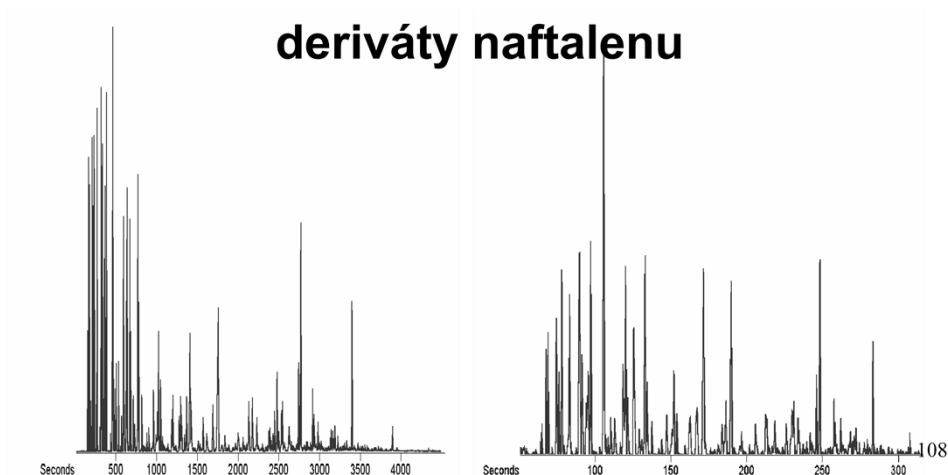
Konvenční GC

Fast GC

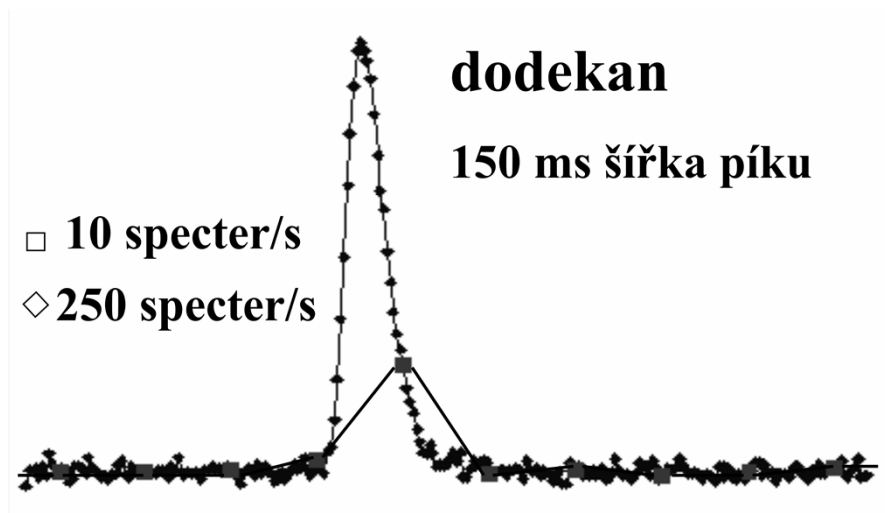
187 látek za 75 min

187 látek za 5 min

deriváty naftalenu



**TOF má vysokou rychlost sběru dat,
což umožní registrovat i velmi úzké píky**

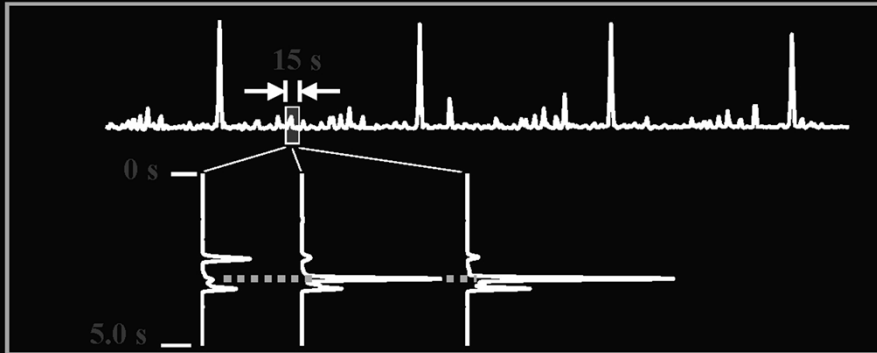


109

U kvadrupolu skenujeme obvykle 1 spektrum/s

GCxGC Principle

II) Modulator cuts slices of first column effluent and samples them onto second column. Each first dimension peak is modulated several times. On second column flash separation occurs

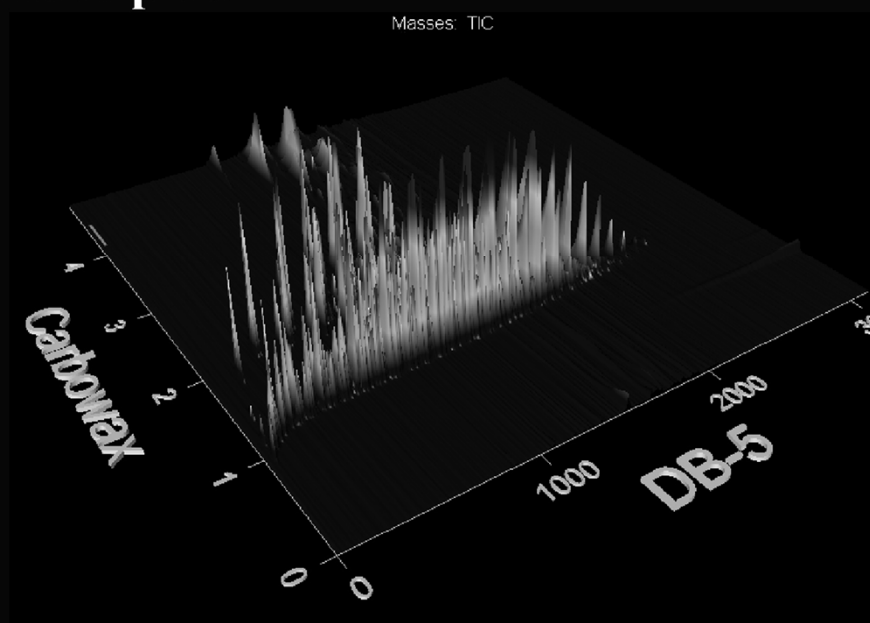


Pegasus 4D[®] description

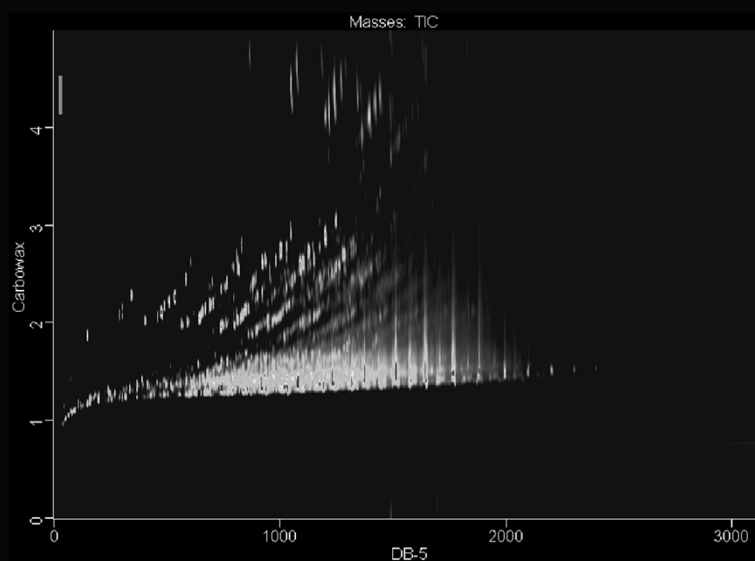


- **Gas chromatograph
Agilent 6890N**
- **Secondary oven**
- **Dual stage jet cryo
modulator
(licensed from ZOEX)**
- **TOF-MS LECO
Pegasus III**
- **Software ChromaTOF**

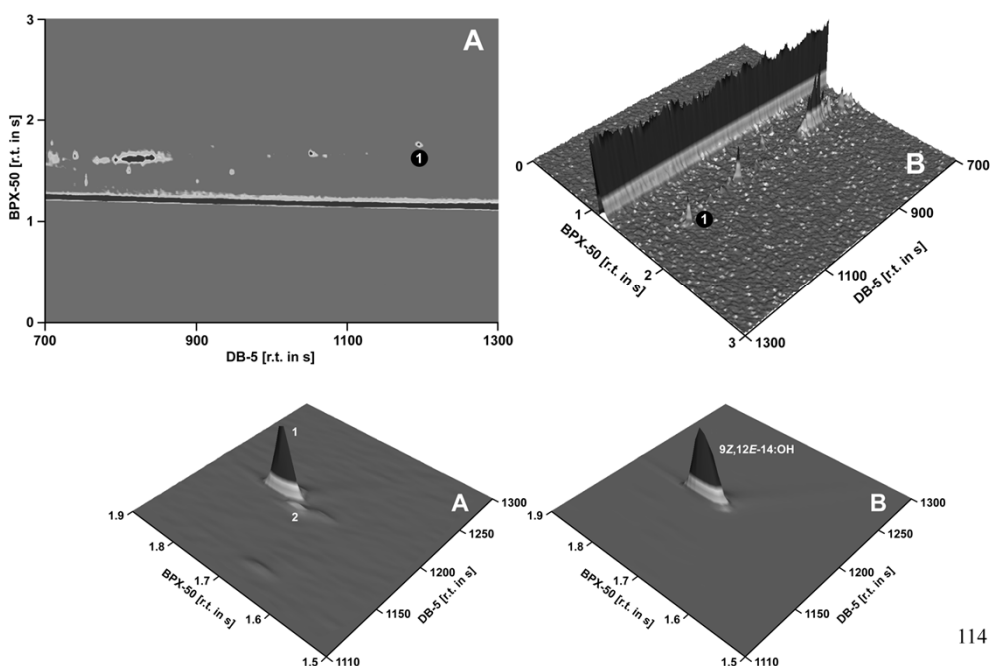
Visualisation of GCxGC data: Surface plots

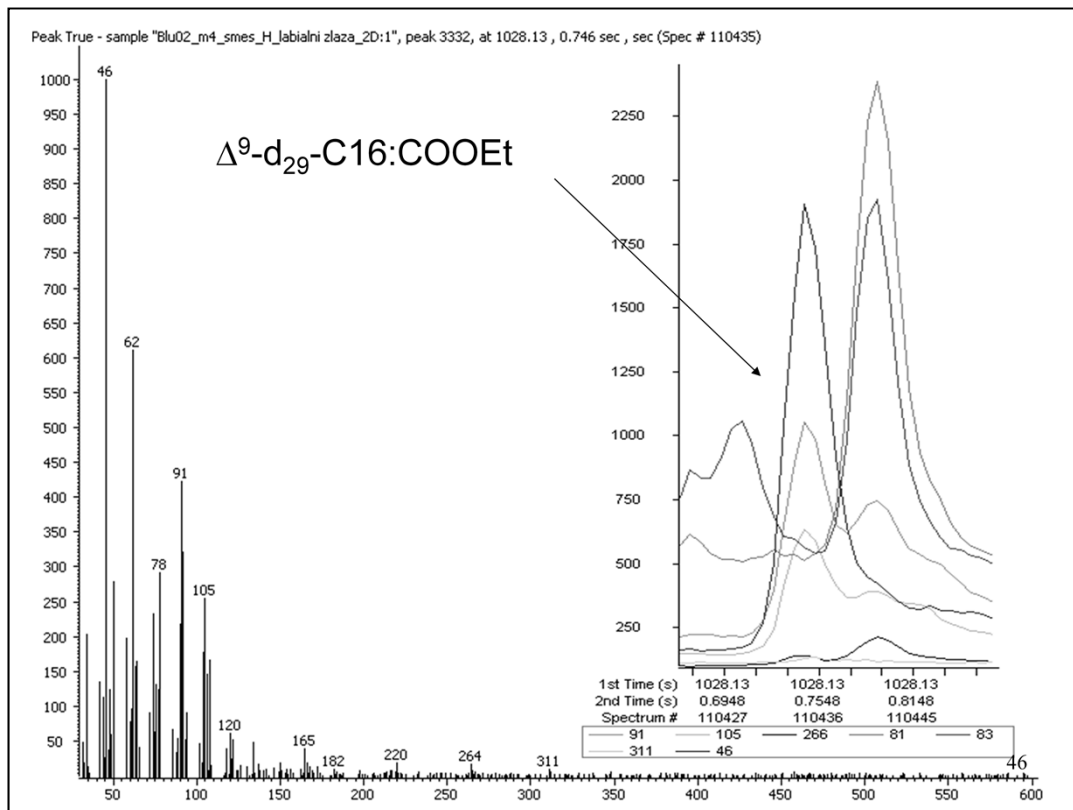


Visualisation of GCxGC data: Contour plots



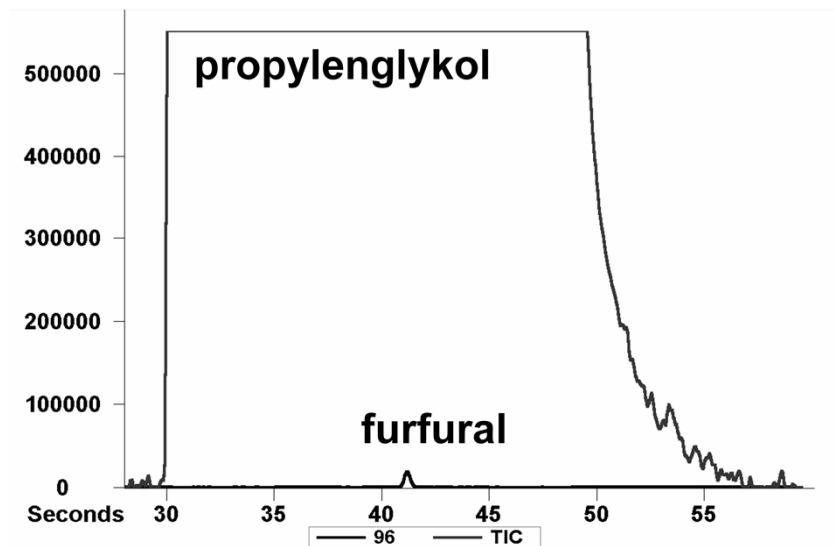
Vysoké citlivosti se docílí odstraněním chemického šumu pomocí 2D-techniky





Deuterované látky se eluují dříve než nativní na nepolárních i polárních kolonách.

Koeluče analytů o drasticky rozdílné koncentraci

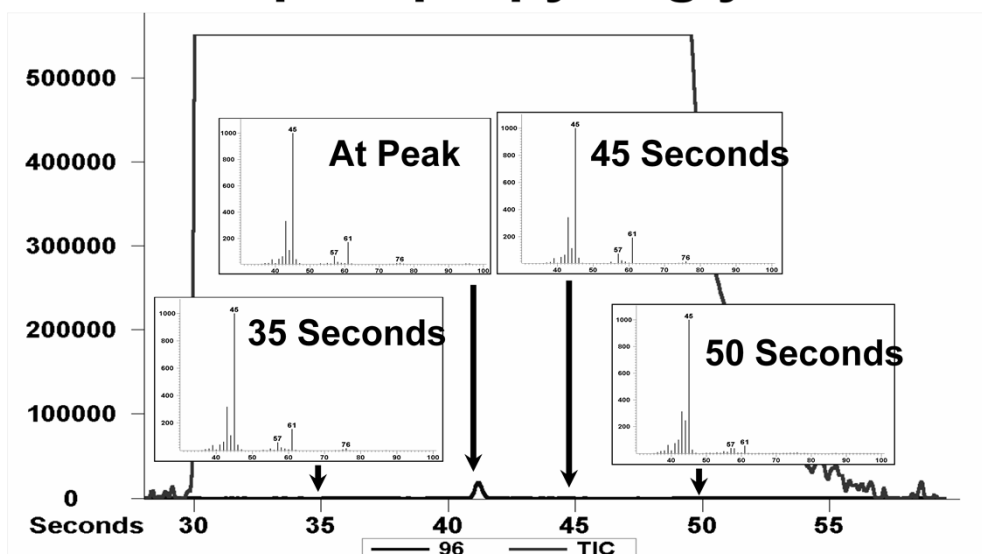


plocha píku furfuralu je 0.001% píku glykolu

116

The automated peak location algorithm detects an unknown peak later identified as furfural buried beneath the propylene glycol. The peak area of this analyte is 0.001% of the peak area for the propylene glycol.

Spektra snímaná v různých místech píku propylenglykolu

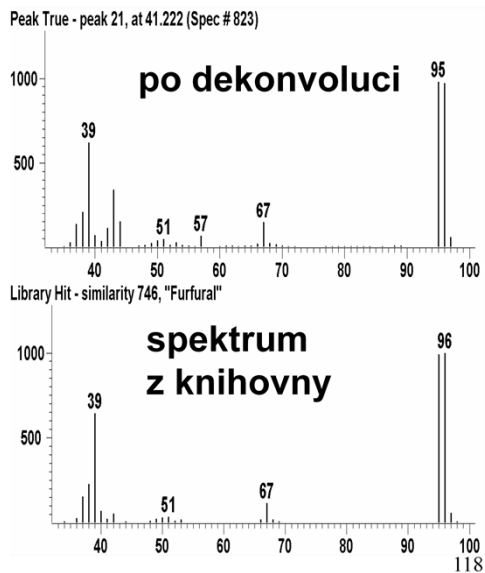


bez dekonvoluce nelze spektrum furfuralu odečíst

117

Without deconvolution, it is impossible to detect this peak. Looking at mass spectra across the propylene glycol peak indicates that the analyte is completely obscured by the significantly higher concentration of propylene glycol. Unless one knew to specifically look for furfural, the analyte would not be detected.

Srovnání spekter



Comparing the background subtracted spectrum at the apex of the furfural peak to the NIST spectrum, it is obvious that there is no match for furfural. However, if the deconvoluted spectrum is compared a very good match of 75% is obtained.

LC-MS

- ◆ nutnost odstranění velkého množství mobilní fáze
- ◆ tok částic (particle beam interface)
- ◆ termosprej (TSP)
- ◆ elektrosprej (ESI)
- ◆ chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI)

Z nabitých kapiček se odpařují ionty do plynné fáze

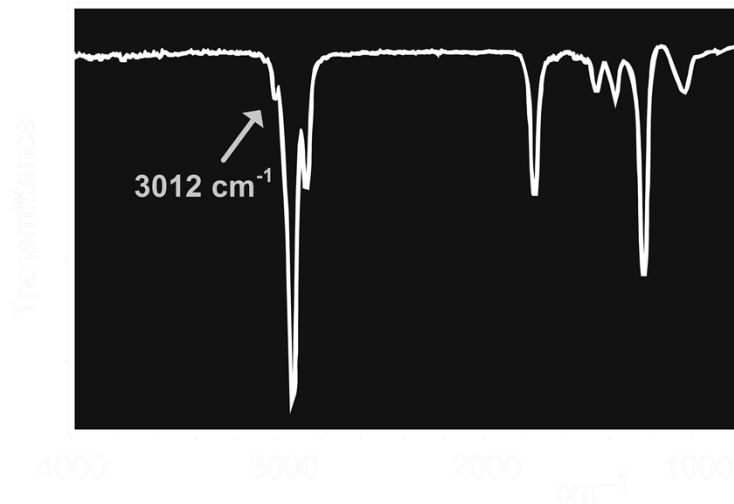
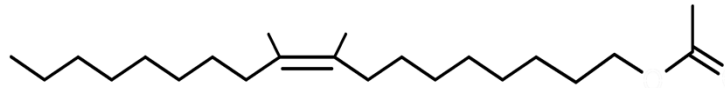
LC-MS

- ◆ pouze při technice „particle beam interface“ se získají spektra srovnatelná se sektorovými spektrometry
- ◆ ostatní techniky poskytují kvazimolekulární ionty (adice nebo eliminace další částice z molekulového iontu)

GC-FTIR

- ◆ průtoková detekční cela, pokrytá vrstvou zlata („light pipe“)
- ◆ méně citlivé ve srovnání s GC-MS (~ 100x)
- ◆ GC kolony o větším průměru (0,32-0,5 mm)
- ◆ nosný plyn helium
- ◆ spektra v plynné fázi (bez intermolekulárních interakcí)

Určení konfigurace dvojné vazby



Derivatizace v mikroměřítku

- ◆ charakterizace funkčních skupin v molekule
- ◆ získání lépe interpretovatelných spekter
- ◆ zlepšení separace
- ◆ zvýšení těkavosti či tepelné stability látky pro plynově chromatografickou analýzu
- ◆ snížení přílišné těkavosti
- ◆ stanovení enantiomerního složení
- ◆ zlepšení detekčních vlastností

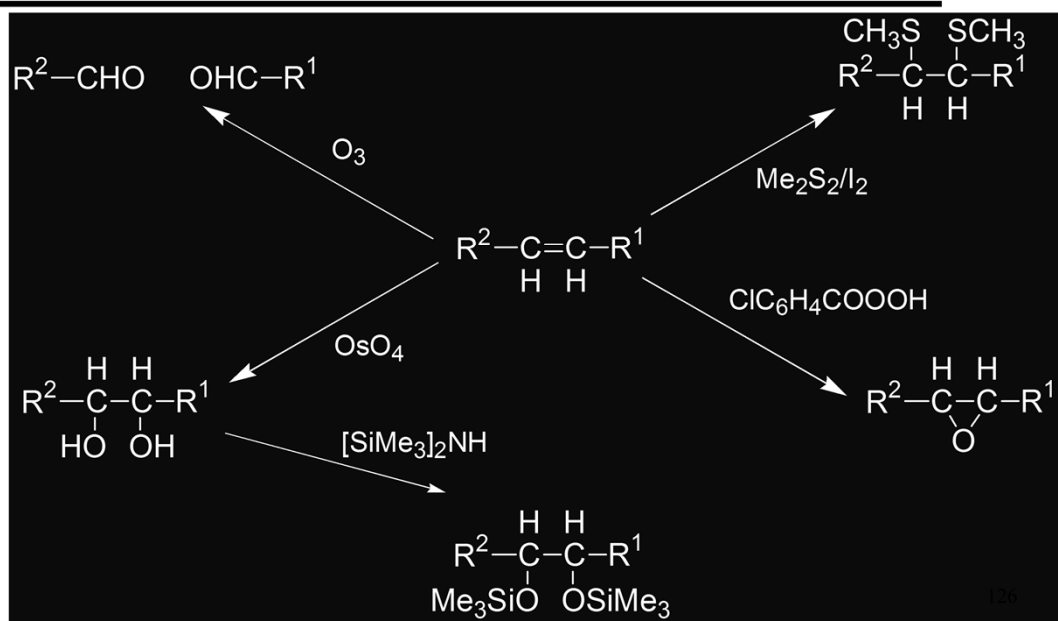
Derivatizační reakce

- ◆ methylace kyselin diazomethanem (pro GC)
- ◆ acetylace alkoholů a aminů (pro GC)
- ◆ silylace alkoholů (pro zvýšení těkavosti)
- ◆ příprava dimethylhydrazonů (CO, CHO)
- ◆ transesterifikace triacylglycerolů (pro GC)
- ◆ katalytická hydrogenace (carbon skeleton chromatography)

