

Produktionen av allelokemikalier hos olika växter som urvalsgrund i jakten på gener för resistens mot insekter och andra skadegörare

BENGT Å. ANDERSSON, LENNART LUNDGREN, GÖSTA NORELIUS OCH GUNNAR STENHAGEN

Andersson, B. Å., Lundgren, L., Norelius, G. & Stenhagen, G.: Produktionen av allelokemikalier hos olika växter som urvalsgrund i jakten på gener för resistens mot insekter och andra skadegörare. [The production of allelochemicals in different plants as a criterium of selection in the search for genes of resistance against insects and other pests.] – Ent. Tidskr. 100:130–134. Lund, Sweden 1979. ISSN 0013-886x.

To avoid "spray problems" the best way to make use of the chemical defence in plants is to build it into resistant varieties as a base of an integrated control of insects and other pests. Very little is known of about the chemistry of plant resistance. Selection is mainly based on the results of spontaneous and induced pest attacks. Plant breeders need methods to diagnose the changes in the allelochemic contents of plants also for the control of health consequences of plant breeding. Survey pictures of the chemicals emitted spontaneously and after the plant is wounded ("leakograms" and "woundograms") could in the first step be used for fingerprint comparisons without a laborious identification of the different components. A method has been designed to isolate and concentrate plant effluents on adsorbents. Capillary gas chromatographic leaf-woundograms from seven cultivars of *Lycopersicon esculentum* show that the modern tomato is surrounded by an amazingly uniform allelochemic barrier. Very divergent woundograms from two wild *Lycopersicon* species indicate that the woundogram method can be a useful tool in the search for chemical resistance characters. Qualitative and quantitative differences between recorded leaf-woundograms from prevalent pesticide demanding potato varieties and new field resistant cultivars may make it possible to interpret and improve the resistance.

B. Å. Andersson, L. Lundgren, G. Norelius & G. Stenhagen, Dept. of Biochemical Ecology, University of Göteborg, Kärrgat. 6, S-431 33 Mölndal, Sweden.

Inledning

Hormoner, kemiska signaler inom individen, och feromoner, kemiska signaler inom arten, är idag begrepp som kan användas utan närmare förklaring. Trots att det är uppenbart att kemisk kommunikation mellan olika arter spelar en dominerande roll inom ekosystemen saknar vi en lika väl etablerad term för kemiska signaler mellan olika arter. Det på svenska något otypliga ordet allelokemikalier (Whittaker 1970) som används här har fått en viss spridning. Brown et al. (1970) indelar allelokemikalierna i allomoner och kairomoner efter deras positiva anpassningsvärde för avgivaren resp. mottagaren. Begreppet kairomoner har kritiserats. Äggläggning- och ätaktivatorer t.ex., som leder en anpassad växtätare till dess värdväxt, är i regel felslagna försvarssubstanser som fortfarande är verk-samma mot andra potentiella angripare. Kairomonerna skulle således kunna inordnas under allomonerna. Pasteels (1977) föreslår därför att kemiska signalsubstanser (semiokemikalier,

Law et al. 1971) indelas i hormoner, feromoner och allomoner (kemiska mellanartssignaler).

Resistens – ett fenomen med övervägande kemisk bakgrund

Hos de flesta växter är resistens regel, mot-taglighet undantag. Följaktligen är olifagi regel bland de flesta växtätande insekter och även bland andra växtskadegörare. Flertalet landlevande leddjur är anpassade till att äta döda växter och djur under mikrobiell nedbrytning. Anpassningen till en diet på fröväxter tycks ha inneburit betydande svårigheter (Southwood 1972). Åsikterna om bladmassans näringsvärde har svängt från uppfattningen att alla växter ut-gör en näringsmässigt acceptabel föda för insek-ter (Fraenkel 1953) till att halten i bladen av för insekter viktiga ämnen ofta är kritiskt nära mininivån. Anpassningen till bladätare tycks ofta ha gått över ett skede med ett näringsmäs-sigt mindre äventyrligt pollenätande.

Enighet råder om att växtens försvarsallokemikalier spelar en nyckelroll vid värdväxtvalet, dock inte ensamma som man tidigare antog utan i samspel med andra för insekten viktiga ämnen i växten. En framgångsrik motanpassning till växtens kemiska försvarsarsenal kan innefatta åtminstone tre steg, 1) tolerans av ägglägnings- och ätrepressorer i växten, 2) selektion av de forna försvarssubstanserna som aktivatorer för äggläggning och ätande, 3) utnyttjande av växtens allelokemikalier som feromoner (Miller et al. 1976, Hendry 1976) eller försvarssubstanser (Rothschild 1972, Eisner et al. 1974) direkt eller som utgångsmaterial för den egna syntesen.

