

## BIOSYNTÉZA HMYZÍCH FEROMONŮ

ANNA LUXOVÁ a IRENA VALTEROVÁ\*

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo náměstí 2, 166 10 Praha 6  
irena@uochb.cas.cz

Došlo 21.7.05, přijato 16.1.06.

Klíčová slova: biosyntéza, feromony, Blattodea, Coleoptera, Diptera, Lepidoptera, Hymenoptera

### Obsah

1. Úvod
2. Chemické metody výzkumu biosyntézy feromonů
3. Biosyntéza feromonů různých řádů hmyzu
  - 3.1. Biosyntéza sexuálních feromonů u švábů (Blattodea)
  - 3.2. Sexuální a agregční feromony u brouků (Coleoptera)
  - 3.3. Biosyntéza sexuálních feromonů u much (Diptera)
  - 3.4. Biosyntéza feromonů u motýlů (Lepidoptera)
  - 3.5. Biosyntéza feromonů blanokřídlých (Hymenoptera)
4. Závěr

### 1. Úvod

Feromony jakožto komunikační látky ovlivňují chování většiny živočichů v důležitých fázích jejich života. U hmyzu je chemická komunikace prakticky základem existence jednotlivých druhů. Chemické signály jsou ve třídě hmyzu podstatně důležitější než jiné vjemy, např. zrakové či sluchové.

Feromony jsou z hlediska chemické struktury množinou obsahující značné množství strukturních typů (alifatické nenasycené látky, heterocykly, makrocycly, spiroacetyly, terpeny, aromatické látky apod.)<sup>1</sup>. Klíčovou roli hraje i stereochemické uspořádání těchto sloučenin. Např. enantiomery, různé polohové isomery či látky s jinou konfigurací na dvojně vazbě mohou vyvolat zcela odlišné chování u hmyzu a mají tak jinou biologickou funkci. V některých případech určité chování vyvolá jen

specifická směs stereoisomerů, jindy jeden enantiomer inhibuje účinky druhého<sup>2</sup>.

Na rozdíl od dobré znalosti chemické struktury feromonů a mechanismů jejich působení v regulaci hmyzího chování je výzkum jejich biosyntézy, její endokrinní regulace a dějů na úrovni molekul novou, prozatím okrajově probádanou oblastí<sup>3–5</sup>. Studium biogeneze feromonů, ať již pomocí technik organické chemie či molekulární biologie, zaznamenalo prudký vývoj teprve v poslední době. Objasnění biosyntézy unikátních struktur, mezi něž většina feromonů patří, umožňuje komplexní pohled na principy sekundárního metabolismu nejen u hmyzu. Určení funkce enzymů, které katalyzují klíčové kroky biosyntézy feromonů, pomáhá biologům pochopit evoluční vztahy mezi primárním metabolismem a vývojově mladším sekundárním metabolismem. Rovněž určení původu prekurzorů feromonů přináší odpověď na otázku, zda jsou tyto chemické signály v organismu syntetizovány *de novo* ze základních metabolických dvou- nebo tříuhlíkatých jednotek, či zda se jejich skelet tvoří biotransformací již hotového skeletu látky, přijaté např. potravou.

Současný výzkum se zaměřuje přednostně na čtyři řády hmyzu: šváby (Blattodea)<sup>5</sup>, brouky (Coleoptera)<sup>5,6</sup>, dvoukřídle (Diptera)<sup>5</sup> a motýly (Lepidoptera)<sup>5</sup>. Důvod hlubšího výzkumu feromonové biosyntézy zástupců těchto řádů vyplývá z toho, že jsou ekonomicky významné jako škůdci (např. kůrovci, švábi, skladištní škůdci, zavíječi, housenky motýlů atd.), nebo jako přirození nepřátelé škůdců (např. sluněčka, chalcidky). Výhodou hmyzu jako modelu je snadná experimentální práce s dostupným materiálem z laboratorních chovů, čímž lze získat větší množství feromonu. Příkladem dobře prozkoumaného modelového hmyzu je např. lišaj tabákový, *Manduca sexta* (Lepidoptera), nebo octomilka, *Drosophila melanogaster* (Diptera).

### 2. Chemické metody výzkumu biosyntézy feromonů (přehledy<sup>5,6</sup> a doprovodný materiál)

Experimentální možnosti výzkumu biosyntézy hmyzích feromonů jsou založeny na aplikaci neznačených nebo značených prekurzorů těchto látek. Pokusy mohou probíhat buď *in vivo* aplikací substrátů potravou, vystavením parám, injekcí či rozetřením po povrchu žlázy hmyzu, anebo *in vitro*, kdy se s roztokem substrátu inkubuje izolovaná tkáň, nebo její extrakt.

Nejvíce probádané metody aplikace neznačených látek byly publikovány u brouků rodu *Ips* při výzkumu

\* autor pro korespondenci

biosyntézy terpenických feromonů ipsenolu a ipsdienolu z myrcenu a verbenolu z pinenu. Mnohem běžnější metodou výzkumu je aplikace značených prekurzorů feromonů. Značkou ve struktuře substrátu může být např. stabilní izotop ( $^{13}\text{C}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$ ), nestabilní izotop ( $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ), nebo atom fluoru.

Pro výzkum biosyntézy *de novo* se používají následující prekurzory: *i*) značený acetát či malonát<sup>7,8</sup> pro výzkum biosyntézy nevětvených mastných kyselin, *ii*) sukcinát, propionát a aminokyseliny, které jsou prekurzorem propionátu jako např. valin, isoleucin, či methionin<sup>9</sup> pro studium biosyntézy alifatických feromonů substituovaných methylem, *iii*) butyrát pro výzkum biosyntézy alifatických struktur substituovaných ethylem, *iv*) mevalonát, mevalonolaktone hydroxymethyl-glutarát, isopentenyl-difosfát, isopentenol, dimethylallyl-difosfát pro studium biosyntézy terpenických a steroidních látek a *v*) šikimát, aminokyseliny tyrosin, fenylalanin, tryptofan<sup>10</sup> pro výzkum biosyntézy aromatických strukturálních typů feromonů.

Při studiu specifických kroků biosyntézy specializovaných feromonů u hmyzu byla použita celá řada značených struktur složitějších prekurzorů. Příkladem mohou být terpeny, jako jsou ( $^2\text{H}_6$ )-značený  $\alpha$ -pinen, deuteriem substituované ipsdienol, ipsenol a myrcen či tritiovány geraniol, dále keton (6,7- $^2\text{H}_2$ )-(Z)-non-6-en-2-on, deuteriem selektivně značené mastné kyseliny nebo hydroxykyseliny jako např. kyselina (9,10- $^2\text{H}_2$ )-8-hydroxypalmitolejová a v neposlední řadě aminokyseliny, jako je (3,4,5- $^3\text{H}_3$ )-leucin<sup>11</sup>.

Pokud jsou jako značené atomy ve struktuře metabolitu použity stabilní izotopy, je k jejich stanovení nejčastěji využito metod plynové a kapalinové chromatografie s hmotnostními detektory se dvěma typy analyzátorů: kvadrupólovým nebo s iontovou pastí. Dalším typem detektoru zapojovaným paralelně s výše jmenovanými klasickými hmotnostními spektrometry a používaným především pro značení uhlíkem  $^{13}\text{C}$  je detektor „isotope-ratio-monitoring-MS“ (cit.<sup>12</sup>). Jeho princip je následující. Po průchodu plynovým chromatografem se eluent dělí do dvou proudů ve vyhřívaném dělicím ventilu. Jedna část pokračuje do klasického hmotnostního detektoru, zatímco druhá část organického eluentu se oxidačně spálí za vysoké teploty (940 °C) v peci za katalýzy CuO/Ni/Pt na  $^{12}\text{CO}_2$  s konstantní příměsí  $^{13}\text{CO}_2$ . Směs pokračuje do detektoru s vysokou citlivostí, který měří poměr  $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ , tedy  $m/z$  45/44. Detektor je kalibrován na standard – přírodní látku z neradioaktivní oblasti např. Peedee Belemnite (křídové zkamenělé mušle z oblasti Peedee v Jižní Kalifornii) s konstantním poměrem  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ . Hodnoty  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  naměřené v neznámém vzorku se počítají v promile

$$\delta \text{‰} = \left[ \frac{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{vzorku}}}{(^{13}\text{C}/^{12}\text{C})_{\text{stand}}} - 1 \right] \times 1000$$

Je-li hodnota pro vzorek malá nebo negativní (na detektoru není pík), žádný atom  $^{13}\text{C}$  se do struktury molekuly neinkorporoval, zatímco naměřené hodnoty větší než šum (vizuálně jsou zobrazeny jako pík) dokazují inkorporaci značené látky do molekuly. Struktura látky, do které se  $^{13}\text{C}$  značka zapojila, se poté identifikuje podle hmotnostního spektra z paralelně zapojeného hmotnostního

detektoru na základě shody retenčních časů. Tato nová metoda byla dosud publikována při výzkumu biosyntézy frontalínu, agregačního feromonu brouků rodu *Dendroctonus*.

Další, vysoce efektivní metodou pro určení polohy inkorporovaného uhlíku  $^{13}\text{C}$  je  $^{13}\text{C}$ -nukleární magnetická rezonance. Přírodní obsah izotopu uhlíku  $^{13}\text{C}$  v přírodě je pouze 1,1 % a  $^{13}\text{C}$ -NMR-spektra se musí akumulovat po delší čas. Inkorporovanému  $^{13}\text{C}$  atomu uhlíku se proto v  $^{13}\text{C}$ -NMR spektru měřené molekuly mnohonásobně zvýší intenzita signálu. O chemické povaze inkorporovaného izotopu  $^{13}\text{C}$  vypovídá jeho chemický posun. K upřesnění struktury molekuly *resp.* polohy inkorporovaného atomu slouží interakční konstanty  $J_{\text{C-H}}$ , event.  $J_{\text{C-C}}$ , které jsou ve spektrech díky vyššímu zastoupení  $^{13}\text{C}$  izotopu detegovatelné. U studia biosyntézy feromonu hmyzu je využití NMR-spektroskopie problematické, protože feromony jsou mnohdy mnohasložkové směsi látek o nízké koncentraci. Přesto bylo použití této metody publikováno, a to především při studiu feromonálních látek substituovaných methylem. Pomocí  $^{13}\text{C}$ -NMR byly např. studovány kutikulární uhlovodíky termitů *Zootermes angusticolis*. Po aplikaci (2,3- $^{13}\text{C}$ )-sukcinátu v potravě se značka objevila v terciárních uhlících monomethyl- či dimethylalkanů. Na základě  $^{13}\text{C}$ -NMR spekter po aplikaci ( $^{13}\text{C}$ -methyl)-2-methylmalonátu byl určen 2-methylmalonát jako prekurzor 3-methylpentakosenu, feromonu švába *Periplaneta americana*. Methylové větvení v kutikulárních uhlovodících mouchy *Musca domestica* vzniklo inkorporací methylmalonylu-CoA, který pochází z aminokyseliny valinu. Do mouchy byl aplikován (1- $^{13}\text{C}$ )-propionát. Halarknar a spol. dokázali zkracování propionátu na acetát při vzniku methylovaných uhlovodíků u švába *Periplaneta americana*. Používali (2- $^{13}\text{C}$ )-propionát a (3- $^{13}\text{C}$ )-propionát a zjistili řazení značených uhlíků do sudých *resp.* lichých poloh uhlovodíku. Acetát v této biosyntéze tedy pochází rovněž z propionátu.

