

Bombykoli ja hyönteisten sukupuoliferomonien tutkimus

Helsingin yliopisto
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta
Kemian laitos
Kemian opettajankoulutusyksikkö
Kandidaatintutkielma

Tekijä: Linnea Töyrylä
Pvm: 9.12.2011

Ohjaaja: Maija Aksela

Tarkastajat: Maija Aksela
Mikko Oivanen

Sisällysluettelo

1 Johdanto	1
2 Hyönteisten feromoneista.....	2
3 Mulperiperhonen	3
3.1 Mulperiperhosen ulkonäkö ja kehitys	3
3.2 Mulperiperhonen ja silkki	4
4 Bombykolin kemiaa	5
4.1 Bombykolin eristäminen ja karakterisointi	5
4.2 Bombykolin biosynteesi.....	6
4.3 Bombykolin syntetisointi laboratorio-oloissa	9
4.3 Bombykolin sitoutuminen	10
4.4 Bombykali	11
4.5 Bombykolin ja bombykalin vaikutus mulperiperhoseen.....	12
5 Feromonien käyttö.....	14
5.1 Feromonien käyttö maataloudessa	14
5.1.1 Tuhohyönteisten kartoittaminen.....	14
5.1.2 Tuhohyönteisten pariutumisen häirintä	15
5.1.3 Tuhohyönteisten pyydystäminen feromoniansoilla	15
6 Johtopäätökset	17
LÄHTEET	18
Kuvien lähteet	20

Lyhenneluettelo

PBP = pheromone-binding-protein, feromoneja sitova proteiini

PBAN = pheromone biosynthesis activating neuropeptide, feromonin biosynteesiä aktivoiva neuropeptidi

PG cell = pheromone gland cell, feromonirauhasen solu

1 Johdanto

Hyönteisten feromonitutkimusta on tehty jo vuosikymmeniä. Feromonit ovat lajinsisäiseen viestintään erikoistuneita yhdisteitä. Sukupuoliferomonit auttavat hyönteisiä kutsumaan vastakkaisen sukupuolen edustajia parittelemaan. Tämän kutsumisominaisuuden vuoksi sukupuoliferomoneja voidaan käyttää myös tuholaishyönteisten manipuloimiseen, ja siksi suurin osa hyönteisten sukupuoliferomonien tutkimusta käsittelee juuri tuhohyönteisiä.¹

Tämä tutkielma on rajattu koskemaan hyönteisten sukupuoliferomoneja, sillä kaikkien erilaisten feromonyyppien esitleminen johtaisi liian laajaan tutkielmaan. Tutkielmassa tarkastellaan feromoneja ensisijaisesti kemiallisina yhdisteinä, mutta myös niiden biologinen vaikutus eliöiden käyttäytymiseen otetaan huomioon.

Erikseen esiteltäväksi molekyyliksi valikoitui bombykoli, sillä se on ensimmäinen kemiallisesti määritelty feromonimolekyyli ja sitä on tutkittu paljon. Bombykoli on mulperi- eli silkki-perhosnaaraan erittämä feromoni. Bombykolia käsitellään luvussa 4.

Tutkielman luvussa 5 käsitellään lyhyesti hyönteisten sukupuoliferomonitutkimuksen kautta saavutettuja sovelluksia. Erityistä hyötyä feromonitutkimuksesta on ollut viljelykasvien suojelussa.

2 Hyönteisten feromoneista

Sana feromoni polveutuu kreikan kielen sanoista *pherein*, kantaa ja *horman*, kiihottaa.

Terminä feromonin määrittivät samanaikaisesti tutkijat Karlson ja Lüscher sekä Karlson ja Butenandt vuonna 1959. Feromoni kuvattiin ”*aineeksi, jota eritetään yksilön ulkopuolelle ja joka aiheuttaa toisessa saman lajin yksilössä jonkin reaktion, esimerkiksi tietyn käytöksen tai kehitysprosessin, kun aine vastaanotetaan*”².

Feromonit kuuluvat semiokemikaaleihin. Semiokemikaalit ovat kemiallisia viestejä välittäviä pieniä orgaanisia yhdisteitä, ja ne jaetaan allelokemikaaleihin ja feromoneihin. Semiokemikaalien avulla hyönteiset pystyvät viestimään lajinsisäisesti sekä yli lajirajojen. Hyönteiset aistivat semiokemikaalit suoraan ilmasta tuntosarvienvärekarvoissa olevilla hajureseptoreilla. Myös nimitys semiokemikaali tulee kreikan kielestä, sanasta *semeon*, joka tarkoittaa merkkiä tai signaalia.³

Feromonit luokitellaan yleensä niiden vaikutustavan mukaan, sillä molekyylitasolla erilaiset yhdisteet voivat vaikuttaa samankaltaisilla tavoilla lajista riippuen. Feromonit voidaan luokitella kokoontumis-, hälytys-, merkitsemis-, jälki- ja sukupuoliferomoneihin. Sukupuoliferomonit yleensä ilmoittavat sukukypsän naaraan läsnäolosta.¹

Suurin osa sukupuoliferomonien aiheuttamista reaktioista voidaan jakaa kahteen ryhmään: 1) naaraan tai feromonilähteen lähelle keräytymistä aiheuttavat tai 2) lähietäisyydellä tapahtuvaa kosiskelua tai paritteluun johtavaa käyttäytymistä aiheuttavat feromonit.¹

Luvussa 4 esiteltävä bombykoli aiheuttaa molempia edellä mainittuja vaikutuksia. Jotta bombykolin toimintaa olisi helpompi ymmärtää, esitellään luvuss 3 ensin itse molekyylin erittäjä eli mulperiperhonen.

