

8. Tarnstrategie des parasitoiden Käfers *Metoecus paradoxus* in der *V. vulgaris*-Wirtskolonie

8.1 Einleitung

Kolonien sozialer Insekten sind trotz ihres koloniespezifischen Nestgeruchs und dem Vermögen zur Unterscheidung zwischen Nestgenossinnen und koloniefremden Individuen (vgl. Kapitel 7) nicht immun gegen eine Unterwanderung durch Parasiten. Häufig sind in Isoptera- und Hymenoptera-Kolonien einzelne Organismen anzutreffen, die unter Umgehung des Erkennungssystems in das jeweilige Nest eingedrungen sind für Raubzüge (z. B. Raub der Wirtsameisenbrut durch Sklavenhalterameisen, HÖLLDOBLER und WILSON 1990) oder einen längeren (permanenten) Aufenthalt. Bei permanenten Parasiten kann es sich um nah verwandte Arten handeln, die sich als Sozialparasiten im Wirtsnest auf Kosten der Wirtsarbeiterkaste ernähren lassen und sich fortpflanzen, oder um Vertreter aus nicht näher verwandten Taxa, die eingetragene Larvennahrung oder als Parasitoide Individuen der Wirtsart selbst als Nahrung nutzen (EDWARDS 1980 b, HÖLLDOBLER und WILSON 1990, SCHMID-HEMPEL 1998).

Bei *Metoecus paradoxus* (Coleoptera: Rhipiphoridae) handelt es sich um einen flugunfähigen, parasitoiden Käfer, der überwiegend in den Nestern von *V. vulgaris* zu finden ist und dort den größten Teil seines Lebenszyklus verbringt (HEITMANS und PEETERS 1996).

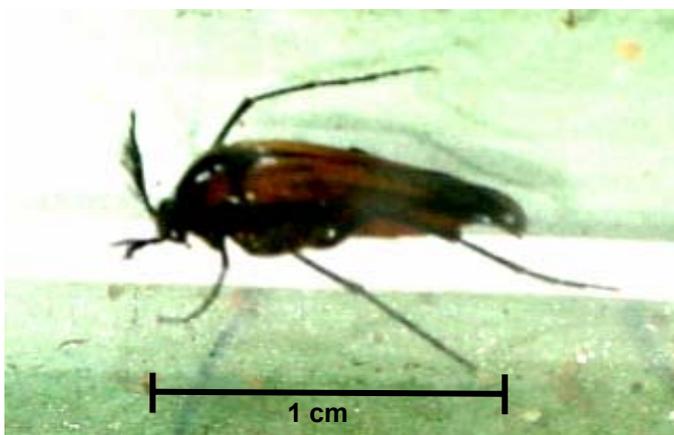


Abb. 22:
M. paradoxus (Weibchen), etwa einen Tag nach dem Schlupf aus einer *V. vulgaris*-Brutzelle.

Die Eier werden in morsches Holz außerhalb des Nestes gelegt. Die geschlüpften ersten Larvenstadien (~0,6 mm groß) lassen sich im Frühsommer durch Holz sammelnde Wespenarbeiterinnen ins Nest eintragen (Phoresie) und begeben sich dort in die Brutzellen zu kurz vor der Verpuppung stehenden Wespenlarven. Nach der Verdeckelung der Zellen durch die Wespenlarve entwickeln sich die *M. paradoxus*-Larven innerhalb von 24 Tagen zur Imago und nutzen dabei die Wespenlarven als Nahrungsressource. Der etwa 1 cm große adulte Käfer schlüpft im Zeitraum August - Oktober aus der Zelle und verläßt im Anschluß das Nest zur Paarung und Eiablage (EDWARDS 1980b, HEITMANS und PEETERS 1996). Während der Entwicklung zur Imago besteht nur geringe Gefahr für den Käfer, von den Wirten als Nestfremdling erkannt und angegriffen zu werden, weil er sowohl zum Zeitpunkt des Eintragens in das Nest aufgrund der geringen Größe, als auch später mit zunehmender Größe durch seinen Aufenthalt in einer verdeckelten Brutzelle vor der Wahrnehmung durch die Wespen gut geschützt ist. Im Gegensatz dazu gibt es auf seinem Weg aus dem Nest zahlreiche Möglichkeiten einer Konfrontation mit Wespenarbeiterinnen innerhalb des Nestes selbst oder in den verzweigten Ausführgängen. Dennoch ist seine Überlebensrate wesentlich höher als die einiger anderer Antagonisten innerhalb von sozialen Kolonien, und es gelingt der großen Mehrheit der Käfer, das Nest unbeschadet zu verlassen (HEITMANS und PEETERS 1996, HOWARD et al. 1990). Es stellt sich die Frage, welche Strategie *M. paradoxus* dabei anwendet.