Určení polohy dvojně vazby

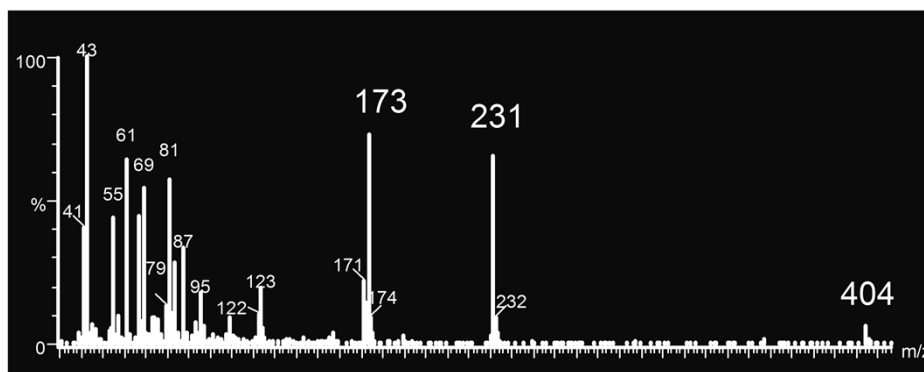
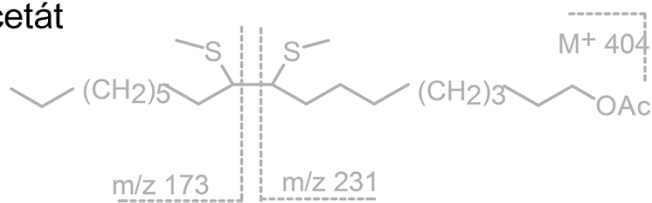
- ◆ ozonolýza - jen u čisté látky, vznik aldehydů
- ◆ jiné oxidativní štěpení C=C vazby (RuO_4) - vznik kyselin
- ◆ oxidace OsO_4 - vznik diolu
- ◆ methylthiolace dvojně vazby (reakce s dimethyldisulfidem, DMDS) - i ve směsi
- ◆ epoxidace *m*-chlorperoxybenzoovou kyselinou (MCPBA) a následné reakce

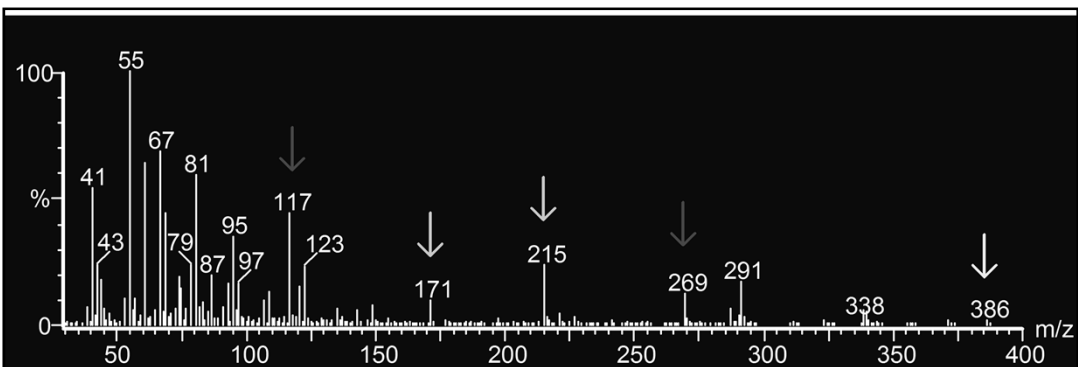
Určení polohy dvojné vazby



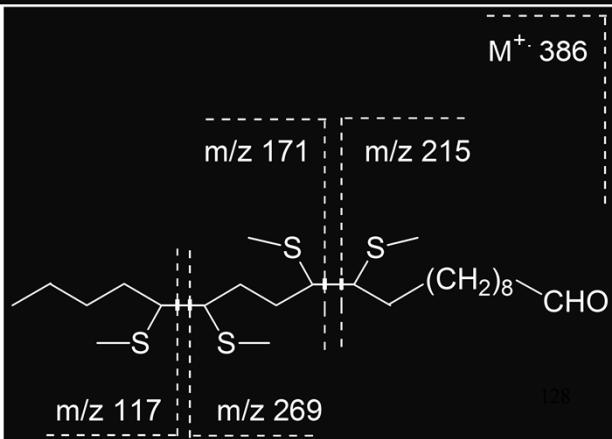
Fragmentace DMDS aduktů

oktadec-9-en-1-yl-acetát

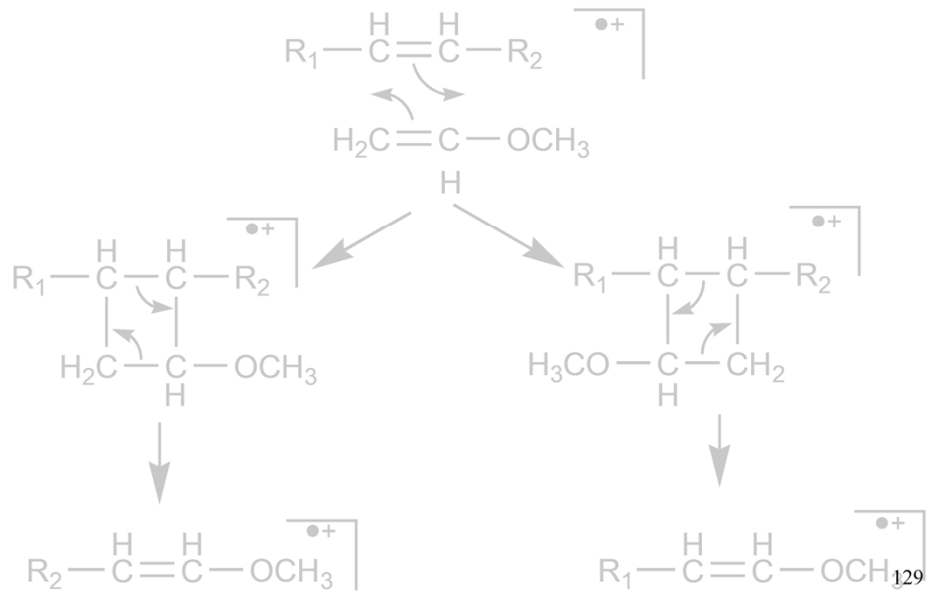




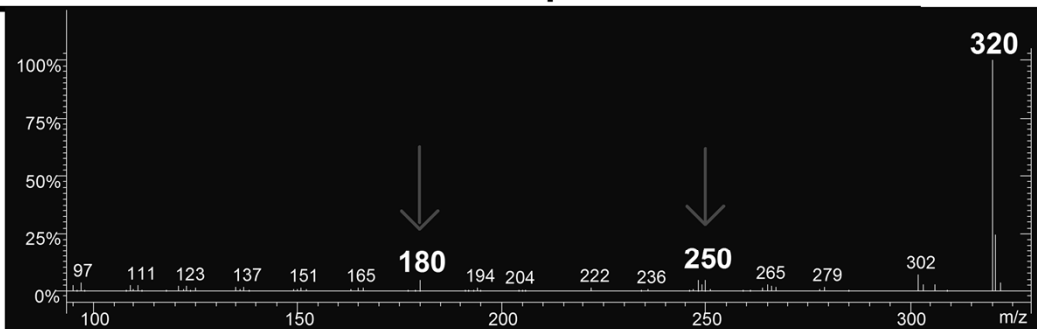
spektrum DMDS aduktů
ikosa-11,15-dienalu



Chemická ionizace methylvinyletherem

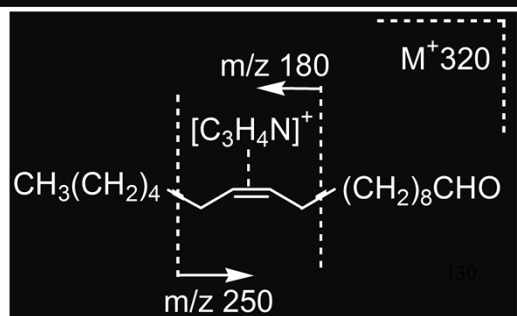


Chemická ionizace acetonitrilem v iontové pasti



CI spektrum oktadec-11-enalu

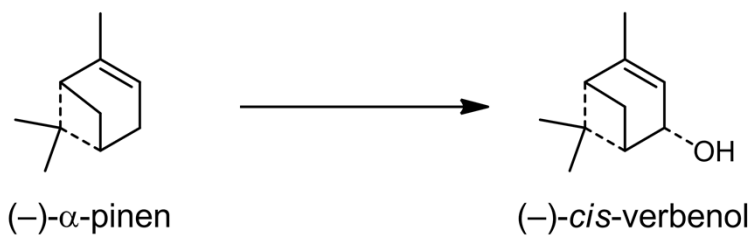
aktivní částice $[\text{C}_3\text{H}_4\text{N}]^+$
m/z 54



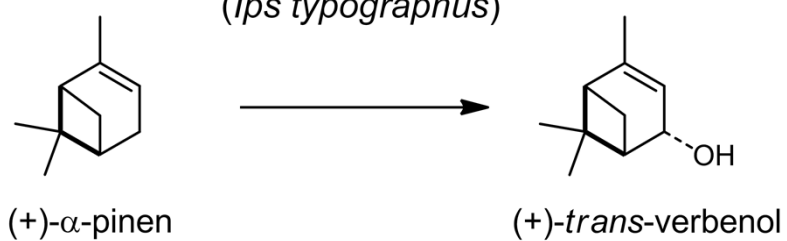
Absolutní konfigurace přírodních látek

- ◆ enantiomery mohou mít různé ekologické funkce
- ◆ mohou se lišit fyziologické účinky enantiomerů
- ◆ nutnost stanovení enantiomerní čistoty přírodních látek s vysokou přesností

Transformace složek pryskyřice na feromon kůrovce



lýkožrout smrkový
(*Ips typographus*)



Určení absolutní konfigurace

- ◆ separace látky a měření optické rotace
- ◆ chiroptické metody
- ◆ měření NMR s posunovými činidly
- ◆ příprava diastereoisomerů
- ◆ enantioselektivní chromatografické separace

133

příklad kúrovec a α -pinen

Stanovení enantiomerní čistoty přírodních látek klasickou cestou

- ◆ potřebné velké množství přírodního materiálu
- ◆ obtížná separace enantiomerního páru od ostatních složek přírodního vzorku
- ◆ měření optické rotace – nepřesné, zvláště při nízkých hodnotách specifické rotace

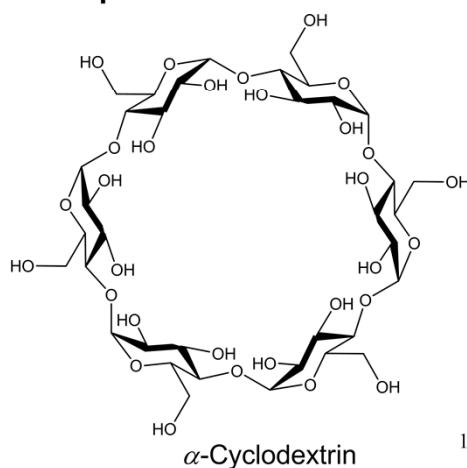
Enantioselektivní chromatografické separace

- ◆ kolony na bázi cyklodextrinu, hydroxyskupiny substituované různými skupinami

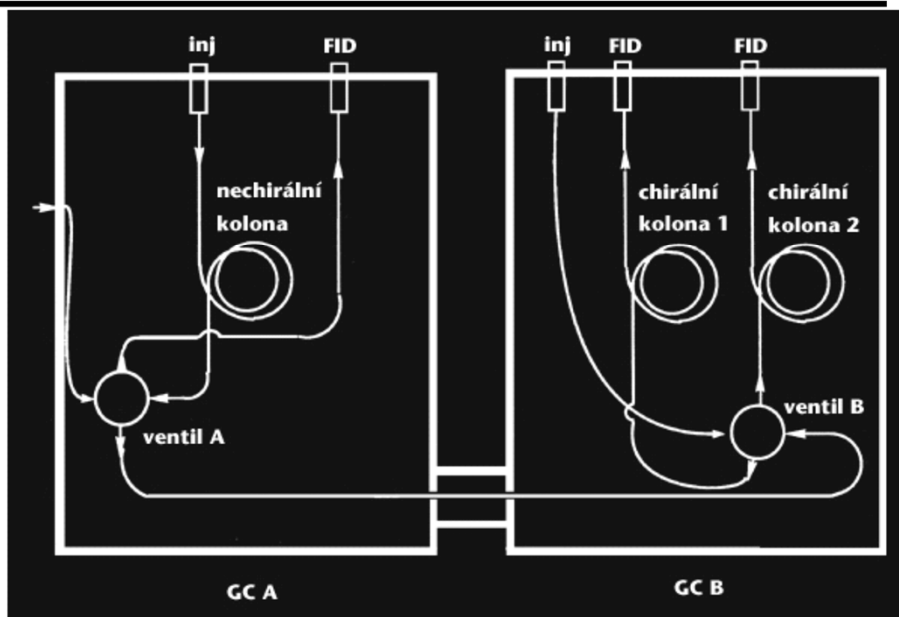
α -cyklodextrin, 6 jednotek

β -cyklodextrin, 7 jednotek

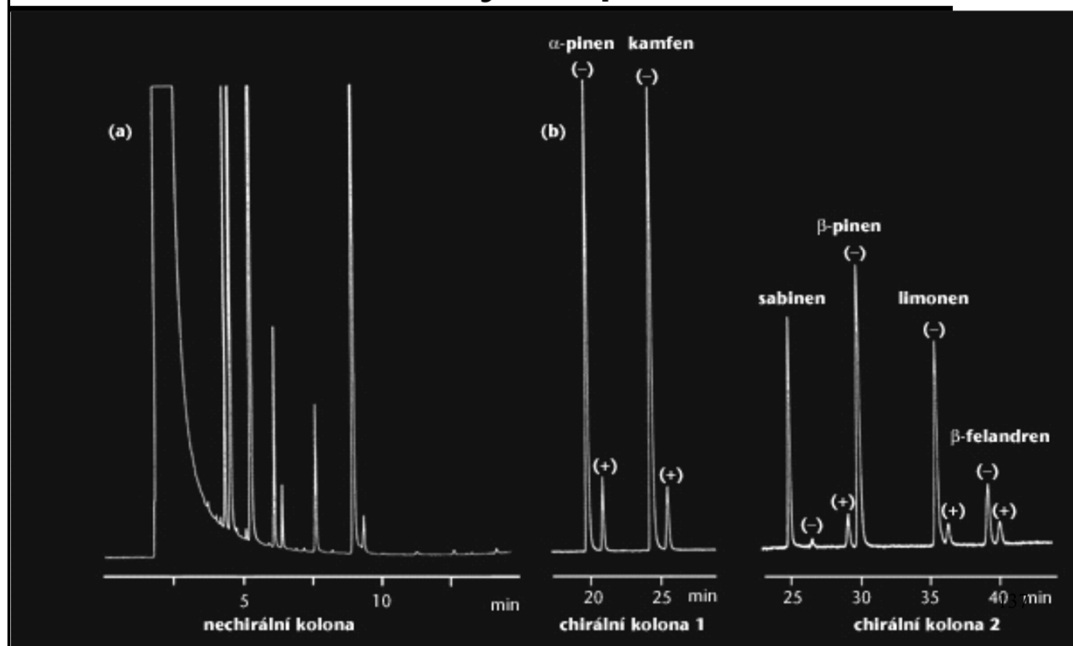
γ -cyklodextrin, 8 jednotek



Dvoudimenzionální GC



2D-GC, ukázky separace



Výhody 2D-GC

- ◆ uskutečnitelné v malých množstvích
- ◆ není nutná separace složek ze směsi
- ◆ vysoká přesnost za předpokladu dobré separace enantiomerních párů
- ◆ vysoká citlivost, detekce i malých znečištění druhým enantiomerem
- ◆ informace o enantiomerní čistotě několika složek v jedné analýze

nutnost použití standardů!

Biotesty u bezobratlých

Elektrofyzilogické metody

Klasické uspořádání elektroantenografie na tykadlech hmyzu

(obecně použitelná metoda, neposkytuje zcela specifické odpovědi, je možné získat odpověď zvýšením dávek, velmi používaná metoda pro analytické účely)

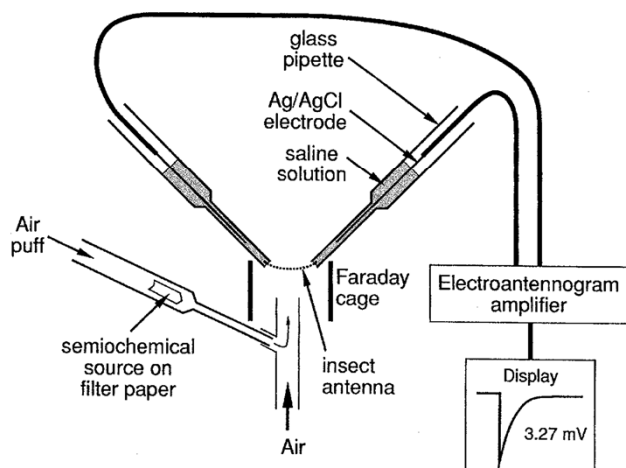
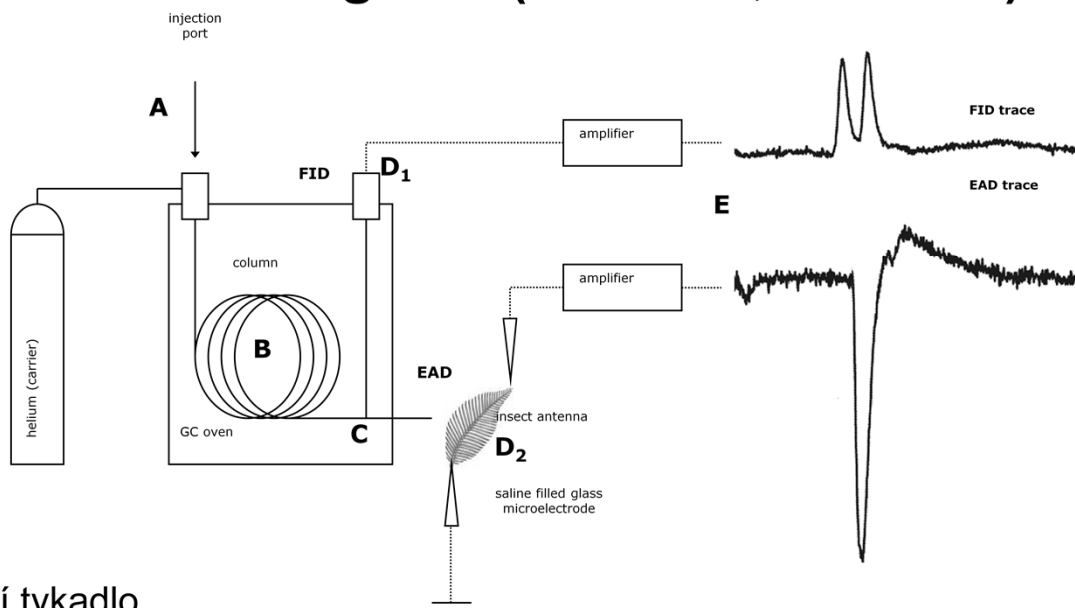


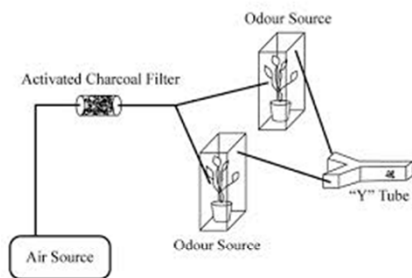
Figure 9.1. Electroantennogram system.

Spojení plynová chromatografie – elektroantenografie (GC-EAG, GC-EAD)



hmyzí tykadlo
jako selektivní detektor

Biotesty u bezobratlých



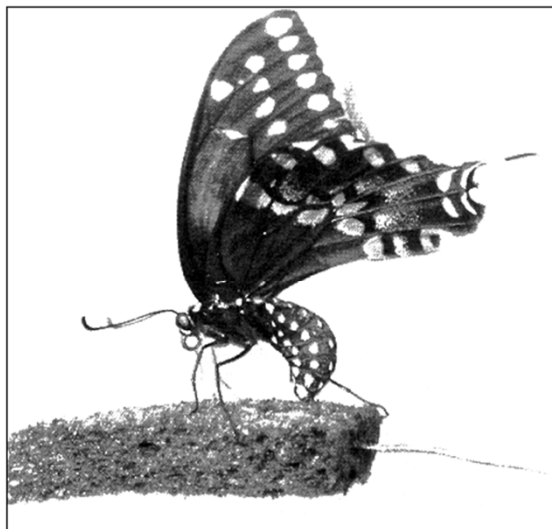
Y- olfaktometr

Pro testování těkavých stimulů se užívají olfaktometry. V n-výběrovém testu se pozorují a porovnávají reakce na kontrolní, neutrální, negativní a pozitivní stimuly. Pozoruje se pohyb testovaného objektu ve směru jednotlivých látek.