3 Mulperiperhonen

Mulperiperhonen (*Bombyx mori*) kuuluu silkkikehrääjien (*Bombycidae*) heimoon ja perhosten lahkoon (*Lepidoptera*). Perhonen on saanut nimensä toukkien pääasiallisen ravintokasvin, valkomulperipuun (*Morus alba*) mukaan. Aikuinen mulperiperhonen (kuva 1.) ei syö lainkaan, ja aikuisvaiheen ainoa tarkoitus on lisääntyminen.⁴



Kuva 1. Mulperiperhonen²⁸

3.1 Mulperiperhosen ulkonäkö ja kehitys

Mulperiperhosen toukat (kuva 2.) ovat noin 4 cm pitkiä ja niillä on peräpäässään sarvi. Väriykseltään toukat ovat vaaleanruskeita. Aikuiset mulperiperhoset ovat samanvärisiä kuin toukat. Toukilla on rinnassa ruskeita kuviointeja, aikuisilla sen sijaan on kapeita ruskeita raitoja koko kehossaan. Aikuiset ovat samanpituisia kuin toukat, niiden siipiväli on noin 4 cm.⁴

Kehittyessään mulperiperhonen käy läpi täyden muodonvaihdoksen eli on holometabolinen. Täydellisessä muodonvaihdoksessa hyönteinen käy läpi neljä eri vaihetta: munan, toukan, kotelon ja aikuisen. Mulperiperhosen toukkavaihe kestää noin kuusi viikkoa, jonka jälkeen se koteloituu kahdeksi viikoksi ja sitten kehittyy aikuiseksi perhoseksi.⁴

3.2 Mulperiperhonen ja silkki

Mulperiperhosia, tai oikeastaan niiden toukkia, kasvatetaan silkin viljelyä varten. Toukan kotelo eli kokongi muodostuu silkistä. Silkin saamiseksi kokongit keitetään kiehuvässä vedessä toukkien tappamiseksi. Tämän jälkeen kokongit voidaan kerä auki.⁴ Silkkilanka muodostuu fibriinistä sekä glykoproteiini P25:stä, jotka toukka liimaa kiinni seriinipitoisella syljellään⁵.



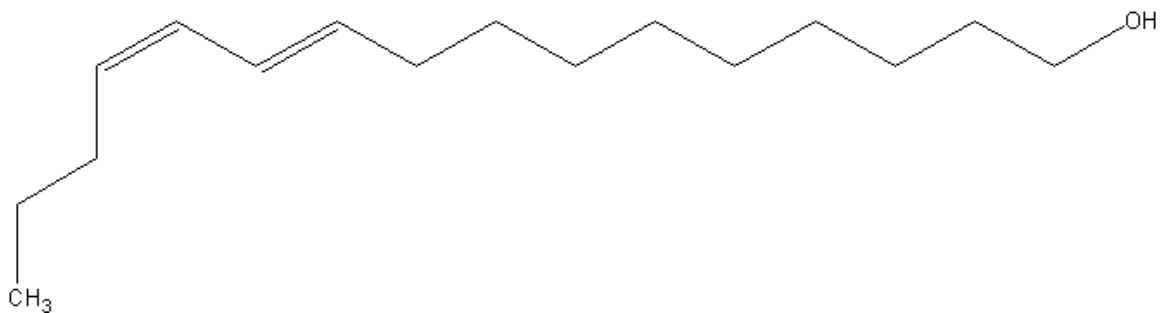
Kuva 2. Mulperiperhosen toukkia.²⁹

Mulperiperhosta on jalostettu kotieläimenä jo niin pitkään, että lajina se ei enää selviydy luonnossa. Esimerkiksi toukkia on ruokittava ja aikuinen mulperiperhonen on menettänyt lentokykynsä täysin. Luonnossa elää vielä toinen silkkiperhonen, *Bombyx mandarina*, jonka ajatellaan olevan *Bombyx mori*n villi muoto.⁴

Mulperiperhosta käytetään myös tiedeopetuksessa muun muassa Yhdysvalloissa. Oppilaat kasvattavat mulperiperhosen munavaiheesta aikuiseksi ja saavat seurata hyönteisen täydellistä muodonvaihdosta.⁶

4 Bombykolin kemiaa

Bombykoli on mulperiperhosnaaraan (*Bombyx mori*) erittämä molekyyli. Bombykoli eli (E, Z)-10,12-heksadekadienoli (kuva 3.) on 16-hiilinen haihtuva alkoholi, joka eristettiin ensimmäisen kerran vuonna 1959 Nobel-palkitun kemistin, Adolf Butenandtin (kuva 4.) tutkimusten (*Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners .1. Der biologische Test und die Isolierung des reinen Sexuallockstoffes Bombykol*, 1961) tuloksena.²

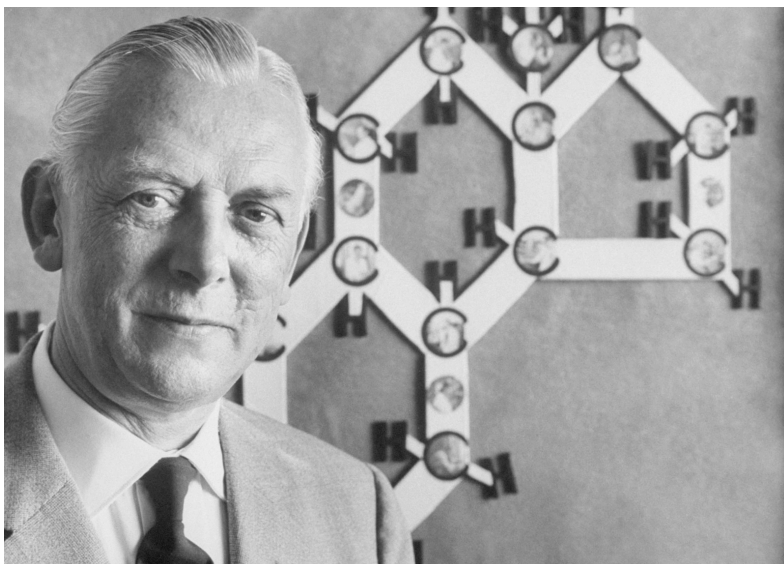


Kuva 3. Bombykoli.