Für einige Parasiten sozialer Insekten ist eine hohe Übereinstimmung zwischen dem eigenen cuticulären Kohlenwasserstoffprofil und dem ihres Wirtsnestes beschrieben worden - auf diese Weise sind sie als Nestfremde chemisch getarnt (HOWARD et al. 1980, 1982, 1990, VANDER MEER und WOJCIK 1982, VANDER MEER et al. 1988, FRANKS et al. 1990, LENOIR et al. 1997, TURILLAZZI et al. 2000). Diskutiert werden dabei die beiden Möglichkeiten einer aktiven Synthese der Wirts-Kohlenwasserstoffe durch den Parasiten (z. B. HOWARD et al. 1980, 1990) oder eines passiven Mechanismus durch Anlagerung der Geruchstoffe aus dem Nestsubstrat oder direkt von den Wirtsarbeiterinnen (z. B. VANDER MEER und WOJCIK 1982, VANDER MEER et al. 1989, AKRE und TORGERSON 1968). Je nachdem, ob der Parasit den Mitgliedern der Wirtskolonie gegenüber eine Signalfälschung betreibt und sich dadurch als Kolonimitglied behandeln läßt oder er lediglich Umgebungsmerkmale imitiert und dadurch der Wahrnehmung durch die Wirte entgeht, ist in diesem Zusammenhang

von chemischer Mimikry bzw. chemischer Mimese die Rede (VANE-WRIGHT 1976). Im folgenden wurde untersucht, ob sich adulte *M. paradoxus*-Käfer im Nest von *V. vulgaris* ebenfalls durch chemische Tarnung vor der Perzeption durch die Wespen und deren potentiellen Angriffen schützen.

8.2 Material und Methoden

Vier *V. vulgaris*-Kolonien (B, C, G und H, vgl. Tabelle 1 in Abschnitt 2.1) wurden in ihren Nistkästen täglich durch eine Glaswand hindurch nach geschlüpften adulten *Metoecus paradoxus*-Käfern abgesucht. In Biotests mit *V. vulgaris*-Arbeiterinnen und kolonieeigenen bzw. koloniefremden Käfern sowie mittels gekoppelter gaschromatographischer Analyse mit Massenspektrometrie (GC/MS) sollten Hinweise darüber gewonnen werden, ob die Cuticula von *M. paradoxus* den koloniespezifischen Geruch des *V. vulgaris*-Wirtsnestes aufweist.

8.2.1 Biotests

Insgesamt 44 lebende *M. paradoxus*-Käfer wurden mit einer Pinzette aus den jeweiligen Nistkästen der *V. vulgaris*-Kolonien entfernt, an den Beinen an einem Bindfaden befestigt und in den Biotests eingesetzt. Dafür wurde jeder Käfer in eine Versuchsarena (20 x 17 x 5 cm³) gehängt, die in die Laufröhren (Ø: 2,4 cm) der Nester integriert war (vgl. Abb. 19 in Abschnitt 7.2.1). Jeder Käfer wurde auf diese Weise den *V. vulgaris*-Arbeiterinnen des eigenen Nestes, in dem er parasitiert hatte, und den Arbeiterinnen eines fremden Nestes präsentiert. Für drei Minuten wurde die Reaktion sämtlicher Arbeiterinnen protokolliert, die in direkten Antennenkontakt mit dem Käfer kamen und folgenden zwei Verhaltenskategorien zugeordnet:

- 1.) *neutrales Verhalten*: die Arbeiterinnen des Test-Volkes laufen nach dem Kontakt mit dem Käfer ohne jegliche weitere Reaktion sofort weiter
- 2.) *aggressives Verhalten*: ein Berühren mit den Antennen für länger als eine Sekunde, versuchtes Beißen, Zerren oder Hinausschleppen des Käfers.