K detekci zabudovaných prekurzorů značených nestabilními izotopy ( $^{14}\text{C}$ ;  $t_{1/2} = 5730$  r) a ( $^3\text{H}$ ;  $t_{1/2} = 12,3$  r) se k měření radioaktivního záření využívá kapalinově-scintilačních analyzátorů. K molekulám, do kterých se radioaktivní atom inkorporoval, je přidána scintilační látka, která je schopna absorbovanou energii záření emitovat ve formě viditelného světla. Tyto scintilační záblesky jsou ve fotonásobiči transformovány na elektrické impulsy a detegovány. Zabudování radioaktivních značených prekurzorů do terpenických feromonů brouků rodů *Ips* a *Scolytus* bylo zjištěno metodou radio-HPLC. Frakce získané z kapalinové chromatografie byly měřeny po přidání scintilačního koktejlu na kapalinově-scintilačním analyzátoru. Ze získaných hodnot radioaktivity jednotlivých frakcí byl rekonstruován chromatografický pík. Látka byla identifikována po srovnání s retenčním časem standardu.

Spojení plynového chromatografu s tepelně vodivostním detektorem (TCD), který nedestruuje analyzované sloučeniny, a s plynově-ionizačním radiodetektozem umožňuje analyzovat inkorporaci radioaktivně značených látek do těkavých složek feromonů. Takto byla studována

např. biosyntéza monoterpenických feromonů u brouků rodu *Ips*. Na sledování distribuce radioaktivity mezi jednotlivé třídy sloučenin je starší, ale stále hojně užívaná metoda tenkovrstvé chromatografie s autoradiografickou detekcí. Vyvinutá TLC deska se přiloží k fotografickému papíru (bromid stříbrný v želatině). Ionizující záření emitované zónami, ve kterých se elují radioaktivní látky, převede AgBr do excitovaného stavu. Excitovaná zrna jsou snadno redukovatelná na elementární stříbro, a proto jsou po vyvolání a ustálení na fotografickém papíře dobře patrné zóny radioaktivních látek<sup>13</sup>. V současné době se TLC desky rovněž skenují pomocí speciálních zařízení, která mapují radioaktivitu na ploše desky. Jedním z nich je např. IP Autoradiography System.

### 3. Biosyntéza feromonů různých řádů hmyzu

Hlavními otázkami při výzkumu tvorby feromonů jsou především: *i*) kde se nachází sekreční žláza produkující

cí feromon a jaká je její fyziologie, *ii*) jaké enzymy se podílejí na jednotlivých krocích biosyntézy, *iii*) jak je regulována feromonová biosyntéza, probíhá regulace přímo inhibicí, či aktivací těchto enzymů, anebo prostřednictvím regulace genové exprese těchto enzymů, *iv*) jak se syntetizuje skelet molekuly feromonu, používá hmyz hotový skelet nebo část skeletu molekuly feromonu, který získal v potravě, a pouze ho jednoduššími reakcemi modifikuje na výsledný funkční feromon, nebo se molekula feromonu staví ze základních prekurzorů *de novo*?

Odpovědi na první otázku získávají entomologové zabývající se fyziologií hmyzu. Pomůckou jsou jim snímky tkání hmyzu získané z elektronového mikroskopu. Řešení druhých dvou problémů vyžaduje použití mnoha chemických technik. Jde o navržení možné biosyntetické cesty, syntézu značených prekurzorů, jejich aplikaci a následnou identifikaci metabolitů. Dále se zjišťují vlastnosti enzymů podílejících se na přeměně určených metabolitů.

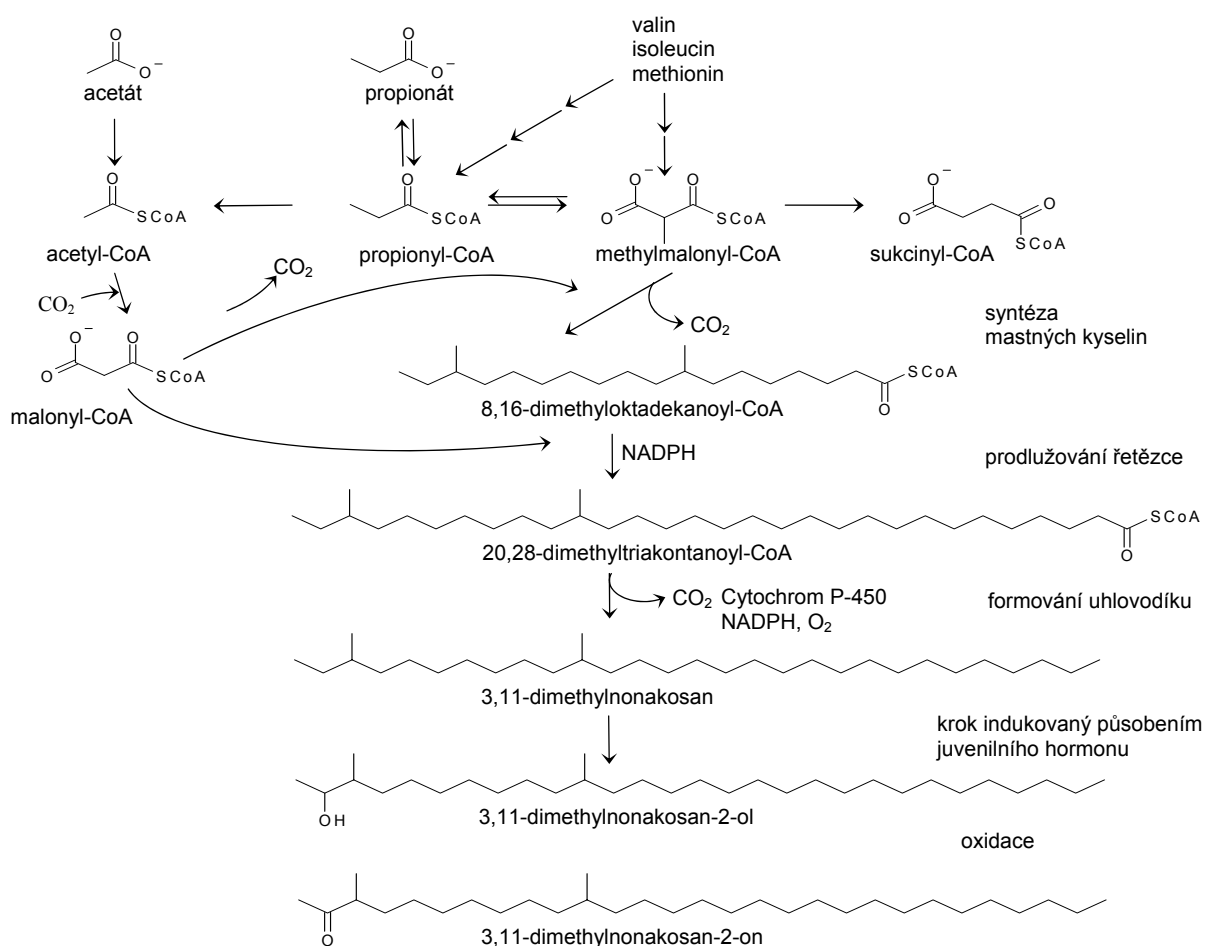


Schéma 1. Biosyntéza sexuálních feromonů u švábů (podle cit.<sup>5</sup>)

### 3.1. Biosyntéza sexuálních feromonů u švábů (Blattodea) (přehled<sup>5</sup> a doprovodný materiál)

Komunikačními látkami příslušníků tohoto řádu hmyzu jsou látky vznikající v metabolismu z mastných kyselin. Nejvíce prostudovaná je biosyntéza samičího feromonu rusa domácího *Blattella germanica*, kterým je 3,11-dimethylnonakosan-2-on (schéma 1). Biosyntéza větveného 20,28-dimethyltriakontanoyl-CoA, který je meziproduktem feromonu, začíná z propionyl-CoA. Ten může vzniknout z aminokyselin valinu, methioninu nebo isoleucinu. Propionyl-CoA se dále karboxyluje za vzniku methylmalonyl-CoA, klíčového metabolitu pro vznik větvení. Řetězec se prodlužuje ve sledu syntézy mastných kyselin vždy o dva uhlíky a do specifických poloh se řadí methylmalonyl-CoA za vzniku methylového větvení v 20,28-dimethyltriakontanoyl-CoA. Redukcí 20,28-dimethyltriakontanoyl-CoA vzniká uhlovodík 3,11-dimethylnonakosan, který je oxidován v dalším kroku na sekundární alkohol 3,11-dimethylnonakosan-2-ol a ten se dále oxiduje na 3,11-dimethylnonakosan-2-on.

### 3.2. Sexuální a agregační feromony brouků (Coleoptera) (přehledy<sup>5,6</sup> a doprovodný materiál)

Řád brouků zahrnuje cca 300 000 druhů, a proto je chemická různorodost látek uplatňujících se ve vnitrodruhové komunikaci obrovská. Feromony brouků mohou vznikat některým ze tří hlavních způsobů: *i*) ukládáním rostlinných látek a jejich pozdějším použitím v nezměněné formě k signálnímu účelu<sup>14</sup>, *ii*) modifikací látek přijatých potravou dalšími biosyntetickými reakcemi, jejichž výsledkem je struktura feromonu či *iii*) *de novo* biosyntézou feromonu ze základních dvou- či tříuhlíkatých jednotek. Předmětem počátečních výzkumů, kdy ještě nebylo možno rekonstruovat celou biosyntetickou cestu, bylo přiřazení syntézy feromonu do jedné z těchto kategorií. Biogeneze feromonu ale často probíhá více způsoby, kdy se biosyntetická cesta *de novo* aktivuje či výrazněji podílí při nedostatečném přísunu prekurzorů z potravy.

Feromony brouků lze velice hrubě rozdělit podle typu řetězce a charakteristické funkční skupiny do několika základních skupin. Cestou mastných kyselin se syntetizují alkoholy, aldehydy, ketony a estery. Příkladem alkoholu je (4*R*)-4-methylnonan-1-ol vylučovaný potměníkem *Tenebrio molitor* (Tenebrionidae). Japonský brouk *Popilia japonica* (Scarabeidae) tvoří keton (5*R*)-5-[(1*Z*)-dec-1-enyl]-oxacyklopentan-2-on zvaný japonilur a kůrovec *Pityogenes chalcographus* (Scolytidae) produkuje ester (2*E*,4*Z*)-methyl-deka-2,4-dienoát jako agregační feromon. Samice kovaříků rodu *Limoni* (Elateridae) lákají samce produkcí krátkých mastných kyselin, zatímco kovaříci rodu *Melanotus* (Elateridae) používají jako feromon tetradecenaly či tetradecenyl-acetáty – sloučeniny podobné sexuálním feromonům nočních motýlů. Dalším broukem využívajícím ke komunikaci kyselinu (3*E*,5*Z*)-tetradeka-

-3,5-dienovou je kůrojed *Attagenus megatoma* (Dermestidae). Kutikulární uhlovodíky používá většina hmyzu k impregnaci povrchu těla, ale u některých druhů brouků se vyvinula i sekundární komunikační funkce.