4.1 Bombykolin eristäminen ja karakterisointi

1950-luvun lopulla kaasukromatografia ja monet muut karakterisointimenetelmät eivät vielä olleet kehittyneet riittävästi, joten Butenandt joutui työryhmineen käyttämään alkeellisia spektroskopisia menetelmiä bombykolin rakenteen ratkaisemiseksi. Tarvittiin puoli miljoonaa mulperiperhosnaarasta ja niiden feromonirauhaset, jotta bombykolia saatiin eristettyä 6,4 mg. Bombykolin rakenteen määrittämiseksi eristetystä materiaalista tehtiin esteri 4'-nitroatsobentseeni-4-karboksyylihapon kanssa. Esteröinti muutti molekyylin ominaisuuksia siten, että öljyinen ja väritön bombykoli saatiin kiinteään kristallisoituneeseen muotoon ja täten sitä oli helpompi analysoida senaikaisilla menetelmillä. Tutkijoiden onneksi bombykoli on rakenteeltaan yksinkertainen ja alkeellisilla menetelmillä saatiin lopulta sen rakenne selvitettyä.⁷

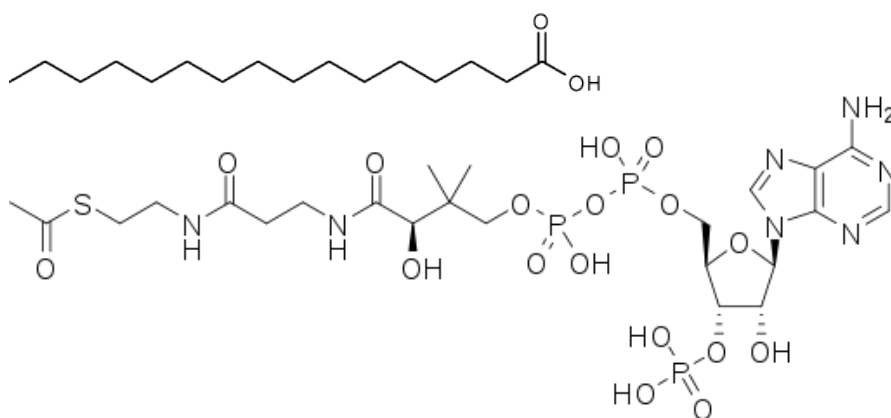
Bombykolin rakenteen selvittämisellä oli muitakin vaikutuksia kuin vain uuden tiedon saavuttaminen. Bombykolin karakterisoinnin onnistuminen motivoi selvittämään muidenkin feromonien rakennetta. Tutkimusta laajennettiin vähitellen hyönteisistä myös selkärangaisiin.⁷



Kuva 4. Adolf Friedrich Johann Butenandt ³⁰

4.2 Bombykolin biosynteesi

Mulperiperhosnaaras valmistaa bombykolia palmitiini- eli heksadekaanihaposta. Palmitiinihappo on 16-hiilinen rasvahappo. Palmitiinihappo ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}_2\text{H}$) (kuva 5.) tehdään asetyylikoentsyymi-A:sta tavallisen rasvahapposynteesireitin kautta.⁸ Asetyylikoentsyymi-A:n kemiallinen kaava on $\text{C}_{23}\text{H}_{38}\text{N}_7\text{O}_{17}\text{P}_3\text{S}$ (kuva 5.). Bombykoli valmistetaan *de novo*, joka tarkoittaa monimutkaisten molekyylien synteesiä yksinkertaisista molekyyleistä. Bombykolin biosynteesiä selvittivät mm. Ando *et al.* vuonna 1988⁹.

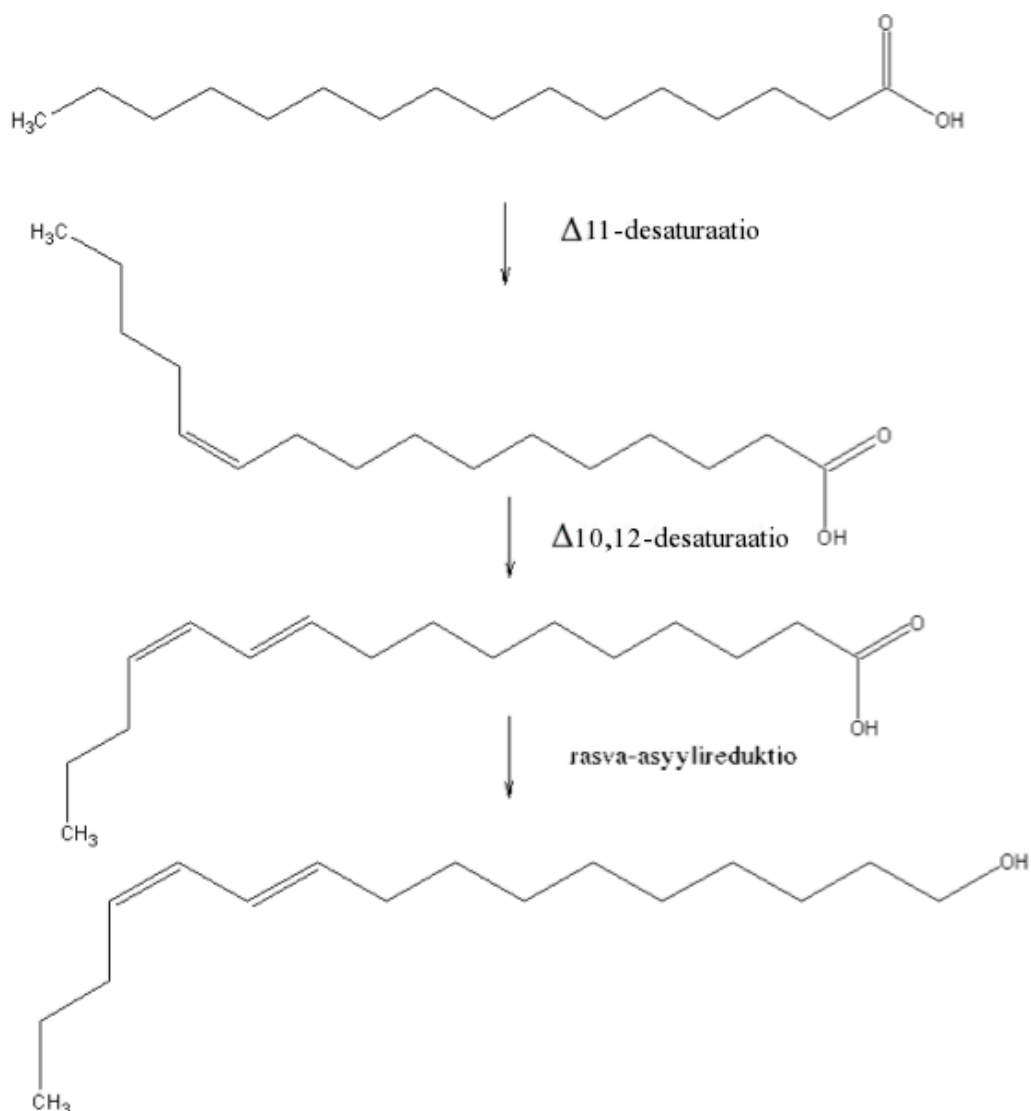


Kuva 5. Palmitiinihappo (yllä) ja asetyylikoentsyymi-A (alla).

