

## Die Rolle des Pappelgeruchs für Schmetterlinge am Waldrand

Marta Paczkowska<sup>1</sup>, Kai Földner<sup>1</sup>, Sonja Weissteiner<sup>1</sup>, R.S. Beniwal<sup>2</sup>, Andrea Polle,<sup>2</sup> Stefan Schütz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Forest Zoology and Forest Conservation,  
Georg-August-University of Göttingen

<sup>2</sup>Institute for Forest Botany, Georg-August-University of Göttingen

**Abstract:** The role of the poplar's volatiles for the butterflies of the forest margin

Forest margins are environments very rich in species. The softwood communities found there are unique habitats for many butterflies. The studies conducted in the vicinity of Göttingen resulted in 83 Makrolepidoptera taxa found on willow (*Salix caprea*) and 65 on poplar (*Populus tremula*). Since different plants emit different volatiles, many insects are able to follow the odour plumes and find their hosts by perceiving various odours. The emission of volatiles can be influenced by different external factors, like surplus of salts, drought, mycorrhiza. A gas-chromatograph with mass-spectrometric and parallel electroantennographic detector (GC-MS/EAD) was employed to measure in what way the volatile pattern changed and which of the associated chemical substances could be detected by the insect antennae. The volatile pattern is very important for butterflies to find their habitat.

**Key words:** *Smerinthus ocellata*, *Laothoe populi*, (Z)-3-hexen-1-yl acetate, salt stress, drought stress, mycorrhiza, *Paxillus involutus*

M. Paczkowska, Institute for Forest Zoology and Forest Conservation, Georg-August-University of Göttingen, Büsungenweg 3, 37077 Göttingen, E-Mail: mpaczko@gwdg.de

Pappeln wie die Zitterpappel (*Populus tremula*) bilden am Waldrand wichtige Habitate für Nachtfalter. Der Pappelschwärmer (*Laothoe populi*) und das Abendpfauenauge (*Smerinthus ocellata*) legen ihre Eier auf den Blättern ab. Als Nachtfalter sind sie auf andere Signale als die optischen angewiesen, um den optimalen Ovipositionsplatz zu finden. Je nach Vitalität des Baumes und seiner Exposition sind die Entwicklungsbedingungen der Raupe verschieden. Diese Studie soll aufzeigen, welche Duftstoffe durch Änderungen der Vitalität des Baumes beeinflusst und welche durch die Nachtfalter wahrgenommen werden können.

### Material und Methoden

Repräsentativen Blattproben von Zitterpappeln (20g) an Waldrandstandorten nahe Göttingen wurden in Glaskolben gesammelt. Pappelschösslinge im Gewächshaus (*Populus tremula* x *Populus alba* = *Populus x canescens*) wurden als Spross (Höhe ca. 0,5 m) gemessen. Die Sammlung der Duftstoffe von Freiland- sowie von Gewächshaus-Pappeln erfolgte bei 22°C und 50% Luftfeuchte mittels CLSA (Closed-Loop-Stripping-Analysis). Die axenischen Pappeln im Gewächshaus wurden zur Hälfte mit dem Mykorrhizapilz *Paxillus involutus* inokuliert und in einem zweifaktoriellen Blockdesign jeweils unter Salzstress (8 Pflanzen pro Variante) oder Trockenstress (4 Pflanzen pro Variante) gesetzt. Salzstress wurde erzeugt, indem die Pflanzen zweimal täglich mit 60 ml 100 mM NaCl gegossen wurden. Diese Behandlung dauerte 2 Wochen. Danach wurde die Konzentration auf 150 mM und die Häufigkeit auf dreimal am Tag erhöht. Nach einer Woche dieser Behandlung wurden die Duftproben genommen und die Pflanzen geerntet. Die Pflanzen für das Trockenstressexperiment wurden 11 Tage vor der Duftprobennahme nicht bewässert. Die Duftprobennahmen dauerten je 2 Stunden. Die Duftstoffe wurden mittels des in SCHÜTZ et al. (1997) dargestellten Verfahrens gewonnen und mittels eines Gaschromatographen mit paralleler Detektion durch einen elektroantennographischen Detektor und durch ein Massenspektrometer (GC-EAD/MS) (WEIBBECKER et al. 2004) analysiert. Die elektrophysiologische Reaktion der Falterantenne auf die vom Gaschromatographen eluierten Duftstoffe wurden so mittels eines elektroantennographischen Detektors (EAD) gemessen und die