Sloučeniny, jejichž původ je kombinací terpenické a acetogenní biosyntetické cesty, byly jako feromon identifikovány u samic kovaříků *Agriotes obscurus* a *A. lineatus* (Elateridae). Jsou jimi geranyl-hexanoát a geranyl-oktanoát. Dalším strukturním typem jsou makrolidy. Tyto mnohohlíkaté kruhové laktony produkují např. brouci rodu *Cryptolestes* či *Oryzaephilus* (Silvanidae). Spiroacetyly syntetizují především brouci rodu *Dendroctonus* z čeledi kůrovcovitých (Scolytidae).

Vznik aromatických feromonů u brouků biosyntetickou cestou kyseliny šikimové nebyl dosud u žádného druhu pozorován. Většina signálních látek s touto strukturou je u brouků syntetizována modifikací aminokyselin. Např. někteří chrousti využívají ke komunikaci deriváty tyrosinu, fenylalaninu či tryptofanu<sup>15</sup>. Chroust *Holotrichia parallela* syntetizuje z L-isoleucinu (2*S*,3*S*)-2-amino-3-methyl-methyl-pentanoát (methylester L-isoleucinu).

Biosyntéze terpenických feromonů u brouků byla věnována velká pozornost, protože právě tyto látky využívají ke komunikaci významní lesní škůdci. Jde např. o nosatce *Anthrenus grandis* (Curculionidae) nebo kůrovce *Scolytus spp.*, *Ips spp.*, *Dendroctonus spp.* (Scolytidae), kteří syntetizují monoterpenické feromonové komponenty<sup>16</sup>. Biosyntéza agregačních feromonů u brouků čeledi Scolytidae, kterými jsou monoterpenické alkoholy či ketony, může vycházet z monoterpenů přijatých potravou. Modifikace těchto látek na feromon se poté uskutečňuje oxidačními či hydratačními reakcemi. Zapojoval se mohou i následné oxidace, hydrogenace či intramolekulární přesmyky. Původní acyklické monoterpeny z potravy jsou pro brouky většinou toxické, proto mohla být biotransformace monoterpenů z potravy původně detoxikačním krokem a až během vývoje pravděpodobně získala sekundární funkci chemického informačního mediátoru.

Příklady brouků oxidujících monoterpeny přijaté z potravy na feromony jsou samci lýkožrouta *Ips paraconfusus*, kteří přeměňují (–)- $\alpha$ -pinen z pryskyřice borovice *Pinus ponderosa* na (+)-*cis*-verbenol, který je součástí feromonové agregační směsi (schéma 2). Samci i samice kůrovce *Dendroctonus brevicomis* přeměňují (–)- $\alpha$ -pinen na (–)-*trans*-verbenol, který působí jako jejich antiagregační feromon. Oxidace monoterpenických alkoholů na feromonové komponenty jsou vysoce stereo- a enantioselektivní reakce. Např. u *Ips* spp. odstupuje právě *pro-4S* vodík

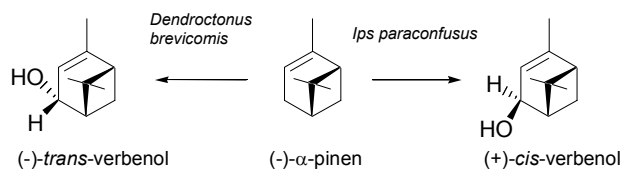
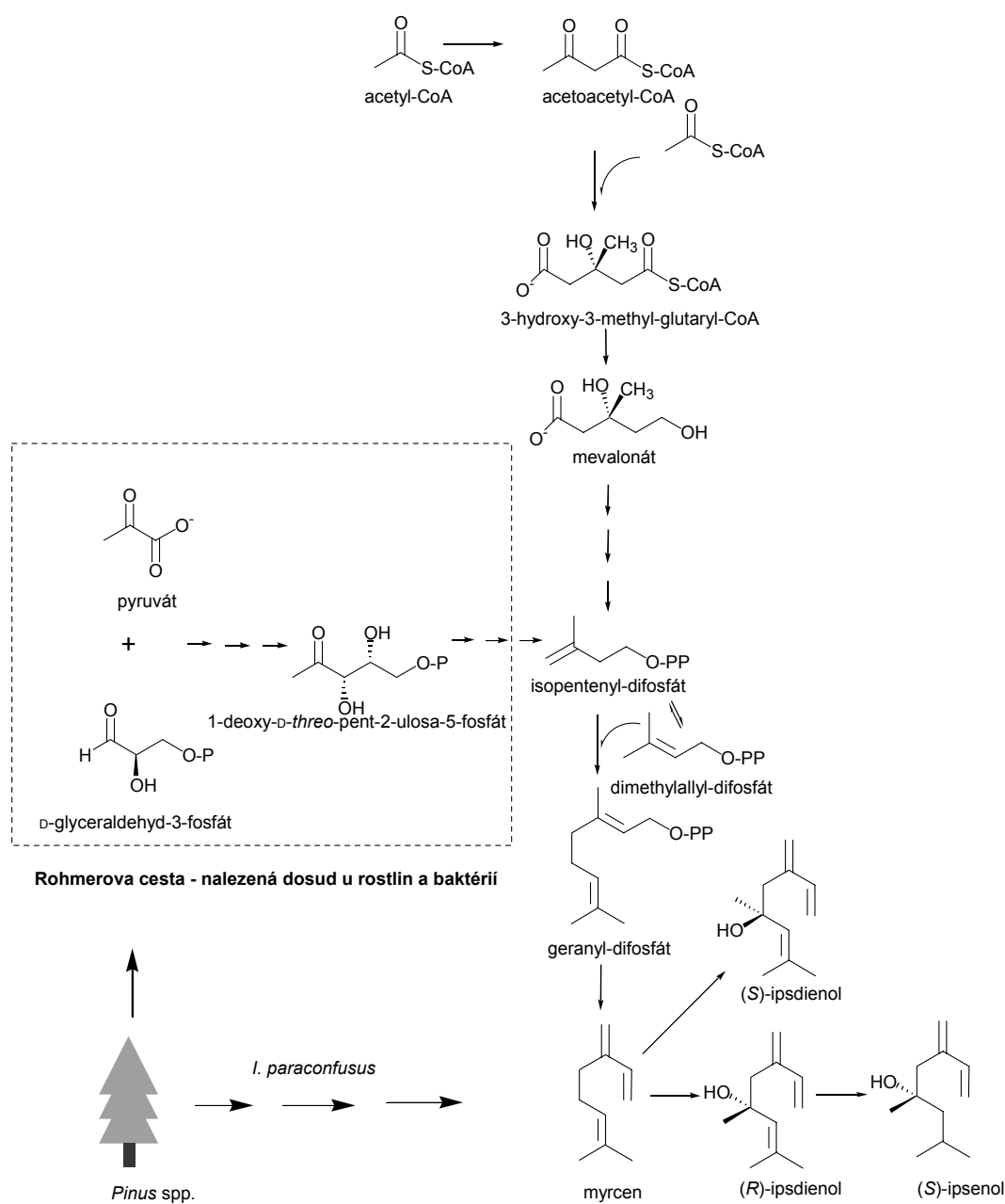


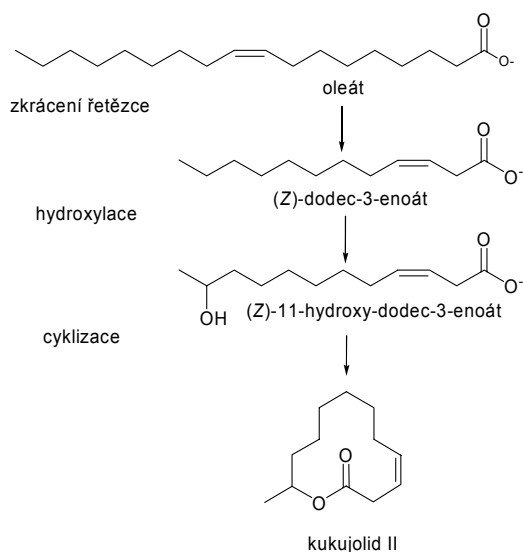
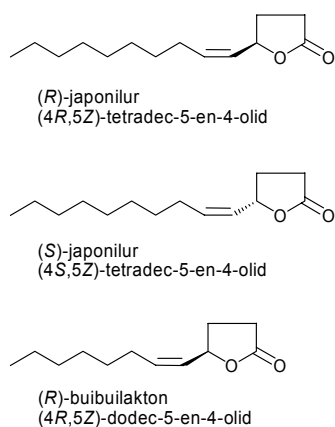
Schéma 2. Přeměna (–)- $\alpha$ -pinenu na (–)-*trans*-verbenol a (+)-*cis*-verbenol (podle cit.<sup>6</sup>)

Schéma 3. Biosyntéza isoprenoidních feromónů u brouků *Ips pini* a *I. paraconfusus* (podle cit.<sup>5</sup>)

z (+)- nebo (-)- $\alpha$ -pinenu za vzniku *cis*-, resp. *trans*-verbenolu.

Někteří lýkožrouti např. *Ips paraconfusus*, *I. pini* a *I. duplicatus* přeměňují acyklické monoterpeny z potravy (např. myrcen) na acyklické alkoholy, které jsou součástí feromonu. Jde o ipsdienol či ipsenol (schéma 3). Některé pozdější práce však řeší otázku, zda modifikace přijatého myrcenu stačí pokrýt veškerou potřebu ipsenolu a ipsdie-

nolu, nebo zda jsou tyto alkoholy syntetizovány zároveň *de novo*. Novější studie používající <sup>14</sup>C substituované prekurzory prokázaly zabudování značených látek do skeletů feromonových alkoholů. Nejnovější poznatky u *I. pini* plně dokazují souběžný vznik ipsdienolu *de novo* i modifikací myrcenu z potravy, dosud se však nepodařilo určit příspěvek té či oné cesty. Klasická *de novo* isoprenoidní cesta vzniku terpenů vede od acetátu přes hydroxymethylgluta-

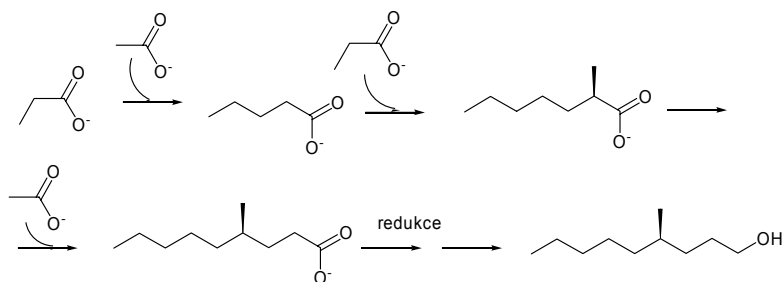
Schéma 4. Biosyntéza kujukolidu II broukem *Cryptolestes ferrugineus* (podle cit.<sup>6</sup>)Schéma 5. (R)- a (S)-japonilur a (R)-buiuilakton (podle cit.<sup>11</sup>)

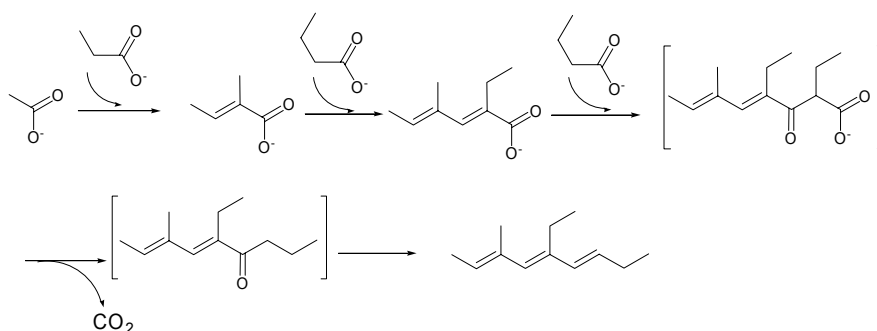
ryl-CoA po mevalonát, ze kterého vzniká dále isopentenyl-difosfát a ten kondenzuje za vzniku monoterpenických jednotek (schéma 3).