Ando *et al.* selvittivät biosynteesin reitin syntetisoimalla radioaktiivisesti leimattua palmitiinihappoa ^{14}C -KCN:sta (hiili-kaliumsyyanidi). Syntetisoitu palmitiinihappo lisättiin

paikallisesti päivän ikäisten, neitseellisten mulperiperhosnaaraiden feromonirauhasiin. Rauhanen leikattiin irti kolmen tunnin jälkeen ja sen sisältämät kemikaalit uutettiin etyyliasetaatin avulla. Analyysimenetelminä käytettiin ohutkerroskromatografiaa (TLC, *thin layer chromatography*) ja nestetuikelaskentaa.⁹

Bombykolin syntetisoidaan mulperiperhosen abdominaalisissa eli vatsanpuoleisissa feromonirauhasten soluissa (PG cells, *pheromone gland cells*)¹⁰. Biosynteesi tapahtuu rasvahapposynteesin kautta niin, että palmitaatti muuntuu bombykoliksi kahden desaturoivan askeleen ja rasvahappopelkistymisen kautta⁶ (kuva 6.).



Kuva 6. Palmitaattista bombykoliksi.

Tyydyttynyt palmitiinihappo eli palmitaatti hapettuu $\Delta 11$ -desaturoivan entsyymin avulla, jolloin ensimmäinen kaksoissidos syntyy. $\Delta 11$ -entsyymi reagoi palmitiinihapon hiiliketjun 11. hiilen kanssa muodostaen C_{11} - ja C_{12} -hiilien välille kaksoissidoksen.⁹

Reaktion toisessa askeleessa tapahtuu kahden vedyn 1,4-eliminaatio, jolloin syntyy konjugoitu dieeni. Vedyt eliminoiduvat allyylisistä eli kaksoissidoksen vierestä olevista paikoista, tämä tapahtuu $\Delta 10,12$ -desaturoivan entsyymin katalysoimana. Reaktio on sukupuoliferomoneille epätyypillinen, sillä kyseisen kaltaista eliminaatioreaktiota havaitaan vain muutamissa muissa biosynteesisissä reaktioketjuissa⁸. Reaktion viimeisessä vaiheessa reduktasi-entsyymi muuttaa karboksyylihapporyhmän primääriseksi alkoholiksi.⁹

Lyhyesti sanottuna mulperiperhonen syntetisoi bombykolia asetyylikoentsyymi A:sta sen rasva-asyylivälituotteen eli palmitaatin kautta. Palmitaatti muutetaan bombykoliksi kolmivaiheisella reaktiosarjalla: $\Delta 11$ -desaturaatiolla, $\Delta 10,12$ -desaturaatiolla ja rasva-asyylireduktiolla.

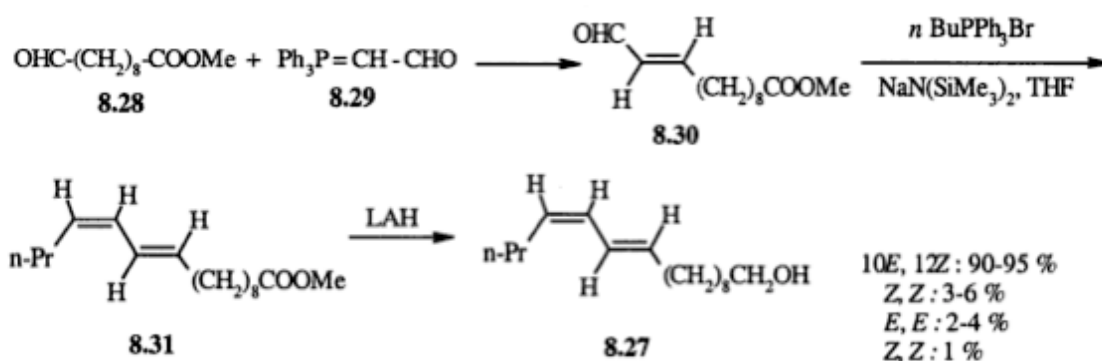
Samantyyppisiä biosyntetisointimenetelmiä on löydetty myös muilta yöperhosilta. Yksinkertaistettuna feromonit biosyntetisoidaan rasvahappovälituotteista vaiheittain. Reaktiot ovat usein desaturoivia ja hiiliketjua lyhentäviä. Lisäksi karbonyylihiiltä muokataan pelkistävillä reaktioilla rasva-alkoholiesiasteiden kautta^{8,11}. Edellä kuvattuja vaiheita yhdistelemällä yöperhoset kykenevät tuottamaan suuren määrän erilaisia lajispesifisiä feromoneja⁸.

Bombykolin biosynteesiä säätelee neurohormoni PBAN (*pheromone biosynthesis activating neuropeptide*) eli ”feromonin biosynteesiä aktivoiva neuropeptidi”. PBAN vapautuu mulperiperhosnaaraan hemolymfaan eli ruumiinnesteeseen ja vaikuttaa sitä kautta suoraan naaraan abdominaalisiin feromonirauhasiin (PG cell).¹² PBAN vaikuttaa bombykolin biosynteesissä viimeiseen vaiheeseen eli karboksyylihapon pelkistymiseen alkoholiksi¹³.