Empfindlichkeit der Insektenantenne für die mit Hilfe des Massenspektrometers identifizierten Substanzen ermittelt. Für diese Messungen wurden Antennen von jeweils 4 Weibchen des Abendpfauenauges und des Pappelschwärmers eingesetzt.

**Ergebnisse**

Die Experimente mit *Populus x canescens* zeigen einen starken Einfluss des Stresszustandes der Pflanze auf Quantität und Zusammensetzung der freigesetzten Duftstoffe (Abb. 1 a-d; Abb. 3).

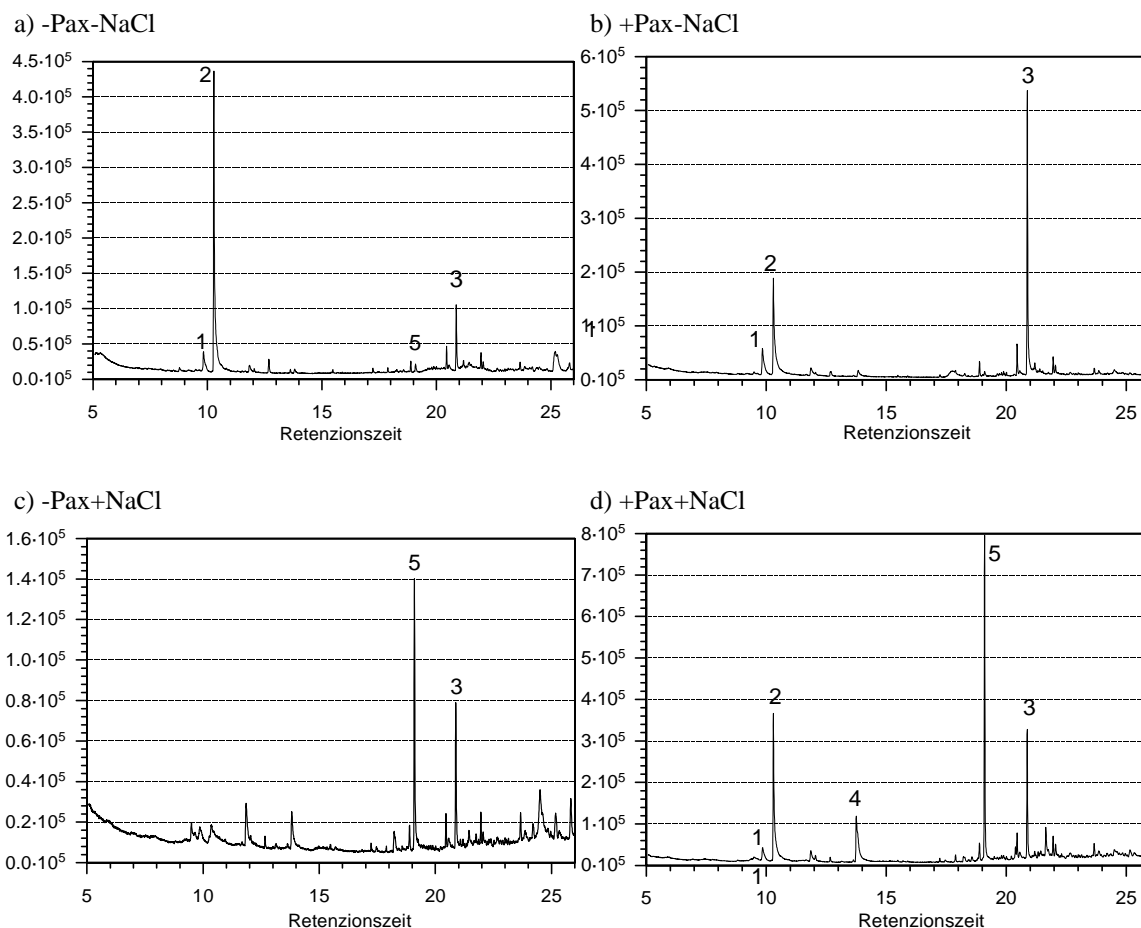


Abb. 1: Ionenchromatogramme exemplarischer CLSA-Proben von *Populus x canescens* bei verschiedenen Behandlungsvarianten: a) mit Mykorrhiza, ohne Salzstress; b) ohne Mykorrhiza, ohne Salzstress; c) mit Mykorrhiza, mit Salzstress; d) ohne Mykorrhiza mit Salzstress. 1: (Z)-3-Hexen-1-yl acetat; 2: 2-Ethyl-Hexan-1-ol; 3: Dodecansäure-1-methylethyl ester; 4: Methylsalicylat; 5:  $\alpha$ -Farnesen.