V posledních několika letech byl u biologických systémů prokázán i jiný alternativní způsob biosyntézy isoprenoidních látek. Poprvé byl popsán Rohmerem<sup>17</sup> u bakterií a byl po něm pojmenován. Později byl prokázán i u řas a vyšších rostlin. V Rohmerově biosyntetické cestě kondenzují D-glyceraldehyd-3-fosfát a pyruvát, metabolity citrátového cyklu a glykolýzy, za katalýzy enzymovým systémem pentosového cyklu na 1-deoxy-D-threo-pent-2-ulos-5-fosfát, ze kterého následně vzniká isopentenyl-difosfát. Enzymový systém je umístěn v plastidech a nikoliv v cytoplazmě, jako je tomu u klasické mevalonátové cesty. Rostliny právě tímto způsobem syntetizují monoterpenické sekundární metabolity, které se po požití broukem stanou prekurzory jeho feromonu (schéma 3).

Struktury molekul feromonů mnoha brouků vznikají z mastných kyselin. Příkladem jsou makrolidy zvané kujukolidy II-IX (kujukolid I vzniká z farnesolu získaného potravou), které ke komunikaci používají brouci rodu *Cryptolestes* a *Oryzaephilus* (Cucujidae). Kujukolidy obsahují ve struktuře molekuly dvojně vazby s (Z)-konfigurací, což ukazuje na jejich původ z nenasycených mastných kyselin. Proto byly lesanovi *Cryptolestes ferrugineus* podávány v potravě <sup>14</sup>C isotopově substituované kyseliny palmitová, olejová a linolová. Isotopové značení bylo ve všech případech nalezeno ve struktuře kujukolidu II. Biosyntetická cesta jeho vzniku vede přes desaturaci stearové kyseliny v poloze 9, zkrácení řetězce o 6 uhlíků v β-oxidačním cyklu následované stereoselektivní hydroxylací v poloze 11 a nakonec cyklizací na makrolidový skelet (schéma 4). Do stejné skupiny laktonových feromonů patří i (R)- a (S)-japonilur a (R)-buiuilakton (schéma 5). Produkují je samice několika druhů vrubounů (*Scarabeus spp.*) jako sexuální atraktant. Jejich biosyntéza je podobná biosyntéze kujukolidů, liší se však pořadím zavedení hydroxyskupiny a zkrácením uhlíkového řetězce ne o šest, ale pouze o čtyři uhlíky<sup>11</sup>.

Samice skladištního škůdce potěmníka *Tenebrio molitor* syntetizuje *de novo* (R)-4-methylnonan-1-ol jako sexuální feromon. Prekurzorem je propionová kyselina, což vede k lichému počtu uhlíků v řetězci, jinak je jeho biosyntéza analogií biosyntézy mastných kyselin. Díky zavedení dalšího propionyl-CoA se řetězec substituuje

Schéma 6. Biosyntéza (R)-4-methylnonan-1-olu, samičího sexuálního feromonu potěmníka *Tenebrio molitor* (podle cit.<sup>6</sup>)

Schéma 7. Biosyntéza agregačního feromonu druhu *Carphophilus freemani* (podle cit.<sup>6</sup>)

methylskupinou. V konečné fázi se karboxyl redukuje na hydroxyskupinu a vzniká feromon (schéma 6).

Blýskáček *Carphophilus freemani* (Nitidulidae) produkuje agregační feromon, který je směsí methylem a ethylem substituovaných konjugovaných polyenů se třemi až čtyřmi dvojnými vazbami. Po aplikaci značených prekurzorů byla rekonstruována následná biosyntetická cesta, která je podobná biosyntéze mastných kyselin. Základní jednotkou je acetyl-CoA, se kterým kondenzuje propionyl-CoA a vzniká první substituce methylem. Aniž by docházelo k redukci vzniklé dvojně vazby, připojuje se butyryl-CoA za vzniku ethylskupiny. Poté kondenzuje poslední butyryl-CoA, z prekurzoru se odštěpuje oxid uhličitý a dekarboxylovaný produkt se stabilizuje dehydratací za vzniku třetí konjugované dvojně vazby v (2*E*,4*E*,6*E*)-5-ethyl-3-methylnona-2,4,6-trienu (schéma 7). Biosyntéza

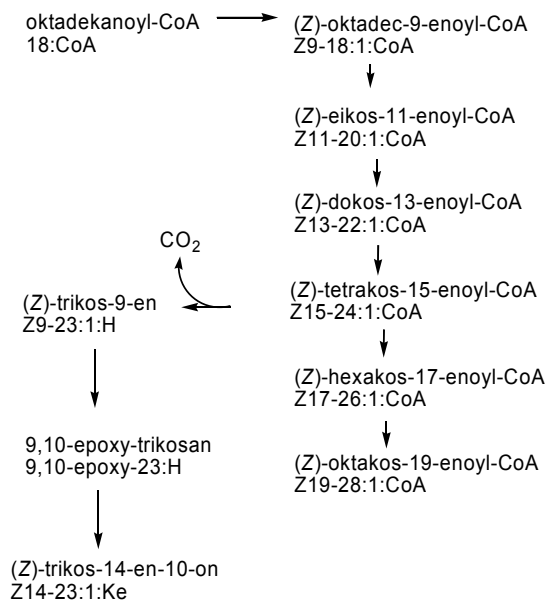
čtrnáctiuhlíkatých, vícenásobně nenasycených uhlovodíků substituovaných methyly a ethyly byla prokázána též u příbuzných druhů *C. davidsoni* a *C. mutilatus*.

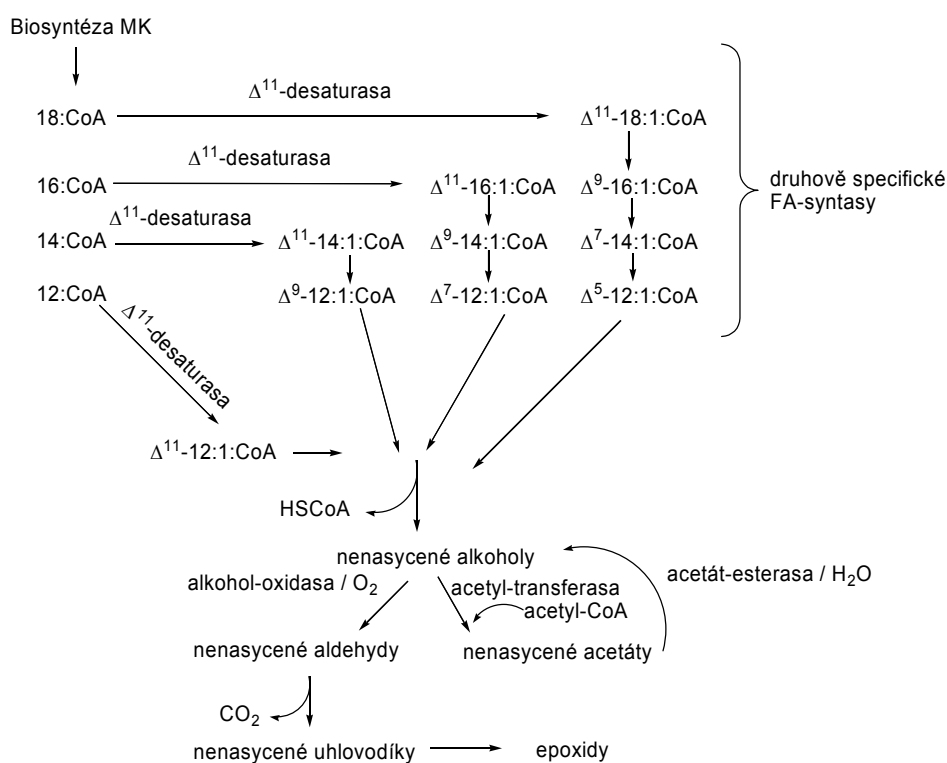
### 3.3. Biosyntéza sexuálních feromonů u much (Diptera) (přehled<sup>5</sup> a doprovodný materiál)

Feromony na bázi uhlovodíků jsou u much přítomny v kutikule a jsou strukturně podobné uhlovodíkům v epikutikulární lipidové vrstvě, shodné u všech druhů hmyzu<sup>18</sup>. Tyto feromony syntetizované dekarboxylací mastných kyselin<sup>19</sup> byly podrobně studovány u dvou modelových druhů much: octomilky *Drosophila melanogaster* a v domácnostech běžně se vyskytující mouchy, *Musca domestica*.

U samic druhu *D. melanogaster* je (7*Z*,11*Z*)-heptakosa-7,11-dien nejběžněji zastoupeným kutikulárním uhlovodíkem, zatímco u samců se nejvíce vyskytuje (*Z*)-trikos-9-en. Biosyntéza těchto nenasycených uhlovodíků vychází z palmitové kyseliny. Společným krokem u samic i samců je desaturace palmitové kyseliny v poloze 9. Následnost desaturací při vzniku samičího (7*Z*,11*Z*)-heptakosa-7,11-dienu nebyla dosud prokázána. Dochází buď k desaturaci (*Z*)-ikosa-13-enové kyseliny v poloze 9, nebo k desaturaci (*Z*)-oktadec-11-enové kyseliny v poloze 7.

