

## 7 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit vielfältigen Aspekten der chemischen Kommunikation von Insekten. Gegenstand der Arbeit ist in erster Linie die Strukturaufklärung von biologisch aktiven Inhaltsstoffen aus Insekten und Blütenpflanzen. Es wurden 18 Arten aus der Ordnung Hymenoptera (Hautflügler) und 15 Blütenpflanzen aus verschiedenen Familien untersucht. Eine Reihe von Substanzen wurde synthetisiert und in Freilandexperimenten in Hinblick auf ihre verhaltensmodifizierenden Eigenschaften untersucht.

Zunächst wird eine Einführung in die Grundlagen der chemischen Ökologie und ihre ökonomische Relevanz gegeben. Anhand einiger Beispiele wird die Biologie und das Verhalten der untersuchten Gattungen dargestellt.

Als erster Schwerpunkt im Hauptteil der vorliegenden Arbeit werden die Interaktionen zwischen Blütenpflanzen und ihren Bestäubern und insbesondere das Phänomen der Sexualmimikry behandelt. Die Sexualtäuschung ist bei Orchideen als Strategie bekannt, um ohne Nahrungsangebot Bestäuber anzulocken. Zu diesem Zwecke imitieren die Pflanzen mit ihren Blütenlippen, welche den Bestäuberweibchen morphologisch ähneln, das weibliche Sexualpheromon der Bestäuberart. Auf diese Weise werden lediglich Männchen zur Bestäubung angelockt. Im Verlauf dieser Arbeit konnte erstmals die chemische Grundlage für das Phänomen der Sexualmimikry aufgeklärt werden. In dem zuerst untersuchten System (*Ophrys sphegodes*) konnte eine Mischung aus gesättigten und ungesättigten Kohlenwasserstoffen als Auslöser für die Verhaltensänderung identifiziert werden. Neben zwei anderen Ophrysarten wurden auch die biologisch aktiven Substanzen der am längsten bekannte Spezies dieser Gattung (*Ophrys speculum*) untersucht. Bei letzterer Art handelt es sich mit 7-Hydroxyoctansäure, 9-Oxodecansäure und 9-Hydroxydecansäure um drei oxygenierte Carbonsäuren, welche erstmals im Pflanzenreich gefunden wurden. Interessanterweise handelt es sich dabei um Substanzen, die im Stoffwechsel der Honigbiene eine Rolle als Zwischenprodukte bei der Biosynthese des Königinnenpheromons (9-Oxo-(E)-2-decensäure) spielen.

In Sexualtäuschorchideen des australischen Kontinents (Gattung *Chiloglottis*) konnte lediglich eine einzige Substanz als biologisch aktiv identifiziert werden. Im Bestäubungssystem von *C. trapeziformis* konnte das dabei erstmals identifizierte 2-Ethyl-5-propyl-1,3-cyclohexandion im Freilandexperiment als hochaktive verhaltensmodifizierende Verbindung bestätigt werden. Dieser bislang nicht beschriebene Naturstoff wurde hinsichtlich seiner massenspektrometrischen Fragmentierung eingehend untersucht. Hierfür wurde neben der synthetischen Verbindung auch ein deuteriertes Analogon dargestellt und mit hochauflösender Massenspektrometrie untersucht, um Hinweise auf Bildungsweise und Struktur der beobachteten Ionen zu erhalten.

Bei der Untersuchung weiterer Blütenpflanzen und deren gemeinsamen Bestäuberinsekt (*Autographa gamma*) konnten von 168 identifizierten Substanzen insgesamt 35 als physiologisch aktiv erkannt werden. Auch hier konnte in verhaltensbiologischen Experimenten eine deutliche verhaltensmodifizierende Wirkung einiger der untersuchten Substanzen festgestellt werden.

Ein weiteres übergeordnetes Thema dieser Arbeit ist die Untersuchung von Brutparasitierenden Hymenopteren und deren Wirten.

Am Beispiel der Kuckucksbiene *Nomada marshamella* wurde die Rolle von Duftstoffen bei der Auffindung von Wirtsnestern untersucht. In elektrophysiologischen und massenspektrometrischen Untersuchungen wurde eine Reihe von Kohlenwasserstoffen identifiziert, deren verhaltensmodifizierende Wirkung im Bioassay bestätigt werden konnte.

