

УДК 582.916.11:[581.162.3:595.7]:581.574](045)

DOI <https://doi.org/10.33989/2024.10.1.306042>**В. О. Скакун**

Уманського державного педагогічного університету імені Павла Тичини

вул. Садова, 2, Умань, 20300, Україна

skakun\_vika@meta.ua

ORCID: 0000-0001-5161-123X

**СТРАТЕГІЇ ТА ОСОБЛИВОСТІ ПРИВАБЛЕННЯ КОМАХ-ЗАПИЛЮВАЧІВ БУДДЕЛІ (BUDDLEJA DAVIDII L.)**

Відомо, що запилювачами багатьох видів рослин є метелики. Цих комах приваблюють насамперед візуальні ознаки квіток, проте вони також реагують на квіткові аромати. Тому більшість рослин, які запилюються метеликами, мають сильний аромат. Однією з таких рослин є *Buddleja davidii*. Цей вид широко поширений в Азії і відомий своїм інвазивним характером у різних регіонах по всьому світу. Крім того, що рослина є привабливою для метеликів та має яскраві, великі суцвіття, вона також є важливою декоративною рослиною, яку вирощують в багатьох садах. У статті описано особливості запилення *Buddleja davidii* одним з його найчастіших відвідувачів – метеликом Павичево око (*Aglais io*), спираючись на хімічні та поведінкові підходи. Було з'ясовано, що для метеликів саме нюхові сигнали є більш привабливими, ніж візуальні. Цьому сприяє наявність у рослинах 4-оксоізофоронон та епоксиду оксоізофоронону. Саме остання сполука викликає поведінкові реакції у комах – запилювачів.

**Ключові слова:** *Buddleja davidii*, комахи-запилювачі, квіткові аромати, нюхові сигнали, візуальні сигнали, ароматичні речовини.

**Вступ.** Більшість квіткових рослин запилюються комахами та іншими тваринами. Рослини розвинули дуже різноманітні стратегії «реклами» своїх квіток. Це призвело до появи квіток з різними фенотипами (структурою, кольором, ароматом). Найбільш важливими для приваблення комах – запилювачів є візуальні та нюхові квіткові сигнали. Відомо, що рослини, які запилюються вночі, як правило мають сильний аромат, щоб привабити своїх запилювачів (наприклад, метеликів, кажанів), хоча візуальні сигнали також можуть бути ними залучені, для того, аби привабити комаху і вона прилетіла до квітки харчуватися. І навпаки, рослини, які запилюються вдень, приваблюють запилювачів переважно візуальними сигналами, але і нюхові сигнали для них є не менш важливими. Метою нашої роботи є з'ясування впливу ароматичних сполук, візуальних та нюхових сигналів квіток *Buddleja davidii* на приваблення до них комах-запилювачів, а саме павичевого метелика *A. io*.

Бджоли є найважливішими запилювачами, адже вони запилюють найбільшу кількість рослин. Однак, на сьогоднішній день лускокрилі є найбільш чисельними за видовим складом.

Рослини, які запилюються метеликами, часто мають яскраво забарвлені (наприклад, червоні, помаранчеві, жовті) квіти і досить сильні аромати. Ці запахи часто складаються зі сполук різних класів, таких як ароматичні речовини (наприклад, фенілацетальдегід) і терпеноїди (наприклад, ліналоол, оксоізофоронон) (Dobson, 2006). Хоча візуальні квіткові ознаки часто є більш важливими, ніж нюхові, для пошуку рослин-хазяїв у метеликів, є також дані, які показують, що природні та синтетичні квіткові аромати викликають у них сильні поведінкові реакції, і що синтетичні квіткові аромати підвищують привабливість візуальних сигналів (Andersson, 2003; Dobson, 2006).