Insektens bild av växten är inte en mosaik av enstaka oberoende stimuli utan centrala nervsystemet tycks dechiffrera och sammanställa intrycken till ett totalmönster, en "gestalt". Elektrofysiologerna har påvisat flera fall av mönsterbildning genom överledning mellan nervbanor (Staedler 1977).

Ett sätt att praktiskt utnyttja resistensegenskaperna hos växterna är att isolera, identifiera, renframställa eller syntetisera de aktiva allelokemikalierna. Dessa ämnen kan sedan användas för att förstärka det otillräckliga försvaret hos våra kulturväxter. Arsenalen av kända allelokemikalier, utöver de klassiska nikotin, rotenon och pyretrum, har utökats genom nya identifieringar (Schoonhoven 1972, Hedin et al. 1974, Kogan 1977) och modifieringar av de ursprungliga molekylerna. Detta sistnämnda sätt att använda allelokemikalierna inrymmer en hel del av de problem som kännetecknar övrig "sprutbekämpning". En manipulering av de naturliga molekylerna innebär alltid en risk för förstörande av goda egenskaper såsom nedbrytbarhet och ofarlighet för människan. En annan konsekvens är att intresset i alltför hög grad kommit att inriktas på toxiska växtsubstanser. Pasteels (1977) har påpekat att giftigheten hos en substans inte är något bra mått på försvarseffektivitet. Selektionen bör ha gynnat bortstötande, icke dödande substanser som hänvisar angriparen att livnära sig av växtens konkurrenter.

Resistensförädlingens behov av metoder för allelokemikaliediagnos

Ingen kontrollmetod kan ensam lösa skadeproblemen inom jordbruk och skogsbruk. Som

regel krävs en integrerad kontroll anpassad efter de aktuella skadegörarna. Självklart bör man först undersöka möjligheterna till självförsvar innan behov och möjligheter till försvarshjälp inventeras. Ur den synpunkten är det förvånande att inte all kontroll av skadegörare på våra kulturväxter baseras på resistensförädling. Efter hand som nackdelarna med pesticidanvändningen visat sig, har intresset för resistensförädling ökat (SOU 1978:23). Goda resultat har uppvisats (Maxwell 1972, Roberts 1978) trots att mycket litet är känt om den kemiska bakgrunden till resistensen. Detta är allvarligt ur flera synpunkter. Man är huvudsakligen hänvisad till ett tidsödande indirekt urval av kemiska resistensegenskaper dvs att avvakta resultatet av spontana och framkallade angrepp av en skadegörare. Svårigheterna är särskilt påtagliga när det gäller sk horisontell resistens eller fältresistens som har en komplicerad genetisk bakgrund som manifesterar sig i flera kvantitativa icke rasspecifika resistensegenskaper. Att resistensförädlingen till stor del arbetar kemiskt "i blindo" har lett till att i USA FAD (Food and Drug Administration) i sina nya bestämmelser rest krav på en kartläggning av de kemiska förändringar som växtförädlarna åstadkommer och en undersökning av eventuella hälsokonsekvenser för de människor och djur som äter växterna. Förekomsten av toxiska och antinutriella ämnen i växter (Bruce 1978) har t o m lett till att röster höjts för att "stoppa resistensförädlingen". I vissa fall har också sorter stoppats (den amerikanska potatis-sorten Lenape) och förädlingsprogram avstannat (tex mot Coloradoskalbaggen) därför att man misstänkt ett orsakssammanhang mellan giftiga glykoalkaloider och resistens (Umærus 1978). Naturligtvis är det ingen lösning att stoppa förädlingen. All förädling innebär sannolikt oavsiktliga förändringar av växtens allelokemikalieproduktion. Slutsatsen är i stället att växtförädlingen är i stort behov av översiktliga metoder för allelokemikaliediagnos (Maxwell 1977). Dessa metoder bör täcka ett så brett substansspektrum som möjligt. De bör vara enkla, billiga och i görligaste mån fältmässiga. Man måste således kunna följa förändringar i allelokemikalieproduktionen för att sedan vid behov kunna sätta in ett dyrbarare och mer tidsödande identifieringsarbete.

