

Kemisk beteendestimulation hos *Eucera longicornis* hanar

ANNA-KARIN BORG-KARLSON

Borg-Karlson, A-K.: Kemisk beteendestimulation hos *Eucera longicornis* hanar. [Odour released behaviour of *Eucera longicornis* males (Hym., Anthophoridae).] – Ent. Tidskr. 100:125–128. Lund, Sweden 1979. ISSN 0013-886x.

The Orchids *Ophrys bombyliflora* Link and *O. scolopax* Cav. are pollinated by the males of *Eucera* spp. which are attracted to the flower by its scent. A combination of scent and tactile stimuli releases copulating behaviour of the males towards the flower labella. To find out what chemical substances in the odour release this behaviour of the males, comparative chemical analyses are made of the complex odour mixture from the labella and from the insects. Extracts of *Ophrys*-labella and of parts of the insects' bodies are separated with thin layer and gas chromatographic methods. The different fractions obtained are evaluated in field tests with the males of *Eucera longicornis* L. The most attractive thin layer chromatographic fractions contain alcohols and acids. A few synthetic alcohols and acids like nonanol, hexadecanol and nonanoic acid have provoked a weak but distinct attraction from the *Eucera* males.

A-K. Borg-Karlson, Ecological Station of Uppsala University on Öland, S-380 60 Färjestaden, Sweden.

Inledning

Orkideer av släktet *Ophrys* pollineras av hanar till vissa arter av solitära bin, grävsteklar och dolksteklar. Insekterna attraheras av doften från *Ophrys*-blomman och speciellt den doft som utsöndras från labellen. Detta har blivit noggrant undersökt av Kullenberg (1956, 1961, 1973 a, b). En kombination av doft, taktila och visuella stimuli utlöser ett sexuellt beteende hos hanarna, som försöker att para sig med labellen varvid pollenklubborna fastnar på insektens huvud eller abdomen. När hanen därefter besöker en annan *Ophrys*-blomma, kan pollinering ske. De i den mediterana floran förekommande *Ophrys*-arterna, *O. scolopax* Cav. och *O. bombyliflora* Link pollineras av hanar tillhörande släktet *Eucera*.

Eucera longicornis L., som också förekommer i Sverige, attraheras av dessa *Ophrys*-arters doft. Metanolextrakt från kroppsdelar av hanar och honor samt *Ophrys*-labeller har alla starkt exiterande inverkan på *Eucera*-hanarna. *O. scolopax* och *O. bombyliflora* har tillsammans med *E. longicornis* valts ut för noggrann kemisk analys, för att klarlägga vilka substanser av insekts- och blomdofterna som sexuellt attraherar *Eucera*-hanarna.

Tillvägagångssättet består i att från ett för insekten aktivt doftmaterial koncentrera de aktiva föreningarna med olika separationsmetoder.

Genom att successivt separera bort de komponenter som ej utlöser någon aktivitet vid fälttest minskas antalet föreningar som kan tänkas vara aktiva. Separationerna görs i huvudsak med tunnskiktskromatografi (TLC) och preparativ gaskromatografi (GC).

Varje framtagen fraktion testas i fält och hanarnas attraktion till fraktionen kontrolleras. Endast de fraktioner som ger samma excitationegrad som det ursprungliga labellextraktet delas upp i ytterligare fraktioner.

Material och metoder

Kemiska analyser

Vid separation med tunnskiktskromatografi används högupplösande TLC-plattor för att få så smala substansband som möjligt. Separation av alkoholer och syror sker med vätskekromatografi. Porapac Q eller Tenax GC används som adsorbtionsmedel vid adsorbition av flyktiga föreningar.

De preparativa GC-fraktionerna framställs på en Perkin-Elmer F 30 gaskromatograf. De masspektrometriska analyserna har utförts på en LKB 2091 gaskromatograf-masspektrometer (MS) med temperaturprogrammerad injektion (Bergström 1973).

Dufours körtel samt mandibularkörtlar hos

både honor och hanar dissekeras fram för omgående analys med GC-MS. Metanol eller pentanextrakt av huvud med lossdragna mandibler, thorax och abdomen har framställts.

