

CHAPTER 11

Zusammenfassung

Gegenstand dieser Dissertation waren chemisch-ökologische Fragestellungen zur Partner- und Wirtsfindung bei parasitischen Hymenopteren aus der Familie der Pteromalidae (Chalcidoidea). Stellvertretend für diese Gruppe wurde vor allem die Lagererzwespe *Lariophagus distinguendus* untersucht, ein solitärer Larven- und Puppenparasitoid verschiedener Käferarten, von denen die meisten Schädlinge an gelagerten Pflanzenprodukten sind. Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand zunächst die chemische und funktionelle Charakterisierung biologisch aktiver Naturstoffe, die als Pheromone und wirtsassoziierte Kairomone bei der Partnerfindung und –erkennung beteiligt sind. Darüber hinaus wurden aber auch grundlegende Untersuchungen zum Reproduktionsverhalten von *L. distinguendus* durchgeführt sowie der Einfluss von wirtsassoziierten Schimmelpilzen auf dessen Fitness und chemische Orientierung während der Wirtsfindung untersucht. Weiterhin wurden vergleichende Untersuchungen zur Rolle von männchen- und weibchenbürtigen Pheromonen bei der sexuellen Kommunikation der verwandten Art *Nasonia vitripennis* durchgeführt, welche sich gregär in Puppen cyclorrapher Dipteren entwickelt.

(1) Charakterisierung des Balzpheromons von *L. distinguendus*

Bei *L. distinguendus* konnte in einer vorausgegangenen Studie ein ausschließlich im Nahbereich wirkendes Sexualpheromon nachgewiesen werden, welches das stereotypische Balzverhalten der Männchen auslöst. Die daran beteiligten Verbindungen sollten nun im Rahmen dieser Arbeit chemisch näher charakterisiert werden. Die Untersuchungen zeigten, dass die Produktion des Pheromons bereits vor dem Schlupf der Parasitoide einsetzt. Interessanterweise stellte sich heraus, dass nicht nur weibliche, sondern auch männliche Puppen die verhaltensauslösenden Verbindungen produzieren. Bisher wurde angenommen, dass das Sexualpheromon weibchenspezifisch ist. Während die Pheromonaktivität

bei weiblichen Parasitoiden allerdings nach dem Schlupf konstant hoch blieb, bauten die Männchen die verhaltensauslösenden Verbindungen innerhalb von 32 Stunden ab. In Ganzkörper-Extrakten von männlichen und weiblichen *L. distinguendus* konnten insgesamt 72 Verbindungen, in der Mehrzahl Kohlenwasserstoffe, mittels GC-MS identifiziert werden. Die häufigsten Verbindungen waren methylverzweigte Kohlenwasserstoffe mit einer bis vier Methylgruppen. Weniger stark vertreten waren gesättigte aliphatische Kohlenwasserstoffe sowie einfach ungesättigte Kohlenwasserstoffe. Die Kettenlänge variierte dabei zwischen 25 und 37 Kohlenstoffeinheiten. Die Fraktionierung von aktiven Ganzkörper-Extrakten mittels Adsorptionschromatographie ergab, dass nur die unpolare Hexanfraktion, die ausschließlich die Kohlenwasserstoffe enthielt, Elemente des Balzverhaltens und Arretierung der Männchen auslöste (Kapitel 2).

Die Tatsache, dass bei *L. distinguendus* die Kohlenwasserstoff-Fractionen der Weibchen und der frisch geschlüpften Männchen Pheromonaktivität aufzeigten, nicht aber die der älteren Männchen, wurde zur Charakterisierung von potentiell verhaltensauslösenden Komponenten des Kohlenwasserstoffmusters herangezogen. Hierzu wurden die relativen Peakflächen von Kohlenwasserstoffen aktiver und inaktiver Fractionen mittels *Principal Component Analysis* (PCA) und *Partial Least Squares-Discriminant Analysis* (PLS-DA) analysiert. Es zeigte sich, dass sich bioaktive und inaktive Kohlenwasserstoffmuster klar voneinander unterscheiden lassen, wobei vor allem einige methylverzweigte Verbindungen wie 3-Methylhexacosan, 3-Methylheptacosan, 3-Methylnonacosan, 3,7-Dimethylheptacosan und 3,7-Dimethylnonacosan zur Charakterisierung der bioaktiven Kohlenwasserstoff-Fractionen beitrugen (Kapitel 3).