I vårt arbete med att utveckla sådana metoder för allelokemikaliediagnos har vi utgått från för-

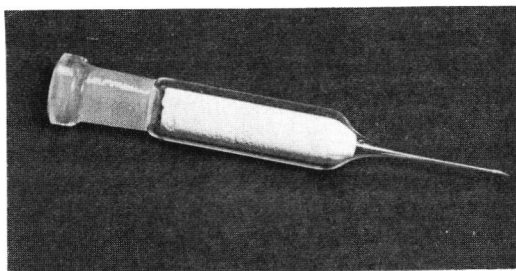


Fig. 1. Provkapsel för adsorption av växtsubstanser.
Sample tube for adsorption of plant chemicals.

hållandet att en framgångsrik angripare måste klara av växtens kemiska totalförsvar. Försvarsämnen bör ha selekterats bland de ämnen som växten avger spontant och efter att den sårats. Målet är således att kunna registrera "läckogram" och "sårogram" dvs översiktsbilder av de avgivna allelokemikalierna.

Isolering och koncentrerung av de allelokemikalier som växten avger

Efter att ha inventerat olika metoder för isolering och koncentrerung av allelokemikalierna (Lundgren et al. 1978, Andersson et al. in press) har vi valt att fånga växtsubstanserna på olika adsorptionsmedel t ex porösa polymerer. Hjärtat i systemet är provkapslar av glas utdragna till en injektionskapillär i en ändan. I andra ändan är kapseln försedd med en normalslipning för att senare lätt kunna anslutas till kapillärgaskromatografens bärgasledning (Fig. 1). Kapseln placeras i en adsorptionsapparat där den luft som omger växtprovet sugas genom kapseln med en bestämd hastighet (20 ml/min) under en viss tid (30 min). Flera typer av adsorptionsapparat har byggts även sådana som ger möjlighet till att ta flera parallella prov samtidigt från flera växtobjekt (Andersson et al. in press). Efter provtagningen förses kapslarna med glaspropp och förvaras djupfrysta under inert gas i täta glasrör med skruvlock.

Kapillärgaskromatografiska läckogram och sårogram

En kapillärgaskromatograf (Carlo Erba 2900) har anpassats för att registrera läckogram och sårogram (Andersson et al. under publ.). In-

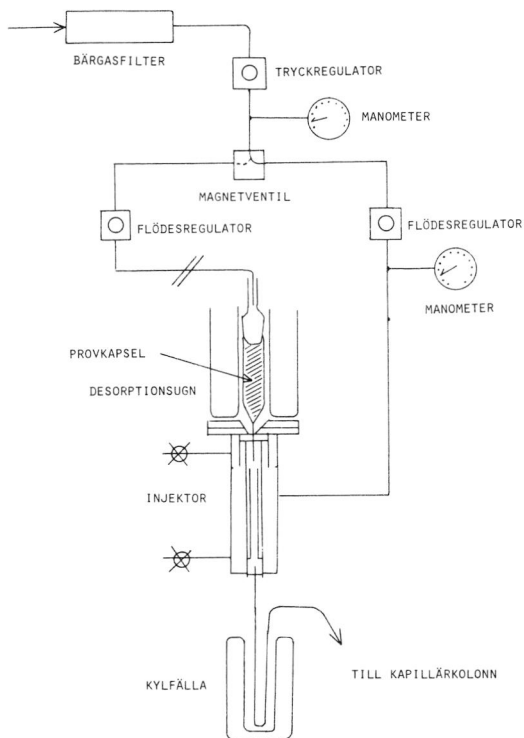


Fig. 2. Insläppsystem med kylfälla.
Inlet system with a cold trap.

släppssystemet har anpassats för de sprutformade provkapslarna. Desorptionsugnen kyls med flytande kväve medan bärgasen får driva ut luften ur kapseln. Kapselnålen sticks in genom injektionsmembranet, varpå provet desorberas genom uppvärmning. En samtidig injektion av hela provet på separationskolonnen åstadkoms genom kondensering i en kylfälla som därefter snabbt värms upp (Fig. 2).

För att kapillärkromatogrammen från olika prov skall kunna jämföras utan identifiering av de olika komponenterna är det viktigt att retentionstiderna är reproducerbara dvs att vandringsstiden genom kolonnen för en viss substans skiljer sig mycket litet från gång till gång. En grafisk integrator (Hewlett Packard 3385 A) används för att räkna ut retentionstiderna och mängden av varje provkomponent. Den här beskrivna metoden för allelokemikaliendiagnos är tämligen enkel. Ett färdigt sårogram kan produceras på ca en och en halv timme.

