

Katedra Zoologie, Přírodovědecká fakulta, Universita Karlova



Feromonální komunikace v prekopulačním chování
čmeláků (Hymenoptera, Apidae: *Bombus*).

Disertační práce

Oldřich Hovorka

Školitel: RNDr. David Král, Ph.D.

Praha 2007

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně, pouze s použitím citované literatury, a že tato práce ani žádná její část nebyla použita k získání jiného akademického titulu.

Poděkování:

Rád bych poděkoval svému školiteli Dr. Davidu Královi za cenné rady a připomínky v průběhu studia. Dále děkuji za všestrannou pomoc svým kolegům Doc. Ireně Valterové, Dr. Jiřímu Kindlovi a Doc. Janu Žďárkovi.

V neposlední řadě patří můj dík mé rodině za pochopení a podporu během studia.

Obsah:

I.	Úvod	1
I.1	Zařazení a stručná charakteristika čmeláků a jejich životní cyklus	1
I.2	Přehled hlavních exokrinních žláz čmeláků a jejich funkcí	2
I.3	Prekopulační strategie čmeláků	9
I.4	Biosyntéza samčího značkovacího feromonu	16
II.	Cíl práce	28
III.	Seznam prací	31
IV.	Premating behavior of <i>Bombus confusus</i> males and analysis of their labial gland secretion	33
V.	Scent marking in male premating behavior of <i>Bombus confusus</i>	45
VI.	Chemotaxonomical characterisation of males of <i>Bombus lucorum</i> (Hymenoptera: Apidae) collected in the Czech Republic	59
VII.	Composition of the labial gland secretion of the bumblebee males <i>Bombus pomorum</i>	68
VIII.	Biosynthetic studies on marking pheromones of bumblebee males	76
IX.	Marking pheromones of the cockoo bumblebee males (Hymenoptera, Apoidea, <i>Bombus</i> Latreille): compositions of labial gland secretions of six species found in the Czech Republic	84
X.	Exocrine gland secretions of virgin queens of five bumblebee species (Hymenoptera: Apidae, Bombini)	106
XI.	Analysis of triacylglycerols in fat body of bumblebees by chromatographic methods	115
XII.	Male cephalic labial gland secretions of two bumblebee species of the subgenus <i>Cullumanobombus</i> (Hymenoptera: Apidae: <i>Bombus</i> Latreille) and their distribution in central Europe	128
XIII.	Závěr	137

I. ÚVOD

I.1 ZAŘAZENÍ A STRUČNÁ CHARAKTERISTIKA ČMELÁKŮ A JEJICH ŽIVOTNÍ CYKLUS

Rod *Bombus* Latreille, 1802 (v současnosti široce pojímaný včetně bývalého rodu *Psithyrus* Lepeletier, 1832) je dnes jediným rodem tribu Bombini, patřícího do podčeledi Apinae čeledi včelovitých (Apidae s.lat.). Čmeláci patří k primitivně eusociálním zástupcům blanokřídlých, majícím tři kasty: oplozené samice (matky), dělnice a samce. Zástupci bývalého rodu (dnes podrodu) *Psithyrus* a čmelák *Bombus (Thoracobombus) inexpectatus* (Tkalců, 1963) nemají kastu dělnic a jsou obligátními hnízdními parazity sociálně žijících druhů. U druhu *Bombus (Alpinobombus) hyperboreus* Schönherr, 1809 je strategie hnízdního parazitismu pouze fakultativní. Počet známých druhů je uváděn v závislosti na šíři pojetí taxonů od necelých 250 druhů ve 39 podrodech po zhruba 350 druhů ve více než 50 podrodech. Nejvíce druhů žije v mírném pásu severní polokoule. Kromě holarktické oblasti se čmeláci autochtonně vyskytují v neotropické a orientální oblasti; fauna jižní polokoule je však druhově mnohem chudší než na polokouli severní. V naší fauně byl prokázán výskyt třiceti druhů čmeláků (Pavelka & Smetana 2003, Přidal & Tkalců 2003).

Životní cyklus čmeláčí kolonie je popsán v mnoha publikacích (Sladen 1912, May 1959, etc.). S výjimkou několika tropických druhů jsou čmeláčí kolonie jednoleté. Zimu přečkává pouze oplozená samice, která na jaře vyhledá vhodné místo k založení hnízda a vychová první generaci dělnic. Po překonání této kritické fáze, kdy oplozená samice musí bez pomoci zvládnout vybudování prvních voskových buněk, sběr potravy pro larvy i zahřívání a ochranu plodu před nepřáteli, se po vylíhnutí prvních dělnic hnízdo obvykle rychle rozvíjí. Dělnice obstarávají jak sběr potravy, tak přebírají i péči o vajíčka a larvy (krmení, termoregulace hnízda, ochrana před nepřáteli). Dochází v určitém stupni i k dělbě práce mezi různými skupinami dělnic – ty se rozdělují se na létavky opatřující potravu a dominantnější

dělnice vykonávající převážně práce uvnitř v hnízdě. Část nejdominantnějších dělnic tvoří někdy jakousi suitu obklopující samici (matku). Po dosažení určitého počtu dělnic začne kolonie produkovat pohlavní jedince – mladé samice a z neoplozených vajíček i samce. V tomto období dochází i ke zlomovému bodu (switch-point), kdy matka ztrácí své dominantní postavení v rámci kolonie. Přestává být účinný zatím ne zcela známý mechanismus, jímž potlačuje produkci juvenilního hormonu a tím zrání ovárií u dělnic, a jedna nebo několik dominantních dělnic začínají klást vajíčka. Ta jsou ovšem neoplozená a vznikají z nich pouze samci. Nové dělnice už většinou nevznikají, počet členů kolonie stagnuje a postupně se začíná snižovat, až nakonec kolonie zaniká.

I.2 PŘEHLED HLAVNÍCH EXOKRINNÍCH ŽLÁZ ČMELÁKŮ A JEJICH FUNKCÍ

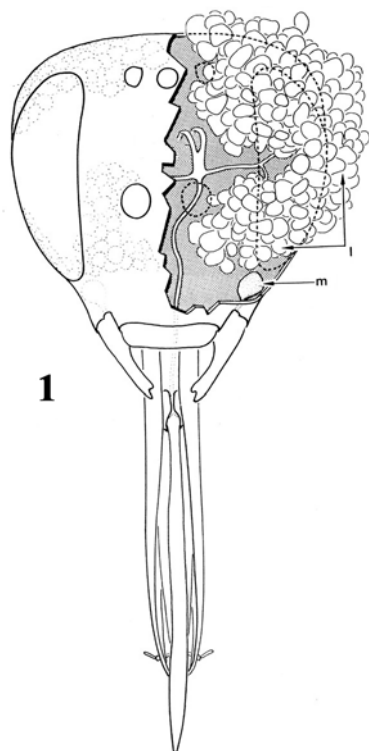
Mnoho interakcí mezidruhových, vnitrodruhových (mezi příslušníky jednotlivých kolonií i uvnitř nich) je ovlivňováno či přímo řízeno pomocí stopových množství specifických látek produkovaných exokrinními žlázami – semiochemikálií. Jejich klasifikace je neustálená, jsou často tříděny podle různých hledisek. Jeden z nejpoužívanějších způsobů dělení těchto komunikačních chemikálií je následující:

Semiochemikálie zprostředkovávající interakce jedinců v rámci druhu se nazývají feromony, látky působící mezidruhově allelochemikálie. Ty se nejčastěji dělí podle toho, zda jsou výhodné pro producenta (allomony) nebo příjemce (kairomony). Vnitrodruhově působící feromony jsou rozdělovány podle modu svého účinku na látky ovlivňující bezprostředně chování příjemce (spouštěče – releaser pheromones) nebo jeho fyziologii (působky – primer pheromones), které se projeví v chování jen příležitostně a s určitou prodlevou. V rámci první

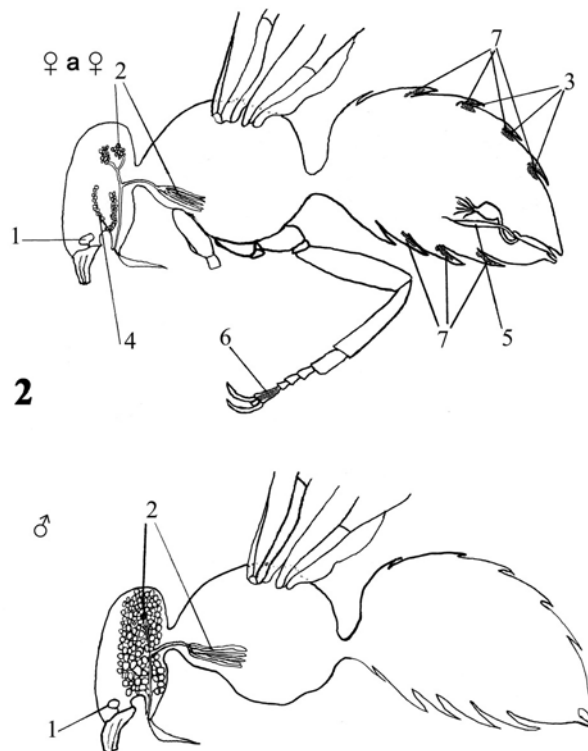
jmenované skupiny se pak dělí feromony podle své konkrétní biologické funkce na mnoho typů, např.:

- a) sexuální feromony (lákáni opačného pohlaví, stimulace kopulačního chování)
- b) agregační feromony (lákáni konspecifických jedinců bez ohledu na pohlaví)
- c) stopovací feromony (u sociálního hmyzu značí cestu např. ke zdroji potravy)
- d) poplašné feromony (produkovány sociálním hmyzem v případě ohrožení)
- e) značkovací feromony (slouží např. k etiketaci hostitele, ochraně teritoria, označení hnízda, zdroje potravy atd.)
- f) identifikační feromony (u sociálního hmyzu slouží k odlišení příslušníků různých kolonií, v rámci kolonií pak jednotlivých kast a u dělnic jednotlivých funkčních skupin)

a zejména u sociálně žijícího hmyzu byla rozeznána ještě řada dalších typů feromonů (feromon královský (= mateří), rekrutující (recruitment), kastovní, plodový atd.). V řadě případů slouží stejné chemické látky u různých druhů k rozdílným účelům, naopak často se sekrece jedné žlázy u určitého druhu využívá v různých fázích života k různým účelům.