Biotesty u bezobratlých

Pro testy se vytvářejí různé “figuríny” (dummy)

- umělé listy a jiné části rostlin pro studium interakcí rostlin a hmyzu
- konspecifičtí a heterospecifičtí jedinci pro studium sociálního chování
- umělé samice pro studium sexuálního chování



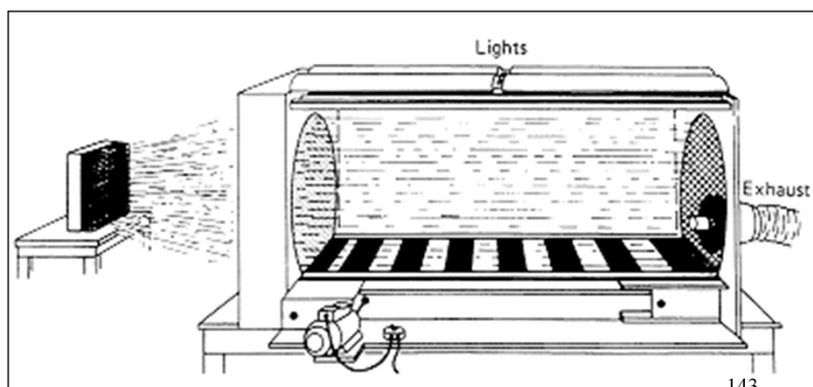
Test ovipozice běláška na umělém listě (polyuretan impregnovaný⁴ testovaným extraktem z listu rostlin)

Biotesty u bezobratlých

Trubicový olfaktometr tzv. větrný tunel (wind tunnel)

Sleduje se a vyhodnocuje průběh a intenzita navozeného chování. Např. pro sexuální feromon: aktivace, ne/orientovaný let, nalezení zdroje a pokusy o kopulaci s terčičkem

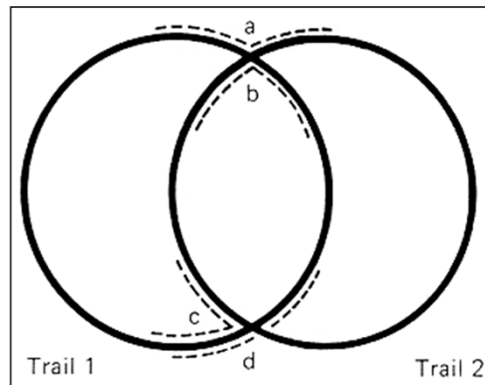
**Původní
uspořádání
Cardeho a spol.**
(testovaná látka je
nanesena na nosič
a umístěna vlevo,
hmyz vypouštěn v
pravé části)



Biotesty u bezobratlých

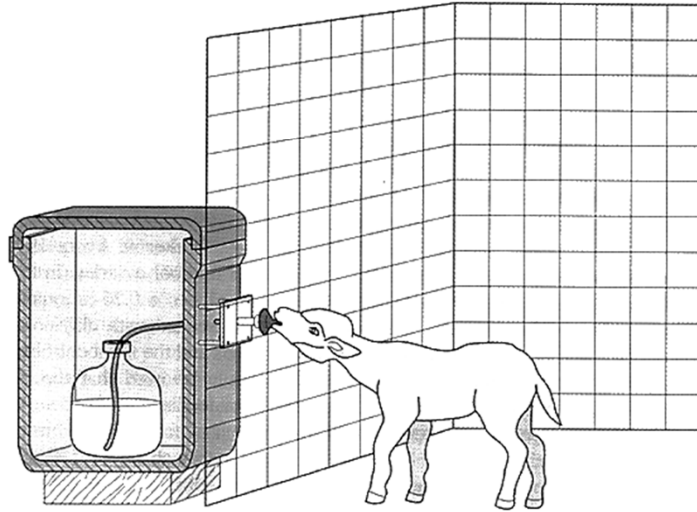
Test pro stopovací feromony:

Stopy 1 a 2 se “napíší”
testovanou látkou a sleduje se
pohyb např. mravenců po
stopě



Biotesty u savců

Velmi komplikované a náročné, problémy s učením, odpovědi podle přání experimentátora (primáti), u člověka nákladné



Návrhy a vyhodnocení biotestů

Věnovat zvýšenou pozornost návrhu a plánování biotestu

- jasně kladené otázky
- jednoduché uspořádání testu, kontrolované environ. podmínky
- dostatek experimentálních zvířat ve stejném vývojovém stádiu
- dostatek opakování
- nezávislé veličiny!
- dokumentace průběhu, digitalizace, pozdější vyhodnocení

- nutnost používat negativních a pozitivních kontrol
(zamezení kontaminace a eliminace neodpovídajících zvířat)
- chybějící body a opakování, volba statistických metod

Přes veškerou opatrnost dochází k omylům a k publikování aktivit u neaktivních látek.

Čmeláci

- primitivní sociální struktura
- jednoletý vývoj
- přezimuje oplozená matka
- na jaře založení hnízda
- dělnice pečují o potomstvo
- v létě vývoj pohlavních jedinců
- námluvy a páření ve volné přírodě
- loňská matka, dělnice a samci na podzim umírají



Chemické signály čmeláků

signály samečků:

- značkovací feromony
(námluvy čmeláků, lákání samiček)

signály samiček:

- sexuální feromon panenských královen
(námluvy čmeláků, lákání samečků)
- mateří tlumicí látka
(brání vývoji vaječnicků u dělnic)

signály dělnic:

- dominance
- orientace v hnízdě



samec

čmelák zemní



matka (královna) 148

Námluvy samečků

DRUHY POUŽÍVAJÍCÍ FEROMON

vyčkávání u hnízda

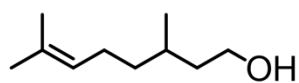
čihání

patrolování

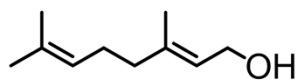
DRUHY NEPOUŽÍVAJÍCÍ FEROMON



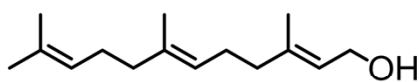
Značkovací feromony samců čmeláků



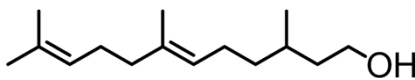
citronellol



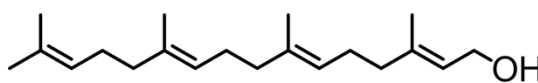
geraniol



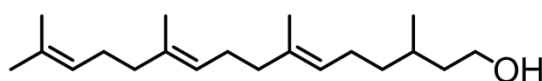
farnesol



dihydrofarnesol



geranylgeraniol



geranylcitronellol

alifatické alkoholy, aldehydy, estery mastných kyselin

Lokalita výskytu čmeláka klamavého



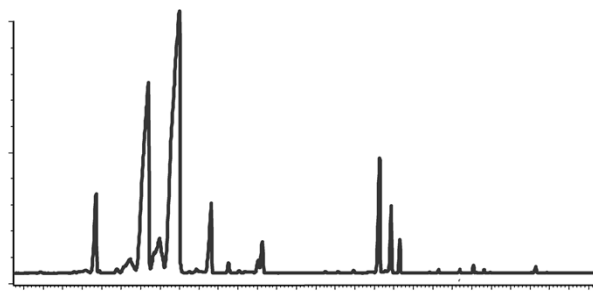
Čmelák klamavý, *Bombus confusus*

- překopulační strategie -
číhání (pozorovatelná)
- morfologická adaptace -
velké oči
- literatura - druh výhradně
opticky orientovaný

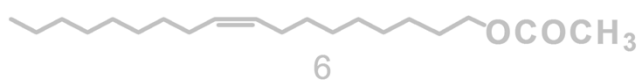
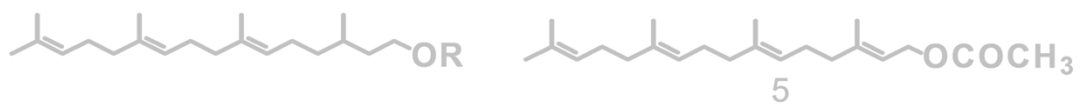
samec *B. confusus* na pozorovatelně



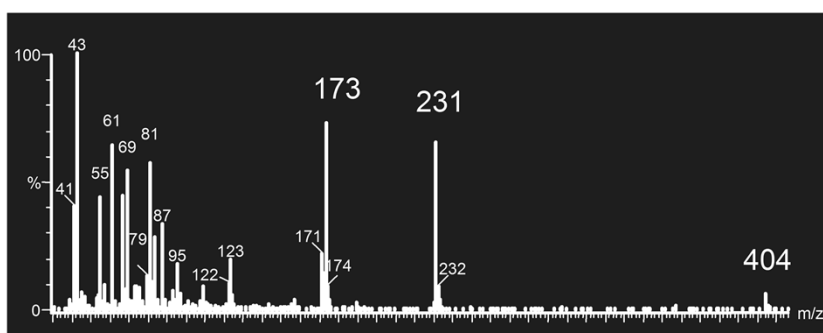
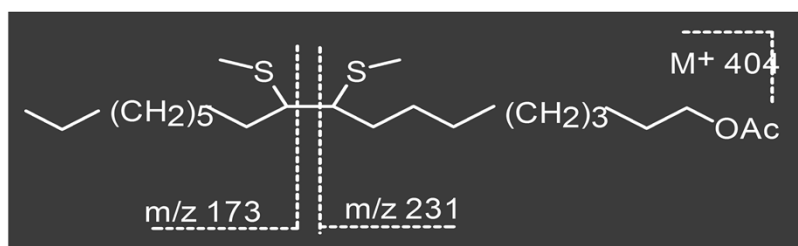
Extrakt labiální žlázy



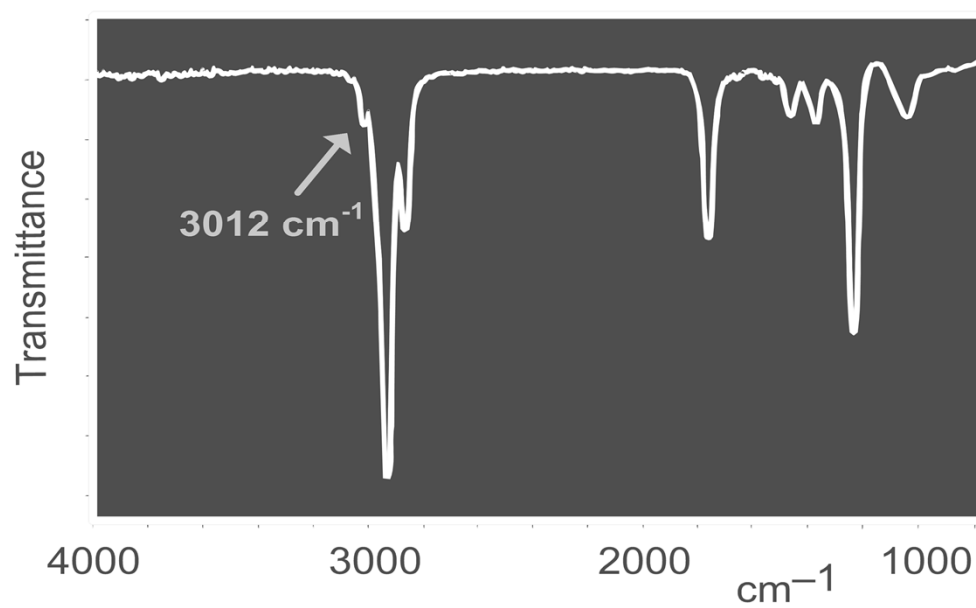
Hlavní složky sekretu



Poloha dvojné vazby



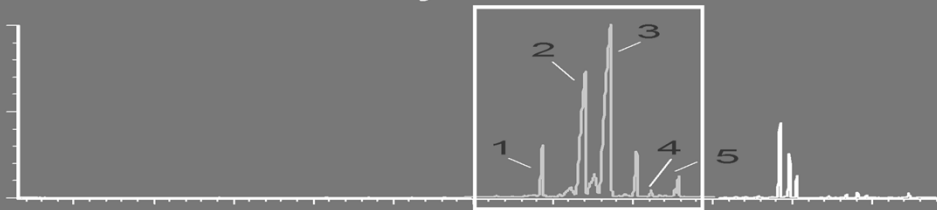
Z-Konfigurace dvojn  vazby (FT-IR)



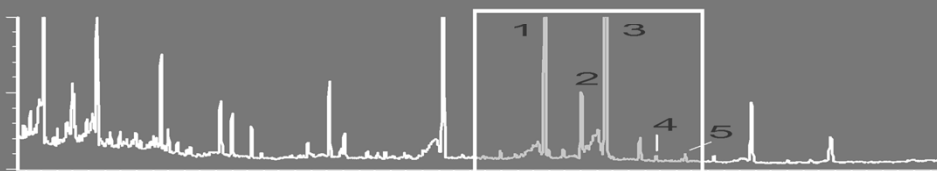
Důkaz funkčnosti labiální žlázy

- **Srovnání obsahových látek:**
- v extraktu labiální žlázy
- v head-space vzorku označené pozorovatelný
- v oplachu označené pozorovatelný
- v head-space vzorku a oplachu rostlin ve sledované lokalitě

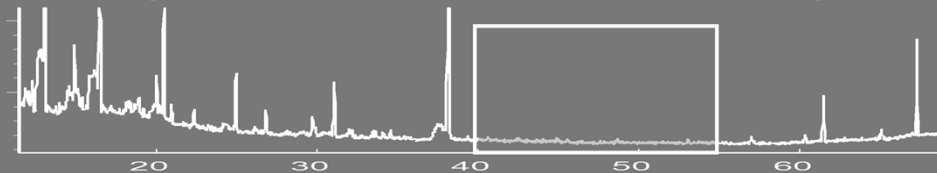
Extrakt labiální žlázy



Headspace z označované pozorovatelný (suchý květ)



Headspace z neoznačovaného květu (blank)



Značkování samců

- 42 samců individuálně označeno
- *Značkování* - pozorovatelný i susední vegetace (stébla)
- *Pozorovatelný*: suché květy
- *Čas značkování*: ráno, trvání asi 18 min
- *Počet značek* jednoho samce: 32-95



značkování samce *B. confusus*

Territoria dvou samců *B. confusus*



Závěr

- *B. confusus* není druh výhradně opticky orientovaný
- Samci produkují sekret v labiální žláze
- Sekret používají k označení pozorovatelných a okolí
- *B. confusus* je svým chováním podobný ostatním druhům, které používají strategii číhání

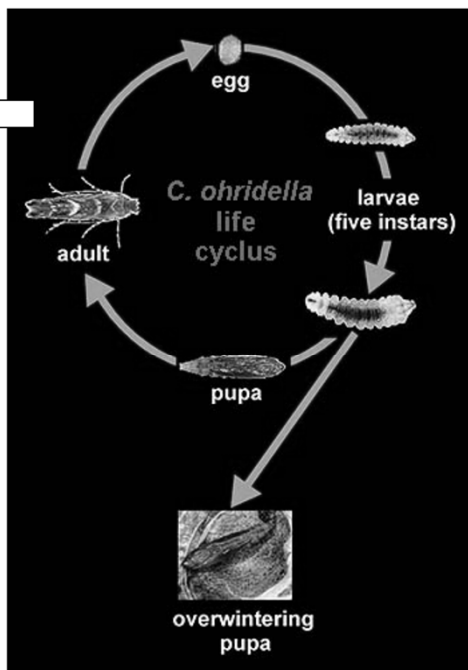
- K výzkumu jsme použili metody: extrakce, head-space, GC-MS, derivatizace DMDS, GC-FTIR, biologická pozorování.

Použití biotestů k lokalizaci aktivních látek ve směsích

**Identifikace sexuálního feromonu klíněnky jírovcové,
(*Cameraria ohridella*) a jeho možné použití k ochraně
jírovců**

***Cameraria ohridella* Deschka et Dimić 1986
(Lepidoptera: Gracillariidae) pochází z Makedonie a je
nebezpečným škůdcem žijícím na jírovci maďalu,
Aesculus hippocastanum (L).**

**V České republice se vyskytuje od roku 1994, kdy byla
pozorována na jihu Moravy. Nyní je kalamitně zasaženo
celé území a jírovce maďaly jsou vážně ohroženy.**



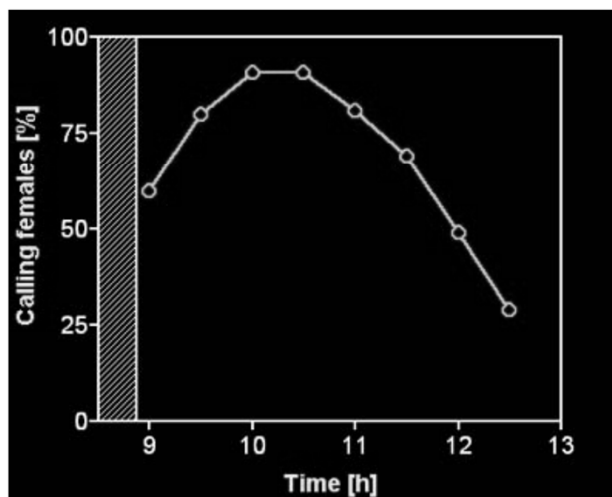
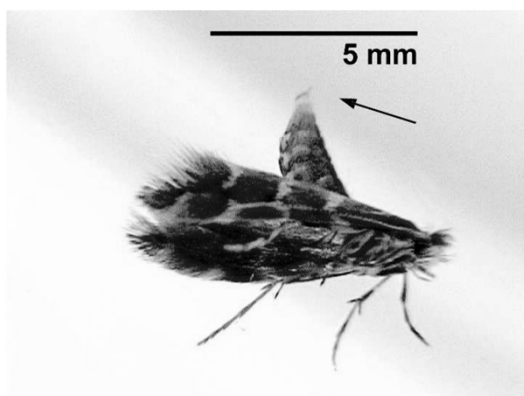
Biologie klíněnky:

čtyři generace / rok
 přezimuje jako kukla
 první generace březen / duben

Typické poškození listů na jírovci
 maďalu

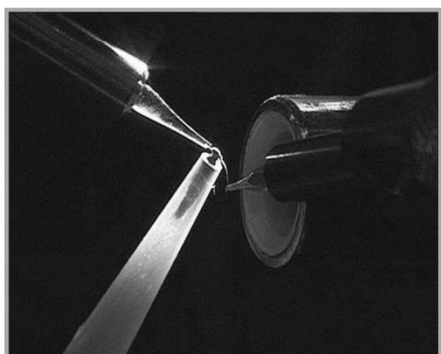


Doba volání samiček *C. ohridella*

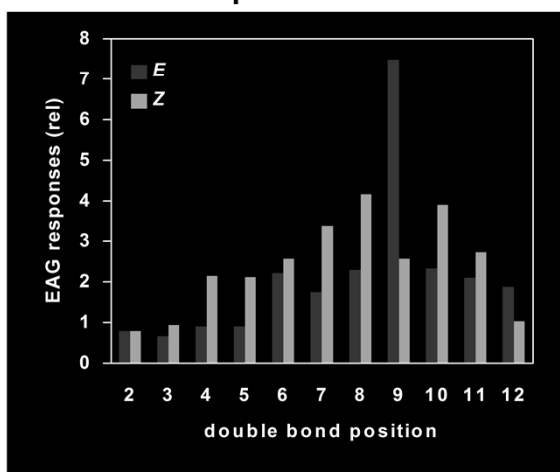


Identifikace sexuálního feromonu klíněnky

A) Pomocí EAG (kombinatorní přístup): Zadečky volajících samic byly vypreparovány a extrahovány hexanem. Pořadí EAG odpovědí na nasycené látky:



EAG mapa 14:Ald monoenu:

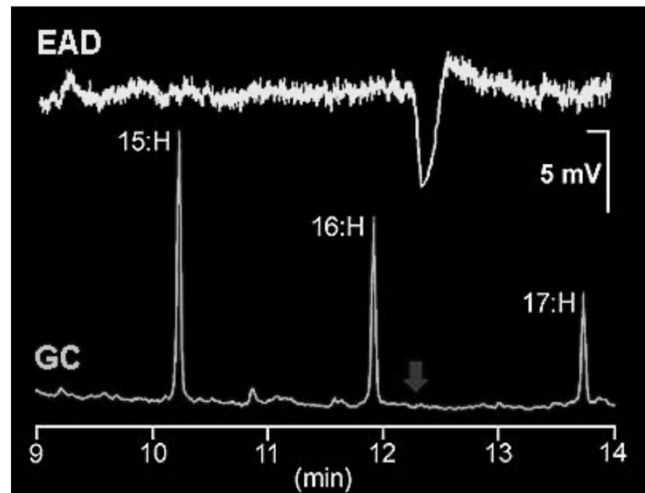


Identifikace sexuálního feromonu klíněnky

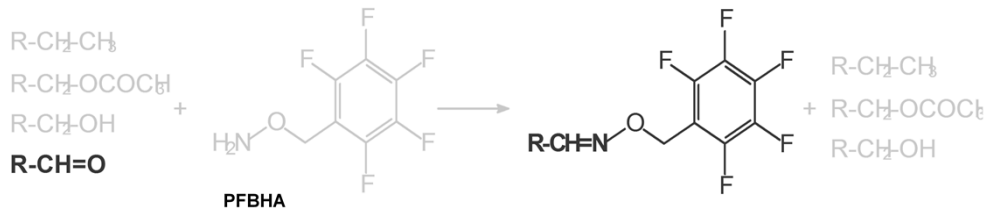
B) Chemický přístup:

Ze 150 samic jsme nezískali věrohodné hmotnostní spektrum.

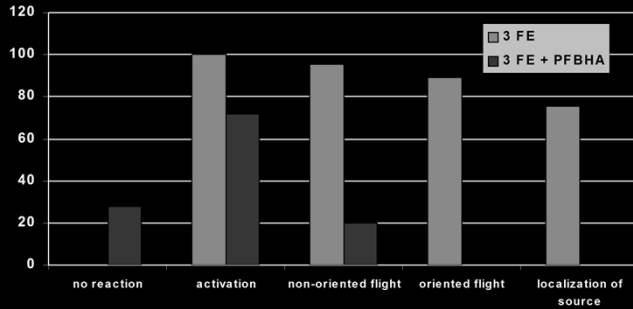
Výrazný EAG a GC - EAD signál na tykadle samce



Důkaz přítomnosti aldehydové skupiny



Větrný tunel:



Na standardy alkoholů a acetátů žádná reakce.