In Abb. 2 a, b sind die wichtigsten Stoffe, die in Abhängigkeit von der Inokulation mit dem Mykorrhizapilz *Paxillus involutus* und in Abhängigkeit von Salz- und Trockenstress vom Pappelspross freigesetzt wurden, gegenübergestellt. Einige Stoffe konnte man in jeder Behandlungsvariante feststellen; sie wurden deshalb in der Abbildung 2 nicht dargestellt. Es handelte sich vor allem um langkettige Kohlenwasserstoffe wie Pentadecan, Hexadecan, Heptadecan, Nonadecan. Diese Stoffe entstehen beim ständigen Aufbau der Kutikula

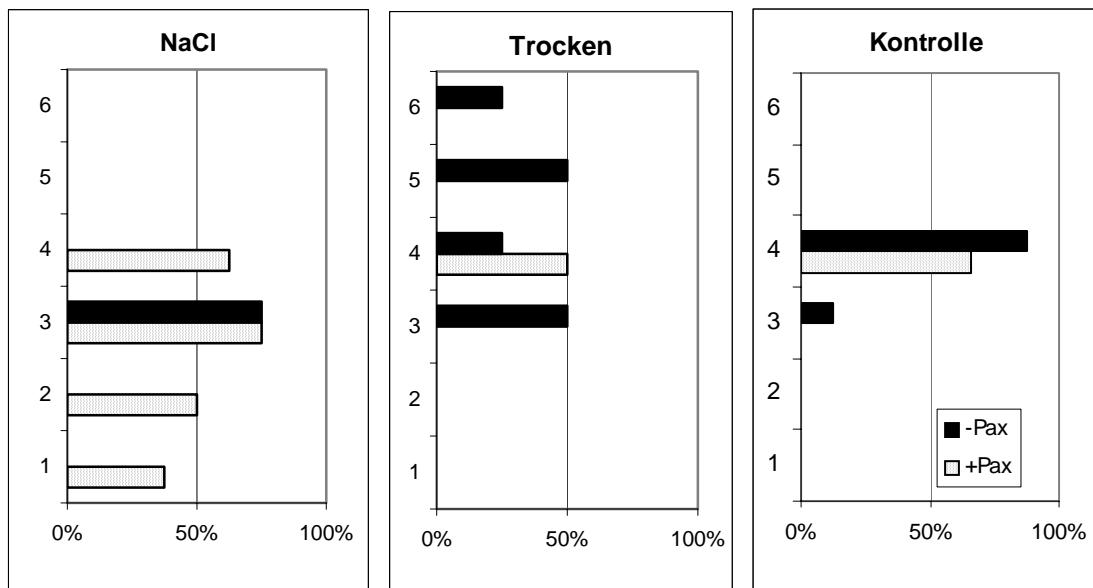


Abb. 2: Vorkommen von ausgewählten Duftstoffen im Salzstressversuch und im Trockenstressversuch im Vergleich zu den nichtgestressten Kontrollpflanzen. Die untere Prozentskala zeigt wie oft der Stoff in den einzelnen Proben vorkam (> 1% Gesamtpeakfläche, ohne Berücksichtigung der Menge).  
 1: 8,9-Dehydro-cycloisolongifolen, 2: Methyl Salicylat, 3:  $\alpha$ -Farnesen, 4: (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat, 5: 2-Hexenal, 6: Hexanal.