Det biologiska materialet (insekter eller blomlabeller) extraheras i metanol eller pentan. Metanolextraktet spädes med fem gånger så mycket destillerat vatten och pH justeras till pH 13. Blandningen skakas upprepade gånger med pentan. Neutrala och basiska substanser fördelas då till pentanfasen (A), som indunstas försiktigt innan den separeras med TLC eller GC. Den kvarvarande vattenfasen surgörs till pH 3 och skakas med pentan. De sura substanser som är kvar i vattenfasen extraheras då upp i pentanfasen (B).

Pentanfas (A) från metanolextrakt av *O. scolopax* och *O. bombyliflora* separeras med TLC. Efter kromatograferingen uppdelas plattan, med hjälp av en inre standard, i fem fraktioner som var för sig avskrapas och lakas i metanol. TLC fraktion nr. 4 från *O. bombyliflora* omkromatograferas och delas upp i två nya fraktioner 4:1 och 4:2. Denna procedur tillämpas på extrakt från fem huvuden av *E. longicornis*-hanar och fyra bakkroppar från honor.

Substanserna i pentanfas (A) separeras på en preparativ GC. Hela det injicerade provet samt delfraktioner uppsamlas. Erhållna fraktioner testas på *E. longicornis*-hanar för att utröna om de substanser som framkallar attraktionsbeteende är tillräckligt stabila för att tåla den upphettning som de utsätts för under gas-kromatografisepareringen.

Försök har gjorts att samla den doft som utsöndras från insekter och blommor. Fördelen med denna teknik framför extraktion är att endast de föreningar som verkligen avges från objektet adsorberas och blir föremål för kemisk analys. Kemisk jämförelse mellan blomextrakt och doftavsug visar mycket stora skillnader. Vissa föreningar som finns som spårmängder i extrakten kan dominera i ett doftavsug (Borg-Karlson opubl.).

Doftförsök

Fälttesterna med *E. longicornis* utförs som tvåvalsexperiment med en doftande och en doftlös attrapp. Som attrapper vid experimenten används tillskurna svarta sammetslappar för adsorbition av det doftande materialet. Dessa in-

lindas i en grön tyllbit för att minska den visuella stimulationen. Gradering av hanarnas doftstimulerade beteende sker efter den metod som är beskriven av Kullenberg (1973). Insekternas olika beteende inför attrappen visas i Fig. 1. Inför varje testomgång kontrolleras insekternas reaktionsbenägenhet med metanolextrakt i en koncentration av fem labeller/ml, vilket under optimala testbetingelser utlöser ett intensivt kopulationsbeteende.

Resultat av de kemiska analyserna

Analys av E. longicornis

3-Metyl-1-butanol har identifierats i mandibularkörteln hos hanar och honor. Samma alkohol återfinns i större mängd tillsammans med nonanal, dekanal och bensaldehyd i avsugsprover från hanar och honor. I Dufours körtel har identifierats hexadecylacetate, samt de tre alkoholerna tetra-, hexa-, oktadekanol. Vid test av 3-metyl-1-butanol svarar hanarna med aktivitet av typ 1 (Fig. 1).

Analys av O. scolopax och O. bombyliflora

Pentanfas (A) från metanolextraktet innehåller en stor mängd föreningar, betydligt fler än 100. Extrakten från de båda *Ophrys*-arterna är vid jämförelse mycket lika och innehåller många gemensamma substanser. Alifatiska aldehyder, mättade och omättade metylestrar förekommer i båda extrakten men i olika koncentrationer. GC-MS-analys av innehållet i TLC fraktionerna visar att fraktion 1 innehåller kolväten. Fr 2 består av alifatiska aldehyder och metylestrar. Fr 3 är en blandfraktion av metylestrar och ketoner och i fr 4 har hittills identifierats 1-oktanol, 1-nonanol, hexadekanol och hexadekansyra.

Resultat av doftförsöken

Experiment med hela blomextrakt

De ursprungliga metanol och pentanextrakten av *O. bombyliflora* har jämförts i attraktivitet på *E. longicornis*-hanar. Någon skillnad i beteende inför de två extrakten kunde inte noteras. Båda exiterade hanarna till kopulationsbeteende.