Obr. 1: Čelní pohled na hlavu samce čmeláka. Na levé straně odstraněna kutikula, endoskelet, oko a pod ním ležící nervová tkáň. m = mandibulární žláza, l = labiální žláza (podle Ågren & al. 1979, upraveno)



Obr. 2: Schematické znázornění hlavních exokrinních žláz u čmeláků (nahore u samic a dělnic, dole u samců). 1 – mandibulární žláza; 2 – labiální žláza; 3 – tergální žláza; 4 – hypopharyngeální žláza; 5 – Dufourova žláza; 6 – tarzální žláza; 7 – voskové žlázy

K sekreci slouží celá řada exokrinních žláz, z nichž ty u čmeláků nejpodstatnější jsou znázorněny na obr. 1 a 2. U samců jsou hlavními žlázami sekretujícími semiochemikálie hlavová část labiální žlázy, mandibulární žláza a pravděpodobně tykadlová (antennální) žláza, která je u čmeláků prokázána nově (Romani & al. 2003). Mandibulární žláza slouží u všech kast primárně jako zdroj obranné (repelentní) sekrece (Cederberg 1977a, Cane 1986), u samic má i další funkce (viz níže). Funkcí hlavové části labiální žlázy je u samců produkce tzv. značkovacího feromonu – jedná se o v podstatě sexuální feromon, sloužící k atrakci samic; tato jeho dříve jen předpokládaná funkce byla experimentálně prokázána až v nedávné době (Bergman 1997) u čmeláka zemního (*Bombus (s. str.) terrestris* (Linnaeus, 1758)). U tykadlové žlázy byla popsána pouze morfologie a ultrastruktura, o chemické podstatě její sekrece není nic známo a o její funkci se spekuluje na základě analogie s jinými zástupci

blanokřídlých jako o feromonu, který v průběhu námluv zvyšuje receptivitu samice a navozuje u ní ochotu k páření.

U samic a dělnic je v hlavové kapsuli krom žlaz zmíněných u samce ještě hypofaryngeální žláza, jejíž sekrece u dělnic ale pravděpodobně slouží zejména jako nutriční doplněk pro larvy a zdroj trávicích enzymů (Pereboom 2000). U matek *B. terrestris* obsahuje kromě množství uhlovodíků i stopová množství alkoholů, ketonů a aldehydů, ve větším množství pak organické kyseliny a jejich metyl-, etyl- a propylestery, hexanoáty a estery voskového typu (Hefetz & al. 1996). Funkce těchto látek není známá. Sekret mandibulární žlázy mladých, neoplozených samic slouží jako sexuální feromon, který navozuje u samce kopulační chování (Free 1971, Kullenberg 1973, Honk & al. 1978, Krieger & al. 2006). Podle starších prací (Röseler & Röseler 1978, 1981; Honk & al. 1980) je zdrojem u čmeláků předpokládaného královského (mateřího) feromonu právě mandibulární žláza, jejíž sekret by inhibicí aktivity corpora allata a tím produkce juvenilního hormonu měl bránit zrání ovarii u dělnic. Recentně to Bloch & Hefetz (1999) na základě svých experimentů vyvrátili – extrakt samotné mandibulární žlázy matky byl na rozdíl od celkového extraktu těla neúčinný. Zdroj případného inhibičního faktoru je tedy nadále neznámý. O funkci sekretu hlavové části labiální žlázy u samic čmeláků není doposud nic známo. Pro několik druhů bylo pouze popsáno jeho složení (Genin & al. 1984; Hefetz & al. 1996; Cahlíková & al. 2004). Složením se sekret podobá sekretu samčímu, ale není tu rozhodně naprostá shoda. I u samic se zdá být složení druhově specifické. U samotářských včel (např. *Chalicodoma siculum* Rossi, 1792) produkuje hlavová část labiální žlázy směs uhlovodíků, které po smísení se slinami tvoří vodě odolnou „maltu“ na stavbu buněk (Kronenberg & Hefetz 1984).

Ze žlaz umístěných v hrudi a jejich přívěscích je významná zejména tarzální žláza. Je to jednoduchá žláza, tvořená žláznatým epitelem obklopujícím rezervoár, umístěná v posledním chodidlovém článku (Pouvreau 1989) Její uhlovodíková sekrece, tvořená alkeny a alkany,

slouží dělnicím ke značení navštívených zdrojů potravy; reakce ostatních dělnic se liší v závislosti na dávce, resp. koncentraci vůně z nakumulované sekrece této žlázy: nízká koncentrace je atraktivní, vysoká koncentrace působí repelentně, protože znamená opakované návštěvy daného potravního zdroje a tudíž jeho pravděpodobné vyčerpání (Schmitt 1990, Schmitt & al. 1991).

V zadečku samic a dělnic čmeláků je nejdůležitější exokrinní žlázou Dufourova žláza, významnou roli hraje i nově prokázaná (Dornhaus & Chittka 2001, Dornhaus & Cameron 2003, Dornhaus & al. 2003) tergální žláza dělnic, jejíž sekret působí jako rekrutující feromon, který stimuluje ostatní dělnice k hledání a sběru nalezeného vydatného zdroje potravy. Její morfologie ani ultrastruktura nebyly zatím popsány; podle umístění a funkce se zdá, že jde o žlázu homologickou Nasonovově žláze u včel. Feromon z této žlázy slouží k upozornění ostatních dělnic na nalezení zdroje potravy. Čmeláci nejsou schopni předat prostorové koordináty nalezeného zdroje potravy, jen upozornit na jeho existenci a předat jeho specifickou vůni. Experimentálně byl účinek feromonu této žlázy prokázán u čmeláka zemního (*B. terrestris*). Oplach z V-VII tergitu dělnic vyvolal reakci i v jiné kolonii.

Dufourova žláza je u včel obecně nejvíce studovanou žlázou. Bývají na ní demonstrovány evoluční trendy ve funkci a chemickém složení sekrece exokrinních žláz. Primární funkcí sekrece této žlázy u včel se zdá být tvorba hydrofobní sekrece k izolaci larválních buněk (brood cells). Chemická podstata této hydrofobní sekrece je velmi variabilní – např. u zástupců primitivní podčeledi Colletinae jsou to makrocyclické laktony, většina z nichž je transformována na ω -hydroxy mastné kyseliny, jejichž polymerizací vznikne tuhá membrána impregnovaná zbylými laktony (Hefetz & al. 1979). U mnoha zástupců podčeledi *Halictinae* je sekrece této žlázy krom laktonů bohatá na dlouhořetězcové alkany. Zcela jiný chemismus má hydrofobní sekrece u *Anthophora abrupta* Say, 1837. V sekreci Dufourovy žlázy má triglyceridy složené ze dvou krátkých mastných kyselin a jednoho acylpalmitátu, a

také volnou palmitovou kyselinu. Po nanesení na stěny buňky je sekrece transesterifikována a vzniká dipalmitin a volné mastné kyseliny s krátkým řetězcem (Norden & al. 1980). U dalšího zástupce podčeledi Anthophorinae, včely *Proxylcopa olivieri* (Lepelletier, 1841) je sekrece Dufouroy žlázy tvořena směsí uhlovodíků od C₂₃ do C₂₉, které jsou na stěny buňky nanášeny bez jakékoliv změny. K tvorbě hydrofobních ochranných vrstev ale stačí jedna či dvě funkční složky, a i když některé látky mohou být rozpouštědly pro funkční složky, počet látek přítomných v sekreci bývá daleko vyšší. Je tedy zřejmé, že vysvětlením složitosti sekrece je nějaká její další funkce, a tou je funkce komunikační.

Jednou z původnějších komunikačních funkcí se zdá být chemické označení přesného umístění hnízda (Pouvreau 1996). I když včely se orientují vizuálně poměrně dobře, optické markanty se v průběhu sezóny mění a u druhů hnízdících v hustých agregacích je další pomocné značení velmi významné. Včely často značí pouze vchod do hnízda, u v zemi či v dutinách hnízdících čmeláků je krom toho značena dráha od vchodu k hnízdu samotnému (prokázáno např. u *B. terrestris* – Cederberg 1977b; *B. (Pyrobombus) hypnorum* (Linnaeus, 1758) – Hefetz & al. 1993 či *B. (s. str.) occidentalis* Greene, 1858 – Foster & Gamboa 1989).