In den Fällen, in denen die Test-Arbeiterinnen agonistisches Verhalten zeigten, wurde der Käfer mittels des Bindfadens aus der Versuchsarena entfernt, und es wurde so lange mit der Fortsetzung des Versuchsdurchganges gewartet, bis sich die aggressive Arbeiterin aus der Versuchsarena entfernt hatte. Die Arbeiterinnen, die beim Passieren der Versuchsarena nicht in Antennenkontakt mit dem Käfer traten,

wurden nicht in die Datenaufnahme einbezogen. Um Gewöhnungseffekte bei den Arbeiterinnen zu vermeiden, folgten die einzelnen Versuchsdurchgänge mit einem zeitlichen Abstand von mindestens 10 Minuten aufeinander.

8.2.2 GC/MS-Analyse

Für die GC/MS-Analyse des cuticulären Kohlenwasserstoffprofils von *M. paradoxus* wurden 6 Käfer (3 aus *V. vulgaris*-Nest H, 3 aus Nest C) verwendet, die vorher nicht in Biotests eingesetzt worden waren. Dieser geringe Stichprobenumfang ergab sich aus der geringen Parasitierungsrate der verwendeten *V. vulgaris*-Kolonien, die noch unter der gewöhnlich beobachteten Rate von etwa 25 Individuen pro Nest (HEITMANS und PEETERS 1996) lag. Die Käfer wurden aus den Nistanlagen entfernt und für 60 s in 1 ml DCM extrahiert. Es wurden 300 µl abgenommen, unter reinem Stickstoff bis zum Nullvolumen eingeeengt und mit 60 µl DCM inklusive internem Standard (C19, 50 ng/µl) aufgefüllt. 1 µl dieses aufbereiteten Cuticularextraktes wurde für eine GC/MS-Analyse verwendet, deren Durchführung unter denselben Bedingungen wie die analytische Auftrennung des Cuticularextraktes von *V. vulgaris* erfolgte (vgl. Abschnitt 6.2).

8.3 Ergebnisse

8.3.1 Biotests

Die *V. vulgaris*-Arbeiterinnen zeigten mit durchschnittlich 38% signifikant häufiger eine aggressive Reaktion nach einem Kontakt mit einem nestfremden Käfer als gegenüber einem Käfer aus dem eigenen Nest (25%) (Abb. 23). Die übrigen Arbeiterinnen nahmen nur einen kurzen Antennenkontakt zu dem Käfer auf bzw. ignorierten ihn in den meisten Fällen völlig. Der Unterschied in der Behandlung eines nesteigenen und eines nestfremden *M. paradoxus* war in allen vier getesteten *V. vulgaris*-Kolonien zu beobachten. Des weiteren unterschieden sich die Reaktionen einem nestfremden und einem nesteigenen Käfer gegenüber qualitativ voneinander: Die nestfremden Käfer wurden länger und intensiver angegriffen, und ein Versuch der Arbeiterinnen, den Käfer aus der Versuchsarena fortzuschleppen, wurde nur bei der Präsentation eines fremden Käfers beobachtet.