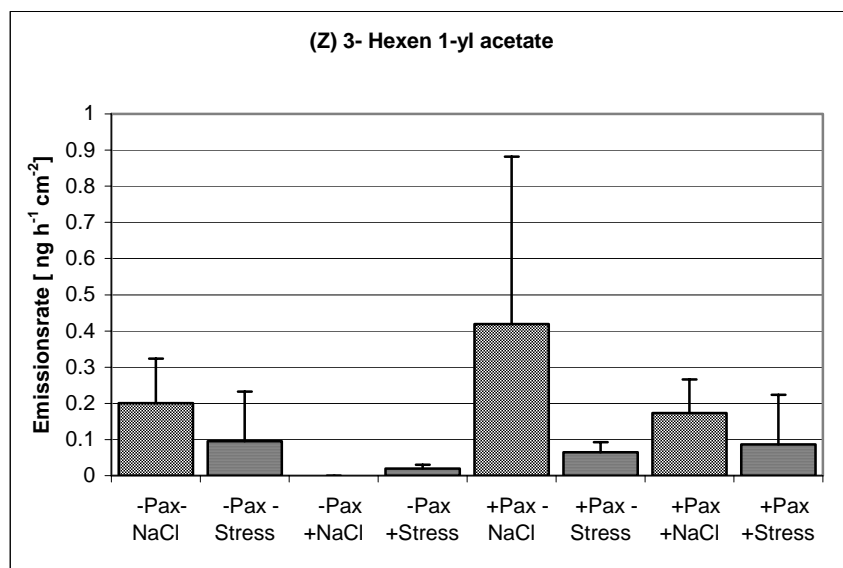


Abb. 3: Einfluss der Parameter Mykorrhizierung durch *P. involutus* (Pax), Salzexposition (NaCl) und Trockenstress (Stress) auf die Emissionsraten von (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat durch den Pappelspross (*Populus x canescens*) bezogen auf die Blattfläche.

In den Varianten -Pax+NaCl und +Pax+NaCl sowie in der Variante -Pax+Stress war  $\alpha$ -Farnesen als häufige Emission zu beobachten, die in anderen Varianten nicht auftrat. In der Variante +Pax+NaCl traten Methyl Salicylat und 8,9-Dehydro-Cycloisolongifolen als spezifische Emissionen auf. Hexanal und 2-Hexenal traten nur unter Trockenstress-Bedingungen ohne Mykorrhiza auf; dazu komplementär tritt das (Z)-

3-Hexen-1-yl-acetat auf (Abb. 3). Im Fall von Hexanal-Emission emittieren die gestressten Pflanzen nur wenig (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat. Die Pappeln der Kontrollvariante (-Pax-NaCl; -Pax-Stress) setzen relativ große Mengen von (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat frei. Eine ähnlich große Menge wird bei den mykorrhizierten Pflanzen freigesetzt, wenn sie unter Stress geraten. Die höchsten Werte sind bei den mykorrhizierten Pflanzen ohne Salzstress zu beobachten.

Die Antennen der beiden Nachtfalter reagieren, wie die meisten phytophagen Insekten, auch noch auf geringe Konzentrationen des allgemeinen Grünblattduftes (Z)-3-Hexen-1-ol. Deshalb wird dieser Stoff als Bezugspunkt zur Normierung quantitativer Reaktionen von Insektenantennen eingesetzt (VISSER 1979). Die Antennen des Abendpfauenauges und des Pappelschwärmers reagierten mit hohen Signalintensitäten bei geringen Duftstoffkonzentrationen von (Z)-3-Hexen-1-ol und (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat. Andere in den Duftproben vorhandene Stoffe lösten entweder keine oder geringere Antennenreaktionen aus. Die Reaktionen auf (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat waren bei dem Abendpfauenaugen um durchschnittlich 60% stärker als die Reaktionen auf (Z)-3-Hexen-1-ol mit Berücksichtigung der Menge des Stoffes, der diese Reaktion ausgelöst hat. Dagegen waren bei dem Pappelschwärmer die Reaktionen auf (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat im Schnitt um 20% geringer als auf (Z)-3-Hexen-1-ol. Die Unterschiede der Intensität der Antennenreaktion auf (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat zwischen den beiden Falterarten sind statistisch signifikant (t-Test:  $P = 0,073$ ).