Anhand von drei Beispielen wurde die Chemie von Wehrsubstanzen untersucht, die Brutparasiten zu ihrem Schutz vor Angriffen der Wirte einsetzen. Erstaunlicherweise konnten dabei in den phylogenetisch weit entfernten Amazonenameisen (*Polyergus rufescens*) und den Schmarotzerhummeln (*Psithyrus vestalis* sowie *P. norvegicus*) recht ähnliche Substanzen als Repellentien identifiziert werden. Als Hauptkomponente der Ameisenart wurde das auf die Wirtsarbeiterinnen stark abschreckende Decylbutanoat identifiziert, während in den Schmarotzerhummeln Dodecylacetat diese Funktion einnimmt. Die Übereinstimmung dieser Substanzen in Hinblick auf Struktur, Flüchtigkeit und funktionelle Gruppen wirft die Frage auf, ob es sich bei solchen leichtflüchtigen Carbonsäureestern um generell wirksame Repellentien handeln könnte.

Im Themenkomplex der Dominanzstrukturen in staatenbildenden Insekten wurden fünf Arten untersucht. Vier dieser Spezies (*Bombus occidentalis*, *B. impatiens*, *Lasioglossum marginatum* und *Evylaeus albipes*) wurden im Rahmen dieser Arbeit erstmals chemisch untersucht. Verhaltensbiologische Studien wurden an diesen Arten bislang noch nicht ausgeführt. Mit der Untersuchung der Honigbiene (*Apis mellifera*) konnten neue Erkenntnisse über die Dominanzstellung der Königin in dieser Art gewonnen werden. Die in der Literatur vermutete Funktion der Dufourdrüse bei der Eimarkierung konnte widerlegt werden. Stattdessen zeigten Verhaltenexperimente mit Arbeiterinnen deutlich, daß die in der Dufourdrüse enthaltenen Substanzen offensichtlich einen Teil des Dominanzsignals der Königin darstellen, da sie das typische Pflegeverhalten in Arbeiterinnen auslösen.

Den letzten untersuchten Bereich bildet die chemische Kommunikation in der Paarungsbiologie von Hymenopteren.

Hier wurden drei Spezies untersucht. Bei der Mauerbiene *Osmia rufa* konnte im Verlauf dieser Arbeit erstmalig eine Substanz bei Hymenopteren identifiziert werden, die Männchen von Paarungsversuchen mit virginen Weibchen abhält. Der als Antiaphrodisiakum identifizierte (Z)-7-Hexadecensäureethylester unterscheidet sich naturgemäß nur wenig vom ebenfalls in dieser Art gefundenen (Z)-9-Hexadecensäureethylester. Letzterer hat jedoch als Bestandteil des Sexualpheromons die gegensätzliche Wirkung. Mit *Osmia cornuta* wurde eine eng verwandte Spezies untersucht, um artspezifische Unterschiede in der Zusammensetzung des Sexualpheromons zu erkennen. Tatsächlich wurden einige Gemeinsamkeiten bei diesen beiden Arten gefunden. Allerdings produzieren *O. rufa* Weibchen ein komplexeres Gemisch von elektrophysiologisch aktiven Substanzen. In der Erdhummel *Bombus terrestris* wurden neben anderen Verbindungen 15 elektrophysiologisch aktive Substanzen identifiziert. Den größten Teil machen dabei Methyl- und Ethylester einfacher Fettsäuren aus. Diese biologisch aktiven Stoffe könnten der Schlüssel zum Verständnis der chemischen Kommunikation in der Reproduktionsbiologie dieser weitverbreiteten Art sein.

## 8 Summary

In this thesis various aspects of chemical communication of insects are presented. Primarily, chemical structures of biologically active constituents of both insects and plants were elucidated. Overall, 18 species of the order *Hymenoptera* and 15 plants of different families were analysed. Several compounds were synthesised and field-tested in regard to their ability to mediate insect behaviour.

An overview of the basics of chemical ecology and its economical relevance is given in the introduction. Specific examples show the biology and behaviour of some of the studied genera.