Буддлея Давида (*Buddleja davidii* Franch. є «магнітом» для різних видів метеликів (наприклад, *Aglais io* (L.), *Melanargia galathea* (L.), *Danaus plexippus* (L.), *Papilio machaon* (L.), тому її називають кущем метеликів (Tallent-Halsell, & Watt, 2009). *B. davidii*, що походить з Азії, був інтродукований як декоративна рослина в різні частини світу (наприклад, в Америку, Європу, Нову Зеландію), де він адаптувався і став інвазивним. Окрім метеликів, які інтенсивно відвідують рослину як в рідних, так і в чужих регіонах, до її квітів також злітаються оси, жуки та колібри

(Guédot, Landolt, & Smithhisler, 2008). Вважається, що висока привабливість квіток *Buddleja davidii* для запилювачів пояснює її широке природне поширення і сприяє її інвазивному характеру в неаборигенних регіонах (Chen, Sun, Sun, & Norman 2011). Квітки зазвичай фіолетові або бузкові, мають помаранчевий нектарник і виділяють сильний, приємний аромат (Ebeling, Schreiter, Hensen, Durka, & Auge, 2012). Багато сполук, що виділяються квітками, викликають фізіологічні реакції у вусиках метеликів німфалід і лускокрилих, що вказує на те, що ці метелики можуть використовувати дані сполуки для визначення місцезнаходження квіток. Дійсно, деякі сполуки, виявлені в зразках запаху *B. davidii*, також виділяються з інших рослин, які відвідують метелики, де було показано, що вони викликають поведінку наближення і живлення (наприклад, 2-фенілетанол, фенілацетальдегід). Однак, до цього часу не відомо про відносну важливість візуальних та нюхових квіткових сигналів *B. davidii* для приваблення метеликів, а також про вплив поширених сполук у запаху (наприклад, епоксиду оксоізофоруону) на поведінкову активність метеликів (Ômura, Honda, & Hayashi, 1999; Andersson, 2003b).

**Матеріали та методи дослідження.** Для проведення експериментів науковці використовували особини павичевого метелика *Aglais io* (L.). Личинок та яйця збирали в Зальцбурзі та розводили в купольній сітчастій клітці розміром 60 см x 60 см x 60 см. Їх утримували в приміщенні при температурі приблизно 21°C і годували кропивою дводомною (*Urtica dioica*). Дорослі особини, що вилупилися, були комахами 1-го покоління і були випущені в клітку для польотів, в якій проводили поведінкові експерименти. У цій клітці їх годували та розмножували, щоб отримати 2-ге покоління. Для ідентифікації окремих метеликів, вони були індивідуально позначені кольоровими кодами на зворотному боці кожного крила.

#### Біопроби

Поведінкові експерименти проводили у льотній клітці (8 м × 4 м × 2,2 м) (Rachensberger, Cordeiro, Schäffler, & Dötterl, 2019). Деякі кімнатні рослини (*Helianthus anuus*, *Achillea* sp., *Campanula persicifolia*, *C. trachelium*, *Reseda alba*, *Ranunculus acris*, *Salvia* sp.), які слугували джерелом нектару та пилку для бджіл, також розміщувалися у клітці, їх мали можливість відвідувати павичеві метелики. Дана клітка імітувала природне середовище, в якому доступні різні квітучі рослини. Як додаткове джерело їжі, були встановлені губки у пластикових стаканчиках із сумішшю сахарози та води (1/4). Також, метелики мали доступ до гілок *B. davidii* із квітучими суцвіттями.

Було описано проведення шести різних аналізів з подвійним вибором з різними видами циліндрів із кварцового скла (діаметр: 10 см, висота: 29 см) (Burger, Dötterl, & Ayasse, 2010). Для визначення відносної важливості візуальних та нюхових сигналів *B. davidii* у залученні *A. io* циліндри негативного контролю тестували на відокремлені візуальні, відокремлені нюхові та комбіновані сигнали; відокремлені сигнали тестували один проти одного та проти комбінованих сигналів. Кожен циліндр складався з ковпачка і корпусу з кварцового скла та втулки, яка з'єднувала і герметизувала ковпачок і корпус. Три-чотири суцвіття (залежно від кількості квіток) з приблизно 600 квітками *B. davidii*, поміщали всередину циліндра. Порожні циліндри, ідентичні циліндрам, що містили досліджувані ознаки суцвіть, слугували негативним контролем (Chen, Gong, Ge, Dunn, & Sun, 2014). Залежно від досліджуваної ознаки, у циліндрі були нюхові ознаки; нюхові + візуальні ознаки або не було ніяких ознак. У циліндрах були невеликі отвори, щоб забезпечити дифузю ароматів суцвіть. Циліндри були або прозорими (візуальні, нюхові + візуальні підказки), або пофарбованими в чорний колір напівматовим лаком (нюхові підказки). Циліндри були встановлені на чорному ПВХ-диску (діаметром 11 см), який був прикріплений до квадратного дерев'яного столу. Для кожного тесту з подвійним вибором два циліндри розміщували на відстані 30 см один від одного. Від 30 до 40 особин метеликів, присутніх у клітці, були активними (літали) під час тестів.