4.3 Bombykolin syntetisointi laboratorio-oloissa

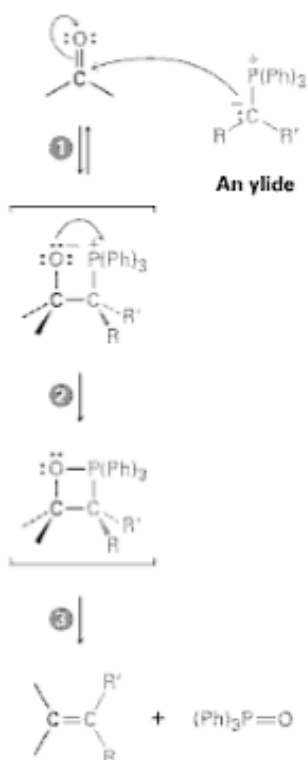
Bombykolia voidaan syntetisoida myös laboratorio-olosuhteissa stereoselektiivisellä menetelmällä. Stereoselektiivinen menetelmä on tärkeä, koska feromonin neljästä isomeeristä 10E, 12Z – isomeeri on reaktiivisin.¹⁴

Synteesi (kuva 7.) aloitetaan käyttämällä Wittigin reaktiota (kuva 8.), jossa aldehydi reagoi trifenyylifosfiinin kanssa muodostaen α,β ,-tydyttymättömän aldehydin. Synteesiä jatketaan toisella Wittigin reaktiolla n-butyylitrifenyylifosfonium-bromidin kanssa natrium-bis-(trimetyylisilisyli)amidin läsnäollessa. Z-stereoselektiivisen reaktion seurauksena saadaan muodostettua haluttu dieeni, metyyliesterimuodossa. Dieenin esteri voidaan pelkistää litium-alumiinihybridillä (LiAlH, kuvassa LAH), jolloin saadaan (10E, 12Z)-bombykolia. Saanto tuotteelle on noin 95 %, muita bombykolin isomeerejä saadaan tällä menetelmällä vain vähän.¹⁴



Kuva 7. Bombykolin synteesi¹⁴ (Pr = proliini)

Wittigin reaktio perustuu fosforiylidin addition. Wittigin reaktion avulla aldehydejä ja ketoneja voidaan muuttaa alkeeneiksi. Reaktion mekanismi on esitetty kuvassa 8. Kuvan vaiheessa 1 fosforiylidin nukleofiilinen hiiliatomi reagoi ketonin tai aldehydin karbonyyliryhmän kanssa ja muodostaa alkoksidi-ioni-välituotteen. Vaiheessa 2 alkoksidi-ioni läpikäy molekyylin sisäisen O-P-sidoksenmuodostuksen ja tuottaa nelijäsenisen renkaan. Rengas hajoaa spontaanisti alkeeniksi ja trifenyylifosfiinioksidiksi.¹⁵



Kuva 8. Wittigin reaktion mekanismi ¹⁵

4.3 Bombykolin sitoutuminen

Koiraspuolinen mulperiperhonen aistii bombykolin sulkamaisissa tuntosarvissaan (kuva 9.), joissa on tarkoitukseen soveltuneita hajureseptoreita. Koiraiden feromonien havaintokyky on havaittu erittäin hyväksi¹⁶. Koiraspuolinen mulperiperhonen voi havaita jopa muutamien molekyylien pitoisuuden bombykolia¹⁷.



Kuva 9. Mulperiperhosen sulkamaiset tuntosarvet ²⁹

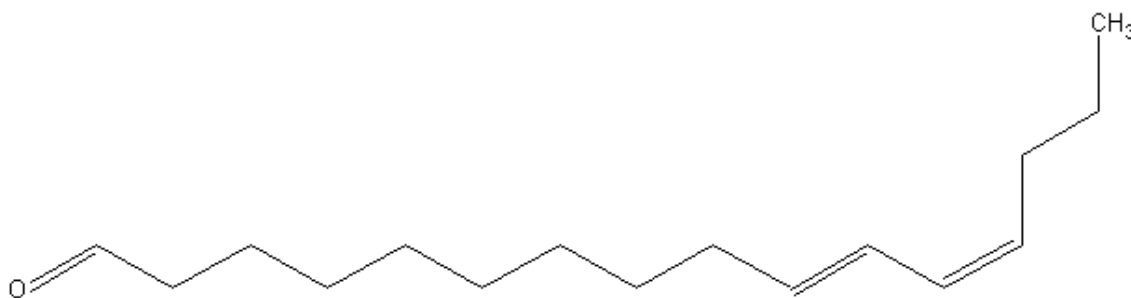
Kussakin mulperiperhoskoiraan tuntosarvessa on noin 17 000 karvaa¹⁸ ja jokaisessa karvassa on kaksi aistihermosolua. Toinen näistä aistihermosoluista aistii bombykolia ja toinen bombykalia¹⁹ (ks. 4.4), joka on toinen osa naaraan erittämää feromonisekoitusta. Karvojen aistihermosolut ovat myös hyvin spesifisiä²⁰.

Bombykoli diffundoituu huokostiehyiden kautta vesipohjaiseen sensillaarilymfaan, josta se sitoutuu feromoneja sitovaan proteiiniin (PBP 1. *Pheromone binding protein*). PBP toimii kuljettajana ja vie bombykolin G-proteiinin säätelämään hermosolun reseptoriin.²¹

Kun bombykoli sitoutuu proteiiniin, se muodostaa proteiini kanssa kompleksin jolloin proteiinin rakenne tiivistyy bombykolin ympärille. Proteiinin sisään muodostuu eräänlainen tasku, joka muodostuu neljästä α -heliksistä. α -heliksit lähentyvät toisiaan muodostaen hydrofobisen sitoutumistaskun, jota stabiloivat kolme disulfidisidosta. Bombykoli sitoutuu taskuun muodostamalla hydroksyyli ryhmällään vetysidoksen proteiinin seriinin sivuketjun kanssa ja bombykolin hiilivetyketjun kaksoissidososio sitoutuu van der Waals – voimilla proteiinin kahden fenyyialaniinin aromaattisen renkaan kanssa.²¹

4.4 Bombykali

Bombykali (kuva 10.) on molekyyli, jota mulperiperhosnaaras myös erittää abdominaalisista rauhasistaan. Bombykalin kemiallinen kaava on $C_{16}H_{28}O$. Se on rakenteeltaan (E, Z)-10,12-heksadekadien-1-aali, eli se on aldehydi.



Kuva 10. Bombykali.