Na extrakty samiček bylo působeno PFBHA v MeOH.

Také v EAG jsme pozorovali vymizení aktivity.

pentafluorobenzylhydroxylamin

Identifikace sexuálního feromonu klíněny

C) Kovátsovy indexy (KI):

$$I = 100 \left[n + (N - n) \frac{\log t'_r(\text{unknown}) - \log t'_r(n)}{\log t'_r(N) - \log t'_r(n)} \right]$$

where n is the number of carbon atoms in the *smaller* alkane

N is the number of carbon atoms in the *larger* alkane

$t'_r(n)$ is the adjusted retention time of the *smaller* alkane

$t'_r(N)$ is the adjusted retention time of the *larger* alkane

- pouze 12:Ac, 14:Ald a 14:OH mají podobné KI jako EAD píku feromonu
- (9E)-14:Ald s výraznou EAG aktivitou má jiné KI než feromon
- KI píku v EAD měřeného na DB-1 a DB-5 ukazují na konjugaci dvojných vazeb

Identifikace sexuálního feromonu klíněnky

Závěry z exp. A - B:

- **(9E)-14:Ald** má jiný KI a mnohem nižší EAG a behaviorální aktivity než feromon

- feromon by mohl být tetradekadienal (TDDA) s dvojnými vazbami okolo C - 9

=> připravit všechny izomery 7,9-, 8,10- a 9,11-TDDA (a/nebo směsi jejich geometrických izomerů) a testovat je na GC - EAD

Chemická syntéza *EZ* izomerů a jejich izomerizace 169

Identifikace sexuálního feromonu klíněnky

D) GC - EAD připravených izomerů:

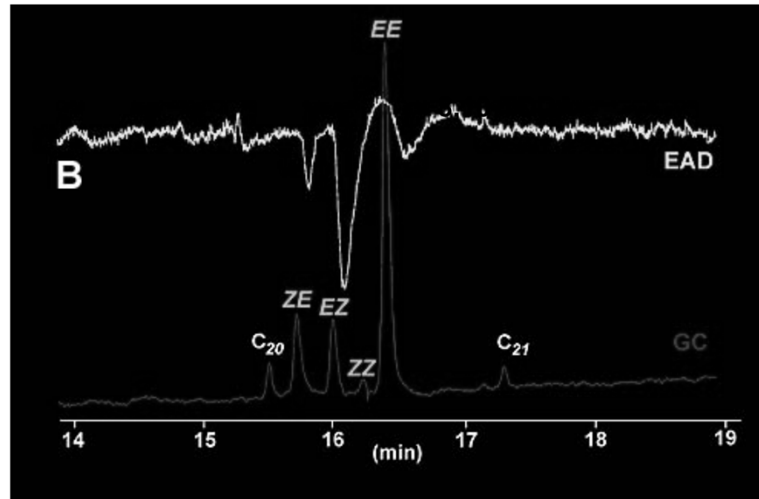
EAG připravených směsí
TDDA:

9,11- < 7,9- << 8,10

GC - EAD záznamy:

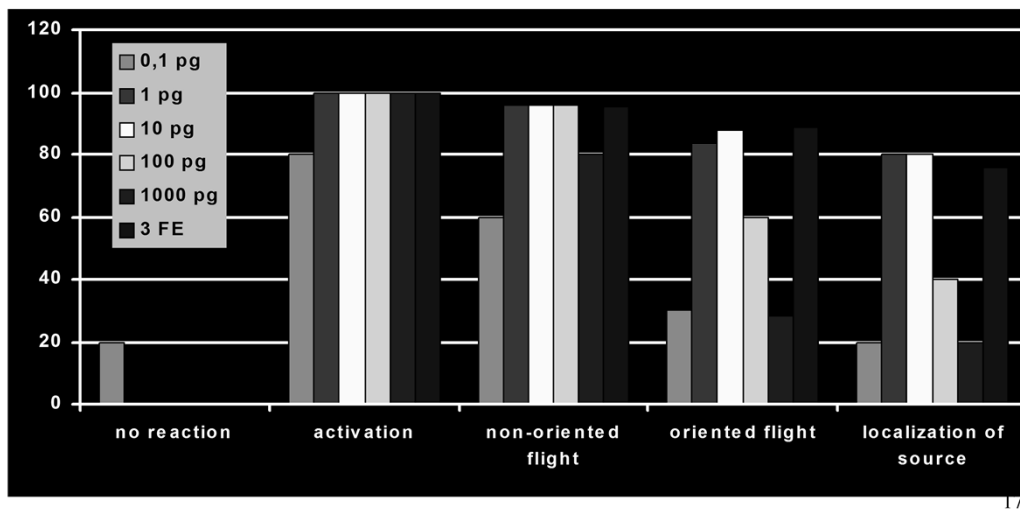
Ve směsi izomerů 8,10-TDDA
má vysokou aktivitu
pouze *EZ*

KI a EAD odpovědi
8*E*,10*Z*-TDDA jsou totožné
s přírodním extraktem



Experimenty se syntetickým feromonem ve větrném tunelu

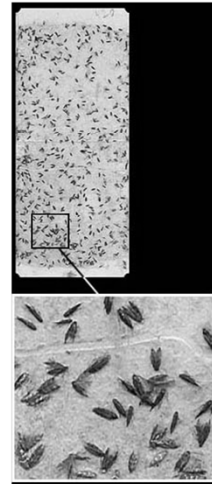
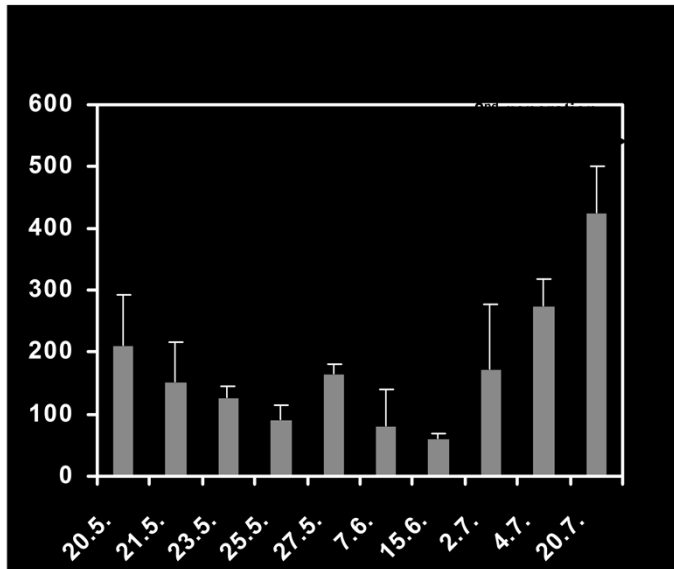
(n = 25 samců, 3 - 4 denní, v době 9 - 11 hod., 0,4 m/s)



Polní testy syntetického feromonu klíněnky

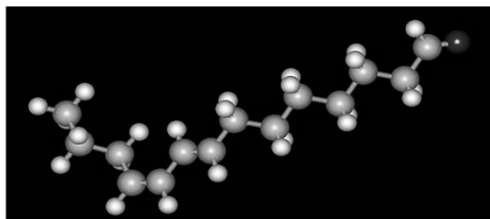
Delta lapáky, lepové vložky denně měněny

Nasyčená
lepová vložka
(420 samců)



Závěry:

- pomocí EAG mapování a Kováčových retenčních indexů byl určen (8*E*,10*Z*)-tetradeka-8,10-dienal jako sexuální feromon klíněnky jírovcové a byl připraven v laboratoři
- chromatografické, EAG a behaviorální vlastnosti připraveného feromonu a přírodní látky (extrahované z volajících samic) jsou identické
- syntetická látka je specifickým atraktantem v lapácích pro samce klíněnky jírovcové



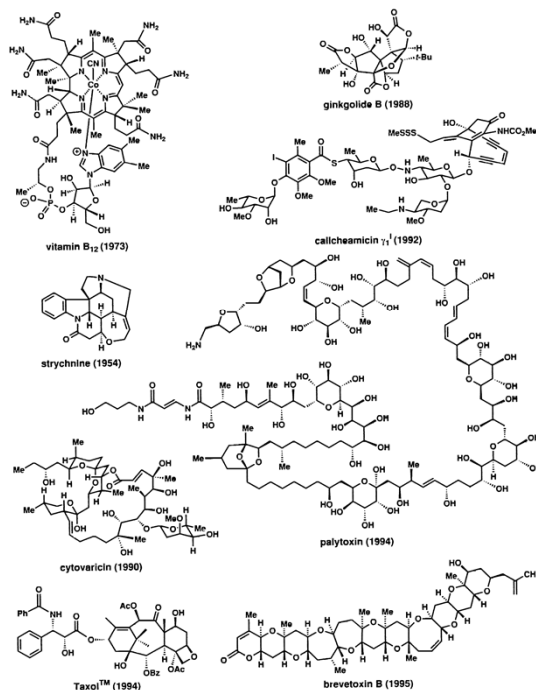
Přínos chemie přírodních látek pro rozvoj organické syntézy

Proč syntéza?

- průkaz struktury
- určení stereochemie a absolutní konfigurace
- příprava přírodní látky ve větším množství pro další studium
- příprava analogů
- výzva pro svou složitost

Zisky pro organickou chemii

- metodika organické syntézy
- nové reakce a transformace
- pokrok v plánování syntéz



Sociální hmyz

Nejkomplexnější živé organismy

Dominují terestriálním ekosystémům - opylovači,
predátoři, rozklad

| | | |
|----------|------------------------------|-------------------------|
| Mravenci | ≈ 10 ¹⁷ jedinců | ≈ 6×10 ¹⁰ kg |
| Lidé | ≈ 7×10 ⁹ jedinců | ≈ 7×10 ¹⁰ kg |
| Termiti | ≈ 2×10 ¹⁸ jedinců | ≈ 1×10 ¹² kg |



Hölldobler & Wilson 2009: *The Superorganism: The Beauty, Elegance & Strangeness of Insect Societies*. *W.W. Norton & Co.*

Bignell 2003: *Termites: 3000 variations on a single theme. Inaugural lecture as Professor*, 175
Queen Mary University of London.

sociální hmyz existuje 100 milionů let, člověk 100 tisíc let

Společenský, (eu)sociální hmyz

- ◆ překryv generací
- ◆ dělba práce, reprodukční asymetrie
- ◆ péče o potomstvo
- ◆ (existence kast, které se nerozmnožují)
- ◆ (kastovní polymorfismus)

176

presociální – péče o potomstvo, ale další podmínky splněny nejsou
eusociální – pravé společenstvo

Hmyzí společenstva jsou založena na altruismu

- ◆ část jedinců se vzdá možnosti vlastní reprodukce a „nezištně“ pomáhá ostatním v péči o potomstvo, obraně, hledání a sbírání potravy atd.
- ◆ znaky hmyzího společenstva jsou soudržnost, pracovitost, nesobecká podřízenost jedince zájmům společnosti

superorganismus

177

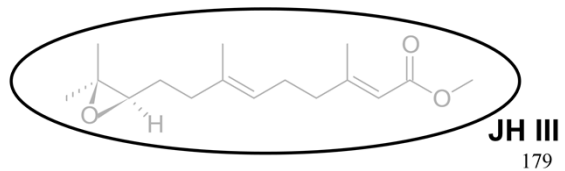
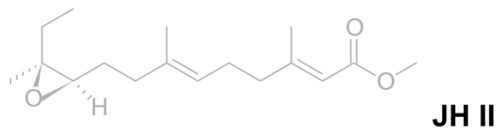
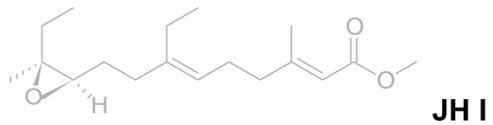
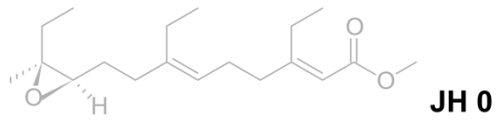
Podle Hamiltonovy (1964) teorie je altruismus projevován zejména vůči jedincům geneticky blízkým. Jeho cena (a na druhé straně získaná výhoda) se měří reprodukční úspěšností. Proto jsou altruistické projevy směřovány jen k jedincům geneticky blízkým, což zaručuje, že i při snížené reprodukční úspěšnosti altruisticky se chovajícího jedince se jeho geny dostanou do dalších generací zvýšenou reprodukční úspěšností akceptora. To platí všeobecně, jak u druhů diploidních, tak u druhů haplodiploidních, jako jsou všechny sociálně žijící druhy blanokřídlých.

Sociální hmyz - včely, čmeláci, mravenci, termiti - život v kolonii řízen chemicky

- ◆ morfologicky odlišné kasty mají v kolonii různé postavení a funkci
- ◆ kasty: královna (královský pár u termitů), dělnice, trubci, vojáci, nedospělí jedinci (larvy, nymfy)
- ◆ pro orientaci a komunikaci slouží kombinace chuťových a čichových signálů a receptorů
- ◆ různé žlázy produkují sekrety různého složení a různých funkcí
- ◆ kutikulární uhlovodíky - rozpoznávací funkce

Regulace vývoje společenstva

- ◆ nutriční faktory
- ◆ juvenilní hormon
- ◆ chování
- ◆ komunikační látky



Sociální hmyz a chemie

Chemické signály - účastní se všech aspektů sociálního života

chemická komunikace - feromony

od rozpoznávání po dělbou práce - feromony spouštěče (releaser)

regulace kast a dominance matky - feromony působky (primer)

chemická obrana - obranné látky



Šobotník et al.: Chemical warfare in termites. *J. Insect Physiol.* 2010, 56, 1012-1021

180

definice feromonu má 50. výročí (1959), byl definován na sociálním hmyzu – mravenci, termity

2 klíčové body, kde se chemie uplatňuje – komunikace a obrana

Čmeláci

- ◆ primitivní sociální struktura
- ◆ jednoletý vývoj
- ◆ přezimuje oplozená matka
- ◆ na jaře založení hnízda
- ◆ dělnice pečují o potomstvo
- ◆ v létě vývoj pohlavních jedinců
- ◆ námluvy a páření ve volné přírodě
- ◆ loňská matka, dělnice a samci na podzim umírají



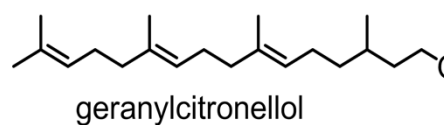
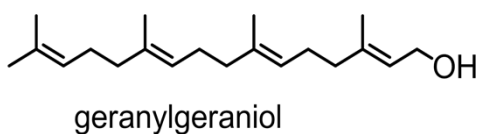
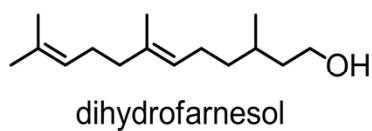
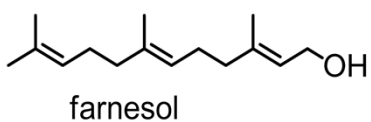
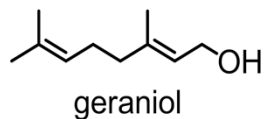
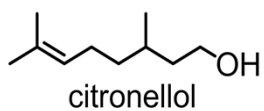
matka

čmelák zemní



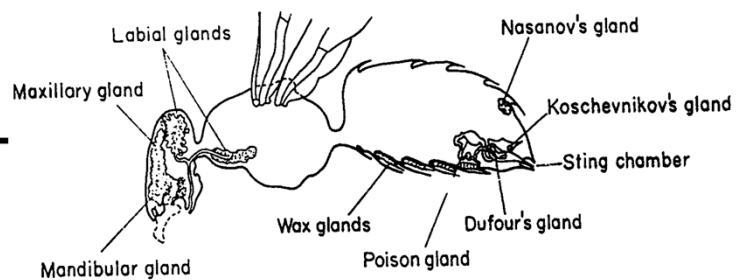
samec

Značkovací feromony čmeláků



alifatické alkoholy, aldehydy, estery mastných kyselin

Včely



mateří tlumicí látka (queen's pheromone):
kyselina (*E*)-9-oxodec-2-enová



- brání vývoji dalších matek
- brání vývoji vaječníků u dělnic
- udržuje dělnice v "pracovní náladě"
- je atraktivní pro trubce

Rojení včel

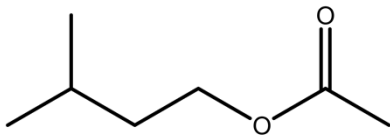
důsledek nedostatku mateří látky ve hnízdě

dělnice pocítující tento nedostatek začnou „narážet matečnický“, tj. vychovávat novou matku speciálním krmením (mateří kašička)

po vylíhnutí mladá matka vyletí, spáří se a vrací se do úlu; stará matka pak opustí hnízdo a skupina „jejích“ dělnic ji následuje - rojení

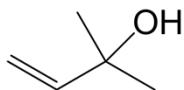


Poplašné feromony - včela

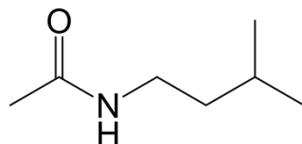


- Některé složky jedu včelího žihadla podněcují ostatní včely k útočnému chování.
- Účinná látka je isoamyl-acetát - "banánová vůně", který způsobuje vzrušení včel a agresivní chování.

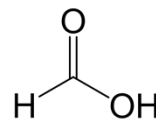
Poplašné feromony u ostatních blanokřídělých



sršeň



vosy



mravenci (*Formica*)

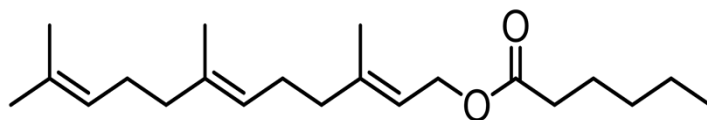


186

K obraně často stimulují některé ze složek produkované jedovou žlázou nebo i jinými žlázami spojenými s aparátem žihadla. Je-li sekret této žlázy některým příslušníkem kolonie použit, jsou i její ostatní příslušníci informováni o tom, že nastala situace vyžadující obranu. Je tomu tak např. u našich lesních mravenců rodu *Formica* (tam takto působí kyselina mravenčí), u sršňů (2-metyl-3-buten-2-ol), včel (amylacetát), u vos *Vespula maculifrons* a *V. squamosa* (N-3-metylbutylacetamid) atd.

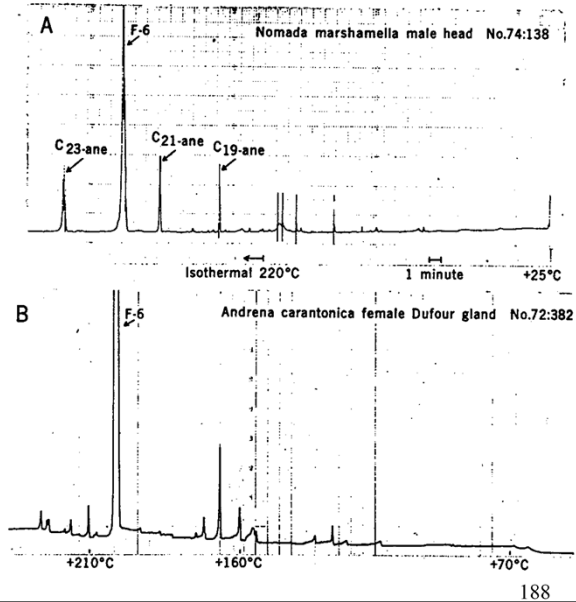
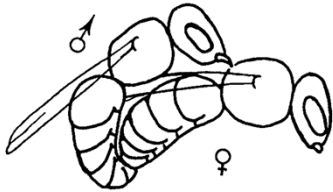
Hmyzí "kukačky"

- ◆ kladení vajíček do cizího hnízda
- ◆ čmelák (*Bombus*) vs. pačmelák (*Psithyrus*) - boj o přístup do hnízda hostitelského druhu
- ◆ samotářské včely rodu *Andrena* - pachové označení hnízda (Dufourova žláza)
- ◆ v sekretu obsažen **farnesyl-hexanoát**



Parazitická včela rodu *Nomada*

- ◆ stejná látka v samčí mandibulární žláze - přenos při páření na samičku
- ◆ nenásilné vniknutí do hostitelského hnízda (stejná vůně)



Tengö & Bergström: *Science* 1977, 196, 1117.

Kastovní polymorfismus u mravenců



Camponotus sansabeanus



Myrmecocystus mexicanus

blanokřídílí – allometrie; termity – vznik speciálních struktur

u Hymenopter se kastovní polymorfismus projevuje allometrií (zvětšením a zesílením některých partií), zatímco u termitů se u kast tvoří speciální struktury

Kastovní polymorfismus u mravenců



Pheidole californica



Pheidole rhea



Reticulitermes

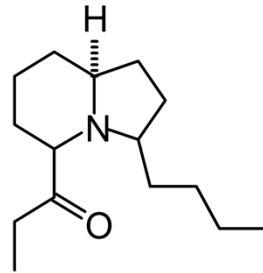
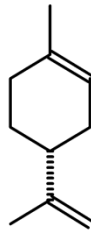
blanokřídlí – allometrie; termity – vznik speciálních struktur

u Hymenopter se kastovní polymorfismus projevuje allometrií (zvětšením a zesílením některých partií), zatímco u termitů se u kast tvoří speciální struktury

Mravenci

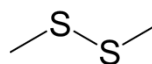
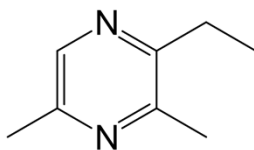
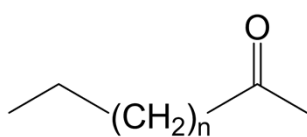
- ◆ stopovací feromon - značení cesty k potravě (foraging)
- ◆ přivolání pomoci k nalezené potravě (recruitment)
- ◆ poplašné feromony (alarm) - v případě nebezpečí přivolání posily
- ◆ obrana některých druhů - jedová žláza

příklad *Myrmecaria eumenoides* - jedová žláza - směs limonenu a 2 isomerních indolizinových alkaloidů



toxicita: limonen << alkaloidy << směs složek

Poplašné feromony u ostatních druhů mravenců



jiné druhy mravenců

Mrtvolné feromony (mravenci a včely)

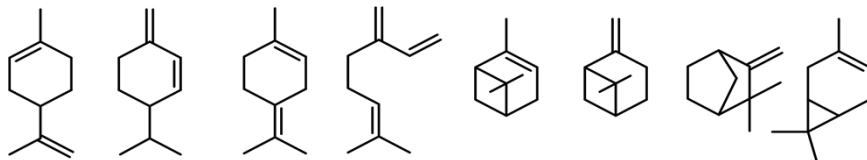
- ◆ identifikují mrtvé tělo konspecifického jedince
- ◆ produkty rozkladu živočišného materiálu (kyselina olejová a jiné nenasycené vyšší mastné kyseliny)
- ◆ mravenci předměty jimi označené vynášejí na „sметиště“

Dělnice experimentálně potřísněná mrtvolným feromonem je proti své vůli vynášena z hnízda tak dlouho, dokud se pachu nezbaví.