Dufouroy žláza sociálně žijících blanokřídlých má sekreci velmi komplexní, tvořenou mnoha složkami (>40 u různých čmeláků – Tengö & al. 1990, 1991). U druhů žijících sociálně musí být rozlišení ještě přesnější než u solitérních, ale v agregacích hnízdících včel. Je nutné rozlišit příslušnost druhovou, příslušnost ke kolonii a sociální zařazení. Rozdíly ve složení sekretu určují příslušnost k jednotlivým skupinám dělnic (dominantní, submisivní, mladé dělnice, létavky). V obsahu žlázy jednotlivých skupin dělnic i matky existují kvantitativní rozdíly, přičemž dominantní dělnice mají složení sekretu nejvíce podobné matce. Tato skupina dělnic začíná jako první klást vajíčka, pokud je matka oslabená nebo uhyne. U čmeláka rokytového (*B. hypnorum*) a dalších čtyř druhů byla zjištěna (Oldham & al. 1994) shoda ve složení sekrece Dufouroy žlázy a profilu kutikulárních uhlovodíků. Složení sekrece

této žlázy bylo zatím publikováno pro devět druhů čmeláků (*B. (Melanobombus) lapidarius* (L., 1758), *B. (Pyrobombus) pratorum* (L., 1761), *B. (s. str.) cryptarum* (F., 1776), *B. (s. str.) lucorum* (L., 1761), *B. (s. str.) magnus* Vogt, 1911, *B. (s. str.) terrestris* (L., 1758), *B. (Pyrobombus) hypnorum* (L., 1758), *B. (Thoracobombus) pascuorum* (Scopoli, 1763) a *B. (T.) ruderarius* (Müller, 1776). U řady sociálně žijících blanokřídlých včetně čmeláků byla sekrece této žlázy detekována i na povrchu nakladených vajíček (Ayasse & al. 1999). Dělnice podle ní mohou rozlišit vajíčka nakladená matkou od vajíček nakladených ostatními dělnicemi.

Vůně hnízda bývá zneužita pačmeláky, kteří pomocí těchto signálů (kairomonů) nalézají hostitelské hnízdo. Konkrétně to bylo prokázáno u pačmeláka skalního (*Bombus (Psithyrus) rupestris* (Fabricius, 1793)), jehož samice reagovala přednostně na vůni hnízda čmeláka skalního (*B. lapidarius* (L., 1758)) v porovnání s vůní hnízd jiných druhů (Cederberg 1979, 1983; Fisher & al. 1993). U další dvojice hostitel-hnízdní parazit, *B. (Pyrobombus) pratorum* (L., 1761) a *B. (Fernaldaepsithyrus) sylvestris* (Lepeletier, 1832), byla pozorována další zajímavá adaptace. Před vniknutím do hostitelského hnízda měla pačmeláčí samice jen velmi nízké koncentrace kutikulárních uhlovodíků („snaha o neviditelnost“), zatímco po 24hod pobývání v hostitelském hnízdě se jejich koncentrace výrazně zvýšila a přizpůsobila profilům kutikulárních uhlovodíků členů hostitelské kolonie (Dronnet & al. 2005).

U dvojice *B. (Fernaldaepsithyrus) norvegicus* (Sparre-Schneider, 1918) a *B. (Pyrobombus) hypnorum* (Linnaeus, 1758) bylo zjištěno, že samice pačmeláka produkuje a na své kutikule deponuje látky, které mají na dělnice hostitele repelentní účinek. Nejvýznamnější z těchto látek je dodecyl-acetát. Repelenty chrání vetřelkyni před napadením hostitelskými dělnicemi.

Samice pačmeláka produkuje patrně signál analogický předpokládanému mateřimu feromonu hostitelského čmeláka. Na družích *B. (Ashtonipsithyrus) vestalis* (Geoffroy, 1785)

(pačmelák panenský) a *B. terrestris* (čmelák zemní) bylo prokázáno, že samice pačmeláka byla schopna potlačit vývoj vaječnicků u dělnic čmeláka stejnou měrou jako matka čmeláka. Samice příbuzného druhu *B. (Ashtonipsithyrus) bohemicus* Seidl, 1837 (pačmelák český), který neparazituje na čmeláku zemním, byla uvedeném v testu méně efektivní (Vergara & al. 2003). Autoři už ale neprovedli test schopnosti samice zmíněného pačmeláka potlačit vývoj vaječnicků u dělnic jeho typického hostitele čmeláka hájového (*Bombus (s. str.) lucorum* (L., 1761)). Nevyřešenou otázkou tedy zůstává, zda je tato schopnost u některých pačmeláků nižší nebo zda je inhibiční faktor druhově specifický. Mechanismus této regulace samicí pačmeláka ani látky za ni zodpovědné prozatím nejsou známy.

Voskové žlázy pravděpodobně neprodukují komunikační látky; je však známo, že vosk ze samčích kokonů stimuluje mladé matky čmeláka zemního (*B. terrestris*) a zvyšuje u nich v laboratorních podmínkách úspěšnost při zakládání hnízda (Krieg, VÚ včelařský, pers. comm.).

I. 3 PREKOPULAČNÍ STRATEGIE ČMELÁKŮ

Prekopulační strategie samců čmeláků jsou většinou shrnovány do tří obecných kategorií (Alcock & al. 1978, Lloyd 1981, Paxton 2005 etc.) 1) patrolování (patrolling behaviour) – samci zakládají letové okruhy s feromonovými značkami, které pravidelně obletují a kontrolují, hledajíce přilákané samice; 2) číhání (perching behaviour) – samci čekají individuálně na prominujících objektech v určitých specifických biotopech, sedí na nich nebo se vznášejí ve vzduchu nad nimi a vyražejí za okolo letícími potenciálními partnerkami (i za objekty které jim je připomínají); 3) vyčkávání u hnízda (nest-waiting behaviour) – samci čekají u vchodu do hnízda na líhnoucí se samice.

První strategie – patrolování – je nejčastější a nejdéle známou samčí strategií u čmeláků. První pozorování patrolujících samců čmeláků opublikoval Newman (1851) a posléze Darwin (1886). Tito autoři popsali chování samců čmeláka zahradního (*B. (Megabombus) hortorum* (Linnaeus, 1761), Darwin zmiňuje i pozorování čmeláka lučního (*B. pratorum*)), pravidelně obletujících svůj okruh; zvláštní pozornost věnovali pozorovanému faktu, že se samci při svých pravidelných proletech vždy zastavovali u určitých míst na obletovaném okruhu, i když hypotézu pokoušející se vysvětlit toto chování ani jeden ze zmíněných autorů nevyslovil. Žádný z nich nepozoroval ani usednutí samce na tomto místě, ani deponování nějaké sekrece. Až britský entomolog Sladen (1912) na základě svých pozorování vyslovil předpoklad, že samci na těchto místech zanechávají nějakou vonnou sekreci a vyslovil tři hypotézy, které byly až o desítky let později potvrzeny a ukázaly se jako platné. Předpokládal, že 1) deponovaná sekrece neláká jen ostatní samce, ale i samice; 2) její zdroj je v hlavě, pravděpodobně v „ústním ústrojí“; 3) každý druh emituje odlišnou vůni.

V následujících desetiletích mnoho autorů opublikovalo svá pozorování z přírody, popisující letové dráhy samců patrolujících druhů a zaměřené na rozdíly i podobnosti mezi druhy se zřetelem na značkovací chování, charakteristiky letového okruhu a využívaného habitatu (Frank 1941; Haas 1946, 1949a, 1949b, 1967; Krüger 1951; Kullenberg 1956, 1973; Free 1971; Bringer 1973; Svensson 1979b, 1980; Cederberg & al. 1984 etc.). Protože tato dizertace nezahrnuje žádné studium patrolování v přírodě, žádný extenzivní přehled tohoto typu chování na základě výše zmíněných citací zde není proveden. Lze ho najít např. v pracích Svenssona (1979b, 1980).

Další práce, publikované od poloviny minulého století až do současnosti, se tématicky věnují okruhu problémů souvisejích s původem sekrece deponované samcem na letovém okruhu, morfologií žláz a receptorů a chemickým složením sekrece. První práce spíše spekulující o komunikační funkci mandibulární žlázy samců čmeláků publikovali Haas (1952)

a Stein (1962, 1963). Bergström & al. (1968) při identifikaci hlavní složky feromonové sekrece samců čmeláka zemního (*B. terrestris*) ještě také považovali za zdroj mandibulární žlázy. Až Kullenberg & al. (1973) lokalizovali jako zdroj samčího feromonu hlavovou část labiální žlázy, experimentálně to v laboratorních podmínkách potvrdili Bergman & Bergström (1997) porovnáním extraktu hlavové části labiální žlázy a látek získaných ze značek vytvořených na březových listech samci chovanými v malém skleníku. Ve zcela přirozených podmínkách byla tato shoda sekrece extrahované z rezervoárů hlavové části labiální žlázy a sekrece deponované spontánně v přírodě na samcem vybraný rostlinný objekt prokázána i v rámci této dizertace u druhu s jinou samčí prekopulační strategií – číháním (Kindl & al. 1999). Je známo, že sekreční buňky hlavové části labiální žlázy jsou aktivní jen v prvních dnech života samce a pak se jejich aktivita snižuje až ustane (Ågren & al. 1979).