Кожен тест з подвійним вибором повторювали тричі (3 × 15 хв), а для аналізу даних об'єднували дані з трьох повторень. Положення циліндрів змінювали після кожної повтор-

ності, щоб врахувати можливі просторові вподобання метеликів. Усі експерименти спочатку проводили з метеликами, які вперше взаємодіяли з *B. davidii*, потім експерименти повторювали з досвідченими метеликами. Відмінності між самками та самцями не робили, оскільки дослідження, які проводилися вченими ентомологами не виявили відмінностей між статями павичевого метелика (*A. io*) під час пошуку нектарних ресурсів (Andersson, 2003b). Тестування проводили між 9 ранку та 16:00, коли активність тварин була найвищою.

Підльоти, тобто польоти в межах 15 см від циліндра з чіткою зміною напрямку або швидкості, реєстрували як для молодих, так і для досвідчених метеликів. Також, додатково реєстрували приземлення на циліндр і поведінку під час годування (витягування хоботка після приземлення на циліндр). Метеликів, які реагували протягом 15-хвилинного періоду тестування, відловлювали сачком для комах, записували їхній колірний код і випускали назад у клітку в кінці тесту. Якщо метелик реагував більше одного разу в повторних прогонах певного тесту з подвійним вибором, враховувалася лише його перша реакція.

Враховуючи, що нюхові сигнали виявилися дуже привабливими для метеликів і що більшість метеликів не тільки наближалися до циліндрів, але й сідали на них і витягували хоботки в пошуках їжі, науковці визначили сполуки, які викликають харчову реакцію у *A. io* (витягування хоботка). Для цього використовували сполуки, раніше описані як електрофізіологічно активні в газовій хроматографії та електроантеннографії з антенами *A. io* та запахами *B. davidii* (Andersson, 2003a). Науковці запропонували три різні суміші сполук (оксоізофорони: 4-оксоізофорон, епоксид оксоізофорону; інші терпени:  $\beta$ -циклоцитраль, фарнезен, геранілацетон, (E)- $\beta$ -оцимен; та ароматичні сполуки: бензальдегід, бензиловий спирт, (E)-коричний спирт, (E)-коричний альдегід, фенілацетальдегід, 2-фенілетанол) та дві окремі сполуки найефективнішої суміші (оксоізофоронів: 4-оксоізофорон, епоксид оксоізофорону;) у чашках Петрі метеликам. Негативним контролем слугував ацетон, яким розводили сполуки. Щоб переконатися, що кількісні та відносні кількості цих сполук можна порівняти з природним ароматом *B. davidii*, були зібрані динамічні зразки запаху з чашок Петрі та суцвіть *B. davidii* і проаналізовані на системі ГХ/МС (газова хроматографія/мас-спектрометрія) (Braunschmid et al., 2017).

Експерименти також проводили в льотній клітці, але з використанням пластикових пляшок з водою, в які поміщали поодиноких метеликів. Після видалення дна цих пляшок, їх очищали етанолом і сушили протягом 2 годин при кімнатній температурі. Оскільки метеликам було важко повзати по пластиковій поверхні, всередину пляшки поміщали целюлозну тканину. На цю тканину поміщали скляну чашку Петрі (діаметром 10 см) з 100 мкл досліджуваного розчину, оновленого для кожного метелика. У пляшку випускали метелика, а пляшку закривали знизу іншою целюлозною серветкою. За поведінкою метелика спостерігали протягом 5 хвилин. Фіксували, чи витягував він хоботок, і якщо так, то на який час. 30 метеликів спочатку тестували на ацетоновому контролі, потім на ароматичних речовинах, оксоізофоронах і, нарешті, на інших терпенах. 30 різних метеликів були протестовані на окремих сполуках, спочатку на 4-оксоізофорні, а потім на епоксиді оксоізофорону.