### Diskussion

In der Variante -Pax+NaCl sowie in der Variante -Pax+Stress war  $\alpha$ -Farnesen als dominierende Emission zu beobachten, die in anderen Varianten nicht auftrat. Diese Substanz ist in vielen Pflanzen durch Insektenbefall induzierbar (PARE & TURLINSON 1997) und ist hier mit der Wasserunterversorgung der Pappelpflanze korreliert.

In der Variante +Pax+NaCl traten Methyl Salicylat und 8,9-Dehydro-Cycloisolongifolen als spezifische Emissionen auf. Methyl Salicylat wurde bei anderen Pflanzen mit der Abwehr von Pathogenen in Verbindung gebracht (HARBORNE 1995, SHULAEV et al. 1997). Möglicherweise sind die hier beobachteten Emissionen mit einer Verschiebung im Verhältnis von Mykorrhizapilz und Pappelpflanze unter den Bedingungen des Salzstress verbunden, die eine erhöhte pflanzliche Abwehr gegen den Mykorrhizapilz notwendig macht.

Die Pappeln der Kontrollvariante (-Pax-NaCl; -Pax-Stress) setzen relativ große Mengen von (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat frei. Eine ähnlich große Menge wird auch noch bei den mykorrhizierten Pflanzen freigesetzt, wenn sie unter Stress geraten. Nicht mykorrhizierte Pflanzen setzen jedoch bei Salz (-Pax, +NaCl) oder Trockenstress (-Pax, +Stress) deutlich weniger (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat frei. Dies kann darauf hinweisen, dass die Mykorrhiza den Stress oder die Stressreaktionen mindert. Die höchsten Werte sind bei den mykorrhizierten Pflanzen ohne Salzstress zu sehen. Das könnte ein Zeichen dafür sein, dass sie die besten physiologischen Bedingungen (Wasserversorgung etc.) haben.

(Z)-3-Hexen-1-yl-acetat wird von den oligophagen Nachtfaltern an Pappel *Smerinthus ocellata* und *Laothoe populi*, mittels ihrer Antennen olfaktorisch detektiert. Man beobachtet starke Antennenantworten sowohl bei (Z)-3-Hexen-1-ol als auch bei (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat. Die beiden Substanzen gehören zu den sog. "green leaf odour" Volatilen; demnach können die Nachtfalter die Anwesenheit von grüner Blattmasse wahrnehmen. Diese Fähigkeit ist notwendig, um dort Eier abzulegen. Offensichtlich sind sie auch in der Lage, den physiologischen Zustand (Wasserstress o.ä.) der Pflanze zu erkennen, indem sie (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat wahrnehmen. Weiterhin wurde festgestellt, dass die beiden Arten nicht gleich empfindlich auf (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat reagieren. Wenn man die Intensität der Antennenantworten auf das Acetat mittels der Intensität der Antworten auf (Z)-3-Hexen-1-ol normiert, reagiert das Abendpfauenaugen stärker auf das Acetat als der Pappelschwärmer. Das Abendpfauenaugen ist wärmebedürftiger als der Pappelschwärmer. *S. ocellata* bevorzugt Bäume mit sonniger Exposition (die öfter unter Wasserstress leiden), während das Abendpfauenaugen eher schattige bis halbschattige Expositionen für seine Eiablage wählt (FÜLDNER & DAMM 2002). So könnte die höhere Empfindlichkeit des Abendpfauenauges gegenüber (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat auf eine Anpassung an Pappelpflanzen zurückzuführen sein, die aufgrund ihrer exponierteren Standorte geringere Mengen dieses Stoffes freisetzen.