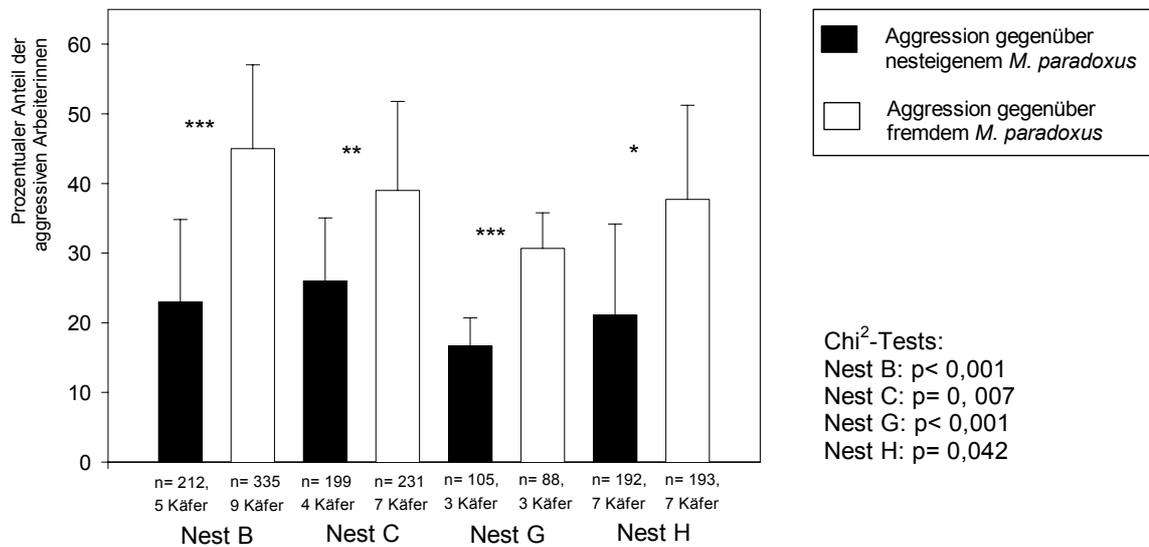


Abb. 23:
Mittlerer prozentualer Anteil der aggressiv reagierenden *V. vulgaris*-Arbeiterinnen gegenüber kolonieeigenen und koloniefremden *M. paradoxus*-Exemplaren.

8.3.2 GC/MS - Analyse

Abb. 24 und Tabelle 4 geben das cuticuläre Kohlenwasserstoffprofil von *M. paradoxus* wieder, die Zahlen in der Tabelle entsprechen der Numerierung im Chromatogramm (beispielhaft dargestellt für einen *M. paradoxus*-Käfer aus *V. vulgaris*-Kolonie B). Es konnten 36 Verbindungen der Kettenlänge C21 bis C31 sowie Cholesterol identifiziert werden. Die cuticuläre Gesamtkohlenwasserstoffmenge pro Käfer betrug etwa 11 µg. Davon stellten die gesättigten Verbindungen mit 45% die größte Fraktion dar (*V. vulgaris*: 29%), 26% waren methylverzweigte Kohlenwasserstoffe (*V. vulgaris*: 64%), und 20% einfach ungesättigte aliphatische Kohlenwasserstoffe (*V. vulgaris*: 3%). Der 5%ige Anteil an Cholesterol im Cuticularextrakt stammt sehr wahrscheinlich aus den Zellmembranen der Käfer.

Die Kohlenwasserstoffprofile der *M. paradoxus*-Käfer aus den *V. vulgaris*-Nestern H und C unterschiedenen sich nicht voneinander.

29 der 37 identifizierten Verbindungen bzw. 9 der 10 Hauptkomponenten sind ebenfalls in der Cuticula von *V. vulgaris* vorhanden (Tabelle 4).