Bombykalin osuus mulperiperhosnaaran feromonisekoituksessa saatiin selville, kun huomattiin että mulperiperhoskoiraan tuntosarvien aistinreseptorit lähettivät impulsseja myös niiden altistuessa tietynlaisille pitkäketjuisille aldehydeille. Kaissling *et al.* päättelivät bombykalin rakenteen, sillä oli aikaisemmin tiedossa että eri lajien feromonisekoituksissa on usein samankaltaisia yhdisteitä, joissa on erilaiset pääteryhmät.¹⁹

Kaissling *et al.* testasivat hypoteesiaan ja havaitsivat, että syntetisoitu bombykali eksitoi tuntosarven aistinreseptoria. Lisäksi neitseellisten mulperiperhosnaaraiden feromonirauhasista uutetuille kemikaaleille tehtiin kaasukromatografia-ajo, ja uutteesta löydettiin syntetisoitua bombykalia vastaavaa yhdistettä.¹⁹

4.5 Bombykolin ja bombykalin vaikutus mulperiperhoseen

Bombykoli mahdollistaa mulperiperhosten pariutumisen houkuttelemalla koiraan paikalle. Kun mulperiperhosnaaras on sukukypsä, se lämmittää takaruumissaan olevassa rauhasessaan (kuva 11.) olevaa feromoniala ainetta ja päästää sen ilmoille. Kun mulperiperhoskoiras aistii feromonin, se kykenee paikallistamaan naaraan ja suorittaa niin sanotun väristelytanssin (kuva 12.) jolla se houkuttelee naarasta pariutumaan kanssaan.⁴

Bombykali toimii bombykolin vastavaikuttajana, eli bombykoli aiheuttaa mulperiperhoskoiraassa siipiväristelyä ja valmistaa pariutumiseen, kun taas bombykali estää tätä tapahtumasta. Bombykali ei vaikuta suoraan bombykolireseptorin toimintaan, vaan lähettää omia inhiboivia signaalejaan mulperiperhoskoiraan aivoihin. Inhiboiva vaikutus, joka ei tosin ole kovin vahva, näkyy kun molempien reseptoreiden lähettämät signaalit integroidaan mulperiperhoskoiraan aivoissa. Jos inhiboiva signaali on riittävän voimakas, ei koiras lähde etsimään naarasta ja yrittä pariutua.¹⁹



Kuva 11. Mulperiperhosnaaraan feromonirauhaset. (N. Srithar)

Bombykolin biosynteesin ja sen aiheuttamien vaikutusten selvittäminen on toiminut mallina hyönteisten feromonien toiminnan tutkimuksessa. Kasvatetuille mulperiperhosille bombykolilla ei tosin ole suurta merkitystä, sillä molempien sukupuolien edustajat ovat jo valmiiksi samassa tilassa. Tilanne on erilainen luonnossa, kun naaraan ja koiraan välimatka voi olla useita kilometrejä ja parittelukumppanin löytäminen on vaikeaa.⁴



Kuva 12. Mulperiperhoskoiraan siipien väristelyä.

5 Feromonien käyttö

Kuten jo johdannossa mainittiin, yksi syy hyönteisten feromonien tutkimukseen on niiden mahdollinen hyötykäyttö tuhohyönteisten torjunnassa. Feromoneja voidaan käyttää sekä suoraan tuhohyönteisten torjumiseen että niiden määrän kartoittamiseen. Tällä hetkellä on selvitetty jo yli 7000 feromonin rakenne²². Kehittyneiden synteesimenetelmien ansiosta mahdollisuuksia olisi useampiinkin sovelluksiin kuin mitä tällä hetkellä on käytössä²³.

Suurin osa karakterisoiduista feromoneista kuuluu perhosille (*Lepidoptera*), erityisesti yöperhosille. Käynnissä on jatkuvasti tutkimuksia myös esimerkiksi kuoriaisten ja kärsäkkäiden feromonien selvittämiseksi.²³

Feromonien hyödyntämiseen on kolme hyvää syytä. Ensinnäkin, feromonit vaikuttavat tiettyyn lajiin eli ne ovat hyvin spesifisiä. Toiseksi, feromonit vaikuttavat hyvin pieninä pitoisuuksina, joten syntetisointiin ei tarvita paljon raaka-aineita eikä tuotannon tarvitse olla niin mittavaa. Kolmanneksi, suurimman osan tunnetuista feromoneista ei ole todettu vaikuttavan haitallisesti muihin eliöihin, joten ne ovat myös turvallisia.²³

5.1 Feromonien käyttö maataloudessa

Maanviljelyssä halutaan suojella satoa tuhohyönteisiltä ja tämä johtaa usein hyönteismyrkkujen käyttöön. Hyönteismyrkkujen voimakas käyttö vaikuttaa ympäristöön muutenkin kuin suojellen satoa, sillä myrkyt voivat kertyä ympäristöön ja aiheuttaa vahinkoa esimerkiksi maaperälle, vesistöille ja eliöstölle. Feromonit tarjoavat joko vartenotettavan vaihtoehdon hyönteismyrkyille tai mahdollistavat kohdennetumman myrkytyksen. Feromonien avulla voidaan myös aikaansaada tuhohyönteisten populaation pienenemistä.²³

5.1.1 Tuhohyönteisten kartoittaminen

Feromonien käyttämistä tuhohyönteisten torjunnassa on kokeiltu useilla eri tavoilla. Yhdeksi hyvin toimivaksi menetelmäksi on todettu feromonien käyttäminen hyönteisten määrän kartoittamisessa. Suojeltavalle alueelle asetetaan feromoniansoja, joissa on torjuttavan hyönteisen feromonia. Ansoihin jääneistä yksilöistä entomologit voivat

arvioida hyönteisten määrää ja täten laskea, kuinka paljon ja milloin hyönteismyrkkyä on tarpeellista käyttää sadon suojelemiseksi.³ Parhaat tulokset feromonien käytössä tuhohyönteisiä vastaan saadaan, kun alueen viljelijät tekevät kontrolloitua yhteistyötä.²³