Die großen Antennen der Schwärmerarten, mit ihren zahlreichen Chemorezeptoren scheinen eine differenzierte Erfassung des physiologischen Zustands einer potentiellen Wirtspflanze zu erlauben. STEINBRECHT

et al. (1995) haben die Antennen der Nachtfalter *Antheraea polyphenus*, *A. pernyi*, *Bombyx mori* auf das Vorkommen von duftstoffbindenden Proteinen untersucht. Dabei stellten sie Unterschiede zwischen den Geschlechtern fest. Die Unterschiede haben sich vor allem in den langen *Sensilla trichodea* gezeigt. Bei den männlichen Tieren waren sie immer mit pheromonbindenden Proteinen (PBP) versehen, während sie bei den Weibchen von *Antheraea*-Arten fehlten oder, wie bei *Bombyx mori*, mit allgemein duftstoffbindenden Proteinen (GOBP) versehen waren. Dies weist darauf hin, dass die Weibchen die Pflanzenduftstoffe besser wahrnehmen können als die Männchen. Das ermöglicht ihnen eine effektive und erfolgreiche Suche und Auswahl des optimalen Eiablageplatzes. Dagegen sind die Männchen auf Grund der zahlreichen pheromonbindenden Proteine mehr auf die Partnersuche spezialisiert. Die Tatsache, dass für einige *Smerinthus*-Arten Acetate und Aldehyde, z.B.: (Z,E) Hexadecadien(10,12)al und (Z,E) Hexadecadien(10,12)yl-acetat, als Pheromone bekannt sind (REED 1987), somit Aldehyde und Acetate starke Antennenreaktionen auslösen, dagegen analoge Alkohole keine so große Reaktion verursachten, könnte einen weiteren, physiologischen Grund für die besonders empfindliche Detektion von (Z)-3-Hexen-1-yl-acetat darstellen.

### Literatur

- FÜLDNER, K. & DAMM, M. (2002): Die Macrolepidopterenfauna der Zitterpappel (*Populus tremula* L.) in Waldrandgesellschaften in Südniedersachsen. – Nachr. Ent. Ver. Apollo N.F. 23: 89-96.
- HARBORNE, J.B. (1995): Ökologische Biochemie. – 383 S., Spectrum Akad. Verlag.
- PARE, P.W. & TUMLINSON, J.H. (1997): Induced synthesis of plant volatiles. – Nature 385: 30-31.
- REED, D.W., UNDERHILL, E.W. & GIBLIN, E.M. (1987): Attraction of Sphingid moths (Lepidoptera: Sphingidae) to 10,12-Hexadecadienyl aldehydes and acetates. Evidence of pheromone components. – Journal of Chemical Ecology 13 (4): 931-942.
- SCHÜTZ, S., WEIßBECKER, B., KLEIN, A. & HUMMEL, H.E. (1997): Host plant selection of the Colorado Potato Beetle as influenced by damage induced volatiles of the potato plant. – Naturwissenschaften 84: 212-217.
- SHULAEV, V., SILVERMAN, P. & RASKIN, I. (1997): Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. – Nature 385: 718-720.
- STEINBRECHT, R.A., LAUE, M. & ZIEGELBERGER, G. (1995): Immunolocalisation of pheromone-binding protein and general odorant binding protein in olfactory sensilla of the silk moth *Antheraea* and *Bombyx*. – Cell & Tissue Res. 282: 203-217.
- VISSER, J.H. (1979): Electroantennogram responses of the Colorado beetle *Leptinotarsa decemlineata* to plant volatiles. – Entomologia Experimentalis et Applicata 25: 86-97.
- WEIßBECKER, B., HOLIGHAUS, G. & SCHÜTZ, S. (2004): Gaschromatography with mass spectrometric and electroantennographic detection for the analysis of wood odorants by direct coupling of insect olfaction and mass spectrometry. – Journal of Chromatography A, 1056: 209-216.