Bladsårogram av några olika tomatsorter

Bladsårogram från sju sorter av *Lycopersicon esculentum*, en hybrid *L. peruvianum* × *L. esculentum* samt *L. peruvianum* och *L. hirsutum* har jämförts (Andersson et al. under publ.). Tomaten har en mycket intressant kultiveringshistoria (Rick 1978). Utanför ursprungsområdet i västra Sydamerika är *L. esculentum* anmärkningsvärt likformig. Detta är bl a resultatet av genetisk drift och ett urval baserat på morfologiska egenskaper och endast ett fåtal kemiska huvudsakligen gällande färg och fruktkvalitet. Sårogrammen visar att denna homogenitet är ännu mer utpräglad när det gäller de ämnen som avges från bladen när de sårats. En anpassad angripare tycks således inte behöva befara några obehagliga kemiska överraskningar bland de flyktiga ämnen som avges från våra kulturtomater.

L. peruvianum och *L. hirsutum* ger starkt avvikande sårogram. *L. hirsutum* har t.ex. en dominerande huvudkomponent (83%). Arten har en stark karakteristisk doft och är den art som klarar sig bäst mot insektsangrepp. Resultaten av denna första undersökning visar att sårogrammetoden förtjänar att prövas som urvalsmetod i jakten på resistensgener t.ex. i kulturväxternas ursprungsområden.

Kemiska egenskaper hos nya fältresistenta potatissorter

Våra vanligaste potatis sorter, Bintje, Magnum Bonum och King Edvard, behandlas intensivt i flera omgångar med bekämpningsmedel mot svamp och andra sjukdomar. Växtförädlarna har nu fått fram nya sorter t ex Bellona och Carolina som betecknas som fältresistenta mot bl a blad-mögel. För att ytterligare förbättra en sådan varaktig resistens är det av stort intresse att kunna diagnostisera de kvantitativa kemiska egenskaper som bidrar till resistensen. En första jämförelse mellan bladsårogram från Bintje, King Edvard och ett urval av de nya sorterna visar intressanta kvantitativa och kvalitativa skillnader. Det fortsatta arbetet får utvisa om sårogrammetoden i sin nuvarande utformning täcker det för potatisresistensen intressanta substansområdet.

Litteratur

Andersson, B. Å., Holman, R. T., Lundgren, L. & Stenhagen, G. Capillary gas chromatograms of plant

- defence allelochemicals as an aid to resistance breeders. – to be publ.
- Andersson, B. Å., Lundgren, L. & Stenhagen, G. Pheromones and allelochemicals. – In: Waller, G. (ed.). Biochemical applications in mass spectrometry. Vol. II, New York, (Wiley Interscience), Chapt. 26, in press.
- Brown, W. L., Eisner, T. & Whittaker, R. H. 1970. Allomones and kairomones: Transspecific chemical messengers. – Bioscience 20:1, 21:22.
- Bruce, Å. 1978. Naturligt gift en risk i obehandlad föda. – Kemisk tidskrift 6:68–71.
- Eisner, T., Johnessie, J. S., Carrell, J., Hendry, L. B. & Meinwald, J. 1974. Defensive use by an insect of a plant resin. – Science 184(4140):996–999.
- Fraenkel, G. 1953. Nutritional value of green plants for insects. – Trans. IXth Int. Congr. Ent. Amsterdam 1951 2:81–89.
- Hedin, P. A., Maxwell, F. G. & Jenkins, J. N. 1974. Insect plant attractants, feeding stimulants, repellants, deterrents, and other related factors affecting insect behaviour. – In: Maxwell, F. G. & Harris, F. A. (eds) Proc. Summer Institute on Biological Control of Plant Insects and Diseases. :494–527. Univ. Press, Mississippi, Jackson.
- Hendry, L. B. 1976. Insect pheromones: diet related? – Science 192:143–145.
- Kogan, M. 1977. The Role of Chemical Factors in Insect/Plant Relationships. – Proc. XVth Int. Congr. Ent. :211–227.
- Law, J. H. & Regnier, F. E. 1971. Pheromones. Ann. Rev. Biochem. 40:533–548.
- Lundgren, L., Andersson, B. Å. & Stenhagen, G. 1978. Natural plant chemicals acting as deterrents and repellents on pest insects. Biology – chemical analysis – practical applications. – Report from the Swedish Environmental Protection Board, SNV PM 1036:1–119, Stockholm. (In Swedish, summary in English.)
- Maxwell, F. G. 1972. Host plant resistance to insects – nutritional and pest management relationships. – In: Rodriguez, J. G. (ed.). Insect and mite nutrition. Amsterdam (North Holland).
- 1977. Host-plant resistance to insects – chemical relationships. – In: Shorey, H. H. & McKelvey Jr, J. J. (eds). Chemical control of insect behaviour. 299–304. New York (Wiley & Sons).
- Miller, J. R., Baker, T. C., Carde, R. T. & Roelofs, W. L. 1976. Reinvestigation of oak leaf roller sex pheromone components and the hypothesis that they vary with the diet. Science 192:140–143.
- Pasteels, J. M. 1977. Evolutionary aspects in chemical ecology and chemical communication. – Proc. XVth Int. Congr. Ent. :281–293.
- Rick, C. M. 1978. The tomato. Scientific American 239:65–76.
- Roberts, D. A. 1978. Fundamentals of Plant-Pest Control. San Francisco (Freeman and Co.).