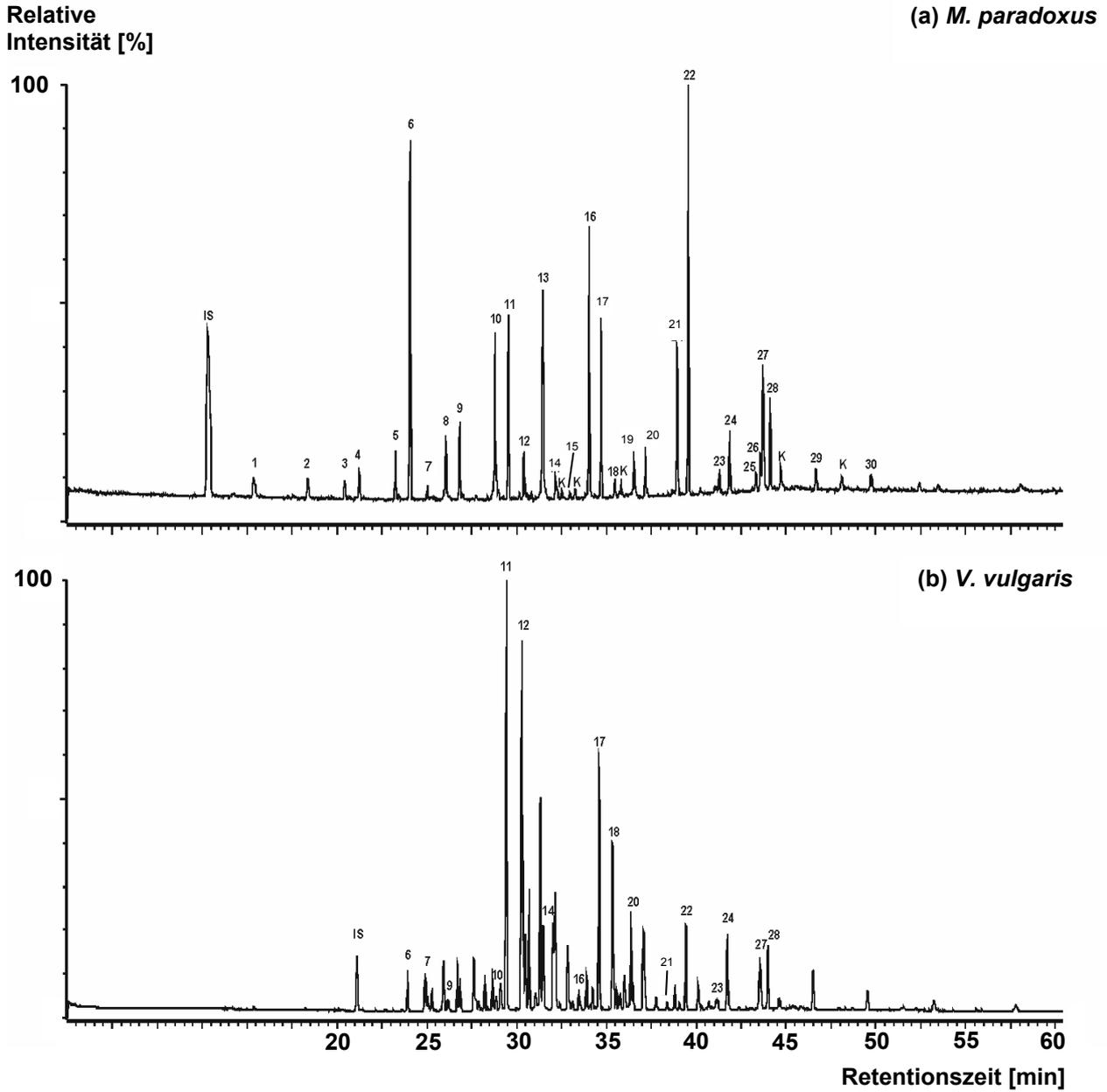


Abb. 24: Totalionenstromchromatogramm des Cuticularextraktes von *M. paradoxus* (a) und einer *V. vulgaris*-Arbeiterin aus dem Wirtsnest (b); die Numerierung der Peaks entspricht derjenigen der Tabelle 4; K= Konterminante

Tabelle 4:

Mittlere relative Zusammensetzung [%] \pm Standardabweichung des Cuticularextraktes von *M. paradoxus* (n= 6); die Hauptkomponenten bei *M. paradoxus* sind fett hervorgehoben; zum Vergleich sind die jeweiligen relativen Mengen derselben Verbindung der Cuticula von *V. vulgaris* angegeben.

Peak Nr.	Verbindung	Mittlerer relativer Anteil [%] bei <i>M. paradoxus</i>	Mittlerer relativer Anteil [%] bei <i>V. vulgaris</i>
1	Eicosen	1,06 \pm 0,33	---
2	Heneicosan	1,00 \pm 0,05	---
3	Heneicosen	0,82 \pm 0,20	---
4	Docosan	1,23 \pm 0,24	---
5	Tricosen	2,00 \pm 0,37	---
6	Tricosan	11,70 \pm 1,00	1,72 \pm 0,81
7	9- und 11- Methyltricosan	0,56 \pm 0,05	1,47 \pm 1,99
8	Tetracosen	3,08 \pm 0,59	---
9	5,11- und 5,9-Dimethyltricosan	2,25 \pm 0,56	0,41 \pm 0,74
10	4,12-, 4,10- und 4,8-Dimethyltetracosan	8,66 \pm 2,36	0,79 \pm 1,47
11	Pentacosan	5,81 \pm 0,91	12,64 \pm 7,43
12	9-, 11- und 13-Methylpentacosan	1,75 \pm 0,12	12,18 \pm 11,37
13	Hexacosen	8,62 \pm 0,95	---
14	5,9-, 5,11- und 5,13-Dimethylpentacosan	0,45 \pm 0,32	1,38 \pm 3,16
15	?	0,56 \pm 0,28	?
16	3,5-Dimethylpentacosan	11,52 \pm 5,27	0,19 \pm 0,17
17	Heptacosan	5,06 \pm 1,19	6,31 \pm 4,41
18	9-, 11- und 13-Methylheptacosan	0,75 \pm 0,11	6,13 \pm 4,75
19	1-Heptacosen	1,58 \pm 0,35	---
20	5,9- und 5,13-Dimethylheptacosan	1,63 \pm 0,45	0,96 \pm 0,84
21	9-Nonacosen	5,27 \pm 0,32	0,81 \pm 0,77
22	Nonacosan	12,10 \pm 2,60	1,77 \pm 2,02
23	5,9- und 5,13-Dimethylnonacosan	0,81 \pm 0,40	0,39 \pm 0,39