Řada publikací od přelomu 60. a 70. let minulého století až po současnost buďto pouze popisuje složení sekrece samčí labiální žlázy (Bergström & al. 1968, 1973, 1996; Calam 1969; Kullenberg & al. 1970; Bergström & Svensson 1973a, b; Svensson & Bergström 1977, 1979; Cederberg & al. 1984; Descoins & al. 1984; Svensson & al. 1984; Appelgren & al. 1991; Bergman & al. 1996; Hovorka & al. 1998, 2006; Urbanová & al. 2001; Bertsch & al. 2004) nebo využívá zjištěných rozdílů ve složení sekretu hlavové části labiální žlázy k řešení taxonomických problémů (Svensson 1979a, Bellés & al. 1987; Bertsch 1997a, b; Bertsch & al. 2005; Rasmont & al. 2005). Terzo & al. (2002) vyzdvihují význam studia feromonů pro taxonomii a zejména nutnost znovu popsat složení feromonu u druhů, u kterých byla tato data opublikována před rokem 1996. Vyšší citlivost moderních analytických přístrojů totiž od této doby umožňuje zjistit přítomnost dříve nedetekovatelných minoritních a stopových složek feromonu. Moderní analýzy tak poskytují data pro studium příbuzenských vztahů v rámci rodu *Bombus* podle moderních teorií (total evidence concept).

Funkci samčího značkovacího feromonu jako atraktantu pro neoplozené samice potvrdil experimentálně Bergman (1997). Předpokládá se, že krom atraktivních složek obsahuje feromonová směs i látky působící jako arestanty. Jejich vlivem samice setrvá nějakou dobu u samčí feromonové značky; samec může být při jejím přiletu na odlehle části svého letového okruhu.

Relativně častá je i druhá ze známých strategií – číhání. Ta byla popsána pro řadu palearktických i nearktických druhů z několika podrodů. Tato strategie je u samců spojena s morfologickou adaptací, spočívající v nápadném zvětšení očí. Při čelním pohledu na hlavu se šířka oka rovná šířce čela, zatímco u samců druhů s jinými prekopulačními strategiemi je čelo výrazně širší než šířka složeného oka. Číhání bylo prozatím prokázáno u dvou evropských druhů – čmeláka klamavého (*Bombus (Confusibombus) confusus* (Schenck, 1859)) (Schremmer 1972, Hovorka & al. 1998, Kindl & al. 1999) a u *B. (Mendacibombus) mendax* (Gerstaecker, 1869) (Haas 1949), u nearktických čmeláků *B. (Separatobombus) griseocollis* (DeGeer, 1773) (Alcock & Alcock 1983), *B. (S.) morrisoni* Cresson, 1878 (Frison 1930) a *B. (Bombias) nevadensis auricomus* (Robertson, 1903) (Alcock & Alcock 1983), a s jistými modifikacemi i u asijských druhů *B. (Sibiricobombus) asiaticus* Morawitz, 1875, *B. (Alpigenobombus) kashmirensis* Friese, 1909 a *B. (Melanobombus) rufofasciatus* Smith, 1852 (Williams 1991). Vzhledem k morfologickým preadaptacím samců se dá tato strategie předpokládat i u dalších zástupců podrodů *Confusibombus*, *Mendacibombus* a *Sibiricobombus*. Prakticky u všech studovaných druhů s touto strategií bylo pozorováno značkování jejich stanovišť feromonem, u druhu *B. griseocollis* byla u samce zjištěna funkční labiální žláza a popsáno chemické složení její sekrece (Bertsch & al. 2004).

Pouze čmelák klamavý (*B. confusus*) byl na základě údajů Schremmera (1972) považován za druh vyhledávající partnerky pouze zrakem, a byl uváděn jako jedna z mála výjimek mezi čmeláky, nepoužívající v rámci své prekopulační strategie feromon (Morse

1982, Free 1987, Villalobos & Shelly 1987). Tento omyl byl vyvrácen recentně (Hovorka & al. 1998, Kindl & al. 1999).

Třetí strategie – vyčkávání – se, pokud je známo, vyskytuje u čmeláků poměrně zřídka. Je uváděna jako obligatorní pro nearktické druhy *Bombus (Fervidobombus) fervidus* (Fabricius, 1798) (Lloyd 1981, Free 1987) a *B. (F.) sonorus* Say, 1837 (Villalobos & Shelly 1987) a palearktický druh *B. (Subterraneobombus) subterraneus* (Linnaeus, 1758) (Smith 1858) nebo jako alternativní strategie pro západopalearktického čmeláka *B. (Thoracobombus) ruderarius* (Müller, 1776) (Krüger 1951). Detaily jsou opublikovány pro oba severoamerické druhy. Jejich samci soupeří o nejvýhodnější pozici blízko vchodu do hnízda. U druhu *B. (Fervidobombus) fervidus* (F., 1798) samec který zaujal tuto pozici víří v nepravidelných intervalech křídly a vhání tím proud vzduchu do hnízda. Toto chování je interpretováno jako snaha samce informovat svým feromonem, neseným takto vytvořeným proudem vzduchu přímo do hnízda, vylíhlé mladé matky o své přítomnosti a přilákat je. U druhu *B. (F.) sonorus* byla zjištěna normálně vyvinutá hlavová část labiální žlázy se sekrecí obsahující obvyklé typy látek (alkoholy, estery atd. – Bergström & al. 1996), což podporuje úvahy o používání feromonu i u druhů s touto strategií.

Prekopulační strategie se v současné literatuře obecně klasifikují podle dvou hlavních kritérií. Prvním je počet partnerů pro určité pohlaví. Kategorie jako monogamie, polygynie nebo polyandrie vyjadřují vlastně počet partnerů, se kterými se samec/samice páří. Druhým kritériem je genetický vztah (příbuznost) mezi pářícími se jedinci – např. kategorie jako náhodné páření, outbreeding nebo inbreeding vyjadřují vlastně genetické vztahy mezi kopulujícími jedinci.

Nehledě na zřejmé vzájemné vztahy mezi samčím a samičím prekopulačním chováním, pokusy o klasifikaci pářících systémů (prekopulačních strategií) u blanokřídlých se často zaměřovaly na každé pohlaví odděleně (Alcock & al. 1978, Thornhill & Alcock 1983).

Je to pochopitelné, když uvážíme, že samice investuje do potomstva více než samec. U sociálně žijících blanokřídlých je pak tento nepoměr daleko výraznější ve srovnání s většinou druhů hmyzu žijícího soliterně. Zájmy samic se proto liší od zájmu samců a samice jsou limitujícím a rozhodujícím pohlavím; samci musí soutěžit o získání partnerky k páření. Samci blanokřídlých mají většinou pářicí systémy (prekopulační strategie), ve kterých se mohou pářit opakovaně (polygynie). Poměr pohlaví je u čmeláků oproti předpokladu (Trivers & Hare 1976) vychýlený ve prospěch samců (male biased) a to vede k intenzivní kompetici samců o partnerky k páření. Data potvrzující tento stav publikovala řada autorů, starší data shrnul Bourke (1997), novější údaje opublikovali Duchateau et al. (2004). U dvou nearktických druhů pačmeláků (*B. (Ashtonipsithyrus) ashtoni* (Cresson, 1864) a *B. (Citrinopsithyrus) citrinus* (Smith, 1854)) byl ale naopak zjištěn opačný poměr pohlaví s převahou samic (Fisher 1992).

U čmeláků je asymetrie v pohlavním výběru vyšší o to, že oproti blízkce příbuzným včelám jsou samice většiny čmeláků monandrické. Monandrie většiny druhů evropských čmeláků byla prokázána moderními molekulárně-genetickými metodami (Estoup & al. 1995). Samci si navíc zajišťují paternitu velmi účinným způsobem (Sauter & al. 2001). V průběhu kopulace, vzápětí po genetickém materiálu, předávají partnerce také sekret svých přídatných žláz, tzv. post-kopulační zátku (mating plug). Jedná se o lepkavou substanci, tvořenou unikátním dipeptidem cykloprolylprolinem a směsí čtyř mastných kyselin – olejové, linolenové, palmitové a stearové (Baer & al. 2000). Experimentálně bylo zjištěno (Baer & al. 2001), že z této směsi látek je účinná pouze kyselina linolenová, po jejíž injikaci se ochota samice pářit se velmi snižuje, prakticky mizí. Zatím ne příliš jasným mechanismem tato zcela běžná mastná kyselina snižuje výrazně receptivitu samice a negativně ovlivňuje její ochotu pářit se.

Jedinou známou výjimkou mezi jinak monandrickými druhy je v palearktické oblasti čmelák rokytový (*B. (Pyrobombus) hypnorum* (L., 1758)), u kterého byla zjištěna pravidelně

se vyskytující polyandrie. Opakovaná kopulace byla v laboratorních podmínkách navozena asi u 20% samic (Brown & al. 2002), byla ale pozorovaná i v přírodě. Samice tohoto druhu se pářily maximálně 4x, v průměru 2x (Paxton & al 2001, Schmid-Hempel & Schmid-Hempel 2000). Zdá se, že pravděpodobnost opakovaného páření u tohoto druhu klesá s délkou první kopulace, svou roli hraje i malá trvanlivost post-kopulační zátky – už po uplynutí 12 hod po kopulaci nebyly její zbytky nalezeny (Brown & al. 2002). Její chemické složení není u tohoto druhu zatím známé. Polyandrie je prokázána i u několika severoamerických druhů – *B. (Pyrobombus) bimaculatus* Cresson, 1863, *B. (P.) impatiens* Cresson, 1863, *B. (P.) mixtus* Cresson, 1878, *B. (P.) ternarius* Say, 1837 a *B. (Citrinopsithyrus) citrinus* (Smith, 1854) (Cnaani & al. 2002, Payne & al. 2003). U několika dalších druhů, jako *B. (Pyrobombus) bifarius* Cresson, 1878, *B. (P.) frigidus* Smith, 1854, *B. (P.) huntii* Greene, 1860, *B. (Fervidobombus) californicus* Smith, 1854 a *B. (Cullumanobombus) rufocinctus* Cresson, 1863 (Crozier & Pamilo 1996, Foster 1992) je polyandrie předpokládána na základě pozorování opakovaného páření samic v nepřírodných podmínkách laboratorních chovů, vzácněji i v přírodě, ale zatím u nich nebyla genetickou analýzou potomstva funkční polyandrie prokázána.