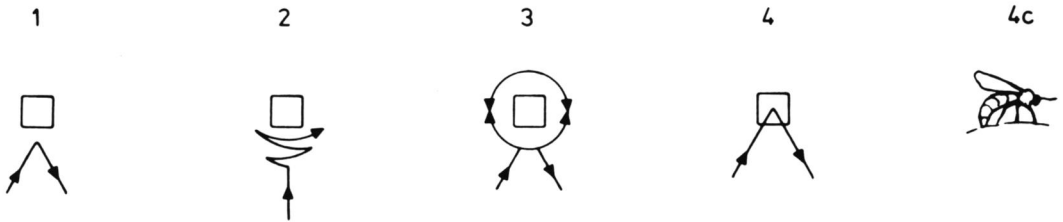


Fig. 1. *Eucera longicornis*-hanarnas beteende-typer vid attrappen. – 1. Snabb inspektion. – 2. Sidsvängande inspektion. – 3. Runtflygande inspektion. – 4. Nedslag. – 4c. Kopulationsförsök.

Eucera longicornis, the behaviour types of the males towards the bait. – 1. Quick inspection. – 2. Hovering inspection. – 3. Circling inspection. – 4. Alighting or quick visit. – 4c. Visit with attempted copulation.

Experiment med TLC fraktioner

Av de fem framtagna TLC-fraktionerna från metanolextrakt av *Ophrys*-arterna utlöser fraktion nr 4 av båda extrakten den högsta excitationen hos *Eucera*-hanarna med mycket intensiva kopulationsförsök på attrappen. *O. bombyliflora* fr 4 uppdelades i två underfraktioner och vid test reagerade hanarna endast på fr 4:1. Fraktionerna 1, 2, 3 och 5, testade var för sig eller tillsammans, gav svaga beteenden av typ 1 eller 2 (Fig. 1).

O. scolopax TLC fr 4 kombinerades med den fraktion som innehöll metanolextraktets syror, pentanfas (B), och en förhöjd attraktion hos hanarna, jämfört med enbart TLC fr 4, var märkbar. När en blandning av oktan-, nonan-, undekan-, och dodekansyra tillsattes samma TLC fr 4, ökade aktiviteten märkbart runt attrappen.

Experiment med TLC-fraktioner från *E. longicornis*

Av de TLC-fraktioner från extrakt av bakroppen från *E. longicornis*-honor är fr 4 och fr 5 de mest exiterande. TLC fr 5 tvättades med alkalisk vattenlösning för att skaka ned syror i vattenfasen. Den nu syrafria pentanfasen var vid test fortfarande högaktiv, vilket tyder på att de aktiva komponenterna var neutrala eller basiska. TLC-fraktionerna av extrakt från huvud av *E. longicornis*-hanar visade samma mönster. Fr 4 och fr 5 var de mest exiterande.

Experiment med prep. GC-fraktioner av *O. scolopax*-extrakt

GC-totaluppsamlingsfraktionen var exiterande på *E. longicornis*-hanar. Fraktionen utlöste tyd-

ligt attraktion. Av de tre GC-fraktionerna är det nr 2 och 3 som innehåller de aktiva substanserna. *E. longicornis* svarar starkast med intensiva anflygningar och kopulationsförsök på fr 2. Denna fraktion innehåller föreningar av medelflyktighet dvs. substanser med retentionstid mellan dodekan och nonadekan.

Experiment med syntetiska föreningar

De föreningar som identifierats hos insekterna och den aktiva TLC-fraktionen nr 4 har i mån av kommersiell tillgänglighet testats på *E. longicornis*-hanar. Nonanol, hexadekanol och oktadekanol har var för sig framkallat en ökad aktivitet runt attrappen. En blandning av oktan-, nonan-, undekan- och dodekansyra ger också en förhöjd aktivitet. På en testblandning komponerad av kommersiella substanser som oktanol, nonanol, dodekanol, tetradekanol, hexadekanol och oktadekanol svarade *E. longicornis*-hanar med ökad aktivitet och sökflygning runt attrappen. Den hos *E. longicornis*-hanar och -honor funna substansen 3-metyl-1-butanol har gett svag men tydlig attraktion.