Статистичний аналіз. Дані аналізів циліндрів з метеликами були використані для перевірки відмінностей між різними стимулами (негативний контроль, візуальні сигнали, нюхові сигнали, візуальні + нюхові сигнали) у їхній здатності викликати реакцію на харчування. Порівнювалися кількість метеликів, які сідали на циліндри, але не витягували хоботки, з кількістю метеликів, які витягували хоботки після реакції приземлення на нюхові та нюхові + візуальні стимули, використовуючи точний критерій Фішера.

**Результати та їх обговорення.** Досвідчені метелики та ті, які вперше контактували з *Buddleja davidii* дуже схоже реагували на тести з подвійним вибором. Незалежно від їхнього досвіду спілкування з *B. davidii*, візуальні, нюхові та комбінації обох сигналів приваблювали значно більше метеликів, ніж відповідні контролю. При тестуванні один проти одного нюхові сигнали були більш привабливими, ніж візуальні. Комбіновані нюхові + візуальні сигнали були більш привабливими, ніж окремі сигнали (Barragán-Fonseca, Van Loon, Dicke,

& Lucas-Barbosa, 2020). Більшість метеликів, які реагували в тестах з подвійним вибором на будь-яку обробку, не тільки наближалися до циліндрів, але й сідали на них. Стимули, що включали нюхові сигнали, також викликали реакції зондування, причому самі по собі нюхові сигнали були настільки ж ефективними у викликанні реакції годування, як і нюхові + візуальні сигнали (точний тест Фішера:  $p = 0,19$ ).

Точні критерії Фішера також використовували для перевірки відмінностей у ймовірності того, що особини витягували хоботки під впливом різних тестових речовин (контроль розчинника, суміші речовин, окремі сполуки). Нульова гіпотеза в усіх цих тестах полягала в тому, що всі стимули мали однакову привабливість для метеликів.

Для перевірки відмінностей у тривалості витягування хоботка між тестовими стимулами використовували критерій Крускала-Уолліса (Kruskal-Wallis) з подальшим непараметричним тестом Tukey HSD post hoc для аналізу експериментів із сумішами сполук та U-критерій Манна-Уїтні (Mann-Whitney U-test) для аналізу експериментів з епоксидом оксоізофороном та 4-оксоізофороном.

Суміші сполук, що містять ароматичні речовини, оксоізофороми або інші терпени, були більш ефективними у стимулюванні витягування хоботка у метеликів, ніж ацетоновий негативний контроль, причому оксоізофороми були загалом найпривабливішими (глобальний і попарний точні тести Фішера:  $p \leq 0,006$ ). Майже 80% метеликів демонстрували харчову поведінку при тестуванні на оксоізофоронах, приблизно третина – при тестуванні на ароматичних речовинах та інших терпенах, і лише 3% – при тестуванні на ацетоновому контролі. При окремому тестуванні 4-оксоізофороном (87%) та епоксид оксоізофороном (100%) були однаково ефективними в стимулюванні харчової поведінки метеликів (точний тест Фішера:  $p = 0,11$ ).

**Висновки.** У цьому дослідженні ми проаналізували способи приваблення *B. davidii* павичевого метелика *A. io*, який є одним з найпоширеніших відвідувачів цієї рослини в Європі. Зокрема, досліджували відносну важливість візуальних і нюхових сигналів для приваблення метеликів, також описували силу реакції на різні стимули та вказали сполуки, які найбільше впливають на харчову поведінку. Ми виявили, що висока привабливість *B. davidii* для метеликів головним чином зумовлена запахом суцвіть, і що лише нюхові сигнали, особливо 4-оксоізофороном та епоксид оксоізофороном, здатні викликати харчову поведінку у павичевого метелика (*A. io*).