Druhým podrobně studovaným druhem mouchy je *Musca domestica*. Samice mají jako hlavní a účinnou složku feromonu (*Z*)-trikos-9-en a dále jsou přítomny 9,10-epoxytrikosan, (*Z*)-trikos-14-en-10-on a specifická směs methylalkanů. Po aplikaci příslušných isotopově substituovaných prekurzorů acetátu, stearátu a oleátu byl zjištěn následující biosyntetický postup. Klasickou syntézou mastných kyselin vzniká stearyl-CoA, který je desaturován v poloze 9 a následně ve 3 krocích prodloužen za katalýzy mikrozomální elongasou mastných kyselin na (*Z*)-tetrakos-10-enyl-CoA. Dekarboxylací této látky vzniká (*Z*)-trikos-9-en. V posledních krocích se tento uhlovodík oxiduje na 9,10-epoxytrikosan a (*Z*)-trikos-14-en-10-on, které tvoří další složky feromonu (schéma 8).

Schéma 8. Biosyntéza samičího feromonu mouchy *Musca domestica* (podle cit.<sup>19</sup>)

Schéma 9. Obecné schéma biosyntézy alifatických feromonů motýlů (podle cit.<sup>5</sup> a cit.<sup>13</sup>)

### 3.4. Biosyntéza feromonů u motýlů (Lepidoptera) (přehled<sup>5</sup> a doprovodný materiál)

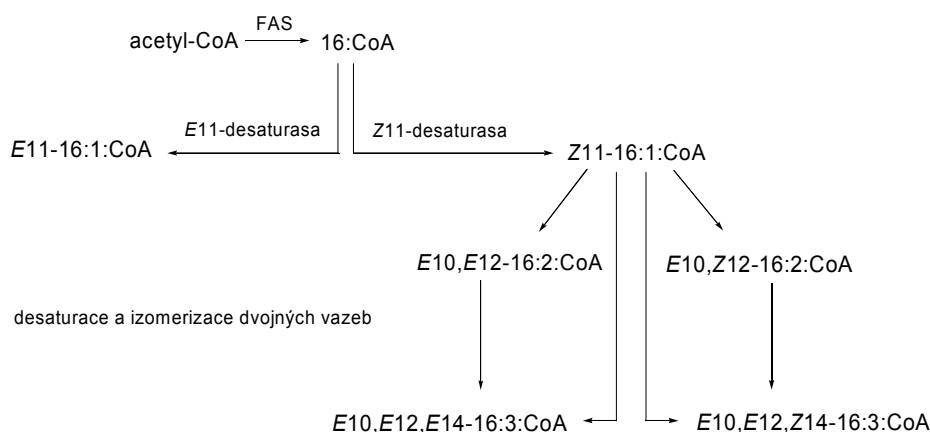
Sexuální feromony produkované motýly jsou obecně lineární deriváty mastných kyselin s počtem uhlíků od 12 do 18. Ve feromonech byly identifikovány především alkoholy, aldehydy nebo acetáty, a to od nasycených po trojnásobně nenasycené. Konfigurace dvojných vazeb je obvykle *cis*<sup>20</sup>, ale vyskytuje se i *trans* konfigurace. Dalším minoritně zastoupeným strukturálním typem látek jsou lineární či methylem větvené nenasycené uhlovodíky a z nich vznikající epoxidy, alleny či eniny. Díky variabilitě poloh a konfigurací dvojných vazeb, délek řetězců a kyslíkatých funkčních skupin, případně různých poměrů zastoupení jednotlivých komponent ve feromonových směsích vzniká široká škála druhově specifických feromonů<sup>21</sup>. K podrobnému výzkumu biosyntézy feromonů motýlů byly nejprve zvoleny tři druhy *Trichoplusia ni* (Noctuidae), *Agryrotaenia velutinana* (Totricidae) a *Choristoneura fumiferana* (Totricidae). Jako prekurzory byly použity <sup>14</sup>C isotopově substituované acetáty alifatických alkoholů a mastné kyseliny<sup>7</sup>.

Prvotním cílem bylo rozhodnout, zda dvanácti- a čtrnáctiuhlíkaté skelety feromonových komponent jsou přímo produktem biosyntézy kratších mastných kyselin katalyzované specifickými syntasami mastných kyselin, nebo zda

vznikají zkrácením z palmitové a stearové kyseliny, které jsou produktem klasické biosyntézy mastných kyselin. Po objevu  $\Delta^{11}$ -desaturas, pracujících s osmnácti-, šestnácti-, čtrnácti- a dvanáctiuhlíkatými thioestery mastných kyselin, a po určení vysoce selektivních zkracovacích reakcí byla jednoznačně potvrzena cesta zkrácení produktů klasické biosyntézy mastných kyselin katalyzované cytosolickou syntasou mastných kyselin<sup>7</sup>. Následovalo shrnutí a definování modelové biosyntézy feromonových derivátů mastných kyselin motýlů<sup>13</sup> (schéma 9). Enzymový komplex syntasy mastných kyselin je lokalizován v cytoplazmě, desaturasy a enzymy podílející se na zkrácení řetězce jsou asociovány s endoplazmatickým retikulem<sup>21</sup>.

Ne všechny dvojně vazby v řetězcích vznikají činností  $\Delta^{11}$ -desaturas. Např. u samic makadlovky *Pectinophora gossypiella* (Gelechiidae) se tímto enzymem dehydrogenuje (Z)-oktadec-9-enoyl-CoA (Z9-18:1:CoA), kde první dvojná vazba vznikla za katalýzy běžné  $\Delta^9$ -desaturasy. Po modifikaci karboxylu je výsledkem acetát Z9,Z11-C18:2:OAc. Naproti tomu dvojná vazba ve feromonu obaleče *Cteptoseutius herana* (Totricidae), jímž je acetát Z5-14:1:OAc, vzniká rovnou desaturací v poloze 5 čtrnáctiuhlíkaté kyseliny. Také dvojně vazby se sudou polohou nemusejí vznikat působením nejběžnějších  $\Delta^5$ - nebo  $\Delta^{11}$ -desaturas. Např. Jurenka popsal vznik dvojně vazby v poloze 12 u Z9,E12-C14:2:OAc, feromonu dvou druhů zavíječů *Cadra cautella* (Pyralidae) a *Spodoptera exigua*



Schéma 10. Schéma následné desaturace monoenoových a dienových prekurzorů feromonu samic *Manduca sexta* (podle cit.<sup>23</sup>)

(Noctuidae), dehydrogenací Z9-C14:1:CoA  $\Delta^{12}$ -desaturasou. Další dvojná vazba se sudou polohou v acetátovém feromonu Z8-14:1:OAc obaleče *Planotortrix excelsana* se do polohy 8 posunula po zkrácení Z10-C16:1:CoA. Tento meziprodukt vznikl desaturací 16:CoA specifickou  $\Delta^{10}$ -desaturasou, dále byl zkrácen na Z8-14:1:CoA, redukován a acetylován na samotný acétát Z8-14:1:OAc. Další desaturasa byla identifikována při vzniku feromonu E12- a Z12-14:1:OAc u zavíječe *Ostrinia furnicalis*. Tento feromon vzniká dehydrogenací 16:CoA  $\Delta^{14}$ -desaturasou za vzniku E14-, nebo Z14-16:1:CoA. Intermediát je dále zkrácen o dva uhlíky a převeden na acetátovou komponentu feromonu.

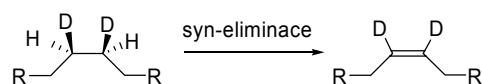
Feromonová biosyntéza u motýlů je regulována prostřednictvím neuropeptidu indukujícího biosyntézu feromonu (PBAN). Tento neuropeptid byl poprvé lokalizován v mozkových gangliích *Heliothis zea*<sup>22</sup>. Z mozku je v určité časové periodě skotofáze vyplaven do hemolymfy, kterou se transportuje do feromonové žlázy. Tam se naváže na receptor na povrchu sekrečních buněk, čímž podnítl otevření vápenatých kanálků v buněčné membráně. Vápenaté ionty prostupují do cytosolu buňky a aktivují enzym adenylátcyklasu, která dále katalyzuje vznik nitrobuněčného posla cyklického adenosinmonofosfátu (cAMP) z ATP. cAMP aktivuje enzymy proteinkinasy, které fosforylací dalších enzymů spouštějí celou signální kaskádu vedoucí k aktivaci enzymů feromonové biosyntézy.

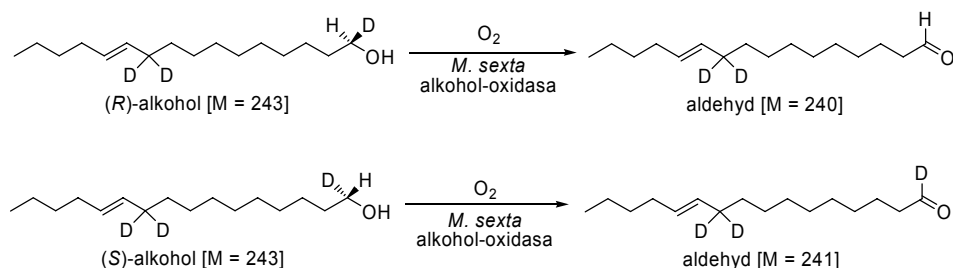
Významným modelovým druhem motýla je lišaj tabákový, *Manduca sexta*. O studiu složení jeho sexuálního feromonu, biosyntetických drah jeho tvorby a mechanismů jeho percepce hmyzem existuje bezpočet prací. Sexuálním atraktantem tohoto tabákového škůdce je směs osmi šestnáctiuhlíkatých aldehydů. Tyto aldehydy jsou produkovány ve feromonové žláze umístěné v intersegmentální membráně mezi šestým a osmým segmentem samičího abdomenu. Produkce feromonu trvá pouze 3–5 hodin. Pro laboratorní studie lze tuto fázi prodloužit injekcí neuropeptidu PBAN do abdomenu samic. Feromon není ve žláze sklado-

ván, ale okamžitě vypouštěn do ovzduší. Aby se mohl feromon syntetizovat dle potřeby, jsou prekurzory biosyntézy, jimiž jsou již v příslušných polohách nenasycené mastné kyseliny, uloženy do zásoby ve formě triacylglycerolů (TAG) v tukovém tělese v abdomenu samic *Manduca sexta*. Množství a složení nenasycených mastných kyselin, vázaných v TAG, koreluje s polohami dvojných vazeb ve feromonálních aldehydech.

Biosyntézou konjugovaných systémů se zabýval Fang a spol.<sup>23</sup> Průběh je patrný ze schématu 10. 16:CoA je desaturován dvěma typy desaturas na Z11-16:1:CoA a E11-16:1:CoA. Tyto prekurzory se ukládají do zásoby ve formě TAG a v případě potřeby jsou z nich syntetizovány feromonové komponenty. Jako prekurzor k dalším modifikacím je dále využíván pouze Z11-16:1:CoA, který je selektivně přeměňován následnými desaturacemi a isomerizacemi dvojných vazeb. Výslednými produkty jsou E10,E12-C16:2:CoA a E10,Z12-C16:2:CoA a také oba trienoyly E10,E12,E14-C16:3:CoA a E10,E12,E14-C16:3:CoA. Druhá cesta vzniku trienoyl-CoA vede přes desaturaci Z11-16:1:CoA na oba dienoyl-CoA a teprve z nich se v dalším kroku tvoří následnou desaturací oba trienoyl-CoA. (viz schéma 10). Přesný mechanismus následných desaturací nebyl dosud plně objasněn.