24	3,13- Dimethylnonacosan	1,80 ± 0,91	1,94 ± 2,11
25	?	0,84 ± 0,10	?
26	?	1,18 ± 0,60	?
(27	Cholesterol	3,87 ± 3,14	3,26 ± 3,00)
28	Hentriacontan	2,52 ± 0,65	1,10 ± 1,98
29	?	0,73 ± 0,44	?
30	?	0,79 ± 0,31	?

8.4 Diskussion

Bei einer erzwungenen Konfrontation in den Biotests wurde ein koloniefremder *M. paradoxus*-Käfer ebenso stark attackiert wie eine koloniefremde *V. vulgaris*-Arbeiterin (vgl. Abschnitt 7.3), gegenüber einem kolonieeigenen Käfer war die Aggressionsrate der *V. vulgaris*-Arbeiterinnen hingegen signifikant geringer. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, daß die einzelnen *M. paradoxus*-Käfer Geruchskomponenten des jeweiligen Wirtsnestes angenommen haben und dadurch für die Arbeiterinnen der Wirtskolonie nicht wie ein koloniefremder Eindringling gerochen haben könnten (chemische Mimikry des Parasiten). Wie in Kapitel 7 beschrieben, enthält der Nestgeruch von *V. vulgaris* Komponenten, die über die Luft abgegeben und aufgenommen werden können. *M. paradoxus* befindet sich während seiner Entwicklung zur Imago im Luftraum des Wirtsnestes und hat sogar direkten Kontakt zu einer Wespenlarve und zum Nestmaterial. Damit sind die Voraussetzungen für eine Anlagerung von Wirtsnestgeruchsstoffen aus der direkten Umgebung auf die Cuticula des Käfers gegeben.

Die Ergebnisse der GC-Analysen zeigen jedoch, daß sich im Cuticularextrakt von *M. paradoxus* zwar einige (29 von 95) der cuticulären Verbindungen der *V. vulgaris*-Arbeiterinnen aus dem Wirtsnest (darunter 9 der 10 Hauptkomponenten) finden lassen, das Gesamtprofil und die Mengenverhältnisse der Kohlenwasserstoffe aber von dem der Wespen deutlich abweichen. Die Übereinstimmung der cuticulären Kohlenwasserstoffe zwischen *M. paradoxus* und seinem Wirt ist wesentlich geringer, als sie für andere Parasiten sozialer Insekten beschrieben wurde (z. B. VANDER MEER und WOJCIK 1982 für den myrmekophilen Scarabeiden *Myrmecaphodius extravaticollis*, HOWARD et al. 1980 für den in Termitennestern parasitierenden Staphyliniden *Trichopsenius frosti*). *M. paradoxus* scheint demnach zur eigenen

chemischen Tarnung das artspezifische, insbesondere das koloniespezifische Geruchsprofil seiner *V. vulgaris*-Wirtsnester nur unvollständig zu imitieren. Es ist jedoch häufig postuliert worden, daß im Kontext der Erkennung von Nestgenossinnen von den Wespen kleinste quantitative Unterschiede im cuticulären Kohlenwasserstoffprofil wahrgenommen werden und ein anderes Individuum nur bei völliger Übereinstimmung seines Kohlenwasserstoffprofils mit dem der Kolonie als Nestgenosse akzeptiert wird (BUTTS et al. 1991, 1993, 1995, SIEBEN 1999). Angesichts dessen ist es überraschend, daß ein koloniefremder Käfer zwar stärker als eine Nestgenossin, jedoch deutlich weniger als ein koloniefremder Käfer bzw. eine fremde *V. vulgaris*-Arbeiterin attackiert wurde (vgl. Abschnitt 7.3).