Tuhohyönteisten kartoittamista on kokeiltu onnistuneesti esimerkiksi Isossa-Britanniassa 1980-luvulla hernesatojen suojelemiseksi hernekääriäiseltä (*Cydia nigrana*). Feromoniansojen avulla saatiin selvitettyä tarkka hernekääriäisten lisääntymisaika sekä määrä ja täten ajoitettua myrkytys oikeaan hetkeen. Myrkytys pystyttiin myös välttämään kokonaan, jos todettiin että hernekääriäisten määrän perusteella laskettu tuho ei olisi huomattava.²⁴

Edellä kuvailtua menetelmää voidaan käyttää myös laajemmin vangitsemalla joko kaikki tai kaikki samaa sukupuolta edustavat tuholaislajin yksilöt. Tällöin saataisiin katkaistua tuhohyönteisen elinkierto kyseisellä alueella. Menetelmää on kokeiltu mm. Norjassa ja Ruotsissa kaarnakuoriaisen (*Ips typographus*) torjumiseen. Menetelmän käytöstä huolimatta puita tuhoutui kuitenkin laajasti.⁷

5.1.2 Tuhohyönteisten pariutumisen häirintä

Toinen tapa feromonien hyödyntämiseen on tuhohyönteisten pariutumisen häirintä. Jos peltoalueen ylle suihkutetaan paljon tuhohyönteisen feromonia, on tuhohyönteisen hankalampi paikallistaa parittelukumppaniaan ja lisääntyminen voi jäädä tapahtumatta. Häiritseviä feromoneja voitaisiin levittää peltojen ylle joko lentokoneesta tai pellolle sijoitetuista annostelijoista.⁷

5.1.3 Tuhohyönteisten pyydystäminen feromoniansoilla

Kolmas tekniikka tuhohyönteisten torjumiseen on niin kutsuttu *houkuttele ja tapa* – metodi (engl. attract-and-kill). Tällä metodilla pyritään pyydystämään ja tappamaan joko kaikki tuhohyönteisen toisen sukupuolen edustajat tai kaikki yksilöt sukupuolesta riippumatta. Koska sukupuoliferomonit yleensä houkuttelevat paikalle vain koiraat, on käytettävä joko kokooontumisferomonia tai koiraiden erittämiä feromoneja.²³

Houkuttele ja tapa – metodi on yllä mainittuja tehokkaampi, mutta koska feromonien lisäksi tässä käytetään hyönteismyrkkyä ei menetelmä ole saavuttanut suurta suosiota. Toisaalta käytetyn myrkyn määrä on joka tapauksessa pienempi kuin käytettäessä pelkkää hyönteismyrkkyä tuholaisten torjumiseen.²³

Tätä tekniikkaa on käytetty onnistuneesti puuvillakärsäkkään (*Anthonomus grandis*) torjuntaan Yhdysvalloissa. Puuvillakärsäkäs koiraat erittävät kokoontumisferomonia *grandlure*²⁵ ((Z)-2-(3,3-dimetyyli)-sykloheksyyliidenetanoli, C₁₀H₁₈O), jota käyttämällä on onnistuttu kehittämään feromoniansa puuvillakärsäkkäitä vastaan. Jo 14 tällaista ansaa hehtaarilla rajoittaa tuntuvasti puuvillakärsäkäspopulaatiota ja vähentää satovahinkoja.²³

Feromonien etu verrattuna hyönteismyrkkyjen käyttöön on siinä, että niillä pystytään vaikuttamaan kohdistetusti haluttuun hyönteislajiin. Käyttämällä epäspesifistä hyönteismyrkkyä tuhotaan väistämättä myös muita, toisinaan jopa hyödyllisiä hyönteislajeja.

6 Johtopäätökset

Bombykolin tutkiminen ei ole johtanut vain yhden hyönteisen pariutumiskäyttäytymisen selvittämiseen. Mulperiperhoskoiraiden reagoitua bombykoliin on käytetty malliesimerkkinä siitä, miten monimutkainen kemiallinen kommunikaatio voi toimia²⁶. Bombykolin rakenteen selvittäminen avasi reittejä myös muiden biologisten molekyylien rakenteen selvittämiseen.

Feromonitutkimuksen vahvuus ja kiinnostavuus piilee sen monitieteisyydessä. Kyse ei ole vain uusien molekyylin löytämisestä tai lajikuvauksesta, vaan tutkimusta hyödynnetään monipuolisesti. Tutkimuksen tekemiseen osallistuvat niin kemistit, biologit kuin agronomitkin.

Aihe on yhteiskunnallisesti tärkeä. Vasta viimeisen muutaman vuosikymmenen aikana on havaittu, millaista tuhoa maapallolla on saatu aikaan käyttämällä kemikaaleja varomattomasti tuhohyönteisten torjunnassa. Feromonien käyttö esimerkiksi maanviljelyssä olisi yksi askel kohti myrkyttömämpää maailmaa.

Tutkimus ei myöskään ole jäänyt vain hyönteisiin; nisäkkäiden feromoneja on ehditty tutkia jo paljon. Tutkimusta on tehty lähinnä laboratorio-olosuhteissa, mutta kuka tietää millaisia innovaatiota tieteen kentällä seuraavaksi tehdään? Voisiko nisäkkäiden feromonitutkimuksella esimerkiksi yrittää auttaa eläintarhoja, joissa uhanalaisten eläimien lisääntymistä voitaisiin pyrkiä lisäämään synteettisten feromonien avulla? Koska ihminen on myös nisäkäs, on luonnollisesti pyritty tutkimaan mahdollisuutta ihmisten feromoneista. Tutkimuksia on tehty useita, mutta todisteita, jotka koko tiedeyhteisö hyväksyisi, ei ole vielä saatu²⁷.

Johtopäätöksenä voi siis todeta, että feromonitutkimus on edelleen kiinnostava tutkimusala, jonka saavuttamilla tuloksilla voi olla paljon käyttötarkoituksia. Tieteen kehittyessä jatkuvasti myös tutkimusmenetelmät kehittyvät ja pian meillä on ehkä mahdollisuus käyttää esimerkiksi joko täysin ympäristölle vaaratonta tuholaistorjuntaa tai ainakin feromonien avulla hyvin spesifisesti kohdennettua torjuntaa.