Stereochemie desaturace hexadekanové kyseliny  $\Delta^{11}$ -(Z)-desaturasou z feromonové žlázy samic lišaje tabákového byla objasněna<sup>24</sup>. Jako prekurzor byly použity enantioselektivně deuteriem substituované kyseliny (2,2,3,4,5,5,6,6,7,8,9,9,11,12-<sup>2</sup>H<sub>14</sub>)-(11R,12S)-hexadekanová a (2,2,3,4,5,5,6,6,7,8,9,9,11,12-<sup>2</sup>H<sub>14</sub>)-(11S,12R)-hexadekanová kyselina. Po inkubaci feromonové žlázy

Schéma 11. Stereochemie desaturace hexadekanové kyseliny  $\Delta^{11}$ -(Z)-desaturasou (podle cit.<sup>24</sup>)

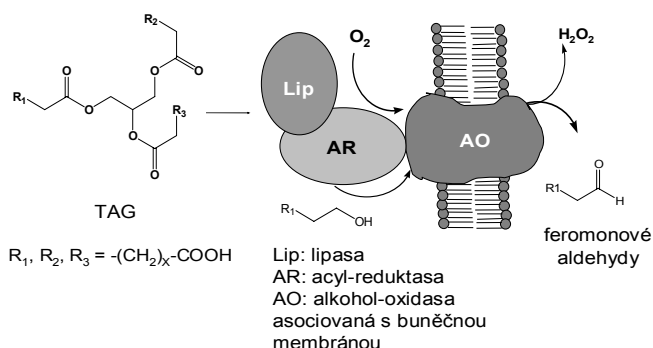
Schéma 12. Stereospecifický průběh oxidace alkoholických prekurzorů feromonu lišaje tabákového, *Manduca sexta*<sup>25</sup>

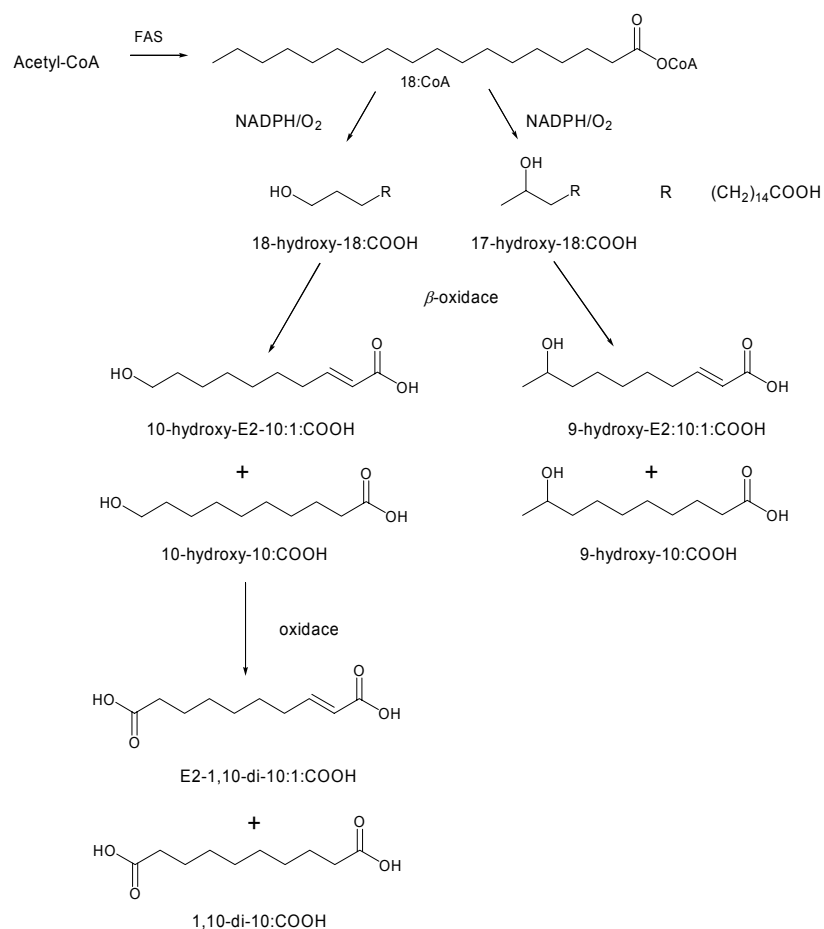
s deuteriem značeným enantiomerem (11*R*,12*S*) byly působením  $\Delta^{11}$ -(*Z*)-desaturasy odstraněny dva vodíky za vzniku (2,2,3,4,5,5,6,6,7,8,9,9,11,12-<sup>2</sup>H<sub>14</sub>)-(*Z*)-hexadec-11-enové kyseliny. Druhý enantiomer (11*S*,12*R*) byl desaturován  $\Delta^{11}$ -(*Z*)-desaturasou na [2,2,3,4,5,5,6,6,7,8,9,9-<sup>2</sup>H<sub>12</sub>]-(*Z*)-hexadec-11-enovou kyselinu. Z poloh 11,12 odstoupila obě deuteria. Z experimentů vyplývá, že  $\Delta^{11}$ -(*Z*)-desaturasa katalyzující vznik dvojné vazby ve složkách feromonu samic *Manduca sexta* má *pro*-(*R*)-C(11) a *pro*-(*R*)-C(12) stereospecifitu a katalyzuje *syn* eliminaci dvou vodíkových atomů (viz schéma 11). Stereochemie oxidace hexadec-11-en-1-olu na hexadec-11-enal byla též objasněna<sup>25</sup>. Pomocí deuteriem selektivně značených alkoholů o známé absolutní konfiguraci bylo zjištěno, že oxidace probíhá s *Re* stereospecifitou (schéma 12).

Rekonstrukce celé biosyntetické cesty feromonu *Manduca sexta* je pravděpodobně následující (schéma 13). Klasickou biosyntézou mastných kyselin vznikají acyl-CoA, které jsou desaturovány specifickými desaturasami a isomerasami na monoenoové, dienové a trienové prekurzory feromonu. Tyto prekurzory jsou zabudovány do TAG v tukovém tělese v abdomenu samic. V příslušné periodě

skotofáze se kyseliny z TAG uvolní působením lipas, a to buď ve volné formě, nebo ve formě acyl CoA a redukují se uvnitř sekrečních buněk na alkoholy. Alkoholy se dále oxidují na aldehydy selektivní oxidasou lokalizovanou ve feromonové žláze. Celý proces je endokrinně regulován za účasti neuropeptidu PBAN. Zajímavé je, že alkoholy odpovídající konfigurací dvojných vazeb feromonovým složkám nebyly ve feromonové žláze detegovány. Oxidasa má zřejmě tak vysokou účinnost, že oxiduje alkoholy na aldehydy okamžitě po jejich vzniku.

Oxidační aktivita a charakterizace feromonové oxidasy byla popsána Fangem<sup>26</sup>. Membrána konce abdomenu byla rozdělena na osm částí, z nichž nejvyšší oxidační aktivitu ukázaly kromě feromonové žlázy i řitní papily, ze kterých je feromon do ovzduší odpařován. Autoři prokázali oxidační aktivitu tkáně také v nevodném prostředí, např. v hexanu. Inhibice oxidasy známým inhibitorem monooxygenas piperonylbutoxidem potvrdila příslušnost enzymu k této třídě. Možné uplatnění enzymového mechanismu, kdy je zapotřebí molekulární kyslík jako jeden z kaskády kofaktorů, naznačily pokusy, ve kterých se oxidační aktivita enzymu snížila v prostředí inertního plynu. Dále bylo

Schéma 13. Konečná fáze biosyntézy feromonových aldehydů ve feromonové žláze samic *Manduca sexta*

Schéma 14. Kastově specifická biosyntéza kyselin dělnic včely medonosné *Apis mellifera* (podle cit.<sup>28</sup>)

zjištěno, že feromonová oxidasa samic *M. sexta* má jen malou specifitu pro délku řetězce alkoholového substrátu.

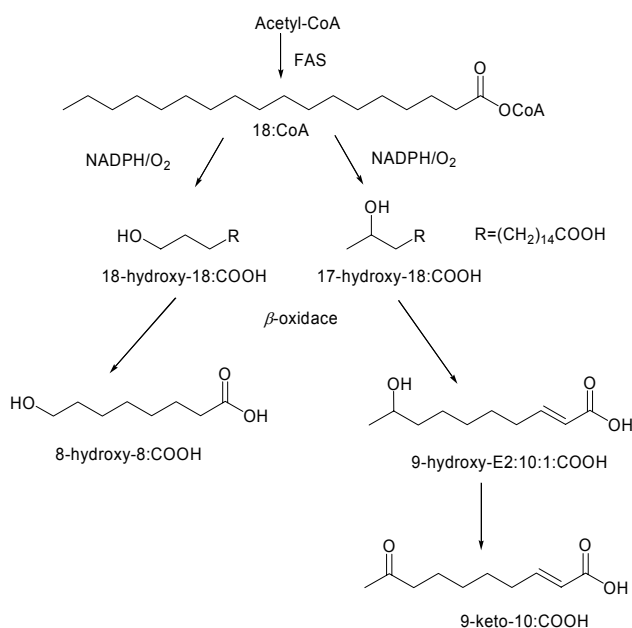
### 3.5. Biosyntéza feromonů blanokřídlých (Hymenoptera)

Informace o biosyntéze feromonů tohoto řádu jsou velmi kusé, protože identifikované feromony blanokřídlých, jejichž typickými zástupci jsou včely, vosy, čmeláci či mravenci, jsou komplexní směsi vylučované v malém množství identifikovatelném pouze citlivými analytickými přístroji.

Studie zaměřené především na lokalizaci biosyntézy kutikulárních uhlovodíků mravenců *Cataglyphis niger* byly provedeny v Izraeli<sup>27</sup>. Jako kontaktní rozpoznávací feromon využívají tyto mravenci směs mono- či dimethylovaných nasycených dlouhých uhlovodíků, kde převládá heptakosan, nonakosan, triakontan či hentriakontan. Po aplikaci <sup>14</sup>C značeného acetátu byla sledována distribuce radioaktivity mezi jednotlivé třídy lipidů v závislosti na čase a na lokalizaci v jednotlivých tkáních. Formulované závěry jsou následující. Uhlovodíky se syntetizují

v tukovém tělese mravenců z mastných kyselin deponovaných v TAG. Odtud jsou transportovány hemolymfou do postfaryngeální žlázy, kde se ukládají. Mravenci je z této žlázy vylučují a třením nohou o kutikulu se jimi impregnují.