Tři výše zmíněné strategie čmeláků (patrolování, číhání a vyčkávání u hnízda) lze přiřadit k obecnějším kategoriím. Patrolování lze ztotožnit se soutěží o samice vyladěné ke kopulaci (scramble competition polygyny), vyčkávání u hnízda s ochranou samičích skupin (female defence polygyny), číhání odpovídá kategorii tokaništního chování (lek behaviour, lek polygyny) (Thornhill & Alcock 1983). Recentně, Shuster & Wade (2003) vypracovali nový, velmi detailní obecný systém prekopulačních strategií, v němž každá z dvanácti nově vytvořených hlavních kategorií má několik subkategorií; v tomto složitém systému odpovídá např. číhání subkategorii „semelparous classic leks“.

I. 4 BIOSYNTÉZA SAMČÍHO ZNAČKOVACÍHO FEROMONU

Feromony obecně jsou z hlediska chemické struktury skupinou chemických látek obsahující značné množství mnohdy i naprosto nesourodých strukturních typů (alifatické nasycené i nenasycené látky, heterocyklické a makrocyklické látky, spiroacetal, terpeny, aromatické látky apod.).

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.

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. Definování funkce enzymů, které katalyzují klíčové kroky biosyntézy feromonů, pomáhá pochopit evoluční vztahy mezi primárním metabolismem a vývojově mladším sekundárním metabolismem. Rovněž určení původu prekurzorů, z nichž feromony vznikají, přináší odpověď na otázku, zda jsou to chemické sloučeniny syntetizované v organismu ze základních metabolických dvou- nebo tříuhlíkatých jednotek, či zda se jejich skelet tvoří modifikací ucelenějšího strukturního skeletu látky, přijaté například v potravě.

O biosyntéze složek značkovacích feromonů čmeláků je známo velmi málo. Autoři jediné publikace (Lanne & al. 1987) na toto téma u čmeláků pouze diskutují možné biosyntetické souvislosti vyvozené ze strukturní analýzy alifatických složek feromonu. V sekretech labiálních žláz samců u 22 druhů čmeláků a pačmeláků byly analyzovány alifatické nenasycené a vícenasycené látky. Dvojně vazby v řetězcích komponent měly zpravidla polohu 7, 9 a 11, z nichž nejvíce zastoupeny byly látky pouze s jednou dvojnou

vazbou v poloze 9 nebo 11. Všechny dvojné vazby měly *cis* konfiguraci. Autoři na základě podobnosti s biosyntézou nenasycených látek u motýlů předpokládali vznik těchto alifatických složek značkovacích feromonů z mastných kyselin, které byly desaturovány specifickými desaturázami. Diskutovaným problémem bylo, zda dochází k desaturaci mastných kyselin následované modifikacemi délky řetězce běžnějšími Δ^9 -desaturázami, nebo činností Δ^{11} -desaturáz lokalizovaných u motýlů. Umístění desaturáz bylo v této práci předpokládáno přímo ve feromonové žláze. Experimentální část dokazující tyto teoreticky odvozené předpoklady nebyla provedena.

I v jiných skupinách blanokřídlých jsou informace o biosyntéze feromonů velmi kusé. Studována byla lokalizace biosyntézy kutikulárních uhlovodíků u mravence *Cataglyphis niger* (Soroker & Hefetz 2000), sloužících jako identifikační feromon. Bylo zjištěno, že k syntéze dochází v tukovém tělese z mastných kyselin deponovaných v triglyceridech a do postfaryngeální žlázy jsou transportovány hemolymfou a ukládány už hotové uhlovodíky. Z čeledi včelovitých *s. l.* byla studována jen biosyntéza hydroxy-, keto- a dikarboxylových kyselin v mandibulární žláze dělnic a královny včely medonosné (*Apis mellifera* L., 1758) (Plettner & al. 1998). Experimentálně bylo prokázáno, že biosyntéza těchto kyselin začíná *de novo* tvorbou kyseliny stearové, která je selektivně hydroxylována v poloze 17 a 18, což ale může probíhat dvěma různými mechanismy. Následně dochází ke zkrácení řetězce β -oxidací, což je proces selektivní pro různé kasty.

Dosavadní výsledky studia biosyntézy feromonů u čmeláků ukazují (Luxová & al. 2003), že ethylestery mastných kyselin u čmeláka hájového (*B. lucorum*) a alkoholy u čmeláka skalního (*B. lapidarius*) vznikají podle předpokladu analogicky situaci známé u motýlů z mastných kyselin skladovaných ve formě triacylglycerolů v tukovém tělese. Závěrečné fáze biosyntézy spočívají v desaturaci prekurzorů Δ^9 -desaturasou; u motýlů převažující Δ^{11} -desaturasa nebyla zatím prokázána.

Literatura

Ågren L., Cederberg B. & Svensson G. 1979: Changes with age in ultrastructure and pheromone content of male labial glands in some bumble bee species (Hymenoptera, Apidae). *Zoon* **7**:1-14.

Alcock J., Barrows E.N., Gordh G., Hubbard J. & Kirkendall L. 1978: The ecology and evolution of male reproductive behaviour in the bees and wasps. *Zoological Journal of the Linnean Society in London* **64**:293-326.

Alcock J. & Alcock J.P. 1983: male behaviour in two bumblebees, *Bombus nevadensis auricomus* and *B. griseicollis* (Hymenoptera: Apidae). *J.Zool.* **200**:561-570.

Appelgren M., Bergström G., Svensson G. & Cederberg B. 1991: Marking pheromones of *Megabombus* bumble bee males. *Acta Chem.Scand.* **45**:972-974.

Ayasse M., Birnbaum J., Tengö J., Doorn A. van, Taghizadeh T. & Francke W. 1999: Caste- and colony-specific chemical signals on eggs of the bumble bee, *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae). *Chemoecology* **9**:119-126.

Ayasse M, Paxton R.J. & Tengö J. 2001: Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annual Review in Entomology* **46**:31-78.

Baer B., Maile R., Schmid-Hempel P., Morgan E.D. & Jones G.R. 2000: Chemistry of a mating plug in bumblebees. *Journal of Chemical Ecology* **26**:1869-1875.

Baer B., Morgan E.D. & Schmid-Hempel P. 2001: A nonspecific fatty acid within the bumblebee mating plug prevents females from remating. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **98**:3926-3928.

Bellés X., Galofré A. & Ginebreda A. 1987: Taxonomic potential of the chemical constituents in the cephalic marking secretions of *Bombus* and *Psithyrus* species (Hymenoptera, Apidae): a numerical taxonomic study. *Apidologie* **18**:231-242.

Bergman P. 1997: *Chemical communication in bumblebee premating behaviour*. Ph. D. Thesis, Göteborg University, Sweden.

Bergman P. & Bergström G. 1997: Scent marking, scent origin, and species specificity in male premating behavior of two scandinavian bumblebees. *Journal of Chemical Ecology* **23**:1235-1251.

Bergman P., Bergström G. & Appelgren M. 1996: Labial gland marking secretion in males of two Scandinavian cuckoo bumblebee species. *Chemoecology* **7**:140-145.

Bergström G., Bergman P., Appelgren M. & Schmidt J.O. 1996: Labial gland chemistry of three species of bumblebees (Hymenoptera: Apidae) from North America. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **4**:515-519.

Bergström G., Kullenberg B., Ställberg-Stenhagen S. & Stenhagen E. 1968: Studies on natural odoriferous compounds II. Identification of a 2,3-dihydrofarnesol as the main component of the marking perfume of male bumble bees of the species of the species *Bombus terrestris* L. *Arkiv för Kemi* **28**:453-469.

Bergström G., Kullenberg B. & Ställberg-Stenhagen S. 1973: Studies on natural odoriferous compounds VII. Recognition of two forms of *Bombus lucorum* L. (Hymenoptera, Apidae) by analysis of the volatile marking secretion from individual males. *Chemica Scripta* **4**:174-182.

Bergström G. & Svensson G. 1973a: Studies on natural odoriferous compounds VIII. Characteristic marking secretion of the forms *lapponicus* and *scandinavicus* of *Bombus lapponicus* Fabr. (Hymenoptera, Apidae). *Chemica Scripta* **4**:231-238.

Bergström G. & Svensson G. 1973b: 2,3-Dihydro-6,trans-farnesol: main component in the cephalic marker secretion of *Bombus jonellus* K. (Hym. Apidae) males. *Zoon Suppl.* **1**:61-65.

Bergström G., Svensson G., Appelgren M. & Groth, I. 1981: *Complexity of bumble bee marking pheromones: biochemical, ecological and systematical interpretations*. Pp. 175-183 in: Howse P.E. & Clément J.-L. (eds.): *Biosystematics of social insects*. Academic Press, London and New York.

Bertsch A. 1997a: Abgrenzung der Hummel-Arten *Bombus cryptarum* und *B. lucorum* mittels männlicher Labialdrüsen-Sekrete und morphologischer Merkmale (Hymenoptera, Apidae). *Entomol. Gener.* **22**:129-145.

Bertsch A. 1997b: Wieviele Arten der Untergattung *Terrestribombus* (Hymenoptera, Apidae) gibt es in Nordhessen; die Abgrenzung von *Bombus cryptarum* und *B. lucorum* mittels männlicher Labialdrüsen-Sekrete und morphologischer Merkmale. *Marburger Ent. Publ.* **2**:1-28.