Weiterführende Untersuchungen zur Wahrnehmung des Sexualpheromons in parasitierten Körnern zeigten, dass Männchen, die nach Sexualpartnerinnen suchten, zwar in der Lage sind, die parasitierten Körner zu erkennen, dass sie aber nicht unterscheiden können, ob sich in den Körnern weibliche oder männliche Artgenossen befinden. Die sich entwickelnden Männchen könnten also von der Verwendung des weiblichen Sexualpheromons profitieren, indem sie bereits geschlüpfte Konkurrenten von der Suche nach tatsächlichen Weibchen abhalten. Es wurde deshalb vorgeschlagen, dass es sich bei diesem Phänomen um einen

bislang unbekanntem Fall von intraspezifischer chemischer Mimikry im Juvenilstadium handelt (Kapitel 2).

(2) Untersuchungen zur Reproduktionsleistung von *L. distinguendus*

Des Weiteren wurden im Hinblick auf das Verständnis der sexuellen Kommunikation parasitischer Hymenopteren wichtige Experimente zum Fortpflanzungsverhalten und zur Reproduktion von *L. distinguendus* durchgeführt. Hier konnte gezeigt werden, dass sich männliche *L. distinguendus* innerhalb von 10 Stunden mit bis zu 17 von 20 aufeinanderfolgend angebotenen Weibchen verpaarten. Mit zunehmender Anzahl der Paarungen nahm allerdings auch die Menge der Spermien ab, die das Männchen während der Kopulation auf das Weibchen übertrug. Dennoch konnte beobachtet werden, dass sich selbst diejenigen Männchen weiter verpaarten, die durch Mehrfachkopulationen nur noch einen geringen bzw. überhaupt keinen Spermiovorrat aufzuweisen hatten. Im Gegensatz dazu kopulierten die *L. distinguendus*-Weibchen nur in Ausnahmefällen ein zweites Mal. Die Tendenz zu einer zweiten Paarung hing dabei nicht von dem Paarungszustand des Männchens ab, mit dem das Weibchen vorher kopuliert hatte, was darauf schließen lässt, dass sie nicht durch ein Spermienfazit im Weibchen ausgelöst wird. Zudem zeigte sich, dass Weibchen, die mit einem mehrfach verpaarten Männchen kopulierten, keineswegs die Pheromonproduktion länger aufrecht erhielten, um sich die Möglichkeit einer erneuten Paarung zu bewahren, als Weibchen, die einen vollen Spermienansatz bekamen. So nahm in beiden Fällen die Pheromonaktivität mit zunehmender Zeit nach der Kopulation ab. Die Ergebnisse dieser Untersuchung wurden in Hinblick auf eine mögliche Paarungsstrategie der Männchen diskutiert, die ihren Spermiovorrat bereits aufgebraucht haben, aber ihre Fitness indirekt dadurch erhöhen, indem sie weiterhin kopulieren und ihren Rivalen auf diese Weise den Zugang zu paarungsbereiten Weibchen versperren (Kapitel 4).

(3) Charakterisierung des Balzpheromons von *N. vitripennis*

Eine vergleichende Untersuchung des Sexualpheromons von *N. vitripennis* ergab eine Reihe von Übereinstimmungen mit *L. distinguendus*, jedoch auch interessante Unterschiede. So konnte weder bei weiblichen noch männlichen *N. vitripennis* Pheromonaktivität während der Puppenontogenese festgestellt werden. Bei