Ojedinelé biosyntetické studie feromonů nadčeledi včelovitých byly provedeny na výměšcích mandibulárních (kusadlových) žláz dělnic a královen včely medonosné, *Apis mellifera*<sup>28</sup>. Produkované hydroxy- a ketokyseliny mají v kolonii základní komunikační a regulační funkci. Dělnice syntetizují v mandibulární žláze směs (*E*)-10-hydroxydec-2-enové kyseliny, 10-hydroxydekanové kyseliny a 8-hydroxyoktanové kyseliny. Dále byly ve žláze dělnic identifikovány dikarboxylové kyseliny (*E*)-dec-2-en-1,10-diová a dekan-1,10-diová, jež slouží především jako konzervant a ochucovač potravy, kterou dělnice krmí larvy (schéma 14). Výměšek mandibulární žlázy královen, zvaný mateří látka, se skládá především z (*E*)-9-oxodec-2-enové a (*E*)-9-hydroxydec-2-enové kyseliny (schéma 15). Matka si pomocí mateří látky udržuje dominantní postavení v kolonii. Dělnice, které olizují feromon z matčina těla, mají potlačen vývoj vaječníků a nekladou vajíčka. Jejich chování pod vlivem mateří látky nepodporuje výchovu

Schéma 15. Kastově specifická biosyntéza mateří látky u včely medonosné *Apis mellifera* (podle cit.<sup>28</sup>)

nových matek v hnízdě, ale v době rojení nutí dělnice shlukovat se kolem vylétající mladé matky<sup>29</sup>.

Série experimentů s prekurzory složek mateřího feromonu substituovanými stabilními isotopy dokázala, že biosyntéza těchto kyselin začíná *de novo* tvorbou kyseliny stearové. Kyselina stearová je selektivně hydroxylována v poloze 17 a 18, avšak hydroxylace může probíhat dvěma možnými mechanismy. První je dvoukrokový a spočívá nejprve v desaturaci kyseliny a následné hydrataci dvojně vazby za vzniku hydroxykyseliny. Druhý mechanismus spočívá v přímém zavedení hydroxyskupiny oxidací vzdušným kyslíkem za katalýzy NADPH. Nepřítomnost prekurzoru s dvojnou vazbou na konci řetězce podporuje druhý způsob vzniku hydroxykyselin. Hydroxylovaná stearová kyselina je potom zkrácena β-oxidací. Tento proces je selektivní pro různé kasty. Královny zkracují především 17-hydroxystearovou kyselinu na 9-hydroxydekanovou a 9-hydroxydec-2-enovou kyselinu a dále 18-hydroxystearovou kyselinu na 8-hydroxyoktanovou kyselinu (schéma 15). Dělnice preferují jako prekurzor 18-hydroxystearovou kyselinu, kterou zkracují na osmi- a desetiuhlíkaté kyseliny, především pak na kyselinu 10-hydroxydec-2-enovou. Z té se potom oxidací hydroxyskupiny tvoří dikarboxylové kyseliny (schéma 14).

V začátcích jsou i studie biosyntézy samčích značkovacích feromonů čmeláků. Tyto feromony hrají klíčovou roli při námluvách čmeláků a slouží k přilákání samic (hlavovou) částí samčí labiální žlázy. Po chemické stránce jsou tyto feromony směsí látek, v níž převažují buď terpenické alkoholy či jejich estery, nebo deriváty mastných kyselin. V každém případě jsou tyto směsi feromonových komponent druhově specifické a jednotlivé druhy si udržu-

jí konstantní složení feromonu bez ohledu na značné vzdálenosti lokalit výskytu či jejich úplné geografické oddělení. Zatímco biosyntéza terpenických složek samčích značkovacích feromonů studována nebyla, o alifatických složkách se v literatuře spekulovalo již dříve, avšak bez konkrétní experimentální evidence. V současné době již máme první informace o pochodech, jimiž vznikají ethylestery mastných kyselin (převážně ethyl-(*Z*)-tetradec-9-enoát) u čmeláka hájového (*Bombus lucorum*) či alkoholy (převážně (*Z*)-hexadec-9-en-1-ol) u čmeláka skalního (*B. lapidarius*)<sup>30</sup>. Zdá se, že základní principy známé z biogeneze feromonů motýlů se uplatňují i u čmeláků. Prekurzory feromonových složek (kyseliny (*Z*)-tetradec-9-enová či (*Z*)-hexadec-9-enová) jsou s největší pravděpodobností skladovány v tukovém tělese ve formě triacylglycerolů a posléze transportovány hemolymfou do labiální žlázy, kde jsou modifikovány na vlastní feromonové složky. Z desaturacích enzymů, uplatňujících se při biosyntéze, byla zatím nalezena jen  $\Delta^9$ -desaturasa na rozdíl od  $\Delta^{11}$ -desaturas typických pro feromony motýlů.

#### 4. Závěr

Z uvedeného souhrnu je zřejmé, jak rozmanitými cestami vznikají feromony u hmyzu. Nelze předem odhadnout, která biosyntetická cesta se uplatní při tvorbě stejného nebo podobných látek, neboť k nim hmyz často dospěje odlišnými cestami. Navíc se v řadě případů uplatňují i alternativní cesty k těže látky podle dostupnosti potřebných prekurzorů. Proto je studium biosyntézy feromonů tak zajímavé, neboť často vede i k objasnění základních principů funkce a selektivity enzymů.

*Výzkum biosyntézy hmyzích feromonů byl v ČR podporován granty GA AV ČR (# A4055403) a GAČR (# 203/02/0158).*

## LITERATURA

1. Francke W., Schulz S., v knize: *Comprehensive Natural Products 8* (Barton D., Nakanishi K., Meth-Cohn O., ed.), str. 191. Elsevier Science Ltd., Oxford 1999.
2. Mori K.: Eur. J. Org. Chem. 1998, 1479.
3. Prestwich G. D., Blomquist G. J., v knize: *Pheromone Biochemistry*. Academic Press, Orlando 1987.
4. Carde R. T., Minks A. K., v knize: *Insect Pheromone Research, New Directions*. Chapman and Hall, New York 1997.
5. Tillman J. A., Seybold S. J., Jurenka R. A., Blomquist G. J.: Insect Biochem. Mol. Biol. 29, 481 (1999).
6. Seybold S. J., Vanderwel D., v knize: *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology* (Blomquist G. J., Vogt R. G., ed.) str. 137. Elsevier Academic Press, Amsterdam 2003.
7. Bjostad L. B., Wolf W. A., Roelofs W. L., v knize: *Pheromone Biochemistry* (Blomquist G. J., Prestwich G. D., ed.) str. 77. Academic Press, Orlando 1987.
8. Volpe J. J., Vagelos P. R.: Annu. Rev. Biochem. 42, 2 (1973).
9. Blomquist G. K., Borgeson C. E., De Renoables M., v knize: *Insect Lipids, Chemistry, Biochemistry and Biology* (Stanley-Samuelson, Nelson D. R., ed.) str. 318. Univ. of Nebraska Press, Lincoln 1993.
10. Leal W. S., v knize: *Insect Pheromone Research, New Directions* (Carde R. T., Minks A. K., ed.) str. 505. Chapman and Hall, New York 1997.
11. Leal W. S., v knize: *Pheromones of Non-Lepidopteran Insect Associated With Agricultural Plants* (Hardie J., Minks A. K., ed.), str. 51. CABI Publishing, New York 1999.
12. Platzner I. T., v knize: *Modern Isotope Ratio Mass Spectrometry*. John Wiley and Sons, West Sussex 1997.
13. Morse D., Meighen E. A., v knize: *Pheromone Biochemistry* (Blomquist G. J., Prestwich G. D., ed.) str. 121. Academic Press, Orlando 1987.
14. Vanderwell D., Oehlschlager A. C., v knize: *Pheromone Biochemistry* (Blomquist G. J., Prestwich G. D., ed.) str. 175. Academic Press, Orlando 1987.
15. Leal W. S.: Annu. Rev. Entomol. 43, 39 (1998).
16. Seybold S. J., Tittiger C.: Annu. Rev. Entomol. 48, 425 (2003).
17. Rohmer M., Knani M., Simonin P., Sutter B., Sahn H.: Biochem. J. 295, 517 (1993).
18. Blomquist G. J., Tillman J. A., Mpuru S., v knize: *Pheromone Communication in Social Insect: Ants, Wasp, Bees, Termites* (Vander Meer R. K., Breed M. D., Espelie K. E., Winston M., ed.) str. 34. Westview Press Boulder, Colorado 1998.
19. Blomquist G. J., Dillwith J. W., Adams J. G., v knize: *Pheromone Biochemistry* (Blomquist G. J., Prestwich G. D., ed.), str. 217. Academic Press, Orlando 1987.
20. Tamaki Y., v knize: *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (Kerkut G. A., Gilbert L. I. ed.) str. 145. Pergamon Press, Oxford 1985.
21. Jurenka R. A., Roelofs W. L., v knize: *Insect Lipids. Chemistry, Biochemistry, and Biology* (Stanley-Samuelson D. W., Nelson D. R., ed.) str. 353. University of Nebraska Press, Lincoln 1993.
22. Raina A. K., Klun J. A.: Science 225, 531 (1984).
23. Fang N., Teal P. E. A., Doolittle R. E., Tumlinson J. H.: Insect Biochem. Mol. Biol. 25, 39 (1995).
24. Svatoš A., Kalinová B., Boland W.: Insect. Biochem. Mol. Biol. 29, 225 (1999).
25. Hoskovec M., Luxová A., Svatoš A., Boland W.: Tetrahedron 58, 9193 (2002).
26. Fang N., Teal P. E. A., Tumlinson J. H.: Arch. Insect Biochem. Physiol. 29, 243 (1995).
27. Soroker V., Hefetz A.: J. Insect Physiol. 46, 1097 (2000).
28. Plettner E., Slessor K. N., Winston M. L.: Insect Biochem. Mol. Biol. 28, 31 (1998).
29. Slessor K. N., Kaminski L. A., King G. G., Borden J. H., Winston M. L.: Nature 332, 354 (1988).
30. Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O., Svatoš A.: Chemoecology 13, 81 (2003).

Další citace jsou uvedeny v doprovodném materiálu na webových stránkách našeho časopisu:  
<http://chemicke-listy.vscht.cz>

**A. Luxová and I. Valterová** (*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*): **Biosynthesis of Insect Pheromones**

The review summarizes recent knowledge on chemical methods used in the research of biosynthetic pathways of insect pheromones. Precursors labelled with stable isotopes ( $^{13}\text{C}$ ,  $^2\text{H}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$ ) or radioactive isotopes ( $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ) are used in different forms and their metabolites are searched for using spectral methods (MS, isotope-ratio-monitoring MS,  $^{13}\text{C}$  NMR) or chromatographic methods (radio-HPLC or radio-GC). Specific examples and information are given on the pheromone biosynthesis in the insect genera of cockroaches (Blattodea), beetles (Coleoptera), flies (Diptera), butterflies and moths (Lepidoptera), ants and bees (Hymenoptera).