Bertsch A., Schweer H. & Titze A. 2004: Analysis of the labial gland secretions of the male bumblebee *Bombus griseocollis* (Hymenoptera: Apidae). *Z.Naturforsch.* **59c**:701-707.

Bertsch A., Schweer H., Titze A. & Tanaka H. 2005: Male labial gland secretions and mitochondrial DNA markers support species status of *Bombus cryptarum* and *B. magnus* (Hymenoptera: Apidae). *Insect.Soc.* **52**:45-54.

- Bloch G. & Hefetz A. 1999: Reevaluation of the role of mandibular glands in reproduction in bumblebee colonies. *J.Chem.Ecol.* **25**:881-896.
- Boomsma J.J., Baer B. & Heinze J. 2005: The evolution of male traits in social insects. *Annual Review in Entomology* **50**:395-420.
- Bourke A.F.G. 1997: Sex ratios in bumble bees. *Philosophical Transaction R. Soc. Lond. B*, **352**:1921-1933.
- Bringer B. 1973: Territorial flight of bumble-bee males in coniferous forests on the northernmost part of the island of Öland. *Zoon Suppl.* **1**:15-22.
- Brown M.J.F., Baer B., Schmid-Hempel R. & Schmid-Hempel P. 2002: Dynamics of multiple mating in the bumble bee *Bombus hypnorum*. *Insectes Sociaux* **49**:315-319.
- Cahlíková L., Hovorka O., Ptáček V. & Valterová I. 2004: Exocrine gland secretions of virgin queens of five bumblebee species (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Z.Naturforsch.* **59c**:582-589.
- Calam D.H. 1969: Species and sex-specific compounds from the heads of male bumblebees (*Bombus* spp.). *Nature* **221**:856-857.
- Cane J.H. 1986: Predator deterrence by mandibular gland secretions of bees (Hymenoptera: Apoidea). *J.Chem.Ecol.* **12**:1295-1309.
- Cederberg B. 1977a: Chemical basis for defense in bumble bees. *Proc.8th Int.Congr.IUSSI*:77.
- Cederberg B. 1977b: Evidence for trail marking in *Bombus terrestris* workers (Hymenoptera, Apidae). *Zoon* **5**:143-146.
- Cederberg B. 1979: Doftstyrkt värdval hos snylthumlor [Odour guided host selection in *Psithyrus* (Hym., Apidae)]. *Ent.Tidskr.* **100**:128-129. (in Swedish with English abstract)
- Cederberg B. 1983: The role of trail pheromone in host selection by *Psithyrus rupestris* (Hymenoptera, Apidae). *Ann.Ent.Fenn.* **49**:11-16.
- Cederberg B., Svensson B.G., Bergström G., Appelgren M. & Groth I. 1984: Male marking pheromones in north European cuckoo bees, *Psithyrus* (Hymenoptera, Apidae). *Nova Acta Regiae Soc.Sci.Upsal., Serie V: C*, **3**:161-166.
- Cnaani J., Schmid-Hempel R. & Schmidt J.O. 2002: Colony development, larval development and worker reproduction in *Bombus impatiens* Cresson. *Insectes Sociaux* **49**:164-170.
- Crozier R.H. & Pamilo P. 1996: *Evolution of social insect colonies*. University Press, Oxford.

Darwin C. 1886: Über die Wege der Hummel Männchen. Pp. 84-88 in Krause E. (ed.): *Gesammelte Schriften von Charles Darwin, Vol. 2*. Leipzig.

Descoins C., Frerot ., Gallois M., Lettere M., Bergström G., Appelgren M., Svensson B.G. & Ågren L. 1984: Identification des composés de la phéromone de marquage produite par les glandes labiales des mâles de *Megabombus pascuorum* (Scopoli) (Hymenoptera, Apidae). *Nova Acta Regiae Soc.Sci.Upsal., Serie V: C*, **3**:149-152.

Dornhaus A., Brockmann A. & Chittka L. 2003: Bumble bees alert to food with pheromone from tergal gland. *J.Comp.Physiol. A* **189**:47-51.

Dornhaus A. & Cameron S. 2003: A scientific note on food alert in *Bombus transversalis*. *Apidologie* **34**:87-88.

Dornhaus A. & Chittka L. 2001: Food alert in bumble bees, *Bombus terrestris*: possible mechanisms and evolutionary implications. *Behav.Ecol.Sociobiol.* **50**:570-576.

Dronnet S., Simon X., Verhaeghe J.-C., Rasmont P. & Errard C. 2005: Bumblebee inquiline in *Bombus (Fernaldaepsithyrus) sylvestris* (Hymenoptera, Apidae): behavioural and chemical analyses of host-parasite interactions. *Apidologie* **36**: 59-70.

Duchateau M.J., Velthuis H.H.W. & Boomsma J.J. 2004: Sex ratio variation in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Behavioral Ecology* **15**: 71-82.

Estoup A., Scholl A., Pouvreau A. & Solignac M. 1995: Monoandry and polyandry in bumble bees (Hymenoptera: Bombinae) as evidenced by highly variable microsatellites. *Molecular Ecology* **4**:89-93.

Fisher R.M. 1992: Sex ratios in bumble bee social parasites: support for queen-worker conflict theory? (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology* **20**:205-217.

Fisher R.M., Greenwood D.R. & Shaw G.J. 1993: Host recognition and the study of a chemical basis for attraction by cuckoo bumble bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Chemical Ecology* **19**:771-786.

Foster R.L. 1992: Nestmate recognition as an inbreeding avoidance mechanism in bumble bees (Hymenoptera: Apidae). *J Kansas Entomol Soc* **65**:238-243.

Foster R.L. & Gamboa G.J. 1989: Nest entrance marking with colony specific odors by the bumble bee *Bombus occidentalis* (Hymenoptera: Apidae). *Ethology* **81**:273-278.

Frank A. 1941: Eigenartige Flugbahnen bei Hummel Männchen. *Z. Vergl. Physiol.* **28**:467-484.

Free J.B. 1971: Stimuli eliciting mating behaviour of bumble-bee (*Bombus pratorum* L.) males. *Behavior* **40**:55-61.

Free J.B. 1987: Bumblebees: Mating behaviour, pp. 167-172 in: J.B. Free (ed.): *Pheromones of social bees*. Chapman & Hall, London.

Frison T.H. 1930: Observations on the behavior of bumblebees (*Bremus*): the orientation flights. *Canad.Ent.* **62**: 49-54.

Genin E., Jullien R., Perez F., Fonta C. & Mason C. 1984: Preliminary result on the chemical mediators of the bumblebee *Bombus hypnorum* (Hymenoptera, Apoidea, Bombini). *C.R.Acad.Sci. Paris, Ser. III.* **299**:297-302.

Haas A. 1946: Neue Beobachtungen zum Problem der Flugbahnen bei Hummelmännchen. *Z.Naturforsch.* **1**:596-600.

Haas A. 1949a: Arttypische Flugbahnen von Hummelmännchen. *Z.Vergl.Physiol.* **31**:281-307.

Haas A. 1949b: Gesetzmässiges Flugverhalten der Männchen von *Psithyrus silvestris* Lep. und einiger solitären Apiden. *Z.Vergl.Physiol.* **31**:671-683.

Haas A. 1952: Die Mandibeldrüse als Duftorgan bei einigen Hymenopteren. *Naturwissenschaften* **39**:484.

Haas A. 1967: Vergleichende Verhaltensstudien zum Paarungsschwarm der Hummeln (*Bombus*) und Schmarotzerhummeln (*Psithyrus*). *Z.Tierpsychol.* **24**:257-277.

Hefetz A. 1998: Exocrine glands and their products in non-*Apis* bees: chemical, functional and evolutionary perspectives. Pp. 236-256. In: Vander Meer R.K., Breed M., Winston M. & Espelie C. (eds.): *Pheromone communication in social insects: Ants, wasps, bees, and termites*.

Hefetz A., Falez H.M. & Batra S.W.T. 1979: Natural polyesters: Dufour's gland macrocyclic lactones from brood cell laminesters in *Colletes* bees. *Science* **204**:415-417.

Hefetz A., Taghizadeh T. & Francke W. 1996: The exocrinology of the queen bumble bee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Z.Naturforsch.* **51c**:409-422.

Hefetz A., Tengö J., Lübke G. & Francke W. 1993: Inter-colonial and intra-colonial variation in Dufour's gland secretion in the bumble bee species *Bombus hypnorum* (Hymenoptera: Apidae). Pp. 469-480. In: Wiese K., Kapitsky S. & Renninger G. (eds.): *Arthropod sensory systems*. Birkhäuser Verlag, Basel, Boston, Berlin.

Honk C.G.J. van, Velthuis H.H.W. & Röseler P.-F. 1978: A sex pheromone from the mandibular glands in bumblebee queens. *Experientia* **34**:838-839.

Honk C.G.J. van, Velthuis H.H.W., Röseler P.-F. & Malotau M.E. 1980: The mandibular glands of *Bombus terrestris* queens as a source of queen pheromones. *Ent.Exp. & Appl.* **28**:191-198.

Hovorka O., Urbanová K. & Valterová I. 1998: Premating behavior of *Bombus confusus* males and analysis of their labial gland secretion. *J.Chem.Ecol.* **24**:183-193.