N. vitripennis produzieren die Weibchen die verhaltensauslösenden Verbindungen erst nach dem Schlupf. Filterpapierscheibchen, die mit Extrakten von *N. vitripennis*-Weibchen behandelt wurden, arretierten männliche Parasitoide. Das typische Balzverhalten wurde hingegen erst ausgelöst, wenn die Extrakte auf Dummys (gewaschene Männchenkadaver) aufgetragen wurden. Es scheint demnach, dass bei *N. vitripennis* neben chemischen auch optische und/oder taktile Reize eine Rolle bei der Paarung spielen. Biotests mit verschiedenen Fraktionen eines aktiven Weibchenextraktes zeigten, dass ähnlich wie bei *L. distinguendus* das Balzpheromon in der Hexanfraktion lokalisiert ist. Die chemische Analyse mittels GC-MS ergab, dass sich in der aktiven Hexanfraktion ausschließlich gesättigte, methylverzweigte und einfach ungesättigte Kohlenwasserstoffe mit Kettenlängen von 25 bis 37 Kohlenstoffeinheiten befanden. Fast alle der 67 identifizierten, in der Mehrheit methylverzweigten Kohlenwasserstoffe, waren sowohl in inaktiven Männchenfraktionen als auch in aktiven Weibchenfraktionen zu finden. Allerdings waren in den meisten Fällen die relativen Mengen der einzelnen Kohlenwasserstoffe bei den Geschlechtern sehr unterschiedlich. Die Ergebnisse deuten an, dass die Nutzung kutikulärer Kohlenwasserstoffe als Balzpheromone zumindest innerhalb der Familie der Pteromalidae weiter verbreitet ist, eventuell aber auch in anderen Taxa eine Rolle spielt (Kapitel 5).

(4) Identifizierung eines männlichen Sexualpheromons bei *N. vitripennis*

Während weibliche Sexualpheromone in vielen Untersuchungen bei Parasitoiden nachgewiesen und einige bereits identifiziert wurden, gab es bislang kaum Hinweise auf männchenbürtige Pheromone. Mittels GC-MS wurde in Ganzkörperextrakten von *N. vitripennis*-Männchen ein Diastereomeren-Gemisch aus (4*R*,5*R*)- und (4*R*,5*S*)-5-Hydroxy-4-decanolid (HDL) identifiziert, das bei den Weibchenextrakten fehlte. Die Substanzen wurden vor allem im Abdomen der Männchen nachgewiesen und in scheinbar unregelmäßigen Abständen und Mengen von den Tieren abgegeben. Experimente im statischen Vierfelder-Olfaktometer zeigten, dass die Verbindungen sowohl im natürlichen als auch synthetischen Gemisch auf unverpaarte Weibchen eine attraktive Wirkung hatten, während Männchen nicht auf diese reagierten. Die Reaktion der Weibchen auf das Sexualpheromon war allerdings abhängig von ihrem Paarungszustand. Wenige Minuten nach einer Kopulation mieden die Weibchen das HDL-Gemisch. Eine neutrale Reaktion zeigten verpaarte Weibchen hingegen nach 24 Stunden sowie

nach 6 Tagen, in denen man ihnen zusätzlich die Möglichkeit zur Eiablage gab. Für *N. vitripennis*-Weibchen wird angenommen, dass eine einmalige Verpaarung für eine lebenslange Versorgung mit Spermien ausreicht. Deshalb ist die in Abhängigkeit des Paarungszustandes unterschiedliche Reaktion auf das HDL aus evolutionsbiologischer Sicht insofern erklärbar, als dass es die Chance eines unverpaarten Weibchens auf eine Kopulation erhöht und die Wahrscheinlichkeit eines verpaarten Weibchens reduziert, während der Suche nach geeigneten Eiablageplätzen von männlichen Parasitoiden belästigt zu werden (Kapitel 6).

(5) Charakterisierung von wirtsassoziierten Kairomonen zur Partner- und Wirtsfindung bei *L. distinguendus*

Wenn leichtflüchtige Pheromone, wie bei *L. distinguendus*, nicht vorhanden sind, müssen die Parasitoide auf andere chemische Reize zurückgreifen, um Sexualpartner über größere Entfernungen zu lokalisieren. Eine Möglichkeit für die Männchen könnte sein, die gleichen wirtsassoziierten Duftstoffe zur Partnerfindung zu nutzen wie die Weibchen zur Wirtslokalisierung. Experimente im statischen Vierfelder-Olfaktometer zeigten, dass sowohl Männchen als auch Weibchen von *L. distinguendus* von volatilen Verbindungen im Larvaskot ihres Wirtes *Sitophilus granarius* angezogen werden. Nach Fraktionierung des aktiven Dichlormethan-Extraktes mittels Adsorptionschromatographie an Kieselgel blieb die attraktive Wirkung des Larvaskots nur dann erhalten, wenn die Pentan- und die Methanol-Fraktion im Fraktionsgemisch enthalten war. Das wirtsassoziierte Kairomon enthält demnach sowohl apolare als auch polare Komponenten. Während die polare Fraktion chemisch charakterisiert werden konnte, entzogen sich die apolaren Komponenten aufgrund zu geringer Konzentrationen einer Identifizierung. Es wird davon ausgegangen, dass *L. distinguendus*-Männchen durch die Nutzung der wirtsassoziierten flüchtigen Inhaltsstoffe des Wirtskots im Wirtshabitat der Weibchen arretiert werden und auf diese Weise die Wahrscheinlichkeit erhöhen, auf mögliche Sexualpartnerinnen zu treffen (Kapitel 7).

