

## 7 Zusammenfassung

Ziel dieser Dissertation ist es, Beiträge zur Systematik des Blattkäfertaxons Galerucinae *s. str.* zu liefern. Diese Chrysomelidengruppe ist sehr artenreich, eine Stammbauhypothese nach Richtlinien der phylogenetischen Systematik gibt es bis jetzt nicht. Die zur Zeit gebräuchliche, aber umstrittene Zuordnung der bekannten Arten in Subtaxa (Tribus) ist mehr oder weniger willkürlich.

Im Zentrum dieser Untersuchung standen Arten der Tribus Sermlyini WILCOX 1965 (korrekter Name nach Silfverberg 1990: Hylaspini). Einige Arten der Sermlyini haben in ihren Larvalstadien Wehröffnungen an Thorax und Abdomen. Diese bisher nur äußerlich detailliert beschriebenen Strukturen werden in der Literatur als Wehrdrüsen bezeichnet und die betreffenden Arten drei Gruppen des neuen Taxons ‚drüsentragende Galerucinae‘ zugeordnet. Ob es sich bei den beschriebenen Strukturen jedoch wirklich um exokrine Drüsen handelt, geht aus bisher veröffentlichten ektomorphologischen Untersuchungen nicht hervor.

Es fehlten also Belege für die Präsenz von Drüsenzellen, Informationen über die Zusammensetzung des „Drüsensekrets“ und zur Wehrfunktion dieser Strukturen. Daher wurden Larven von 10 Sermlyini-Arten hinsichtlich folgender Parameter untersucht:

- (1.) morphologisch: die Wehröffnungen wurden vergleichend mittels REM und Lichtmikroskopie untersucht.
- (2.) verhaltensökologisch: die über die Wehröffnungen abgegebenen Flüssigkeiten wurden in Biotests hinsichtlich ihrer Wirkung auf Modellprädatoren (Ameisen) und hinsichtlich ihrer Effekte auf konspezifische Larven (Alarmwirkung) geprüft.
- (3.) chemisch-analytisch: die über die Wehröffnungen abgegebenen Flüssigkeiten wurden mittels GC-MS, HPLC-DAD, SDS-PAGE, Festphasenextraktion untersucht.
- (4.) Parallel dazu wurde eine auf Sequenzen von drei verschiedenen DNA-Abschnitten basierende Stammbaumhypothese der Unterfamilie Galerucinae erarbeitet. Insgesamt lagen zur Auswertung Sequenzen von 13 Sermlyini-Arten, 34 Galerucinen-Arten aus drei anderen Tribus und 13 Arten der Chrysomelinae zum Außengruppenvergleich vor.

### *1. Ergebnisse der morphologischen Untersuchung der segmentalen Wehrstrukturen (Kap. 2)*

Es können bei 10 untersuchten Sermlyini-Arten zwei Typen von Wehrstrukturen unterschieden werden.

Typ *Agelastica alni*: Die Larven verfügen über dorsolateral paarweise an den Abdominalsegmenten 1-8 lokalisierte ausstülpbare kutikuläre Säckchen. In jedes Säckchen mündet der Kanal einer einzigen Drüsenzelle. Die Säckchen werden vermutlich durch steigenden Körperinnendruck ausgetrieben und aktiv durch Muskeln zurückgezogen. Die Ansatzstellen dieser Muskeln sind apikal und lateral an den Säckchen lokalisiert. Die Drüsenzellen an den Säckchen, aber auch an anderen Stellen des Integumentes haben einen mit 30 µm kurzen geraden Ausführkanal mit wenig differenziertem Endapparat. Arten, die diesen Typus Wehröffnung haben, sind: *Agelastica alni*, *A. coerulea*, *Morphosphaera chrysomeloides*, *M. coerulea* und *M. japonica*. Diese Arten wurden auch schon aufgrund der Anzahl und Anordnung der Wehröffnungen und der Abdominalsklerite in einer Gruppe zusammengefaßt.

Typ *Sermylassa halensis*: Die Wehröffnungen sind ohne ausstülpbare Säckchen und ohne exokrine Drüsen, die in direktem Zusammenhang mit den Öffnungen stehen. Aber auch bei diesen Arten finden sich zahlreich an anderen Stellen Epidermaldrüsen, deren Sekretkanäle 100 µm lang sind und einen gegabelten Endapparat haben. Außerdem weisen diese Larven auffällige Kutikularfibrillen auf, die im Zusammenhang mit der Muskulatur stehen. Arten, bei denen dieser Typ festgestellt wurde, sind: *Agelasa nigriceps*, *Arthrotus niger*, *Hamushia eburata*, *Gallerucida bifasciata* und *Sermylassa halensis*. Eine Ausnahme ist hier *Arthrotus niger*, der keine Fibrillen hat. Damit konnte eindeutig gezeigt werden, daß die bisher auch als Wehrdrüsen bezeichneten Wehrstrukturen vom Typ *S. halensis* keine Drüsenorgane sind.