Es ist allerdings auch von anderen parasitischen Käfern, einer Mottenart sowie sozialparasitischen Wespen bekannt, daß sie nicht den koloniespezifischen, sondern nur den artspezifischen Geruch ihrer Wirtskolonien imitieren oder ihre Cuticula sogar, wie bei *M. paradoxus*, neben einigen wirtsspezifischen Kohlenwasserstoffen auch mehrere eigene Verbindungen enthält (VANDER MEER und WOJCIK 1982, TURILLAZZI et al. 2000, HOWARD et al. 1980, 1982, MORITZ et al. 1991). Eine Erklärung dafür, daß sie sich dennoch erfolgreich in ein Wirtsnest integrieren, könnte darin liegen, daß auch wenige Komponenten eines komplexen chemischen Gefüges als Schlüsselstimuli einen bestimmten Sinneseindruck beim Empfänger bewirken können (HÖLLDOBLER und CARLIN 1987, DETTNER und LIEPERT 1994). Demnach könnte die partielle Wirtsähnlichkeit des parasitischen Geruchsprofils durch das Vorhandensein einiger Substanzen in für die Wirtskolonie spezifischer Menge ausreichen, daß der Parasit von den Wespen als Kolonienmitglied wahrgenommen und akzeptiert wird. Endgültige Aussagen darüber, ob das cuticuläre Kohlenwasserstoffprofil von *M. paradoxus* Verbindungen in für die Wirtskolonie spezifischer Menge enthält (wie auch die Biotestdaten implizieren), können allerdings wegen des begrenzten Datenmaterials (vgl. Abschnitt 8.2.2) nicht getroffen werden. Es bedarf eines Vergleichs der cuticulären Kohlenwasserstoffe weiterer Käfer und ihrer jeweiligen Wirtsarbeiterinnen, um diese Frage zu klären.

In den Biotests waren die Konfrontationen zwischen Arbeiterinnen und dem Käfer erzwungen. Unter natürlichen Bedingungen hingegen kommt es wesentlich seltener zu direkten Kontakten, weil der Käfer durch sein Verhalten von den Wirten nicht bzw. als nur unbelebter Teil des Nests substrats wahrgenommen zu werden scheint. Ein Indiz hierfür ist die Tatsache, daß viele Arbeiterinnen ihn ignorierten und keinen

Antennenkontakt zu ihm aufnehmen, selbst wenn sie sich nur wenige Millimeter von ihm entfernt befanden (eigene Beobachtung bei unmanipulierten Nestern außerhalb der Biotests). Unter den Nestgenossinnen ist ein gegenseitiges Abtasten mit den Fühlern hingegen häufig zu beobachten. Zu den Verhaltensweisen, mit denen *M. paradoxus* eine direkte Interaktion mit den *V. vulgaris*-Arbeiterinnen weitgehend vermeidet, gehört das regungslose, mimetische Verharren in Nischen des Nestbereiches und das Verlassen des Nestes auf kürzestem Weg, wobei er sich positiv phototaktisch orientiert (eigene Beobachtung, HEITMANS und PEETERS 1996). Eine Kombination aus chemischer Tarnung und speziellen Verhaltensweisen zur eigenen Integration in ein Wirtsnest ist ebenfalls von anderen parasitischen Organismen bekannt (VANDER MEER und WOJCIK 1982, DETTNER und LIEPERT 1994). In den Fällen, in denen es trotz chemischer Mimikry und mimetischer Verhaltensweisen zu einer gegen den Käfer gerichteten Aggression der Wespen kommt, ist der Parasit durch weitere Merkmale geschützt. So bietet sein glatter, dicker Chitinpanzer kaum eine Angriffsmöglichkeit für Mundwerkzeuge und Beine der Wespen (eigene Beobachtung).

Die Reaktion der *V. vulgaris*-Arbeiterinnen in den Biotests läßt des weiteren auf die Produktion eines Wehrsekretes schließen. Ein Kontakt zu der Cuticula des Käfers dauerte meist nicht länger als zwei Sekunden, danach wichen die meisten Arbeiterinnen zurück und zeigten Putzverhalten. Ein Grund dafür, daß sich ein potentiell Wehrsekret in den GC/MS-Analysen von *M. paradoxus* nicht nachweisen ließ, könnte darin liegen, daß sein Wehrsekret wie z. B. auch bei Blattkäfern oder Staphyliniden (DEROE und PASTEELS 1982, DETTNER und LIEPERT 1994) nur bei direkter Reizung durch einen Feind abgegeben wird. Hier müssen sich weiterführende chemische Analysen der Cuticularextrakte von *M. paradoxus* anschließen, die sofort nach einer Attacke durch Wespenarbeiterinnen gewonnen wurden.