Hovorka O., Valterová I., Rasmont P. & Terzo M. 2006: Male cephalic labial gland secretions of two bumblebee species of the subgenus *Cullumanobombus* (Hymenoptera: Apidae: *Bombus* Latreille) and their distribution in central Europe. *Chemistry & Biodiversity* **3**:1015-1022.

Kindl J., Hovorka O., Urbanová K. & Valterová I. 1999: Scent marking in male premating behavior of *Bombus confusus*. *J.Chem.Ecol.* **25**:1489-1500.

Krieger G.M., Duchateau M.-J., Doorn A. van, Ibarra F., Francke W. & Ayasse M. 2006: Identification of queen sex pheromone components of the bumblebee *Bombus terrestris*. *J.Chem.Ecol.* **32**:453-471.

Kronenberg S. & Hefetz A. 1984: Comparative analysis of Dufour's gland secretion of two carpenter bees (Xylocopinae: Anthophoridae) with different nesting habits. *Comp.Biochem.Physiol.* **79B**:421-425.

Krüger E. 1951: Über die Bahnflüge der Männchen der Gattungen *Bombus* und *Psithyrus* (Bombidae Hymenopt.). *Z.Tierpsychol.* **8**:61-75.

Kullenberg B. 1956: Field experiments with chemical sexual attractants on aculeate Hymenoptera males. I. *Zool.Bidr.Upps.* **31**:253-352.

Kullenberg B. 1973: Field experiments with chemical sexual attractants on aculeate Hymenoptera males. II. *Zoon Suppl.* **1**:31-42.

Kullenberg B., Bergström G., Bringer B., Carlberg B. & Cederberg B. 1973: Observations on scent marking by *Bombus* Latr. and *Psithyrus* Lep. males (Hym., Apidae) and localization of site of production of the secretion. *Zoon Suppl.* **1**:23-30.

Kullenberg B., Bergström G. & Ställberg-Stenhagen S. 1970: Volatile components of the cephalic marking secretion of male bumble bees. *Acta Chem.Scand.* **24**:1481-1483.

Lanne B.S., Bergström G., Wassgren A.-B. & Törnback B. 1987: Biogenetic pattern of straight chain marking compounds in male bumble bees. *Comp.Biochem.Physiol.* **88B**:631-636.

Lloyd J.E. 1981: Sexual selection: individuality, identification, and recognition in a bumblebee and other insects. *Florida Entomol.* **64**:89-118 + 5 tabs.

Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O. & Svatoš A. 2003: Biosynthetic studies on marking pheromones of bumblebee males. *Chemoecology* **13**:81-87.

May J. 1959: *Čmeláci v ČSR, jejich bionomie, chov a hospodářský význam*. SZN Praha, 170 pp.

Morse D.H. 1982: Behavior and ecology of bumble bees, pp. 245-322 in: H.R. Hermann (ed.): *Social Insects*, Vol. III. Academic Press, New York.

Newman H.W. 1851: Habits of the bombinatrices. *Proc.Entomol.Soc. London* **1**: 86-92.

Norden B., Batra S.W.T., Fales H.F., Hefetz A. & Shaw J.C. 1980: *Anthophora* bees; Unusual glycerides from maternal Dufour's gland serve as larval food and cell lining. *Science* **207**:1095-1097.

Oldham N.J., Billen J. & Morgan E.D. 1994: On the similarity of the Dufour gland secretion and the cuticular hydrocarbons of some bumblebees. *Physiol.Entomol.* **19**:115-123.

Pamilo P., Tengö J., Rasmont P., Pirhonen K., Pekkarinen A. & Kaarnama E. 1997: Pheromonal and enzyme genetic characteristics of the *Bombus lucorum* species complex in northern Europe. *Entomol. Fennica* **7**:187-194.

Pavelka M. & Smetana V. 2003: *Čmeláci. Metodika ČSOP č. 28*. ZO ČSOP, Valašské Meziříčí, 1-105 + 8 Tabs.

Paxton R.J. 2005: Male mating behaviour and mating systems of bees: an overview. *Apidologie* **36**:145-156.

Paxton R.J., Thorén P.A., Estoup A. & Tengö J. 2001: Queen-worker conflict over male production and sex-ratio in a facultatively polyandrous bumble bee, *Bombus hypnorum*: the consequences of nest usurpation. *Molecular Ecology* **10**:2489-2498.

Payne C.M., Lavery T.M. & Lachance M.A. 2003: The frequency of multiple paternity in bumble bee (*Bombus*) colonies based on microsatellite DNA at the B10 locus. *Insectes Sociaux* **50**:375-378.

Pereboom J.J.M. 2000: The composition of larval food and the significance of exocrine secretions in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux* **47**: 11-20.

Plettner E., Slessor K.N. & Winston M.L. 1998: Biosynthesis of mandibular acids in honey bees (*Apis mellifera*): de novo synthesis, route of fatty acid hydroxylation and caste selective β -oxidation. *Insect Biochem.Mol.Biol.* **28**:31-42.

Pouvreau A. 1989: Morphology and histology of tarsal glands in bumble bees of the genera *Bombus*, *Pyrobombus*, and *Megabombus*. *Can.J.Zool.* **69**:866-872.

Pouvreau A. 1996: Le marquage de l'entrée du nid de bourdons. *Ent.Exp.Appl.* **80**:355-364.

Přidal A. & Tkalců B. 2003: Records of two bumble bee species new for the Czech Republic and Slovakia (Hymenoptera: Apoidea: Bombini). *Entomofauna* **24**:317-332.

Rasmont P., Terzo M., Aytekin A.M., Hines H., Urbanova K., Cahlikova L. & Valterova I. 2005: Cephalic secretions of the bumblebee subgenus *Sibiricobombus* Vogt suggest *Bombus niveatus* Kriechbaumer and *Bombus vorticossus* Gerstaecker are conspecific (Hymenoptera, Apidae, *Bombus*). *Apidologie* **36**:571-584.

Romani R., Isidoro N., Riolo P. & Bin F. 2003: Antennal glands in male bees: structures for sexual communication by pheromones? *Apidologie* **34**:603-610.

Röseler P.-F. & Röseler I. 1978: Studies on the regulation of the juvenile hormone titre in bumblebee workers, *Bombus terrestris*. *J.Insect Physiol.* **24**:707-713.

Röseler P.-F. & Röseler I. 1981: Evidence for inhibition of corpora allata activity in workers of *Bombus terrestris* by a pheromone from the queen's mandibular glands. *Experientia* **37**:348-351.

Sauter A., Brown M.J.F., Baer B. & Schmid-Hempel P. 2001: Males of social insects can prevent queens from multiple mating. *Proceedings of the Royal Soc London B*, **268**:1449-1454.

Schmid-Hempel R. & Schmid-Hempel P. 2000: Female mating frequencies in *Bombus* spp. from Central Europe. *Insectes Sociaux* **47**:36-41.

Schmitt U. 1990: Hydrocarbons in tarsal glands of *Bombus terrestris*. *Experientia* **46**:1080-1082.

Schmitt U., Lübke G. & Francke W. 1991: Tarsal secretion marks food sources in bumblebees (Hymenoptera: Apidae). *Chemoecology* **2**:35-40.

Schremmer F. 1972: Beobachtungen zum Paarungsverhalten der Männchen von *Bombus confusus* Schenk. *Z.Tierpsychol.* **31**:503-512.

Shuster S.M. & Wade M.J. 2003: *Mating systems and strategies*. Princeton: Princeton University Press, 533 pp.

Sladen F.W.L. 1912: *The humble-bee*. Macmillan, London, 283 pp.

Smith F. 1858: Notes on Aculeate Hymenoptera, with some observations on their economy. *Ent. Ann.*(1858): 34-46.

Soroker V. & Hefetz A. 2000: Hydrocarbon site of synthesis and circulation in the desert ant *Cataglyphis niger*. *J.Ins.Physiol.* **46**:1097-1102.

Stein G. 1962: Über den Feinbau der Mandibeldrüse von Hummelmännchen. *Z.Zellforsch.* **57**:719-736.

Stein G. 1963: Untersuchungen über den Sexuallockstoff der Hummelmännchen. *Biol.Zbl.* **82**:343-349.

Svensson B.G. 1979a: *Pyrobombus lapponicus* auct., in Europe recognized as two species: *P. lapponicus* (Fabricius, 1793) and *P. monticola* (Smith, 1849) (Hymenoptera, Apoidea, Bombinae). *Entomol.Scand.* **10**:275-296.

Svensson B.G. 1979b: Patrolling behaviour of bumble bee males (Hymenoptera, Apidae) in a subalpine/alpine area, Swedish Lapland. *Zoon* **7**:67-94.

Svensson B.G. 1980: Species-isolating mechanisms in male bumble bees (Hymenoptera, Apidae). *Abstr.Upp.Diss.Fac.Sci.* 549:1-42.

Svensson B.G., Appelgren M. & Bergström G. 1984: Geranylgeranyl acetate and 2-heptadecanone as the dominant marking secretion components of the labial glands in the bumble bee *Alpigenobombus wurfleini*. *Nova Acta Regiae Soc.Sci.Upsal., Serie V: C*, **3**:145-147.

Svensson B.G. & Bergström G. 1977: Volatile marking secretions from the labial gland of north European *Pyrobombus* D.T. males (Hymenoptera, Apidae). *Insectes Sociaux* **24**:213-224.

Svensson B.G. & Bergström G. 1979: Marking pheromones of *Alpinobombus* males. *J.Chem.Ecol.* **5**:603-615.