LÄHTEET

1. Shorey, Harry H. *Animal Communication By Pheromones*. Academic Press, Inc., United Kingdom, 1976, s.85-101
2. Karlson, P. & Lüscher, M. Pheromones: a new term for a class of biologically active molecules. *Nature* **183**, 1959, s.55-56
3. Nordlund, D. A., Jones, R. L. & Lewis, W.J. (Toim.). *Semiochemicals - their role in pest control*, John Wiley & Sons, USA, 1981.
4. Clay, K. 2001. "*Bombyx mori*", Animal Diversity Web., 2008, <http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Bombyx_mori.html>, 24.11.2011
5. Sutherland, T., Young, J., Weisman, S., Hayashi, C. & Merritt, D. Insect Silk: One Name, Many Materials. Annual Review of Entomology. *Annu Rev Entomol.* **55** (2010) 171
6. Silkworm eggs, 2011. <<http://www.silkwormeggs.net/resources/Silkworm-School-Science-Project-Instruction.pdf>>, 9.12.2011
7. Agosta, W. Using Chemicals to communicate. *J. Chem. Educ.* **71** (1994) 242
8. Matsumoto, S., Hull, J.J, Ohnishi, A., Moto, K. & Fónagy, A. Molecular mechanisms underlying sex pheromone production in the silk moth, *Bombyx mori*: Characterization of the molecular components involved in bombykol biosynthesis. *J. Insect Physiol.* **53** (2007) 752
9. Ando, T., Hase, T., Funayoshi, A., Arima, R. & Uchiyama N. Biosynthetic pathway of Bombykol, the Sex Pheromone of the Female Silkworm Moth *Agric. Biol. Chem.* **52** (1988) 473
10. Tillman, J.A., Seybold, S.J., Jurenka, R.A., Blomquist, G.J. Insect pheromones – an overview of biosynthesis and endocrine regulation. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **29** (1999) 481
11. Jurenka, R.A. teoksessa *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology*. toim. Blomquist, G., Vogt, R. , Elsevier, Amsterdam, 2003, s. 53
12. Arima, R., Takahara, K., Kadoshima, T., Nuzumaki, F, Ando, T., Uchiyama, M., Nagasawa, H., Kitamura, A. & Suzuki, A. Hormonal regulation of pheromone biosynthesis in the silkworm moth *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Applied Entomology and Zoology*, **26**, 1991, 137

13. Ozawa, R., Ando, T., Nagasawa, H., Kataoka, H. & Suzuki A. Reduction of the acyl group: the critical step in bombykol biosynthesis that is regulated *in vitro* by the neuropeptide hormone in the pheromone gland of *Bombyx mori*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, **57**, 1993, 2144
14. Bhat, S., Nagasampagi, B. & Sivakumar, M. *Chemistry of Natural Products*. Narosa Publishing House, India, 2005, 543
15. McMurry, J. *Organic Chemistry*, 7. p., Brooks/Cole, China, 2008
16. Ando, T., Inomata, S.I. & Yamamoto, M. Lepidopteran sex pheromones. *Top. Curr. Chem.* **239**, 2004, 51-96
17. Leal, W.S., Chen, A.M, Ishida, Y., Chiang, V.P., Erickson, M.L., Morgan, T.I. & Tsuruda, J.M. Kinetics and molecular properties of pheromone binding and research. *PNAS* **102**(12), 2005, 5386
18. Steinbrecht, R.A. Zur Morphometrie der Antenne des Seidenspinners, *Bombyx mori* L. Zahl und Verteilung der Riechsensillen (Insecta Lepidoptera). *Z. Morph. Tiere*, **68**, 1970 93; *Eur. J. Neurosci.*, **21**, 2005
19. Kaissling, K.-E., Kasang, G., Bestmann, H.J., Stransky, W. & Vostrowsky, O. A new pheromone of the silkworm moth *Bombyx mori*. *Naturwissenschaften*, **65**, 1978, 382
20. Butenandt, A., Beckmann, R. & Stamm, D. Über den Sexuallockstoffdes Seidenspinners. II. Konstitution und Konfiguration des Bombykols., *Z. Physiol. Chem.*, **324**, 1961, 84–87; *Eur. J. Neurosci.*, **21**, 2005
21. Lautenschlager, C., Leal, W.S. & Clardy, J. *Bombyx mori* Pheromone-Binding Protein Binding Nonpheromone Ligands: Implications for Pheromone Recognition. *Structure*, **15**, 2007, 1148
22. El-Sayed AM (2011). The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals. <<http://www.pherobase.com>> 9.12.2011
23. Witzgall, P., Kirsch, P. & Cork, A. Sex Pheromones and Their Impact on Pest Management. *J. Chem. Ecol.*, **36**, 2010, 80.
24. Wall, C., Garthwaite, D.G., Blood Smyth, J.A. & Sherwood, A. The efficacy of sex-attractant monitoring for the pea moth, *Cydia Nigrigana*, in England, 1980-1985. *Ann. Appl. Biol.*, 1987, **110**, 223.
25. Tumlinson, J.H., Guelder, R.C., Hardee, D.D., Thompson, A.C., Hedin, P.A. & Minyard, J.P. Sex pheromones produced by male boll weevil: isolation, identification and synthesis. *Science*, **166**, 1969, 1010

26. Krieger, J., Grosse-Wilde, E., Gohl, T. & Breer, H. Candidate pheromone receptors of the silkworm *Bombyx mori*. *Eur. J. Neurosci.*, **21**, 2005, 2167
27. Wyatt, T.D. Fifty years of pheromones., *Nature*, **457**, 2009, 267

Kuvien lähteet

28. Carlos Fonseca (2009). *Bombyx mori*. <<http://www.fotopedia.com/items/flickr-3560667667>> 9.12.2011
29. Flores y Plantas (2009). Floresyplantas.net Photo Stream. <<http://www.flickr.com/photos/plantasyflores/3426798632/in/photostream/>> 9.12.2011
30. David Lees (1963). *Encyclopædia Britannica Online*. <<http://www.britannica.com/EBchecked/topic/86456/Adolf-Butenandt>> 4.10.2011
31. Flores y Plantas (2009). Floresyplantas.net Photo Stream. <<http://www.flickr.com/photos/plantasyflores/3426798726/in/photostream>> 9.12.2011
32. N. Srithar (2010). Cycle of Silkworm. <<https://picasaweb.google.com/srither240255/CycleOfSilkworm#>> 9.12.2011