- Rothschild, M. 1972. Secondary plant substances and warning coloration in insects. – *In: van Emden, H. F. (ed.). Insect/plant relationships.* 59–83. London (Blackwell).
- Schoonhoven, L. M. 1972. Secondary plant substances and insects. – *Rec. Adv. Phytochem.* 5:197–224.
- SOU 1978:23. Växtförädling. Betänkande av 1975 års växtförädlingsutredning.
- Southwood, T. R. E. 1972. The insect/plant relationship – an evolutionary perspective. – *In: van Emden, H. F. (ed.). Insect/plant relationships.* 3–30. London (Blackwell).
- Staedler, E. 1977. Sensory aspects of insect plant interactions. – *Proc. XVth Int. Congr. Ent.* 228–248.
- Umærus, M. 1978. Resistens mot bladmögel beror inte på hög solaninhalt. – *In: Potatis 1978. Svensk sortlista för potatis.* :35–38. Sveriges potatisodlares riksförbund.
- Whittaker, R. H. 1970. The biochemical ecology of higher plants. – *In: Sonderheimer, E. & Simeone, J. B. (eds.). Chemical ecology.* 43–70. London (Academic Press).

Markeringsferomoner och beteende hos humlehanar

BO G. SVENSSON

Svensson, B. G.: Markeringsferomoner och beteende hos humlehanar. [Marking pheromones and behaviour of bumble bee males (Hym., Apidae).] – *Ent. Tidskr.* 100:134–135. Lund, Sweden 1979. ISSN 0013-886x.

The different patrolling behaviour of bumble bee males of several species in a subalpine/alpine area was comparatively studied. The altitudinal, habitat, and microhabitat distribution is partly species specific. Temporal, morphological and chemical characteristics run in parallel with the spatial species-separating criteria. These factors make up most of the males' part of the premating genetic isolation mechanisms.

B. G. Svensson, Entomologiska avdelningen, Zoologiska Institutionen, Box 561, S-751 22 Uppsala, Sweden.

I Abisko har 11 olika humlearters hanar studerats i subalpin/alpin miljö. Hanarnas enda aktiviteter består i 1) banflygning (sexuellt beteende) 2) födosök och 3) vila. Banflygningsbeteendet och de faktorer som därvid är betydelsefulla skall här kort summeras.

Studier av altitud- och habitatfördelning av humlearternas bon visade att arterna kunde delas upp i sådana som förekommer 1) alpint 2) subalpint och i båda regionerna (Svensson & Lundberg 1977). Hanarnas fördelning överensstämmer mycket väl med respektive arts fördelning av bon både då det gäller banflygning, födosök och vila. Sålunda fördelar sig de olika arternas banflygning inom detta undersökningsområde olika efter en höjdggradient och för vissa av de alpina arterna även till olika habitat.

Banflygningen tillgår så att hanarna flyger runt i ca 100–500 m långa, slutna banor. En rundflygning tar 1–5 min, beroende på tid under

dagen. Längs denna bana markerar hanarna blad, kvistar, gräs och andra objekt med sitt artegna markeringsferomon. Detta beteende äger huvudsakligen rum under början av dagen. Senare anflyger hanen endast dessa markeringar. Många individer av samma art kan utnyttja samma anflygningspunkt, vilket gör att många banor sammanfaller i mer eller mindre stor utsträckning. Banan för en individ är till stor del konstant under dess livstid.

Vad har då denna banflygning för funktion? Experiment av Free (1971) har visat att hanarna endast är sexuellt motiverade och reagerar på virginella honor vid anflygningsplatserna – av hanarna markerade objekt. Honorna anlockas av feromonet och där kan då kopulationsbeteendet initieras.

De arter som banflyger i den subalpina björkskogen fördelar sig olika i vertikalled. Man kan grovt urskilja tre nivåer, hanar som flyger i 1)