Termiti



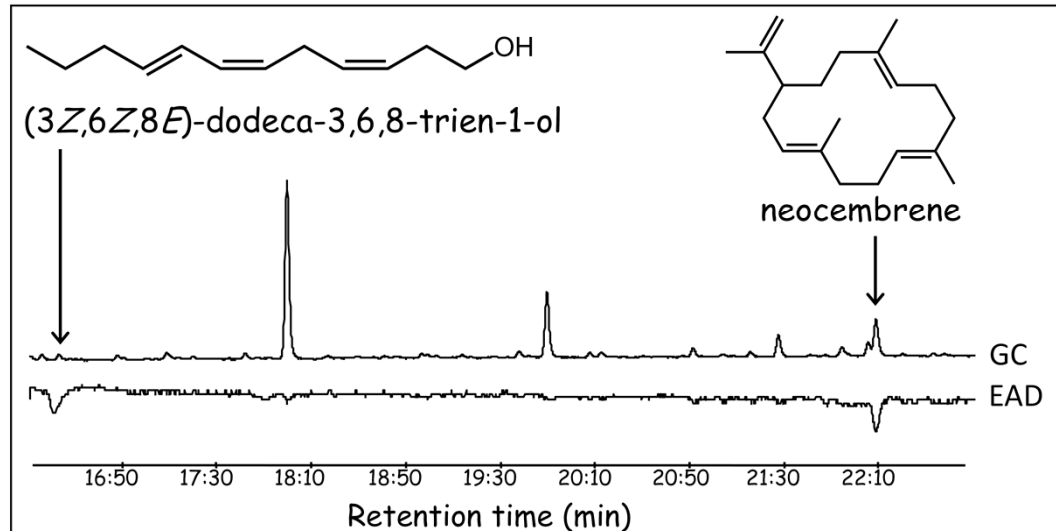
- ◆ mateř í látka není známa
- ◆ některé signály podobné jako u mravenců
- ◆ kasta vojáků produkuje účinné obranné látky, u některých druhů je obrana čistě chemická (Nasutitermitinae)
- ◆ monoterpenické uhlovodíky fungují jako poplašné feromony



limonen β -felandren terpinolen myrcen α -pinen β -pinen kamfen 3-karen

Chemodiversita u termitů

Stopovací feromon u *Prorhinotermes simplex*



Sillam-Dussès et al. 2009: *J. Insect Physiol.* **55**: 751-757.

195

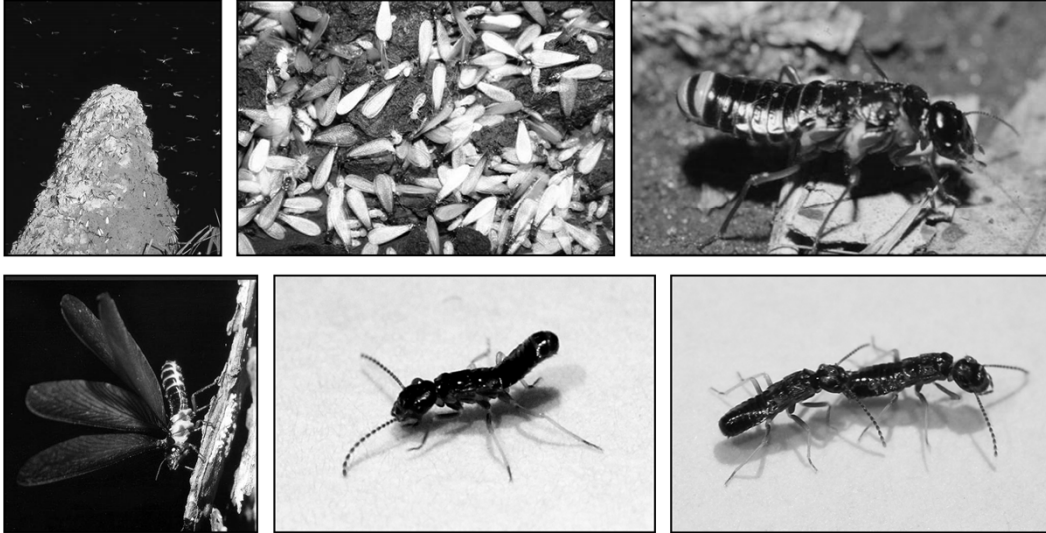
náš modelový druh *P. simplex*

vysvětlit, že stopovací feromon je používán k nalezení cesty k potravě

vysvětlit krátce EAG a spojení GC-EAD

Chemodiversita u termitů

Sexuální komunikace u *Prorhinotermes simplex*

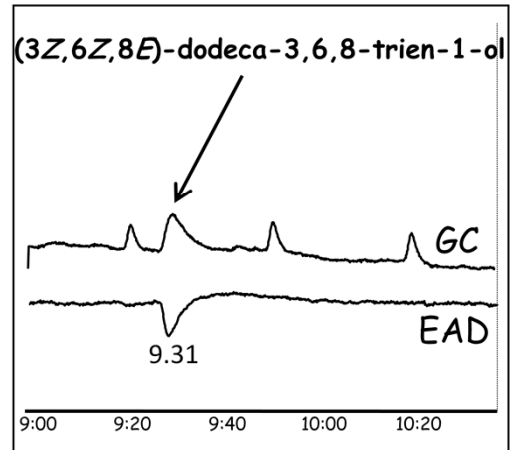
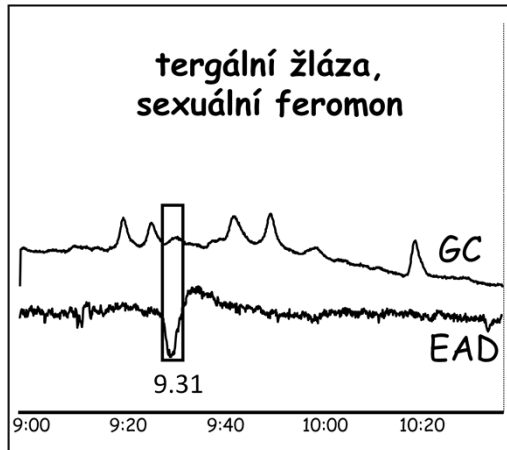


Hanus et al. : *Insectes Soc.* 2009, 56, 111-118.

196

Rojení: vylétání okřídlených královen a králů, pak ztráta křídel, královna volá a nakonec dělají tandem.

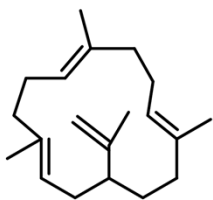
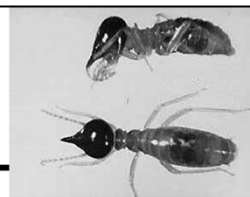
Chemodiversita vs parsimonie u termitů



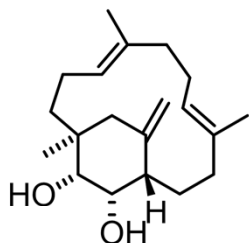
Hanus et al. : *Insectes Soc.* 2009, 56, 111-118.

197

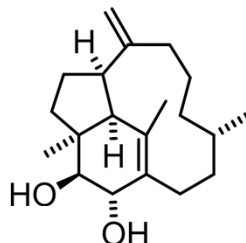
Obranné látky termitů



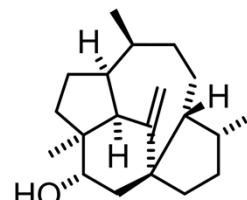
neocembren A



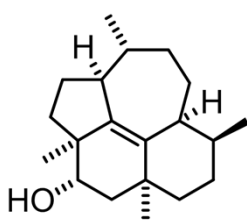
7,16-sekotrinervitan



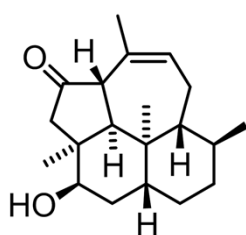
trinervitan



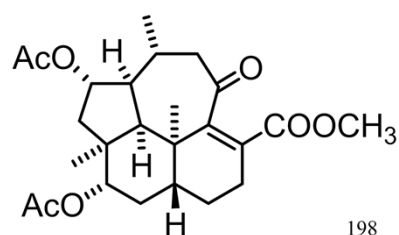
longipan



rippertan



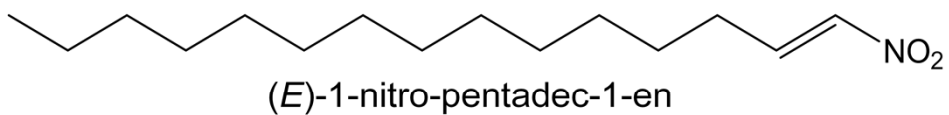
kempan



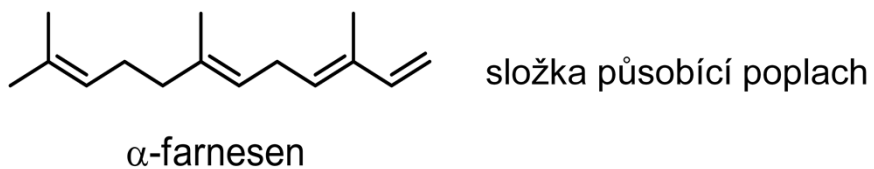
5 α -kempan

Obranné látky termitů

vojáci druhu *Prorhinotermes simplex*

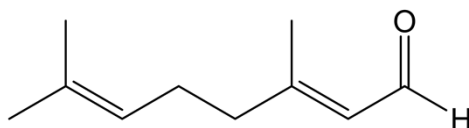


vojáci mají mechanismus detoxikace v kutikule



Zneužití poplašných signálů

- ◆ Zlodějská medonoska *Lestrimelitta melao* využívá **citral** (poplašný feromon) při nájezdech na příbuzné medonosky (*Trigona*, *Mellipona*).
- ◆ Citral je poplašným feromonem jak útočníka, tak hostitele.



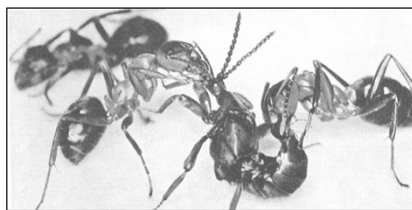
citral

Zneužití chemických signálů

Chemické mimikry a maskování

- ◆ **Napodobují kód hostitele:** povrchové identifikační feromony (kutikulární uhlovodíky), další sociální feromony
 - ◆ **Myrmekofilové** (termitofilové) cizí druhy žijící v hnízdě mravenců nebo termitů díky různým chemickým přizpůsobením
 - ◆ **Symfilové** – hosté vítání, opatrování, vysoce adaptovaní – vylučují atraktivní a tlumicí látky, obligátně v mraveništi
- Komensálové** (soustolovníci) – hosté trpění, živí se odpadky hnízda, kód hostitele mimikují jen částečně, obligátně v mraveništi
- Synechtrie** – příživnictví na úkor kolonie: napadají mravence, vykrádají zásoby a plod, mají účinné obranné prostředky (drabčící, housenky modrásků)

Drabčík *Atemeles pubicollis*
nabízí uklidňující látku ze zadečku
a zároveň se nechává krmit



201

Proč vosy, včely, čmeláci, mravenci a termiti? aneb Hmyzí státy. J. Žďárek, Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Praha, 1997.

Myrmekofilie

V mravenčích hnízdech žijí také jiní zástupci hmyzí říše - myrmekofilové. K životu v mraveništi jsou výborně přizpůsobeni a se svým hostitelem žijí v určitém vztahu. Buď jako praví hosté - symfilové, hosté trpění - synoekenti či jako hosté pronásledovaní - synechtři. Symfilové jsou hosté, jež mravenci krmí, ošetřují a hýčkají mnohdy pozorněji, než své vlastní potomstvo. Důvodem jsou zvláštní sekrety, výpotky, vylučované na některých místech hostova těla, které mravenci sbírají. Větší počet symfilů v jednom hnízdě může narušit život celého společenství zejména tím, že larvy symfilů jsou dravé a nikým nerušený ničí mravenčí plod. Synechtři, mezi něž patří především drabčící několika rodů a stonožky, jsou mnohdy bojovnější, či robustnější než mravenci, jimž se proto jejich činnost nedaří účinně eliminovat. Na druhy i počet jedinců nejbohatší skupinou bývají trpění hosté - synoekenti, zástupci různých skupin hmyzu, pavouků, roztočů. Pro všechny je charakteristické, že jejich vztah k mravencům je oboustranně výhodný. Využívajíce všech výhod života v bezpečí mravenčího hnízda, podílejí se na likvidaci odpadků, výkalů a zbytků potravy a často pomáhají mravencům i v jejich osobní hygieně. Někteří se příživují na potravě mravenců, popřípadě napadají jejich plod. Vždy však v míře, která neohrozí mravenčí společenství. Naproti tomu může být mravenčí společenství negativně silně ovlivněno parazitací četných druhů. Z endoparazitů jsou nejvýznamnější drobní červi, vlasovci *Gordius* vyvíjející se v hlitanových žlázách a v zadečku cizopasíci červ *Mermis*. V larvách i dospělých mravenců parazitují některé druhy lumčíků a chalcidek i parazitický prvok *Myrmicinosporidium*. Všichni jsou důležitými činiteli v ekologické rovnováze, podobně jako někteří nepřátelé vnějšího světa z řad pavouků, hmyzu, ptáků i savců.

Zneužití chemických signálů Chemické zbraně otrokářů

- ◆ Imitují **povrchové feromony** hostitelů (*de novo*, „načichnutím“)
- ◆ Vylučují **uklidňující** a **adopční** látky (složení neznámé)
- ◆ Používají **chemickou bojovou propagandu** (voňavé „Hurááá...“) imitující poplašné f. napadených, stimuluje útek a dezorganizaci (seskviterpeny a uhlovodíky), jejich zdroj: Dufourova žláza (10% hmotnosti těla)
- ◆ Používají **stopovací feromon** při otrokářských výpravách



Úspěšnost parazita podmiňuje **odhalení komunikačního kódu**: omezeného množství velmi specifických signálů ovládajících společnost



Proč vosy, včely, čmeláci, mravenci a termity? aneb Hmyzí státy. J. Žďárek, Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Praha, 1997.

Zneužití chemických signálů

Společenský parazitizmus a otrokářství



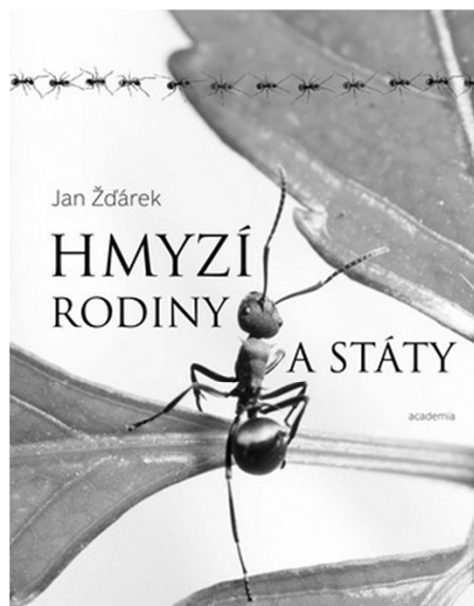
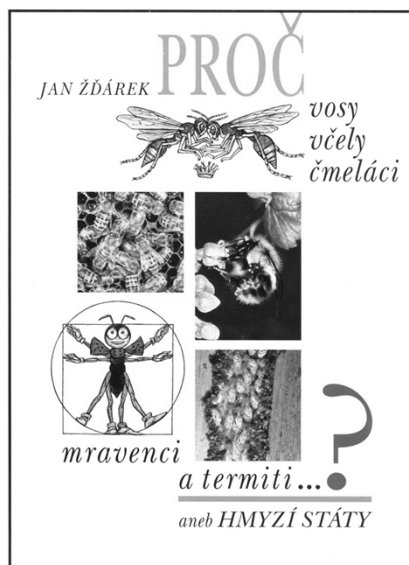
- ◆ **Sociální parazit** – druh příbuzný a sympatrický, u všech blanokřídlých (mravenci 270, včely 3500 druhů). Příklad čmelák - pačmelák
- ◆ **Xenobióza** – nejnižší stupeň, hnízda sousedí nebo se prolínají, každá kolonie má svou matku a oddělený plod (kleptobióza)
- ◆ **Dočasný parazitizmus** – při zakládání kolonie (*F. pratensis*). Mladá samice původní matku zabije/vypudí a tak převezme hnízdo
- ◆ **Permanentní parazitizmus** (dvě formy):



- Otrokářství (*dulose*) samice zabije matku a její potomstvo si obstarává dělnice otrokářskými výpravami.
- Inkvilinismus – matka neplodí vlastní dělnice .

203

Proč vosy, včely, čmeláci, mravenci a termity? aneb Hmyzí státy. J. Žďárek, Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Praha, 1997.



Klasifikace feromonů podle působení



Působky (*primer*)

- vyvolávají dlouhodobé fyziologické změny ovlivněním neuroendokrinních orgánů
- u člověka působí nevědomě

Spouštěče (*releaser*)

- vyvolávají náhlé změny chování prostřednictvím čichových receptorů
- u člověka vyvolávají vědomé reakce

Příklady feromonů u savců

Teritoriální

Označuje hájené území (jelenovití, šelmy, hlodavci)

Sexuální

Označuje pohlaví nebo říji (např. hárající fena, opice)

Mateřský

Slouží k rozpoznání vlastní matky (čichový imprinting)

Sociální

Označuje společenské postavení ve smečce

Reprodukční

Stimuluje nebo inhibuje reprodukční cykly samic

Dochovaly se některé z nich i u člověka?

206

u člověka – mateřský mezi matkou a kojencem (mastné kyseliny), reprodukční (Mc Clintock), sexuální?

Lidská tělesná vůně

- role v sociálních interakcích
- vnímání lidské tělesné vůně na vědomé i podvědomé úrovni
- potní, mazové a apokrinní žlázy + kožní bakterie
- geneticky řízený „pachový podpis člověka“
- centrum zájmu - axilární oblast
- vůně → výpověď o jedinci, pohlaví, reprodukčním stavu, věku, zdraví, stravě, kouření, hygienických návycích...