(6) Untersuchungen zum Einfluss von Schimmelpilzbefall auf die Fitness und die chemische Orientierung von *L. distinguendus*

Verschiedene Aspekte der chemisch vermittelten Wirtsfindung bei *L. distinguendus* wurden bereits in den vergangenen Jahren sehr intensiv untersucht. Die Fitness

der weiblichen Parasitoide hängt allerdings nicht nur von dem effektiven Auffinden der Wirte sowie der Anzahl von abgelegten Eiern ab, sondern auch von dem Überleben und der optimalen Entwicklung ihrer Nachkommen. Deshalb ist die richtige Einschätzung der Qualität des Wirtshabitats bzw. der Wirte durch die Weibchen von entscheidender Rolle zur Maximierung ihres Reproduktionserfolges. Intensives Auftreten von Schimmelpilzen im Wirtshabitat von *L. distinguendus* kann zu extremen Änderungen der dort vorherrschenden Umweltbedingungen führen (Hot spots). Deshalb wurde in einer weiteren Studie der Einfluss starken Schimmelbefalls auf die Fitness und chemische Orientierung von *L. distinguendus* untersucht. Experimente im Olfaktometer zeigten, dass die Geruchsstoffe der vorratsschädigenden Schimmelpilzarten *Aspergillus versicolor* und *A. sydowii* von den weiblichen Parasitoiden gemieden werden. Da bekannt war, dass der Larvankot des Kornkäfers *S. granarius* von den Parasitoiden zur Wirtsfindung genutzt wird, wurde auch die Attraktivität des Kots aus verpilzten Wirtszuchten untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass er eine weiterhin attraktive (*A. versicolor*) oder neutrale (*A. sydowii*) Wirkung aufwies, jedoch die weiblichen Parasitoide den Larvankot aus nicht verpilzten Wirtszuchten gegenüber jenem aus verpilzten Zuchten bevorzugten, wenn ihnen beide gleichzeitig angeboten wurden. Die bei zahlreichen Pilzarten vorkommende Verbindung 1-Octen-3-ol wurde in den verpilzten Wirtszuchten als Hauptkomponente des Geruchstoffsbouquets nachgewiesen und im Olfaktometer von weiblichen *L. distinguendus* selbst in geringeren Konzentrationen gemieden. Experimente zum Reproduktionserfolg von *L. distinguendus*-Weibchen auf wirtsbefallenen Körnern aus verpilzten Zuchten ergaben eine im Vergleich zu den unverpilzten Wirtszuchten deutlich niedrigere Nachkommenszahl. Die Tatsache, dass die Reaktion auf die Pilzduftstoffe angeboren ist, deutet darauf hin, dass wirtsassoziierten Pilzen eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung von Wirtsfindungsstrategien bei *L. distinguendus* zukam (Kapitel 8).

In einer abschließenden Diskussion wurden die wesentlichen Ergebnisse und Schlussfolgerungen dieser Dissertation in einen breiteren chemisch-ökologischen Kontext gestellt. Zudem wurde ein komplexes und faszinierendes Netzwerk aus Infochemikalien dargestellt, das *L. distinguendus* bei der Suche nach geeigneten Partnern und Wirten nutzt, indem die Ergebnisse dieser sowie vorangegangener Studien zusammenfassend aufgearbeitet wurden (Kapitel 9).

Die Identifizierung von Naturstoffen, die von parasitischen Hymenopteren für sexuelle Zwecke genutzt werden, stellt einen nahezu unbearbeiteten Bereich der Chemischen Ökologie dar. Deshalb geben die Ergebnisse dieser Dissertation einen neuen Einblick in die sexuelle Kommunikation dieser ökologisch wie ökonomisch wichtigen Insekten. Die für die hier untersuchten Arten entwickelten Methoden und Herangehensweisen könnten dabei Modellcharakter für weiterführende Studien zur chemischen Charakterisierung von Infochemikalien bei parasitischen Hymenopteren haben.