## Doprovodný materiál

### Další citace vztahující se k metodám výzkumu biosyntézy

- Chase J., Touhara K., Prestwich G. D., Schal C., Blomquist G. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 6050 (1992).
- Vanderwel D., Johnston B., Oehlschlager A. C.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 22, 875 (1992).
- Lanne B. S., Ivarsson P., Johnson P., Bergström G., Wassegren A. B.: *Insect Biochem.* 19, 163 (1989).
- Renwick J. A. A., Pitman G. B., Vité J. P.: *Naturwissenschaften* 63, 198 (1976).
- Barkawi L.: Biochemical and molecular studies of bark beetle in the genus *Dendroctonus* (Coleoptera, Scolytidae) PhD. thesis, p. 193, University of Reno, Nevada, 2002.
- Hunt D. W. A., Borden J. H., Pierce H. D., Slessor K. N., King G. G. S., Czyzewska E. K., J. *Chem. Ecol.* 12, 1579 (1986).
- Jones I. F., Berger R. S.: *Environ. Entomol.* 7, 666 (1978).
- Bjostad L. B., Roelofs W. L.: *J. Biol. Chem.* 256, 7936 (1981).
- Teal P. E. A., Tumlinson J. H.: *J. Chem. Ecol.* 12, 353 (1986).
- Morse D., Meighen E.: *Science* 226, 1434 (1984).
- Morse D., Meighen E.: *Insect. Biochem.* 17, 53 (1987).
- Ivarsson P., Birgersson G.: *J. Insect Physiol.* 41, 843 (1995).
- Lu F.: Origin and endocrine regulation of pheromone biosynthesis in the pine bark beetle, PhD. thesis, p. 152, University of Reno, Nevada 1999.
- Byers J. A.: *Insect. Biochem.* 11, 563 (1981).
- Gries G., Smirle M. J., Leufven A., Miller D. R., Borden J. H., Whitney H. S.: *Experientia* 46, 329 (1990).
- Chase J., Jurenka R. A., Schal C., Halarnkar P. P., Blomquist G. J.: *Insect Biochem.* 20, 149 (1990).
- Dillwith J. W., Nelson J. H., Pomonis J. G., Nelson D. R., Blomquist G. J.: *J. Biol. Chem.* 257, 11305 (1982).
- Dwyer L. A., Blomquist G. J., Nelson J. H., Pomonis J. G.: *Biochim. Biophys Acta* 663, 536 (1981).
- Petroski R. J., Bartelt R. J., Weisleder D.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 24, 69 (1994).
- Bjostad L. B., Linn C. E., Du J. W., Roelofs W. L.: *J. Chem. Ecol.* 10, 1309 (1984).
- Tillman J. A., Hobrook G. L., Dallara P. L., Schal C., Wood D. L., Blomquist G. J., Seybold S. J.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 28, 705 (1998).

Barkawi L. S., Francke W., Blomquist G. J.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 33, 773 (2003).

Henzell R. F., Lowe M. D.: *Science* 168, 1005 (1970).

Byers J. A., Birgersson G.: *Naturwissenschaften* 77, 385 (1990).

Plettner E., Slessor K. N., Winston M. L., Oliver J. E.: *Science* 271, 1851 (1996).

Platzner I. T. in: *Modern isotope ratio mass spectrometry*, John Wiley and Sons, West Sussex, England 1997.

Thompson S. N.: *Insect Biochem.* 20, 223 (1990).

Chu A. J., Blomquist G. J.: *Arch. Biochem. Biophys.* 201, 304 (1980).

Blomquist G. J., Chu A. J., Nelson J. H., Pomonis J. G.: *Arch. Biochem. Biophys.* 204, 648 (1980).

Halarankar P. P., Nelson J. H., Heisler C. R., Blomquist C. R., Blomquist G. J.: *Arch. Biochem. Biophys.* 236, 526 (1985).

Seybold S. J., Quilici D. R., Tillman J. A., Vanderwel D., Wood D. L., Blomquist G. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 8393 (1995).

Lahav S., Soroker V., Van der Meer R., Hefety A.: *Behav. Ecol. Sociobiol.* 43, 203 (1998).

Fan Y. L., Zurek L., Dykstra M. J., Schal C.: *Naturwissenschaften* 90, 121 (2003).

#### **Další citace vztahující se k biosyntéze feromonů brouků**

Islam N., Bacala R., Moore A., Vanderwel D.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 29, 201 (1999).

Tumlinson J. H., Klein M. G., Doolittle R. E., Ladd T. L., Proveaux A. T.: *Science* 197, 789 (1977).

Birgersson G., Byers J. A., Bergström G., Löfqvist J.: *J. Insect Physiol.* 36, 391 (1990).

Borg-Karlson A. K., Ågren L., Dobson H., Bergström G.: *Experientia* 45, 531 (1988).

Silverstein R. M., Rodin J. O., Burkholder W. E., Gorman J. E.: *Science*, 157, 85 (1967).

Insoe M. N., Beroza M. in: *ACS Symposium Series 23, Pest management with Insect Sex Attractant* (Beroza M. Eds) p. 145, American Chemical Society, Washington D.C. 1976.

Vanderwel D., Pierce H. D., Oehlschlager A. C., Borden J. H., Pierce A. M.: *Insect Biochem.* 20, 567 (1990).

Zhang Q. H., Tolasch T., Schlyter F.: *J. Chem. Ecol.* 28, 1839 (2002).

Francke W., Kitching W.: *Curr. Org. Chem.* 5, 233 (2001).

Fletcher M. T., Wood B. J., Brereton I. M.: *J. Am. Chem. Soc.* 124, 7666 (2002).

Francke W., Vité J. P.: *Z. Angew. Entomol.* 96, 146 (1983).

Pierce H. D., Conn J. E., Oehlschlager A. C., Borden J. H.: *J. Chem. Ecol.* 13, 1455 (1987).

Nebeker T. E., Hodges J. D., Blanche C. E. in: Beetle Pathogen Interaction in Conifer Forest (Schowalter T. D., Filip G. M., Eds.) p. 157, Academic Press, London 1993.

Raffa K. F., Berryman A. A., Simasko J. W., Wong B. L.: *Environ. Entomol.* 14, 552 (1985).

Birch M. C., Light D. M., Wood D. L., Browne L. E., Silverstein R. M., Bergot B. J., Ohloff G., West J. R., Young J. C.: *J. Chem. Ecol.* 6, 703 (1980).

Silverstein R. M., Rodin J. O., Wood D. L.: *Science* 154, 509 (1966).

Renwick J. A. A., Hughes P. R., Krull I. S.: *Science* 191, 199 (1976).

Byers J. A.: *Science* 220, 624 (1983).

Lindström M. Norin T., Birgenesson G., Schlyter F.: *J. Chem. Ecol.* 15, 541 (1989).

Hughes P. R., Renwick J. A. A.: *Physiol. Entomol.* 2, 117 (1977).

Renwick J. A. A., Hughes P. R., Pitman G. B., Vité J. P.: *J. Insect Physiol.* 22, 725 (1976).

Hall G. M., Tittiger C., Andrews G. L.: *Naturwissenschaften* 89, 79 (2002).

Martin D., Bohlmann J., Gershenzon J.: *Naturwissenschaften* 90, 173 (2003).

Rohmer M., Seeman M., Horbach S., Bringer-Mezer S., Sahn H.: *J. Am. Chem. Soc.* 118, 2564 (1996).

Schwender J., Seemann M., Lichtenthaler H. K., Rohmer M.: *Biochem. J.* 316, 73 (1996).

Schwender J., Zeidler J., Groner R., Müller C., Focke M., Braun S., Lichtenthaler H. K.: *FEBS Letters* 414, 129 (1997).

Lichtenthaler H. K., Schwender J., Dish A., Rohmer M.: *FEBS Letters* 400, 271 (1997).

Leal W. S.: *Pure Appl. Chem.* 73, 613 (2001).

Bartelt R. J., Weisleder D.: *Bioorg. Med. Chem.* 4, 429 (1996).

### **Další citace vztahující se k biosyntéze feromonů much**

Dillwith J. W., Blomquist G. J., Nelson D. R.: *Insect Biochem.* 11, 247 (1981).

Jallon J. M.: *Behav. Genet.* 14, 441 (1984).

Ferveur J. F., Cobb M., Jallon J. M. in: *Neurobiology of Sensory Systems* (Naresh Singh R., Strausfeld N. J., Eds.) p. 397, Plenum Publishing Corp., New York 1989.

Ferveur J. F., Cobb M., Oguma Y., Jallon J. M. in: *The Difference Between the Sexes* (Shortland R. V., Balaban E., Eds) p. 363, Cambridge University Press, Cambridge 1994.

Rogoff W. M., Gretz G. H., Sonnet P. E., Schwarz M.: *Environ. Entomol.* 9, 605 (1980).

Carlson D. A., Mayer M. S., Silhacek D.L., James J. D., Beroza M., Bierl B. A.: *Science* 201, 750 (1971).

Uebel E. C., Schwartz M., Lusby W. R., Miller R. W., Sonnet P. E.: *Lloydia* 41, 63 (1978).



Mpuru S., Reed J. R., Reitz R. C., Blomquist G. J.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 26, 203 (1996).

#### **Další citace vztahující se k biosyntéze feromonů motýlů**

Roelofs W. L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 44 (1995).

Roelofs W. L., Du J.-W., Tang X.-H., Robbins P. S., Eckenrode C. J.: *J. Chem. Ecol.* 11, 829 (1985).

Roelofs W. L., Wolf W. A.: *J. Chem. Ecol.* 14, 2019 (1988).

Fang N., Tumlinson J. H., Teal P. E., Oberlander H.: *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 22, 621 (1992).

Tumlinson J. H., Teal P. E. A., Fang N.: *Bioorg. Med. Chem.* 4, 451 (1996).

Tumlinson J. H., Mitchell E. R., Doolittle R. E., Jackson D. M.: *J. Chem. Ecol.* 20, 579 (1994).

Morse D., Meighen E. A.: *J. Chem. Ecol.* 16, 1485 (1990).

Roelofs W. L.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 44 (1995).

Foster S. P., Roelofs W. L.: *Insect. Biochem.* 18, 281 (1988).

Foster S. P., Roelofs W. L.: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 33, 135 (1996).

Jurenka R. A.: *Cell. Mol. Life Sci.* 53, 501 (1997).

Foster S. P., Roelofs W. L.: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 8, 1 (1988).

Raina A. K., Jaffe H., Klun J. A., Ridgway R. L., Hayes D. K.: *J. Insect Physiol.* 33, 809 (1987).

Raina A. K., Jaffe H., Kempe T. G., Keim P., Blacher R. W., Fales H. M., Riley C. T., Klun J. A., Ridgway R. L., Hayes D. K.: *Science* 244, 796 (1989).

Raina A. K., Davis J. C., Stadelbacher E. A.: *Environ. Entomol.* 20, 1451 (1991).

Tumlinson J. H., Brennan M. M., Doolittle R. E., Mitchell E. R., Brabham A., Mazomenos B. E., Baumhover A. H., Jackson D. M.: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 10, 2551 (1989).

Fang N., Tumlinson J. H., Teal P. E. A.: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 30, 321 (1995).

Fang N., Teal P. E. A., Tumlinson J. H.: *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 29, 35 (1995).

#### **Další citace vztahující se k biosyntéze feromonů blanokřídlých**

Röseler P. F.: *Insectes Soc.* 21, 249 (1974).

Velthuis H. H. W.: *Z. Vergl. Physiol.* 70, 210 (1970).

Lanne B. S., Bergström G., Wassgren A., Tornback B.: *Comp. Biochem. Physiol., B: Biochem. Mol. Biol.* 88, 631 (1987).