207

axilární = podpažní

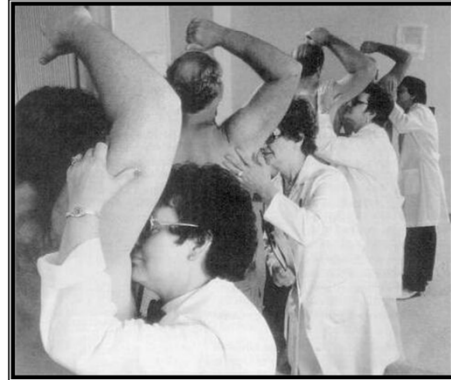
Čichové studie - výzkum



- nesjednocená metodika čichových experimentů
- restrikce před sběrem vzorků – speciální režim
(žádné kouření, drogy, alkohol, aromatické potraviny, aromatizované hygienické potřeby, žádné namáhavé fyzické aktivity, žádný sex a spaní s partnerem v jedné posteli)
- sběr vzorků - trička, vatové polštářky
- jednorázový sběr - 30 min, více hodin, 24h
- opakovaný sběr - 4 noci, 7 nocí

Čichové studie

- čerstvé vzorky X mražení vzorků
- hodnotitelé, hodnotitelky - 18–35 let, zdraví jedinci, sledování hormonální antikoncepce
- hedonické hodnocení, číselné škály
- habituace → regenerace čichových schopností



209

hedonický = zaměřený na příjemnosti a požitky života, vyhýbající se aktivně nepříjemnostem; rozkošnický

1. pohlavní rozdíly

- charakteristické rysy odlišující obě pohlaví
- prokazatelná schopnost odlišit vůni ♀ a ♂
- mužská vůně – pižmovitá a intenzivnější
- ženská vůně – sladká a slabší
- proměnlivost ženské vůně - menstruační cyklus

2. sebepoznání

- nalezení vlastního trička ve větší skupině vzorků
- sebehodnocení – příjemná vůně u ♀, nepříjemná u ♂



3. vůně sexuálního partnera

- cca 1/3 lidí schopna identifikovat vůni svého partnera
- pozitivní hodnocení

4. příbuzenstvo

- společné znaky osobní vůně u rodinných příslušníků
- stupeň příbuznosti



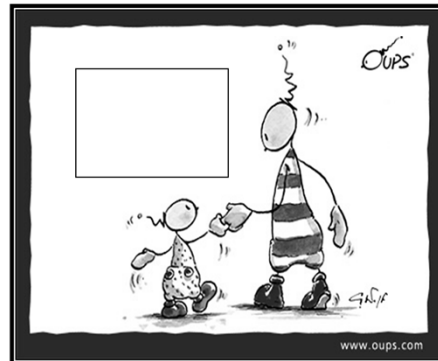
- blízcí příbuzní s podobným, ale individuálně stále rozlišitelným podpisem
- vůně příbuzných popisována jako méně příjemná
- vzájemná averze vůní - otec/dcera a bratr/sestra

5. matka a dítě

- první kontakt a navázání vzájemného vztahu
- společně strávený čas první den po porodu → matky rozeznají vůni svého dítěte

Dítě a kontakt s vůní matky:

- 1) amniotická tekutina
- 2) prsní dvorce a bradavky
- 3) podpažní vůně



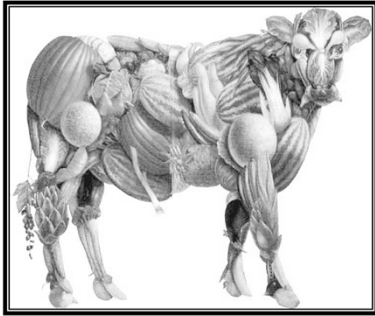
- genetická predispozice vůně → relativní celoživotní stabilita
- dílčí proměny – **environmentální faktory**

1. reprodukční status

- menstruační cyklus a ovulace
- životní etapy a vůně

2. emoční vyladění

- rozeznání vůní veselých a vystrašených lidí



3. strava

- česnek, cibule, chilli, pepř, ocet, kvašené mléčné výrobky, aromatické sýry a ryby, alkohol

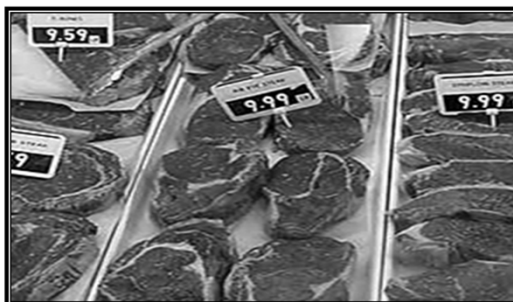
4. infekce a nemoci

- cukrovka, kožní nemoci, parodontóza

Vliv konzumace masa na atraktivitu

lidské tělesné vůně

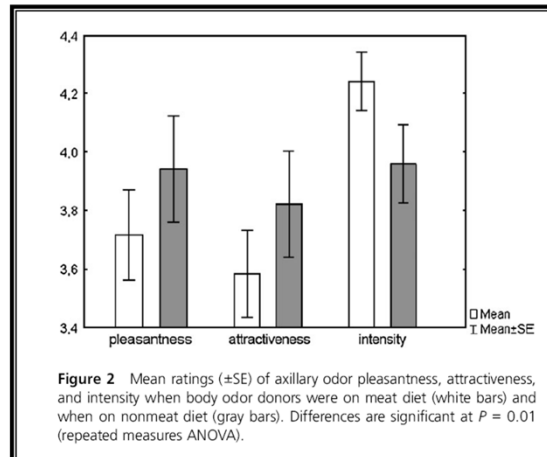
- 17 ♂ - 14 dní „masové“ diety a 14 dní „bezmasé“ diety
- posledních 24h sběr podpažních vzorků
- 30 ♀ bez hormonální antikoncepce
- příjemnost, atraktivita, maskulinita a intenzita čerstvých vzorků



Havlíček J., Lenočková P.: Chem. Senses **2006**, *31*, 747-752.

Výsledky a závěry

- vůně dárců na bezmasé dietě hodnocena jako atraktivnější, příjemnější a slabší
- negativní vliv konzumace červeného masa na vnímání kvality osobní vůně
- kontrola stravy u experimentálních skupin



Závěry

- **Individuální kvalita tělesné vůně hraje významnou roli v sociálních interakcích, při rozeznávání jedinců a navazování vzájemných vztahů.**
- **Pachový podpis člověka může být ovlivněn různými faktory, jako jsou fáze menstruačního cyklu, emoční vyladění, strava a onemocnění.**

Vomeronasální orgán (VNO)

- 1703 ho u člověka prvně pozoroval a popsal holandský vojenský lékař Ruysch
- 1811 holandský biolog Ludwig L. Jacobson ho popisuje u zvířat, ale nenalézá ho u člověka. Pojmenuje ho „Jacobsonův orgán“ a název je v zoologii používán dodnes
- 1938 ho Elizabeth Crosby v učebnici anatomie považuje za nefunkční relikv existující jen u plodu a názor dalších 50 let převládá
- 1991 L. J. Stensaas, D. T. Morgan aj. popisují ultrastrukturu VNO člověka a nalézají jej u všech prohlédnutých pacientů
- 1996 D. L. Berliner a spol. v něm experimentálně dokazují steroidní receptory

čichový receptor → čichový nerv → čichový lalok

V buňkách čichového
epitelu

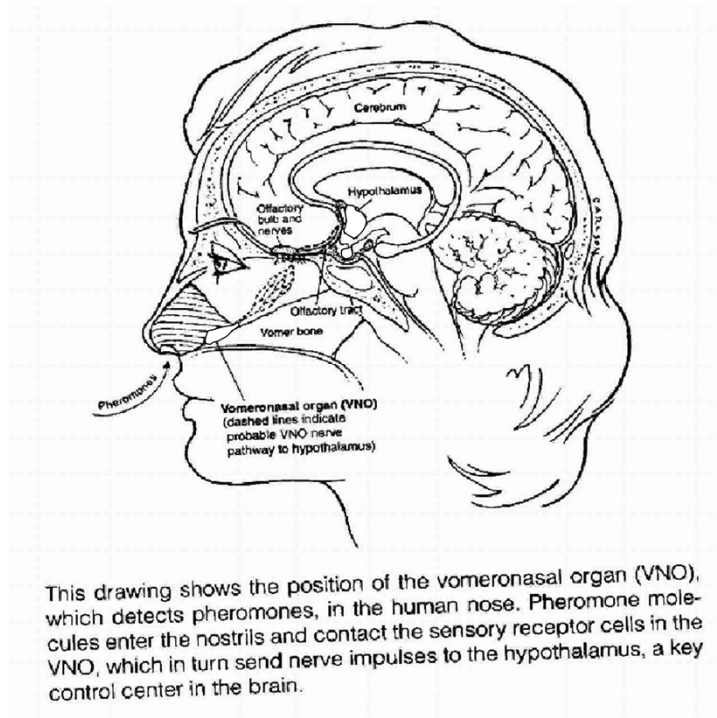
VNO receptor → VNO nerv → AOB* → hypothalamus

U člověka nalezen a
prokázána jeho funkce

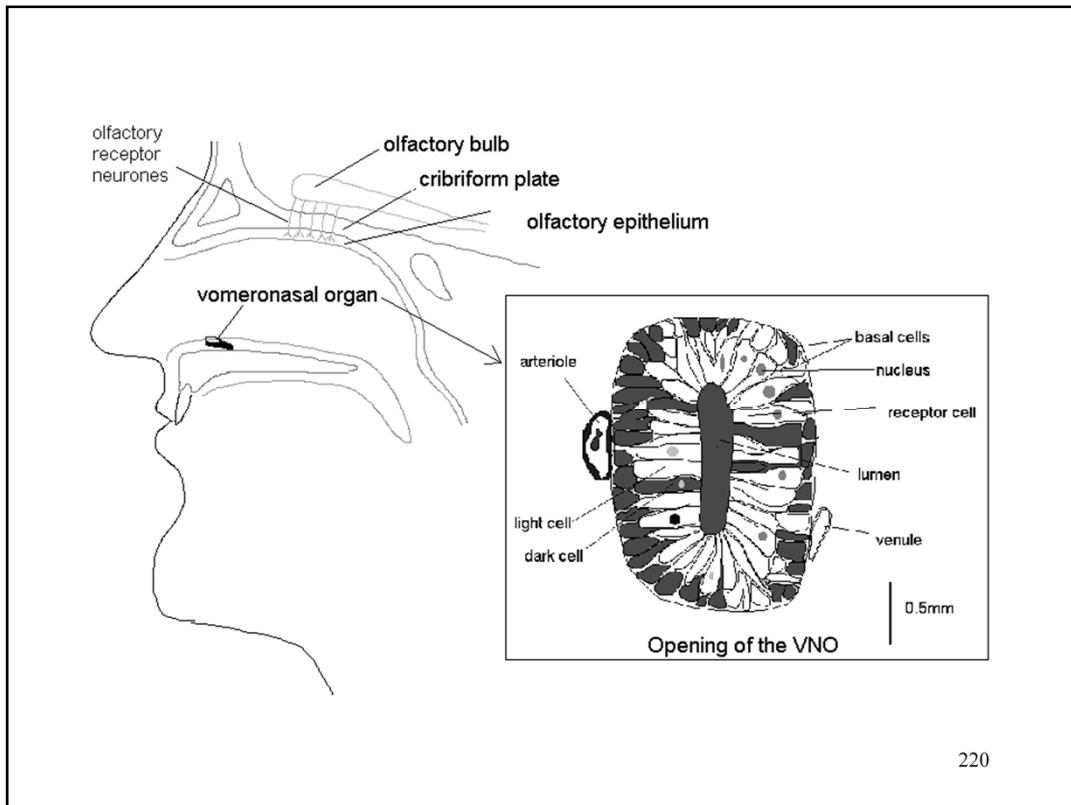
Zatím nezjištěny u člověka

Ovládá emoce, sexuální
apetit, vodní metabolismus,
produkci hormonů, chuť k
jídlu, teplotu těla aj. funkce

* akcesorický olfaktorický lalok



This drawing shows the position of the vomeronasal organ (VNO), which detects pheromones, in the human nose. Pheromone molecules enter the nostrils and contact the sensory receptor cells in the VNO, which in turn send nerve impulses to the hypothalamus, a key control center in the brain.



VNO - functionality

Compounds occurring naturally on the human skin were found to cause a local depolarisation when applied directly to the VNO (Monti-Bloch and Grosser, 1991). The nature of these compounds was not disclosed. This depolarisation had the characteristics of a receptor potential. Furthermore these compounds did not cause a response from the olfactory epithelium and, olfactory stimulants (e.g. cineole) had no effect on the VNO. Using the same compounds sexual dimorphism was demonstrated in their effect on electrodermal activity (Monti-Bloch et al, 1994). These compounds were subsequently revealed to be 16-androstenes and estrenes (Berliner, 1993; 1994). The androstenes have been previously isolated from human sweat (secreted by the axillary apocrine glands) (Gower et al., 1985).

Another "vomeropherin", pregna-4,20-diene-3,6-dione (PDD), caused evoked potentials in the VNO and also changed gonadotropin pulsatility in males, resulting in a reduced level of luteinizing hormone (Berliner et al, 1996) and testosterone (Monti-Bloch et al, 1998). In addition, PDD decreased respiratory frequency, increased cardiac frequency and caused event-related changes of electrodermal activity in EEG pattern (Berliner et al, 1996).

Čichová percepce

Je podmíněna G-proteiny -- regulují cAMP prostřednictvím adenylát cyklázy

- **zvýšení cAMP ovlivňuje membránové iontové kanály a tím generuje akční potenciály**
- **bylo naklonováno asi 1000 různých genů (jsou mediátory jednotlivých odorantů)**
- **každý čichový neuron exprimuje jen jeden receptorový protein**
- **problém čichové diskriminace je proto redukován na stanovení, který neuron z celého repertoáru byl aktivován**

Nobelova cena 2004 za výzkum čichu!

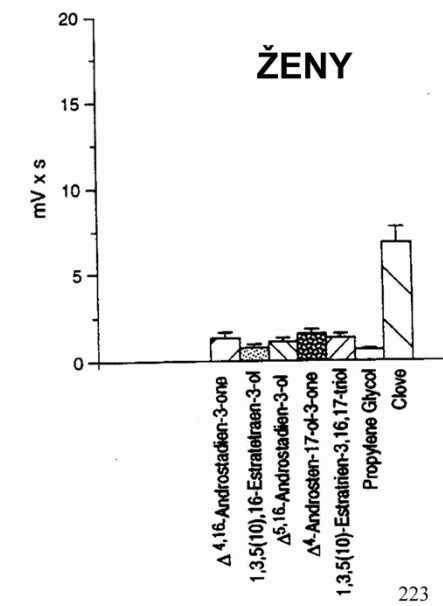
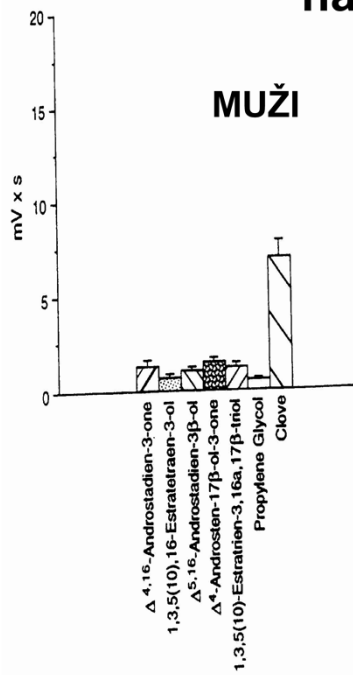
VNO percepce

- G-proteiny a adenylát cykláza se neexprimují
- homology čichových receptorů nebyly nalezeny
- ALE: 2 různé α -podjednotky G-proteinů se přesto exprimují ve dvou oddělených populacích VNO neuronů
- existují dvě rodiny VNO receptorů

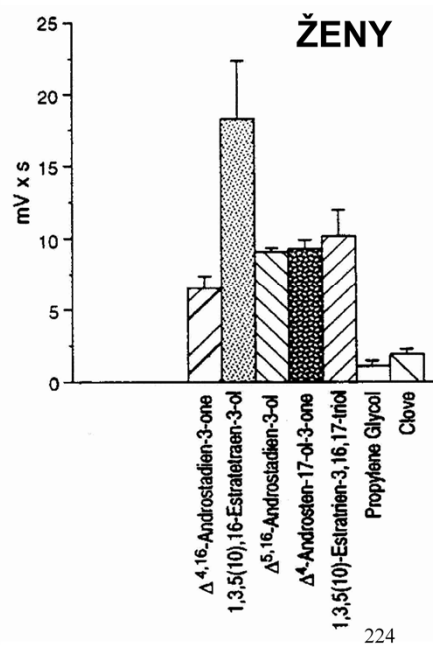
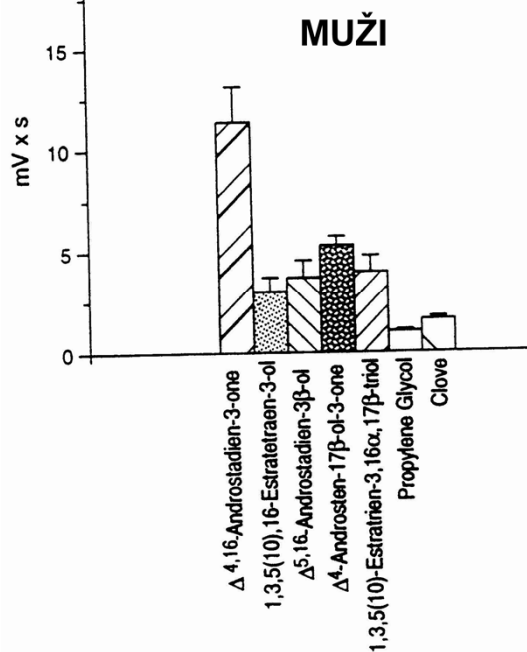
*Různé práce na potkanech souborně zpracováno v
Ryba & Tirindelli, Modern Drug Discovery 9/10 (1998)*

222

Odpověď čichového receptoru na testované látky



Odpověď VNO na testované látky



Reprodukční feromony myší

Lee-Boot efekt

Říje samic chovaných ve společné kleci bez samce je potlačena nebo jinak změněna

Whitten efekt

Říje samic chovaných ve společné kleci je synchronizována feromonem z moči samce

Bruce efekt

Moč samce cizího kmene zabrání nidaci embrya oplozeného samcem vlastního kmene

Vandenbergh efekt

Nástup puberty o samic urychluje feromon z moči dospělých samců

Ablace VNO ruší všechny 4 účinky

nidace' = uhníždění oplozeného vajíčka v děloze

“Syndrom ženských domovů” (McClintock efekt)

- společně bydlící nebo pracující ženy po určité době synchronizují menstruační cykly (studentky, vězeňkyně, spolupracovnice...)
- publikováno v roce 1971 v časopise *Nature*
- provedeno na skupině 135 dobrovolnic z dívčí koleje
- synchronizace ženských cyklů záleží na intenzitě a trvání soužití
- ne každá žena má stejně silný vliv na své partnerky (dominance)

Jde o signály chemické?

“Syndrom ženských domovů” (McClintock efekt)

- extrakt potu vybrané dominantní ženy nanášela na horní ret pokusných dobrovolnic, kontrolám jen rozpouštědlo (alkohol)
- po 4 měsících se ženám ošetřovaným výtažkem potu srovnaly měsíční cykly s cyklem dárkyně, zatímco dívky kontrolní skupiny si udržely své vlastní rytmy

Synchronizaci způsobuje feromon obsažený v lidském potu

Jak a čím ho ženy vnímají a jak jejich fyziologii ovlivňuje?

“Syndrom ženských domovů” (McClintock efekt)

- pokusy pokračují na laboratorních potkanech
- byla u nich rovněž pozorována synchronizace říje samic sdílejících stejnou klec
- vypracovala a pokusně ověřila model, který synchronizaci reprodukčních procesů uspokojivě vysvětloval

Předpokládal existenci dvou feromonů – jeden ovulaci urychluje a tím říji zkracuje, a druhý ovulaci opožďuje a říji tím prodlužuje.

Platí stejný model i u člověka?

“Syndrom ženských domovů” (McClintock efekt)

- s Kathleen Sternovou provedly pokus s 29 dobrovolnicemi, studentkami a mladými zaměstnankyněmi chicagské university

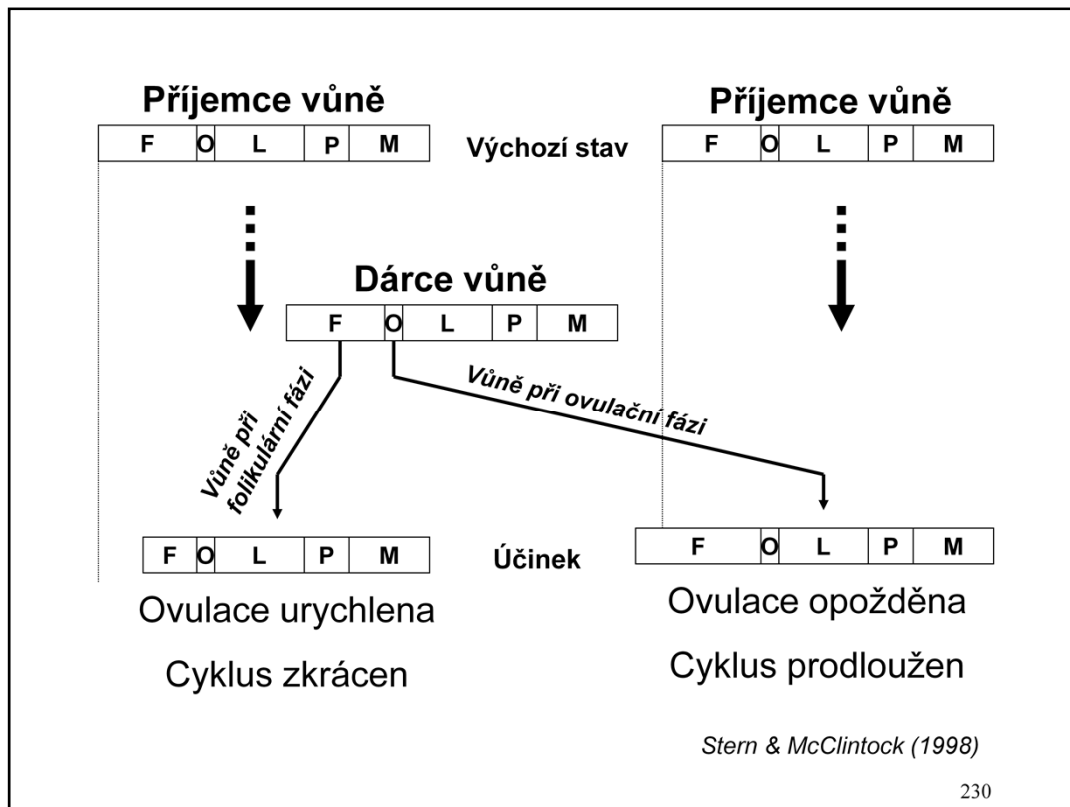
- od 9 dárek v různých fázích menstruačního cyklu odebíraly vzorky potu a po dobu dvou cyklů extrakt denně nanášely pod nos ostatním dvaceti ženám

- u každé z nich stanovily dobu ovulace

- výměšky kožních žláz žen ve folikulární fázi cyklu zkrátily folikulární fázi příjemkyň, emance během ovulace folikulární fázi příjemkyň prodloužily; ostatní fáze cyklu žádný extrakt neovlivnil

Podáváním extraktu potu se podařilo systematicky ovlivnit biologické hodiny pokusných dobrovolnic.

První přímý důkaz, že těkavé látky člověka ovlivňují prostřednictvím neurohormonálních mechanismů biologický rytmus jiného jedince.



Folikulární fáze

Pod vlivem hormonu stimulačního folikul (FSH) začne ve vaječniku růst několik folikulů (míšků), obsahujících vajíčka, jejichž obaly následně produkují estrogeny, primárně estradiol. Tyto estrogeny iniciují vývin nové vrstvy endometria s typickým histologickým (tkáňovým) vzhledem, zvané proliferální (bující) endometrium. Stoupající hladina estrogenů působí pomocí negativní zpětné vazby na hypofýzu a snižuje sekreci FSH. Inhibin vylučovaný největším folikulem též snižuje FSH. Typicky jen nejrozvinutější folikul (vedoucí folikul) se může dále rozvinout, protože má víc receptorů FSH; růst ostatních folikulů se zastaví. Proto normálně v každém cyklu dozraje jen 1 vajíčko.

Ovulace

Folikul krátce před uvolněním vajíčka.