## 2. Ergebnisse der verhaltensökologischen Untersuchungen mit den Wehrflüssigkeiten (Kap. 3 und 4)

Larven von lebend zur Verfügung stehenden Arten sondern über die Wehröffnungen nach taktiler Reizung eine klebrige Flüssigkeit ab. Diese wirkt auch noch in starker Verdünnung signifikant fraßhemmend auf Arbeiterinnen der Ameise *Myrmica rubra*. Getestet wurden: *Agelasa nigriceps*, *Agelastica coerulea*, *Gallerucida bifasciata* und *Sermylassa halensis*.

Wie schon vor dieser Untersuchung aus eigenen Experimenten bekannt war, führt die Abgabe von Wehrflüssigkeit bei den gregär fressenden Larven des Erlenblattkäfers *Agelastica alni* zu einer Fluchtreaktion konspezifischer Larven aus derselben Gruppe. Es stellte sich daher die Frage, ob das Sekret der an diesen Wehröffnungen entdeckten exokrinen Drüsen die Alarmreaktion auslöst. Es wurden auch Tests mit Hämolymphe, die aus einem Bein entnommen worden war, und Tests mit Dichlormethan extrahierten konspezifische Eigelege durchgeführt.

Diese Duftproben erwiesen sich auch als alarmauslösend, so daß die exokrinen Drüsen als Quelle für das Alarmpheromon nicht infrage kommen. Allerdings reagierten statistisch signifikant etwas mehr Larven auf die Wehrflüssigkeit als auf Hämolymphe.

### 3. Ergebnisse der chemischen Analyse der Wehrflüssigkeiten (Kap. 3 und 4)

Durch vergleichende Untersuchung von Wehrflüssigkeiten und Hämolympfproben (aus Larvalbein entnommen) konnte mittels Lichtmikroskopie und Proteinmustervergleich (SDS-PAGE) eindeutig nachgewiesen werden, daß durch die Wehröffnungen Hämolymphe abgegeben wird. Nach Aufarbeitung von wässrigen Verdünnungen der Wehrflüssigkeit von (*Agelasa nigriceps*, *Agelastica coerulea* und *Sermylassa halensis*) mit Biotestkontrolle kann folgende Charakterisierung der gegenüber Ameisen fraßdeterrenten Verbindungen der Wehrflüssigkeiten gegeben werden: Sie sind hochpolar, hitzestabil, nicht flüchtig und weisen ein Molekulargewicht von weniger als 3 kD auf.

Die angereicherten alarmauslösenden Duftstoffe aus Wehrflüssigkeit und Hämolymphe von *Agelastica alni* wurden außerdem mittels GC-MS chemisch analysiert. Dabei konnte in beiden Probenotypen jeweils 10 Verbindungen detektiert werden, u.a. (*E*)-4,8-Dimethyl-1,3,7-nonatrien, das mit der Wehrflüssigkeit in deutlich höheren Mengen abgegeben wurde. Außerdem fanden sich in den Proben der Wehrflüssigkeit zusätzlich Spuren eines alkylierten Pyrazins. Die Rolle der exokrinen Drüsen von *Agelastica alni* wird vor dem Hintergrund dieser neuen Ergebnisse diskutiert.

### 4. Ergebnisse der molekularbiologischen Analyse (Kap. 5)

Um einen Beitrag zur Systematik der Galerucinae zu liefern, wurden DNA-Abschnitte aus drei verschiedenen Regionen (Efl $\alpha$ , 12S rRNA und 16S rRNA) von 51 Galerucinae und 9 Chrysomelinae als Außengruppe sequenziert. Ein Schnittmengendatensatz von 34 Taxa, für den Sequenzen von allen drei DNA-Abschnitten vorlagen, wurde sowohl getrennt als auch gekoppelt mit dem Computerprogramm POY ausgewertet, in das das Prinzip des optimierten Alignment implementiert ist. Dabei wurden verschiedene Parameter der Analyse wie Kosten für Alignierungslücken und Kosten für das Verhältnis von Tranversionen zu Transitionen variiert. Aus den verschiedenen Ergebnissen dieser Rechnungen wurde diejenige Kombination von Parametern ausgewählt, bei der sich die geringsten Widersprüche zwischen den kombinierten Datensätzen ergaben (ILD-Index). Die Ergebnisse dieser sequenzbasierten phylogenetischen Analyse liefern keine Hinweise für die Monophylie der Tribus Sermylini. Die Arten mit Wehrdrüsen der Typs *A. alni* finden sich stets deutlich getrennt von zusammen

gruppierten Arten mit Wehröffnungen des Typs *S. halensis*. Dies deutet auf eine konvergente Entwicklung der Wehröffnungen innerhalb der Galerucinae hin. Auch die Tribus Luperini ist bei allen gewählten Analyseparametern ein paraphyletisches oder polyphyletisches Taxon. Als einzige der traditionellen Taxa wird die Tribus Galerucini als monophyletisches Taxon von der Auswertung unterstützt.