Sammanfattning

Resultaten av ovan beskrivna tester tyder på att de aktiva substanser, som utlöser kopulationsbeteende på attrapper, återfinnes i TLC fr 4. *E. longicornis*-hanens attraktion till alkohol- och syra-fraktionerna är genomgående i alla preparationer av både *Ophrys*- och *Eucera*-extrakt. Testresultaten av TLC- och GC fraktionerna tyder på att de aktiva föreningarna i blomlabell och insekt är polära som alkoholer eller syror och att de aktiva föreningarna ligger inom flyktighets-

området dodekan – nonadekan. En kombination av alkoholfraktionen och tillsatta syror tycks ha en förstärkande effekt på *E. longicornis*-hanarnas beteende.

Litteratur

Bergström, G. 1973. Use of a pre-column tube for quantitative isolation of natural, volatile compounds for gas chromatography-mass spectrometry. – Chem. Scr. 4:135–138.

Kullenberg, B. 1956. Field experiments with chemical sexual attractants in aculeate Hymenoptera males. 1. – Zool. Bidr. Uppsala 31:253–352.
 – 1961. Studies in Ophrys pollination. 1. – Zool. Bidr. Uppsala 34:1–340.
 – 1973a. New observations on the pollination of Ophrys L. (Orchidaceae). – Zoon. Suppl. 1:9–13.
 – 1973 b. Field experiments with chemical sexual attractants on Aculeate Hymenoptera males II. – Zoon. Suppl. 1:31–42.

Doftstyrt värdval hos snylthumlor

BJÖRN CEDERBERG

Cederberg, B.: Doftstyrt värdval hos snylthumlor. [Odour guided host selection in *Psithyrus* (Hym., Apidae)]. – Ent. Tidskr. 100:128–129. Lund, Sweden 1979. ISSN 0013-886x.

Species of the parasitic bumblebee genus *Psithyrus* Lep. attack bumblebee colonies (*Bombus* Latr.). The mechanism of host selection has been poorly understood, but the results of recent studies can help to explain the host specificity of these parasites.

The major stages in the host finding may be divided into: 1. habitatselection 2. nestseeking and 3. recognition of the host-nest. Habitat selection and nest seeking behaviour are mainly guided by visual environmental cues. By concentrating the nest seeking to certain structures within its habitat, the chances for the *Psithyrus* female to find the nests of certain *Bombus* species will increase. Although different *Bombus* species choose different nesting sites such as hollow trunks, decayed stumps, grasstufts or underground rodent nests, there is a considerable overlapping between the species. Therefore, differences in these two aspects are not sufficient to explain the host selection of *Psithyrus*.

Underground nesting *Bombus* use trail pheromones to mark their nest burrow. It is demonstrated that females of *P. rupestris* react to the odour trail of its main host *B. lapidarius* with recognition behaviour and trail following behaviour. By their use of trail pheromones the *Bombus* species thus provide the *Psithyrus* both with a key to concealed underground nests and with a means to select the preferred host species among a number of potential hosts.

B. Cederberg, Dept. of Entomology, Box 561, S-751 22 Uppsala, Sweden.

Snylthumlor av släktet *Psithyrus* Lep. parasiterar samhällen av sociala humlor (sl. *Bombus* Latr.). Förvånande få primärobservationer på snylthumlorernas värdval föreligger i litteraturen (Pouvreau 1973), och många spekulationer om *Psithyrus*-arternas värdspecifitet har förekommit.

För att närmare kunna analysera de faktorer och stimuli som styr snylthumlehornas värdval är det lämpligt att dela upp beteendedjan vid sökandet efter värdarten i tre olika stadier.

1. Habitatval
2. Bosökningsbeteende
3. Igenkänning av värdartens bo

Det är väl känt att olika humlearter väljer sina boplatser på olika sätt. Skillnader finns både i fråga om val av biotop och lokalisering inom habitatet (se t ex Svensson & Lundberg 1977). Olika arter bebor ihåliga träd, fågelholkar (Cederberg 1976), grästuvor, murkna stubbar och underjordiska sorkbon. Genom att söka bo i sitt speciella habitat och därtill koncentrera bosökningen till vissa strukturer i habitatet ökar chansen för en snylthumleart att påträffa bon av den eller de humlearter som har likartat bosökningsbeteende.

Flera *Bombus*- och *Psithyrus*-arters bosökningsbeteende har studerats (Cederberg unpubl.) och de kända värd/parasit-grupperna eller -paren