## **BUDDLEJA DAVIDII L. – STRATEGIES AND CHARACTERISTICS OF ATTRACTING POLLINATING INSECTS**

**Skakun Viktoria**

Pavlo Tychyna Uman State Pedagogical University

*Butterflies are known to be pollinators of many plant species. These insects are attracted primarily by the visual features of flowers, but they also respond to floral aromas. Therefore, most plants pollinated by butterflies have a strong aroma. One such plant is Buddleja davidii. This species is widespread in Asia and is known for its invasive nature in various regions around the world. In addition to being attractive to butterflies and having bright, large inflorescences, it is also an important ornamental plant grown in many gardens. The article describes the peculiarities of pollination of Buddleja davidii by one of its most frequent visitors, the Peacock's Eye butterfly (Aglaia io), based on chemical and behavioral approaches. It was found that olfactory cues are more attractive to butterflies than visual ones. This is facilitated by the presence of 4-oxoisophorone and oxoisophorone epoxide in plants. It is the latter compound that causes behavioral reactions in pollinating insects.*

**Key words:** *Buddleja davidii, pollinating insects, floral aromas, olfactory signals, visual signals, aromatic substances.*



## REFERENCES

- Andersson, S. (2003a). Antennal responses to floral scents in the butterflies *Inachis io*, *Aglais urticae* (Nymphalidae), and *Gonepteryx rhamni* (Pieridae). *Chemoecology*, 13, 13-20. doi: 10.1007/s000490300001
- Andersson, S. (2003b). Foraging responses in the butterflies *Inachis io*, *Aglais urticae* (Nymphalidae), and *Gonepteryx rhamni* (Pieridae) to floral scents. *Chemoecology*, 13, 1-11. doi: 10.1007/s000490300000
- Barragán-Fonseca, K. Y., Van Loon, J. J. A., Dicke, M., & Lucas-Barbosa, D. (2020). Use of visual and olfactory cues of flowers of two brassicaceous species by insect pollinators. *Ecol. Entomol.*, 45, 45-55. doi: 10.1111/een.12775
- Braun Schmid, H., Mükisch, B., Rupp, T., Schäffler, I., Zito, P., Birtele, D., & Dötterl, S. (2017). Interpopulation variation in pollinators and floral scent of the lady's-slipper orchid *Cypripedium calceolus* L. *Arthropod-Plant Interactions*, 11, 363-379. doi: 10.1007/s11829-017-9512-x
- Burger, H., Dötterl, S., & Ayasse, M. (2010). Host plant finding and recognition by visual and olfactory floral cues in an oligolectic bee. *Functional Ecology*, 24, 6, 1234-1240. doi: 10.1111/j.1365-2435.2010.01744.x
- Chen, G., Gong, W. C., Ge, J., Dunn, B. L., & Sun, W. B. (2014). Inflorescence scent, color, and nectar properties of "butterfly bush" (*Buddleja davidii*) in its native range. *Flora*, 209, 172-178. doi: 10.1016/j.flora.2014.02.003
- Chen, G., Sun, H., Sun, W. B., & Norman, E. (2011). *Buddleja davidii* and *Buddleja yunnanensis*: exploring features associated with commonness and rarity in *Buddleja*. *Flora*, 206, 892-895. doi: 10.1016/j.flora.2011.05.006
- Dobson, H. E. M. (2006). Relationship between floral fragrance composition and type of pollinator. In N. Dudareva & E. Pichersky (Eds.), *Biology of Floral Scent* (pp. 147-198). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Ebeling, S. K., Schreiter, S., Hensen, I., Durka, W., & Auge, H. (2012). Outcrossing breeding system does not compromise invasiveness in *Buddleja davidii*. *Flora*, 207, 843-848. doi: 10.1016/j.flora.2012.09.010
- Guédot, C., Landolt, P. J., & Smithhisler, C. L. (2008). Odorants of the flowers of butterfly bush, *Buddleja davidii*, as possible attractants of pest species of moths. *Florida Entomologist*, 91(4), 576-582. doi: 10.1653/0015-4040-91.4.576
- Ômura, H., Honda, K., & Hayashi, N. (1999). Chemical and chromatic bases for preferential visiting by the cabbage butterfly, *Pieris rapae*, to rape flowers. *Journal of Chemical Ecology*, 25, 1895-1906. doi: 10.1023/A:1020990018111
- Rachtersberger, M., Cordeiro, G. D., Schäffler, I., & Dötterl, S. (2019). Honeybee pollinators use visual and floral scent cues to find apple (*Malus domestica*) flowers. *J. Agric. Food Chem.*, 67, 13221-13227. doi: 10.1021/acs.jafc.9b06446
- Tallent-Halsell, N. G., & Watt, M. S. (2009). The invasive *Buddleja davidii* (butterfly bush). *Bot. Rev.*, 75, 292-325. doi: 10.1007/s12229-009-9033-0