Když folikul dozraje, vylučuje tolik estradiolu, že spustí — tzv. pozitivní zpětnou vazbou — akutní uvolňování luteinizačního hormonu (LH). V 28-denním cyklu tato LH vlna začíná kolem 12. dne cyklu a může trvat 48 hodin. Uvolněním LH dozraje vajíčko a oslabí se stěna folikulu ve vaječniku. Tento proces vede k ovulaci: uvolnění teď už zralého vajíčka, což je největší buňka těla (s průměrem asi 0,2 mm). Který z dvou vaječníků — levý nebo pravý — ovuluje, se zdá být náhodné; žádná známá pravo-levá koordinace není. Vejcovod potřebuje zachytit vajíčko a poskytnout prostor na oplození. V cervixu (děložním hrdle) se vyvine charakteristicky jasný a vláknitý hlen, vykazující spinnbarkeit (tažnost), a je připraven propustit spermie ze sexuálního styku. Některé ženy mají během ovulace charakteristickou bolest zvanou Mittelschmerz („middle pain“ nebo „bolest uprostřed (cyklu)“), která trvá několik hodin. Mnoho žen vnímá vaginální změny a změny cervikálního hlenu během ovulace, zvláště když u sebe znaky plodnosti sledují. Neoplozené vajíčko se rozloží.

Luteální fáze

Po ovulaci se zbytek foliklu transformuje do žlutého tělíska (corpus luteum) za podpory hormonů hypofýzy. Toto žluté tělísko bude produkovat po následující 2 týdny navíc k estrogenům i progesteron. Progesteron hraje životní roli při proměně proliferálního endometria do sekreční výstelky připravené na implantaci a podporující rané těhotenství. Progesteron trochu zvýší tělesnou teplotu, proto žena měřící si denně svou teplotu registruje, že se dostala do luteální fáze. Proběhne-li oplození vajíčka, to putuje jako rané embryo vejcovodem do děložní dutiny a implantuje se během asi 5 - 7 dní po ovulaci. Krátce po implantaci rostoucí embryo signalizuje svou existenci mateřskému systému - vytváří lidský choriový gonadotropin (hCG) - hormon využívaný pro test těhotenství. Tento signál má důležitou roli v udržování žlutého tělíska a umožňuje pokračování jeho produkce progesteronu. Bez těhotenství a bez hCG žluté tělísko zaniká a hladiny estrogenů a progesteronu klesnou. To nastaví podmínky pro další cyklus. Snížení hladiny progesteronu vede ke spuštění menstruačního krvácení (dojde k přerušení přívodu krve do endometria a jeho hypoxické nekróze (odumření z nedostatku kyslíku) a snížení hladiny estrogenů umožní pozdější růst hladin FSH pro dozrávání nových folikulů.

“Syndrom ženských domovů” (McClintock efekt)

Má v životě moderní ženy takový podivný feromon ještě nějaký význam?

- **nejbližší příbuzný druh člověka, u něhož byla obdobná synchronizace rozmnožovacích cyklů samic pozorována, je pavián**
- **Jeanne Altmannová se domnívá, že to samicím v tlupě poskytuje výhodu při výběru samce**
- **opičí samičky jsou přístupné námluvám samců jen v době ovulace**
- **jsou-li všechny samice ve stejnou dobu v říji, je nepravděpodobné, že by je dominantní samec před níže postavenými rivaly všechny uhlídal**

Samičky si proto mohou v omezené míře partnera vybírat.

**Snižuje to riziko šíření geneticky podmíněných vad,
pokud by byl alfa-samec nositelem vadného genu.**

Vomeroferiny (story prof. Berlinera)

Produkty kožních žláz považované za lidské feromony

- v 50. letech studuje anatom David L. Berliner na universitě státu Utah lidskou kůži a její produkty na extraktech sádrových obvazů zlomenin

- u jednoho vzorku zjišťuje podivné účinky na chování lidí: způsobuje pocit uvolnění, pohody a zvýšené sebedůvěry

- v 60. letech opouští akademickou dráhu a jako byznysmen zbohatne

Story prof. Berlinera pokračuje

- v r. 1989 zakládá Erox Corporation, která v r. 1991 spoluorganizuje v Paříži sympozium, na němž je zveřejněna izolace a účinky vomeroferinů (jen kódy)

- v r. 1993 Erox vypouští první dva parfémy (*Realm Man* pro muže, *Realm Woman* pro ženy) s účinky feromonů (nejsou to afrodisiaka)

V r. 1994 Berliner patentuje přípravu, strukturu a použití 5 vomeroferinů

Berlinerovu „story“ publikuje
The Wall Street Journal, Vogue aj.,
autor se stává TV celebritou,
feromonové parfémy „letí“

Zdroje feromonů u člověka

- sekrety různých typů kožních žláz (potní, apokrinní, tukové), jejichž směs představuje pro každého jedince specifickou čichovou pečeť
- žlázy jsou koncentrovány na určitých, často ochlupených místech, v podpaždí, pubické krajině, v okolí prsních bradavek, na horním rtu
- charakteristický pach potu vzniká bakteriálním rozkladem kožních sekretů
- jejich biochemické složení závisí na faktorech genetických, hormonálních, metabolických, potravních, psychických a dalších
- obsahují mj. různé steroidní látky – *vomeroferiny* –, jež poskytly podklady pro syntézu četných analogů

Výzkum v této oblasti steroidů zneužívá voňavkářský průmysl. Slovo feromon je v reklamních sloganech synonymem atraktivity, sebevědomí, dobré pohody a úspěchu.

Existuje proto vědecky podložené ospravedlnění?

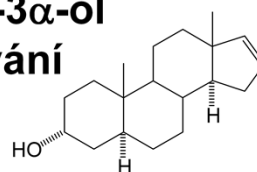
Samčí sexuální feromony

Samice potkanů mají v přítomnosti samčích feromonů prokazatelně vyšší plodnost. Existuje něco podobného u člověka?

- Winnifred Cutlerová: častý kontakt s mužem – a nemusí se jednat jen o styk pohlavní – má pozitivní vliv na ženinu plodnost
 - ve spolupráci s Georgem Pretim pokusně zjišťovala, zda vůně mužského potu má nějaké účinky na hormonální soustavu ženy a tím i na její cykly
 - studovali ženy, jejichž cykly byly nepravidelné nebo jinak odchylné, a které neměly častý nebo pravidelný styk s mužem
 - pod vlivem látek z mužského potu se většině žen nepravidelnosti v délce menstruační periody srovnaly
- Pouhé působení mužských feromonů – i bez pravidelného intimního styku – může u ženy podpořit důležité předpoklady plodnosti.

Dobrá zpráva pro ženy, jejichž manželé často cestují,
nebo kterým je příliš časté milování proti mysli.

**Vomeroferin 5 α -16-androsten-3 α -ol
ovlivňuje společenské chování**



Dobrovolnice strávily 17 h pod vlivem androstenolu.

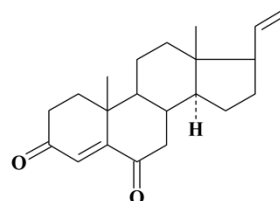
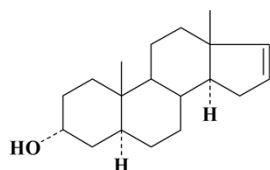
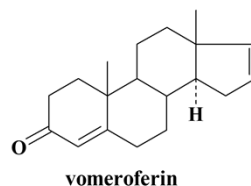
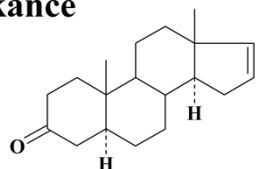
Psychoanalytické testy nazítří ukázaly, že

- ženy snáze navazovaly kontakt s muži**
- cítily se uvolněnější ve styku s muži**

Cowley & Brooksbank, *J. Steroid Biochem.* 39, 647 (1991).

Vomeroferiny a feromony

feromon kance



Berliner D.L., Monti-Bloch L.: *US 6331534* (2001). Steroids as neurochemical stimulators of the VNO to alleviate pain. (*Chem. Abstr.* **136**, 37829; 2002).

237

Androstadienone

Androstadienone is the current best candidate we have for a human pheromone. It is a component of human (in particular male) secretions. Does androstadienone meet Karlson & Luscher (1959) "pheromone" criteria? In human studies in which androstadienone had access to the olfactory mucosa both physiological and psychological effects have been reported (Jacob and McClintock, 2000; Jacob, Hayreh and McClintock, 2001; Jacob, Garcia, Hayreh and McClintock, 2002; Bensafi et al., 2003; Lundstrom et al., 2003; Bensafi et al 2004a, 2004b; Cornwell et al., 2004). While none of these changes can be regarded as the behavioural changes required for a compound to qualify as a pheromone, Savic et al. (2001) demonstrated that androstadienone activated the hypothalamus in a gender-specific manner (it activated the hypothalamus in women but not men). Compared with other odorous substances, androstadienone activated the anterior part of the inferior lateral prefrontal cortex (PFC) and the superior temporal cortex (STP) in addition to olfactory areas (Gulyas et al., 2004). The PFC and STP have been implicated in aspects of attention, visual perception and recognition and social cognition.

Vomeroferiny (perspektivy použití)

Další výzkum ukáže, zda jsou použitelné i jako nové terapeutické prostředky; nevstupují do krevního řečiště, ale působí prostřednictvím olfaktorického systému a hypothalamu na neuroendokrinní soustavu v nano- až pikogramových množstvích (nepředpokládají se proto nežádoucí vedlejší účinky)

- k léčení depresí, úzkostí, premenstruační tenze aj. psychických poruch
- pregna-4,20-dien-3,6-dion (PDD) zpomaluje srdeční rytmus, dýchání, rozšiřuje kapiláry
- k léčení obezity (ovládání apetitu) nebo mužské impotence (ovládání libida)
- jako antikoncepce (ovlivňováním ovulace)
- k léčení hormonálně závislých forem rakoviny u mužů i žen

Stanou se vomeroferiny terapeutiky budoucnosti?

Přírodní látky jako model pro syntetické biocidy

z latinského **-cida** (= zabíječ)

biocid zabíjí vše živé

pesticid zabíjí škodlivé organismy
(z hlediska člověka)

insekticid zabíjí hmyz (insectum)

herbicid zabíjí rostliny (herba)

fungicid zabíjí houby a plísně (fungus)

baktericid zabíjí bakterie (bacterium)

Pesticidy

- Mezi pesticidy se někdy řadí i látky, které nezabíjejí, ale jinak zbavují nežádoucích organismů (repelenty, chemosterilanty, růstové regulátory, defolianty).

Požadavky na vlastnosti pesticidů

- hubení cílového organismu
- selektivita účinku
- účinek v co nejnížší dávce
- neškodnost pro užitečné organismy
- neškodnost pro životní prostředí
- netoxické pro člověka
- (rychlá) degradace na neškodné látky

Insekticidy - dělení

- podle druhu škůdců (aficidy na mšice...)
- podle vývojových stádií, na které působí (ovicidy, larvicidy...)
- podle způsobu aplikace (kontaktní, vdechovací, systemické - jsou rozváděny rostlinou a předány hmyzu požerem...)
- podle původu (přírodní a syntetické)
- podle chemické struktury (anorganické a organické)
- podle mechanismu účinku

Podle mechanismu účinku

- **působí na:**
- Nervový systém - organofosfáty, karbamáty, pyrethroidy (dnes nejpoužívanější)
- Růst a vývoj - juvenoidy, ecdysteroidy, inhibitory syntézy chitinu (deriváty benzoyl-močoviny)
- Metabolismus a produkci energie
- Oběhový systém - to jsou některé rodenticidy (působí antikoagulačně)

Rozdělení pesticidů

| | |
|--------------|--|
| Akaricidy | hubí roztoče (řec. akari, angl. mite) |
| Algicidy | hubí řasy (lat. alga, angl. sea or waterweed) |
| Avicidy | hubí nebo odpuzují ptáky (lat. avis, angl. bird) |
| Baktericidy | hubí bakterie (lat. bacterium) |
| Fungicidy | hubí houby (lat. fungus, angl. mushroom) |
| Herbicidy | hubí plevely (lat. herba, angl. weeds) |
| Insekticidy | hubí hmyz (lat. insectum) |
| Larvicidy | hubí larvy (lat. lar) |
| Moluskocidy | hubí měkkýše (lat. molluscus, angl. slugs) |
| Nematocidy | hubí háďátka (lat. nematoda, angl. thread) |
| Ovicidy | hubí vajíčka (lat. ovum, angl. eggs) |
| Pedikulicidy | hubí korýše (lat. pedis, angl. louse) |
| Piscicidy | hubí ryby (lat. piscis, angl. fish) |
| Predicidy | hubí predátory (lat. praeda, angl. prey) |
| Silvicidy | hubí stromy a keře (lat. silva, angl. forest) |
| Rodenticidy | hubí hlodavce (lar. rodere, angl. gnaw) |
| Termiticidy | hubí termity (lat. termes, angl. wood-boring worm) |

Jiné metody boje proti škodlivému hmyzu

Bioracionální pesticidy

- kombinace feromony + insekticidy
- biologický boj (paraziti, patogenní houby, *Bacillus thuringiensis*)
- ovlivnění vývoje (analogy hormonů)
- fyzikální metody

**30 % ztrát celosvětové zemědělské produkce
díky škůdcům a plísním**

245

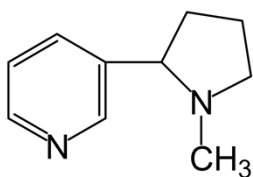
biologický boj – taky **pathogenní houby** (např. saranče pouštní)

jednou za 8-10 let se urodí asi 10 miliard

jedinců

kombinace feromonu a insekticidu (***Bacillus***) samečci se kontaminují chorobou v lapáku, přenesou ji při páření na samičku a ta buď zahyne, nebo ještě stihne kontaminovat vajíčka

Insekticidy - přírodní vzory

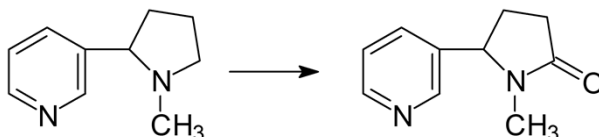


nikotin

- *Nicotiniana ssp.* (tabák)
- jedovatý pro živočichy vč. člověka
- (LD₅₀ 55 mg/kg u krys)

Ale:

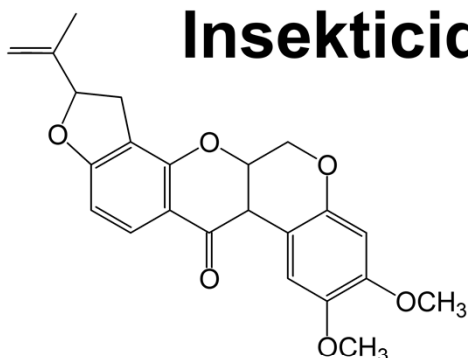
Manduca sexta je škůdcem na tabáku
detoxikační princip:



246

nikotin se používal proti savému hmyzu již po r. 1700

Insekticidy - přírodní vzory



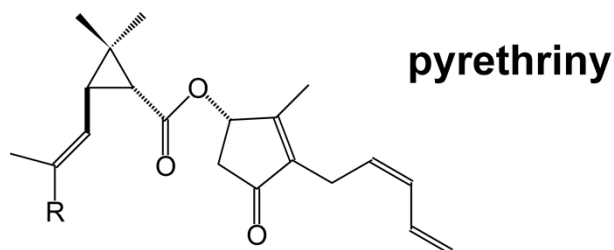
rotenon

- z kořenů tropických rostlin *Derris* (motýlokvěte)
- původně šípový jed
- specifický účinek (velmi toxický pro ryby, méně pro teplokrevné)
- používán pod názvem „derrisový prášek“ (sušený a mletý kořen rostliny)
- rychle se rozkládá na světle a vzduchu

247

rotenon LD50 25-75 mg/kg

Insekticidy - přírodní vzory

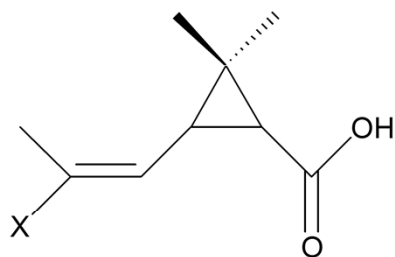


- z květů tropických kopretin (*Chrysanthemum*)
- „dalmatský prášek“, později extrakt používán jako spray v domácnostech (Keňa - 10 000 t ročně)
- nízká toxicita pro teplokrevné (400 mg/kg)
- strukturní analogy - **pyrethroidy**

248

pyrethriny od r. 1820

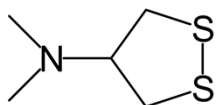
Přírodní pyrethriny



$X = \text{CH}_3$ kyselina chrysantemová

$X = \text{COOCH}_3$ kyselina pyrethrová

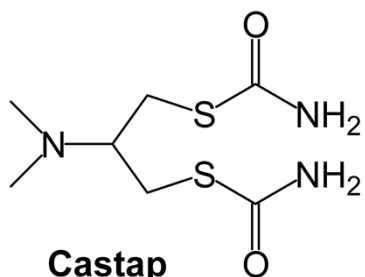
Insekticidy - přírodní vzory



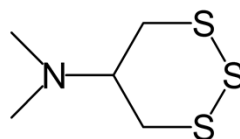
nereistoxin

(*Nereis* ssp. - mořský červ)

Syntetické analogy



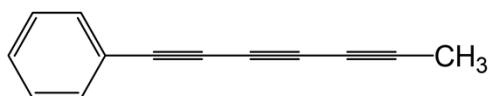
Castap



firma Sandoz

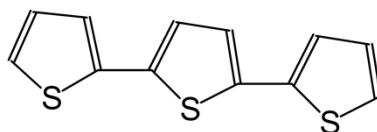
Insekticidy - přírodní vzory

- **fotosensibilátory**
- polyacetyleny a polythienyly, furokumariny
- účinné pouze za spolupůsobení UV (i ze slunečního světla)
- působí na dělení buněk (inhibice)



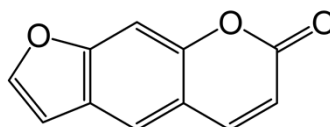
složnokvěté, účinek srovnatelný s DDT

Insekticidy - přírodní vzory



α -terthienyl

- aksamitníky (*Tagetes*); alkylované syntetické analogy mají i vyšší účinnost



psoralen



- furokumariny (bergamotová silice, bolševník)

α -terthienyl je allelopatickou látkou z aksamitníků

Syntetické insekticidy

Příklady podle typu struktur:

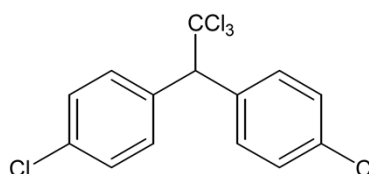
anorganické - sloučeniny arzenu, fluoru, barya, síry, selenu aj.

převážně žaludeční jedy

jsou nespecifické (hubí i teplokrevné živočichy)

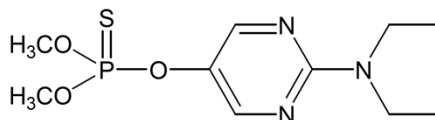
organické - hlavní skupiny:

chlorované uhlovodíky (DDT)

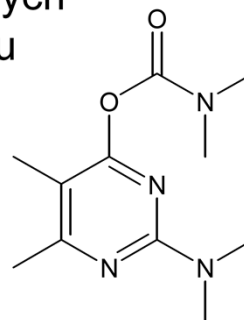


Organické insekticidy

organofosfáty - estery kyseliny fosforečné a jejích
sirných analogů (**Actellic**); zasahují nervový systém
inhibicí cholinesterázy



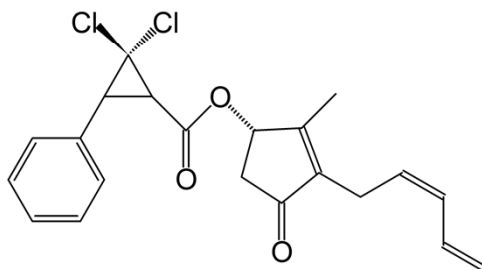
karbamáty - deriváty methylkarbamových
kyselin (**Pirimor**); mechanismus účinku
jako organofosfáty



nitrolátky (dinitrofenoly)

Organické insekticidy

pyrethroidy - skupina strukturně podobných esterů; syntetické analogy (**Biolit**); vysoká účinnost (5-50 g na 1 ha, tj 200x méně než starší typy insekticidů)



- **fenethrin** (Farkaš, Šorm - ÚOCHB)
- synergické účinky některých látek (lignany)

255

první **pyrethroidy** měly okamžitý účinek na hmyz, ale byly málo stálé (1 den) vůči světlu a kyslíku

syntetické od r. 1947

tvoří 30% podíl insekticidů v celosvětovém měřítku

relativně drahá výroba (složité syntézy), ale nízké dávky, vyšší stabilita, nízká ekotoxicita (dobrá odbouratelnost)

tradiční pyrethroidy – s cyklopropanovým kruhem (Ambush)

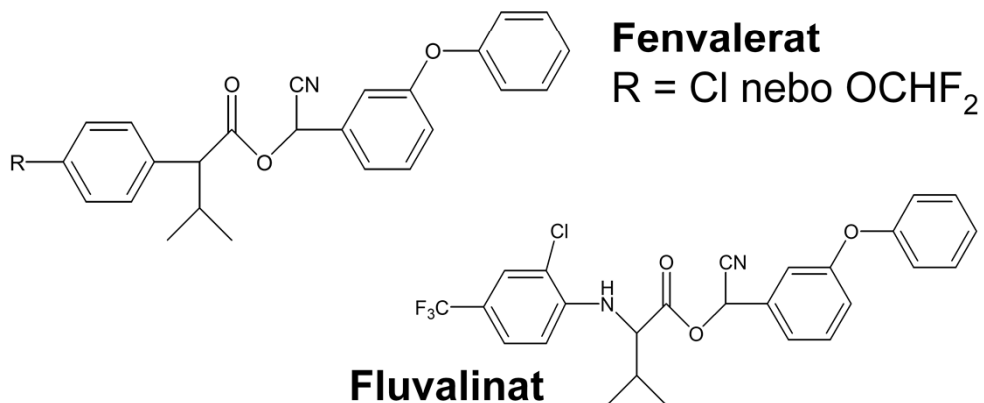
netradiční – bez cyklopropanu

toxická 100 – 450 mg/kg

Syntetické pyrethroidy

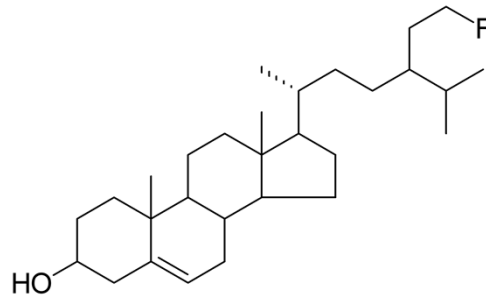
postupně byla obměňována struktura obou esterových částí molekuly

Pyrethroidy netradičního typu:



Insekticidy na bázi kyseliny fluorooctové

kyselina fluorooctová - FCH_2COOH - je přijata do
Krebsova cyklu jako substrát, ale na úrovni kyseliny
fluorocitronové dojde k inhibici -zástava dýchání



fluorovaný sitosterol $\xrightarrow{\text{enzym}}$ cholesterol + **FCH_2COOH**

Chemosterilanty

- narušují dělení buněk (mitózu)
- u dospělého hmyzu inhibují vývoj a zrání gonád
- některé byly objeveny při hledání kancerostatik

Chemosterilanty - typy sloučenin

- Alkylační činidla, aziridiny, 5-fluorouracil, analogy kyseliny listové, triaziny, deriváty močoviny.
- Chemosterilanty působí při perorálním podání, ale jejich použití je omezeno mutagenními účinky na vyšší živočichy a člověka.