Tengö J., Hefetz A., Bertsch A., Schmitt U., Lübke G. & Francke W. 1991: Species specificity and complexity of Dufour's gland secretion of bumble bees. *Comp.Biochem. Physiol.* **99B**:641-646.

Tengö J., Hefetz A. & Francke W. 1990: Individual and group specific odors of bumble bee females. *11th Int.Congr.IUSSI*, India: 513-514.

Terzo M., Valterova I., Urbanova K. & Rasmont P. 2002: De la nécessité de redécrire les phéromones sexuelles des mâles de bourdons [Hymenoptera: Apidae, Bombini] publiées avant 1996 pour leur utilisation en analyse phylogénétique. *Phytoprotection* **84**:39-49.

Thornhill R. & Alcock J. 1983: *The evolution of insect mating systems*. Cambridge, Massachusetts: Harvard Univ. Press, 547 pp.

Trivers R.L. & Hare H. 1976: Haplodiploidy and the evolution of the social insects. *Science* **191**(4224):249-263.

Valterová I. & Urbanová K. 1997: Chemické signály čmeláků. *Chem. Listy* **91**:846-857.

Vergara C.H., Schröder S., Almanza M.T. & Wittmann D. 2003: Suppression of ovarian development of *Bombus terrestris* workers by *B. terrestris* queens, *Psithyrus vestalis* and *Psithyrus bohemicus* females. *Apidologie* **34**:563-568.

Villalobos E.M. & Shelly T.E. 1987: Observations on the behavior of male *Bombus sonorus* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* **60**:541-548.

Vinson S.B., Frankie G.W. & Williams H.J. 1996: Chemical ecology of the bees of the genus *Centris* (Hymenoptera: Apidae). *Florida Entomologist* **79**:109-129.

Williams P.H. 1991: The bumble bees of the Kashmir Himalaya (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Bull.Brit.Mus.Nat.Hist. (Ent.)* **60**:1-204.

Williams P.H. 1994: Phylogenetic relationships among bumble bees (*Bombus* Latr.): a reappraisal of morphological evidence. *Syst.Entomol.* **19**:327-344.

Zimma B.O., Ayasse M., Tengö J., Ibarra F., Schulz C. & Francke W. 2003: Do social parasitic bumblebees use chemical weapons? (Hymenoptera, Apidae). *J.Comp.Physiol. A* **189**:769-775.

II. CÍL PRÁCE

Předkládaný soubor prací si klade za cíl ověřit, doplnit a získat nové znalosti o feromonové komunikaci u čmeláků, zejména o složení feromonů používaných v prekopulační komunikaci mezi samcem a samicí a o biosyntéze samčích feromonů s předpokládanými lipidickými prekursory.

Literární rešerší získaná data ukazují některé nesrovnalosti mezi údaji o používání feromonu u některých druhů a o složení feromonů u mnoha druhů a kvantitativním zastoupení detekovaných složek feromonů. Je rozdíl mezi daty opublikovanými před polovinou 90. let minulého století a údaji získanými analýzou vzorků v posledních zhruba deseti letech, daný vyšší citlivostí moderních analytických přístrojů. Nově získávaná data zahrnují dříve nezjištěné látky, přítomné jen ve stopových množstvích, a poskytují cenné údaje využitelné např. pro vyřešení mnoha taxonomických problémů na úrovni druhové i pro fylogenetickou analýzu čmeláků, jejichž podrodové třídění je dosud neustálené. V této oblasti slouží zatím opublikované práce jako zdroj nových dat, který po dalším rozšíření bude využitelný pro studium vzájemných vztahů mezi taxony na různé hierarchické úrovni.

Studium biosyntézy alifatických složek samčího značkovacího feromonu je příspěvkem v oblasti u blanokřídlého hmyzu téměř nedotčené. Zatím opublikované studie přináší první výsledky o typu enzymů a lokalizaci dějů ve finální fázi syntézy některých alifatických složek feromonu a nová zjištění týkající se předpokládaného zdroje pro syntézu těchto složek – mastných kyselin uložených ve formě triglyceridů v tukovém tělese. Další studie rozšiřující znalosti o biosyntéze feromonů probíhají.

Cílem jednotlivých prací bylo:

- 1) Na základě terénních pozorování a následného laboratorního výzkumu opravit údaje o prekopulační strategii samců čmeláka klamavého (*Bombus*

confusus) a opublikovat detaily o složení samčího značkovacího feromonu, které nebylo u tohoto druhu (a u podrodu *Confusibombus* vůbec) dříve známé.

- 2) Detailně popsat obě fáze samčí prekopulační strategie čmeláka klamavého (*Bombus confusus*) a dokázat shodu extraktu labiálních žláz se sekrecí deponovanou samcem na jeho značky.
- 3) V rámci taxonomicky velmi obtížného podrodu *Bombus s.str.* charakterizovat české populace čmeláka hájového (*Bombus lucorum*) na základě chemického složení samčího značkovacího feromonu.
- 4) Popsat doposud neznámé chemické složení samčího značkovacího feromonu čmeláka ovocného (*Bombus pomorum*), u kterého byly v sekretu jeho velmi redukované labiální žlázy nalezeny hlavně uhlovodíky a jen stopy jiných látek, vesměs málo těkavých.
- 5) Prokázat předpokládanou analogii závěrečné fáze biosyntézy alifatických složek samčího značkovacího feromonu čmeláků se syntézou obdobných látek u motýlů a pomocí aplikace deuteriem značených prekurzorů (mastné kyseliny) prokázat, jaké typy enzymů jsou ve žláze přítomny a na jakých úpravách molekul prekurzorů se podílejí.
- 6) Popsat dosud neznámé složení samčího značkovacího feromonu pačmeláka krátkosrstého (*B. (Allopsithyrus) maxillosus* Klug in Germar, 1817) a u ostatních dostupných druhů pačmeláků popsat dříve neznámé minoritní a stopové složky tohoto feromonu a určit polohu dvojných vazeb u nenasycených sloučenin.
- 7) Detailně popsat chemické složení sekrece tří exokrinních žláz (mandibulární, labiální a Dufourový žlázy) u neplozených samic pěti druhů čmeláků. U

čmeláka zemního (*B. terrestris*) bylo cílem ověřit již dříve opublikovaná data, u ostatních druhů tyto údaje nebyly známy (s výjimkou složení sekretu Dufourovy žlázy, která ale byla studována u jiné kasty - dělnic).

- 8) Zjistit chemické složení triglyceridů v tukovém tělese samců čmeláků, které jsou předpokládáným zdrojem mastných kyselin coby prekurzorů alifatických složek samčího značkovacího feromonu. U šesti druhů čmeláků byly jako hlavní složky nalezeny zejména mastné kyseliny s délkou řetězce šestnáct a osmnáct uhlíků. Složení mastných kyselin i triglyceridů se ukázalo být druhově specifické.
- 9) Popsat dosud neznámé složení samčího značkovacího feromonu čmeláka *B. (Cullumanobombus) semenoviellus* Skorikov, 1910 a přinést doplňující údaje o rozšíření tohoto expanzivního druhu v ČR. Porovnat složení samčího feromonu s publikovanými literárními údaji i recentně získaným vzorkem příbuzného druhu *B. (C.) cullumanus* (Kirby, 1802), a u tohoto druhu doplnit údaje o dříve neznámých minoritních a stopových složkách feromonu.

III. SEZNAM PRACÍ:

- 1) Hovorka O., Urbanová K. & Valterová I. 1998: Premating behavior of *Bombus confusus* males and analysis of their labial gland secretion. *J.Chem.Ecol.* **24**:183-193.
- 2) Kindl J., Hovorka O., Urbanová K. & Valterová I. 1999: Scent marking in male premating behavior of *Bombus confusus*. *J.Chem.Ecol.* **25**:1489-1500.
- 3) Urbanová K., Valterová I., Hovorka O. & Kindl J. 2001: Chemotaxonomical characterisation of males of *Bombus lucorum* (Hymenoptera: Apidae) collected in the Czech Republic. *Eur.J.Entomol.* **98**:111-115.
- 4) Valterová I., Urbanová K., Hovorka O. & Kindl J. 2001: Composition of the labial gland secretion of the bumblebee males *Bombus pomorum*. *Z.Naturforsch.* **56c**:430-436.
- 5) Luxová A., Valterová I., Stránský K., Hovorka O. & Svatoš A. 2003: Biosynthetic studies on marking pheromones of bumblebee males. *Chemoecology* **13**:81-87.
- 6) Urbanová K., Halík J., Hovorka O., Kindl J. & Valterová I. 2004: Marking pheromones of the cockoo bumblebee males (Hymenoptera, Apoidea, *Bombus* Latreille): compositions of labial gland secretions of six species found in the Czech Republic. *Biochem.Syst.Ecol.* **32**:1025-1045.
- 7) Cahlíková L., Hovorka O., Ptáček V. & Valterová I. 2004: Exocrine gland secretions of virgin queens of five bumblebee species (Hymenoptera: Apidae, Bombini). *Z.Naturforsch.* **59c**:582-589.
- 8) Cvačka J., Hovorka O., Jiroš J., Kindl J., Stránský K. & Valterová I. 2006: Analysis of triacylglycerols in fat body of bumblebees by chromatographic methods. *J.Chromatog.A* **1101**:226-237.
- 9) Hovorka O., Valterová I., Rasmont P. & Terzo M. 2006: Male cephalic labial gland secretions of two bumblebee species of the subgenus *Cullumanobombus* (Hymenoptera:

Apidae: *Bombus* Latreille) and their distribution in central Europe. *Chemistry & Biodiversity*
3:1015-1022.