The first part of this thesis deals with the interaction of plants and their pollinators, in particular, pollination by sexual deceit. This phenomenon is known only from orchids and serves to attract pollinators without providing nourishment. This is achieved by the production of female sexual pheromones by the *labellum* that also resembles morphologically the females of the pollinator species, thereby attracting only males. For the first time, the chemical basis for sexual mimicry could be shown: In *Ophrys sphegodes*, the first system investigated, a mixture of unsaturated and saturated hydrocarbons proved to be sufficient to elicit copulatory behaviour in the male pollinators of the species *Andrena nigroaenea*. Furthermore, the biologically active constituents of three other members of the genus *Ophrys* were identified, including the so far most thoroughly studied species *Ophrys speculum*. In this species three oxygenated fatty acids, namely 7-hydroxy octanoic acid, 9-oxo decanoic acid and 9-hydroxy decanoic acid were identified for the first time in plants. These compounds play a major role in attracting and mediating sexual behaviour in the males of its pollinator *Campsocolia ciliata*. Interestingly, these compounds are also found as intermediates during the biosynthesis of the queen pheromone in honeybees.

In sexually deceptive orchids of the genus *Chiloglottis* found in Australia, only a single constituent proved biologically active. In the pollination system of *C. trapeziformis* 2-ethyl-5-propyl-1,3-cyclohexadione showed a strong behaviour mediating activity in the males of the pollinator species *Neozeleboria cryptoides*. So far, this compound has not been found in biological systems and was therefore analysed in detail. To study the structures of the generated fragments in mass spectrometric experiments, both a synthetic compound as well as a partly deuterated analogue were synthesised.

Analyses of further plants and their common pollinator (*Autographa gamma*) revealed 168 constituents of which 35 proved to be active both electrophysiologically as well as in bioassays.

A further major topic of this work deals with social parasites within the order *Hymenoptera* and their host species. *Nomada marshamella* and its host *Andrena*

*scotica* were studied to exemplify the role pheromones play for cuckoo bees in nest searching. Several Hydrocarbons were first identified by electrophysiological experiments and mass spectrometric studies. Their behaviour mediating activity was subsequently confirmed in bioassays.

On three examples the chemistry of defensive secretions that are used by social parasites as repellents for their hosts was analysed. Surprisingly, the dulotic ant species *Polyergus rufescens* and cuckoo bumble bees (*Psithyrus vestalis* as well as *P. norvegicus*), though phylogenetically only remotely related, produce chemically fairly similar repellents. The main constituent that acts strongly on the host's workers in the studied ants proved to be decylbutanoate, while dodecylacetate has this function in the investigated cuckoo bumble bees. This striking resemblance poses the question whether volatile esters can generally act as repellents in *Hymenoptera*.

In the third part of this thesis, the chemical basis for the dominance structure of five species of social insects was studied. Four of these species (*Bombus occidentalis*, *B. impatiens*, *Lasioglossum marginatum* and *Evylaeus albipes*) were for the first time ever chemically analysed. Studies of biological behaviour mediated by the identified compounds have to the present not been performed. The chemical analysis of the constituents of the honeybee queen (*Apis mellifera*) provided novel insights in the queen's dominant role in this species. The role of the Dufour's gland in egg marking as suggested in the literature could be revoked. Rather, the Dufour's gland produces substances that are part of the queen's dominance signals, as they provoke the worker's typical retinue behaviour.

Finally, the chemical communication involved in the mating-biology of three different species of *Hymenoptera* was analysed.

For the first time in *Hymenoptera* a substance could be identified that prevents males from mating with their females. (*Z*)-7-hexadecenoic acid ethyl ester identified in *Osmia rufa* males acts as an antiaphrodisiac, in complete contrast to the highly similar (*Z*)-9-hexadecenoic acid ethyl ester found as a constituent of the female sex pheromone. In order to compare species related differences in sex pheromone compositions the closely related species (*Osmia cornuta*) was studied. While similar, *O. rufa* proved to produce a more complex blend of electrophysiologically active compounds.

In the bumble-bee *Bombus terrestris* fifteen electrophysiological active substances could be identified. The main fraction of these consisted of common methyl- and ethyl fatty acid esters. These biologically active compounds may provide the key to understanding the chemical communication of the reproductive biology of this common species.