Chemosterilanty - možné použití

- sterilizace samců a jejich vypuštění do volné přírody (u much tse-tse používaná metoda při sterilizaci samců gama-zářením)

260

sterilních samců musí být 10:1, aby se docílilo snížení populace

Repelenty (odpuzovače)

- repelenty působí na čichové orgány hmyzu (jsou těkavé povahy)
- nezabíjejí hmyz, ale způsobují jeho útěk směrem od zdroje pachu

Požadované vlastnosti komerčních repelentů

- odpuzují hmyz
- nedají se snadno setřít
- působí delší dobu
- nepoškozují oděv
- nezapáchají

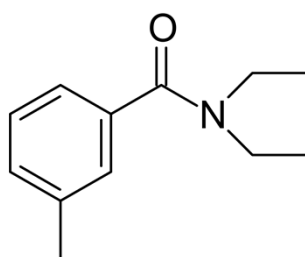
Známé rostlinné repelenty

- myrcen, limonen, kapsaicin, kyselina valerová, isovalerová a máselná, kumarin
- extrakt plodů pepře černého, listy bazalky, květů vratiče



Repelenty působící na bodavý hmyz

- **N,N-diethyl-3-toluamid**
- nejznámější syntetický repelent proti komárům (Off)
- působí i na klíšťata po dobu až 10 hodin

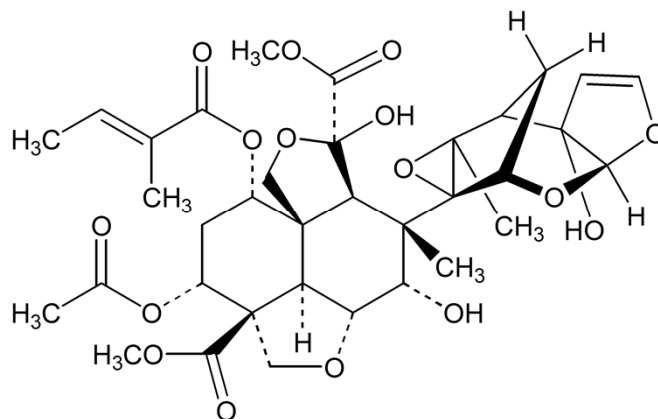


264

Firma Johnson (Off)

Potravní deterenty (antifeedanty)

Azadirachta indica („neem tree“)



azadirachtin

Azadirachtin

- nejúčinnější známý antifeedant
- registrován pro použití v zemědělské výrobě, v ovocnářství
- prostředek používán při „organickém pěstování“
- aplikace - 1% roztok v organickém rostlinném oleji, z něho naředit na 0,3% vodný roztok (emulze), postřik v dávce 1000 l/ha (jabloně, kořenová zelenina)

266

Azadirachtin krom toho patří také do skupiny regulátorů růstu a vývoje. Po přijetí do těla narušuje ekdyzi a hmyz hyne. Ale jinak je to obecně zabiják jak na larvy, kukly a tak i dospělé a vajíčka...(mechanismus účinku není přesně známý) tzn. není moc specifický

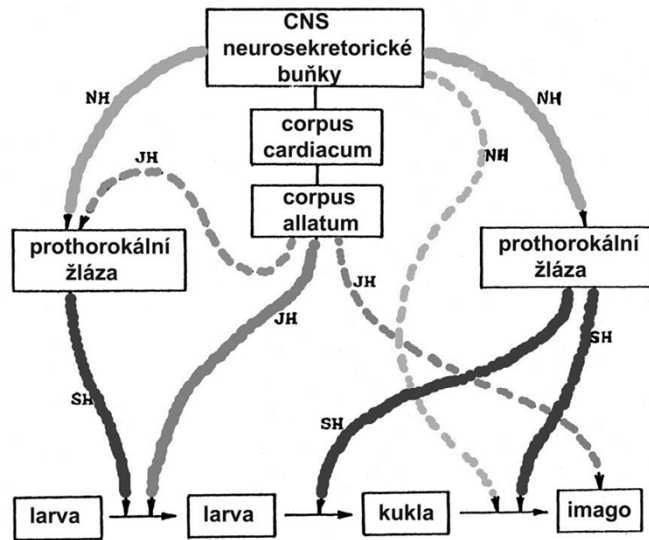
Regulátory růstu, vývoje a rozmnožování hmyzu (Insect Growth Regulators)

- selektivní účinek
- **stádia působení:**
 - růst a vývoj embrya
 - růst a vývoj larvy
 - přeměna na dospělé
 - vývoj a funkce reprodukčních orgánů

Hmyzí hormony

- neurohormony
- juvenilní hormony (JH)
- svlékací hormony (ekdysony)

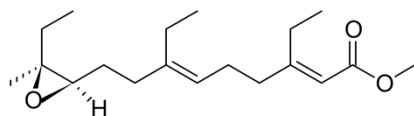
Podání IGR v biologicky nevhodné dávce nebo fázi vede poruchám vývoje a vylíhnutí jedinců neschopných přežití či rozmnožování.



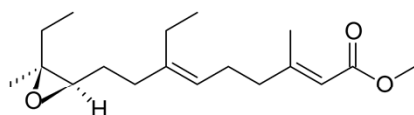
Obecné schéma hormonální regulace u hmyzu

NH neurohormony
 JH juvenilní hormony
 SH svlékací hormony

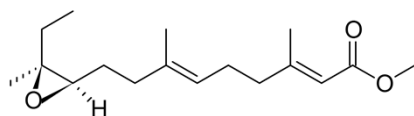
Struktury juvenilních hormonů



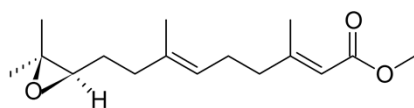
JH 0



JH I

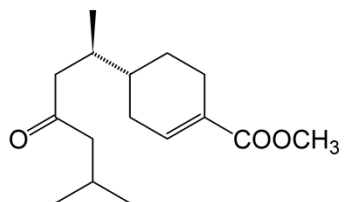


JH II



JH III

Juvenoidy z rostlin



juvabion

„papírový faktor“

Sláma 1965

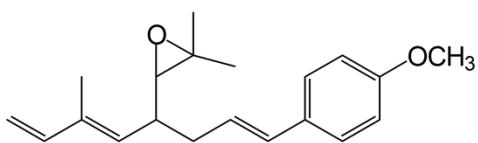
kanadská jedle

(*Abies balsamea*)

účinný na plošnice

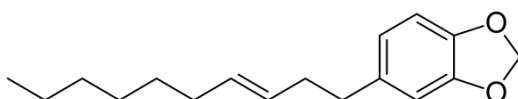


Další přírodní juvenoidy



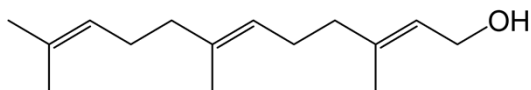
juvocimen 2

bazalka (*Ocimum basilicum*)
na plošnice o několik řádů
účinnější než JH I



juvadecen

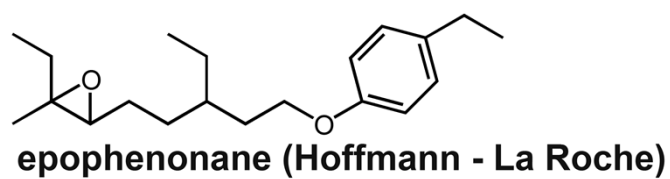
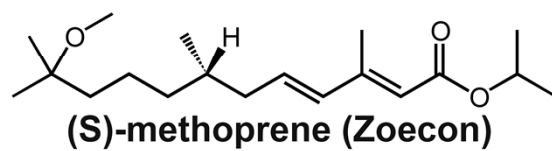
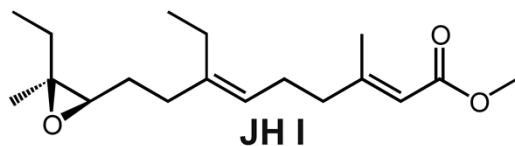
z pepřovníkovité rostliny
(*Macropiper*)



farnesol

z trusu potměníka (*Tenebrio*)

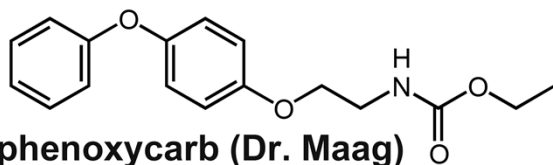
Syntetické juvenoidy



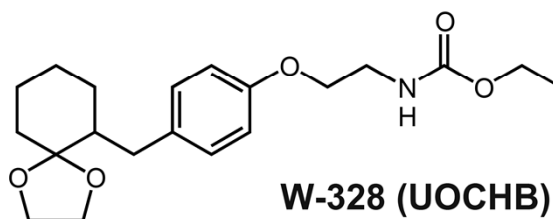
273

Methoprene – Monomorium pharaonis v nemocnicich.

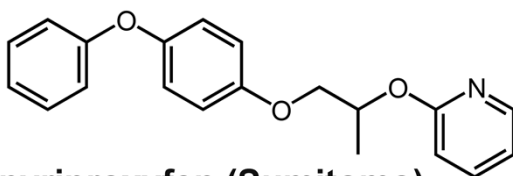
Syntetické juvenoidy



phenoxy carb (Dr. Maag)



W-328 (UOCHB)



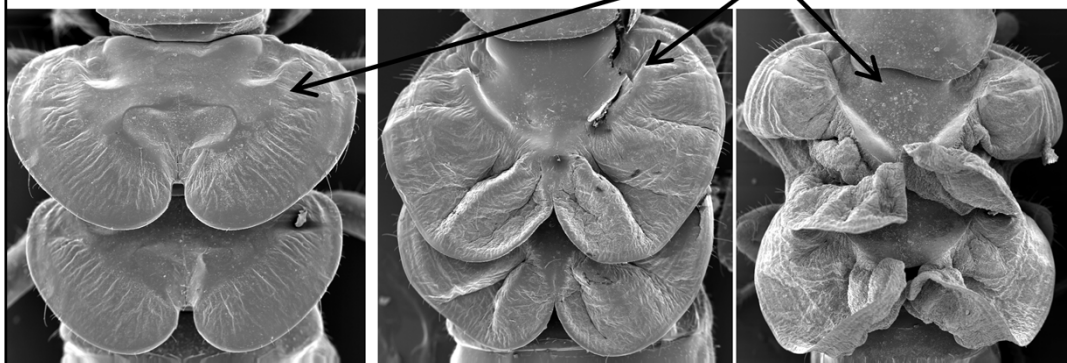
pyriproxifen (Sumitomo)

Termiti

normální
nymfa



nymfy po aplikaci JHA



Juvenoidy

- Ovlivnění determinace kast (až 90 % vojáků v kolonii)



děník

Prorhinotermes simplex



voják

Juvenoidy

- specifický účinek na hmyz (dávky na jedince μg – ng)
- netoxické vůči teplokrevným živočichům
- nehubí hmyz bezprostředně, ale brání přemnožení
- nejsou příliš stálé (vývoj vhodné formulace)
- kromě využití jako insekticidů 3. generace se juvenoidy využívají např. v hedvábnictví (prodloužení larválního stádia a tím zvýšení váhy zámotků - zvýšení produkce hedvábí až o 50 %)

Juvenogeny

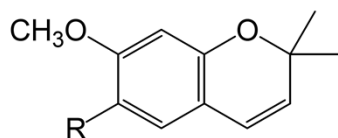
- prekursory JH nebo juvenoidů (prohormony)
- vyšší stabilita
- lepší rozpustnost ve vodě
- možnost systemické aplikace (zálivka, transport rostlinou, štěpení na juvenoid až na místě účinku)

278

juvenogeny – studuje se účinek na mšice pomocí systemické aplikace

juvenoidy – u sociálního hmyzu ovlivňují vývoj kast (např. u termitů vznikne účinkem juvenoidu až 90% vojáků, kteří se sami neuživí)

Anti-juvenoidy

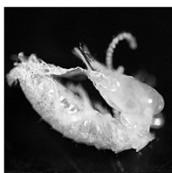


R = H nebo OCH₃

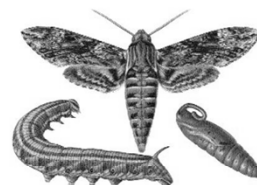
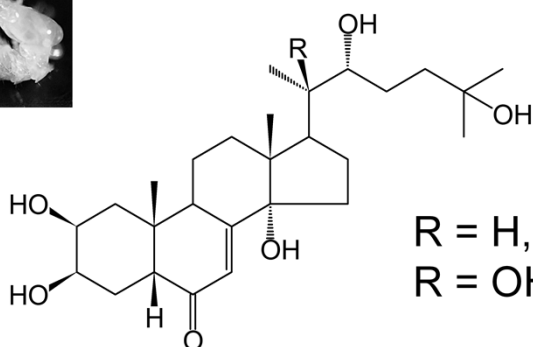
prekoceny (deriváty chromenu)
ze složnokvětých rostlin
(*Ageratum houstoniatum*)

- inhibují žlázu *corpus allatum* a tím biosyntézu JH
- důsledek - předčasná přeměna nedovyvinutých larev v znetvořené či sterilní dospělce (adultoid)
- antijjuvenoidy mohou ovlivňovat vývoj hmyzu během všech larválních instarů kromě posledního (v posledním instaru se JH přestává produkovat)
- insekticidy 4. generace

Ekdysteroidy a fytoekdysteroidy



svlékáci hormony, ekdysony



z 500 kg kukel bource morušového
získáno 25 mg ekdysonu (1954)

Ekdysteroidy a fytoekdysteroidy

- Fytoekdysteroidy - strukturně příbuzné látky se stejným účinkem - přítomny v různých rostlinách ve vysokém obsahu (kapradina osladič - *Polypodium vulgare* nebo tis - *Taxus baccata*); pravděpodobná funkce - obrana rostliny před herbivorním hmyzem.
- Ekdysteroidy se využívají v hedvábnictví k manipulaci vývoje bource morušového.

281

svlékání – ve všech stádiích vývoje (larva-larva, larva-kukla, kukla-dospělec)

Použitá literatura

Monografie:

- Advances in Insect Chemical Ecology. R. T. Cardé & J. G. Millar, Cambridge University Press, Cambridge, 2004.
- Biosynthesis in Insects. E. D. Morgan, RSC, Cambridge, 2004.
- Bumblebees. Behaviour and Ecology. D. Goulson, Oxford University Press, Oxford 2003.
- Hmyzí rodiny a státy. J. Žďárek, Academia, Praha, 2013.
- Chemie a biochemie přírodních látek (Kohout L., Svatoš A., ed.). ÚOCHB AVČR, Praha 2002.
- Chemie přírodních látek. Edice Macro N-8, Praha 1982.
- Introduction to Ecological Biochemistry. J. B. Harborne, Academic Press, London 1988.
- Insect Chemical Ecology. An Evolutionary Approach. B. D. Roitberg & M. B. Isman, Chapman & Hall, New York, 1992.
- Insect Development. L. I. Gilbert, Academic Press, Elsevier, Oxford, 2009.
- Insect Pheromone Research. New Directions. R. T. Cardé & A. K. Minks, Chapman & Hall, International Thomson Publishing, New York, 1997.
- Methods in Chemical Ecology. Vol. 1. Chemical Methods. J. Millar & K. F. Haynes, Kluwer Academic Publishers, London 1998, second printing 2000.
- Methods in Chemical Ecology. Vol. 2. Bioassay Methods. J. Millar & K. F. Haynes, Kluwer Academic Publishers, London 1998, second printing 2000.
- Pheromones and Animal Behaviour. T. D. Wyatt, Cambridge University Press, Cambridge, 2003.
- Physiological Systems in Insects. M. J. Klowden, Academic Press, Elsevier, Oxford, 2007.
- Proč vosy, včely, čmeláci, mravenci a termity? aneb Hmyzí státy. J. Žďárek, Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky, Praha, 1997.
- Techniques in Pheromone research. H. E. Hummel & T. A. Miller, Springer-Verlag, New York, 1984.
- The Superorganism: The Beauty, Elegance & Strangeness of Insect Societies. B. Hölldobler & E. O. Wilson, W.W. Norton & Co., New York, 2009.

Články v časopisech:

- Berliner et al.: The functionality of the human vomeronasal organ (VNO): Evidence for steroid receptors. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1996**, 58, 259-265.
- Borg-Karlson A.-K. et al.: Enantiomeric composition of monoterpene hydrocarbons in different tissues of Norway spruce, *Picea abies* (L.) Karst. A Multidimensional gas chromatography study. *Acta Chem. Scand.* **1993**, 47, 138-144.
- Cowley J.J. & Brooksbank B. W.: Human exposure to putative pheromones and changes in aspects of social behaviour. *J. Steroid Biochem.* **1991**, 39, 647-659.
- Eisner T. & Meinwald J.: The chemistry of sexual selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, 92, 50-55.
- Hamilton W. D.: The evolution of altruistic behavior. *American Naturalist* **1963**, 97, 354-356.

- Hanus et al.: Sexual communication in the termite *Prorhinotermes simplex* (Isoptera, Rhinotermitidae) mediated by a pheromone from female tergal glands. *Insectes Soc.* **2009**, *56*, 111-118.
- Havlíček J. & Lenochová P.: The effect of meat consumption on body odor attractiveness. *Chem. Senses* **2006**, *31*, 747-752.
- Hovorka O. et al.: Premating behavior of *Bombus confusus* males and analysis of their labial gland secretion. *J. Chem. Ecol.* **1998**, *24*, 183-193.
- Jacob S. & McClintock M.: Psychological state and mood effects of steroidal chemosignals in women and men. *Horm. Behav.* **2000**, *37*, 57-78.
- Jacob S. et al.: Psychological effects of musky compounds: comparison of androstadienone with androstenol and muscone. *Horm. Behav.* **2002**, *42*, 274-283.
- Karlson P. & Lüscher M.: 'Pheromones': a New Term for a Class of Biologically Active Substances. *Nature* **1959**, *183*, 55-56.
- Kindl J. et al.: Scent marking in male premating behavior of *Bombus confusus*. *J. Chem. Ecol.* **1999**, *25*, 1489-1500.
- Kindl J. et al.: Námluvy čmeláků a pačmeláků. *Živa* **1998**, 169-172.
- Krishnakumarant A. & Schneiderman H. A.: Prothoracotrophic activity of compounds that mimic juvenile hormone. *J. Insect Physiol.* **1965**, *11*, 1517-1532.
- Lindström M. et al.: Variation of enantiomeric composition of α -pinene in Norway spruce, *Picea abies*, and its influence on production of verbenol isomers by *Ips typographus* in the field. *J. Chem. Ecol.* **1989**, *15*, 541-48.
- McClintock M. K.: Menstrual synchrony and suppression. *Nature* **1971**, *229*, 244-245.
- Monti-Bloch L. & Grosser B. I.: Effect of putative pheromones on the electrical activity of the human vomeronasal organ and olfactory epithelium. *Steroid Biochem. Mol. Biol.* **1991**, *39*, 573-82.
- Monti-Bloch L. et al.: The human vomeronasal system. A review. *Ann. NY Acad. Sci.* **1998**, 855, 373-389.
- Savic I. et al.: Smelling of odorous sex hormone-like compounds causes sex-differentiated hypothalamic activations in humans. *Neuron* **2001**, *31*, 661-668.
- Sillam-Dussès D. et al.: Identification by GC-EAD of the two-component trail-following pheromone of *Prorhinotermes simplex* (Isoptera, Rhinotermitidae, Protermitinae). *J. Insect Physiol.* **2009**, *55*, 751-757.
- Slessor K. N. et al.: Semiochemical basis of the retinue response to queen honey bees. *Nature* **1988**, *332*, 354-356.
- Svatoš A. et al.: Identification of a new lepidopteran sex pheromone in picogram quantities using an antennal biodetector: (8E,10Z)-Tetradeca-8,10-dienal from *Cameraria ohridella*. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 7011-7014.
- Šobotník J, et al.: Chemical warfare in termites. *J. Insect Physiol.* **2010**, *56*, 1012-1021.
- Tengö J. & Bergström G.: Cleptoparasitism and odor mimetism in bees: Do *Nomada* males imitate the odor of *Andrena* females? *Science* **1977**, *196*, 1117.
- Valterová I.: Obranné látky hmyzu. *Chem. Listy* **1983**, *77*, 594-624.
- Valterová I., Urbanová K.: Chemické signály čmeláků. *Chem. Listy* **1997**, *91*, 846-857.

Chemická ekologie živočichů

Irena Valterová

© Česká zemědělská univerzita v Praze, 2015

Počet stran 284

První vydání

ISBN 978-80-213-2568-5