

Gewaskeuze beïnvloedt insectendiversiteit

Erik H. Poelman

E-mail: Erik.Poelman@wur.nl

Op 1 oktober 2008 promoveerde Erik Poelman aan Wageningen Universiteit op het proefschrift getiteld 'Linking variation in plant defence to biodiversity at higher trophic levels: a multidisciplinary approach'. Promotoren waren Prof. Dr. Ir. Marcel Dicke van de leerstoelgroep Entomologie en Prof. Dr. Ir. Louise E.M. Vet van het Nederlands Instituut voor Ecologisch Onderzoek (NIOO). Co-promotoren waren Dr. Ir. Joop van Loon van de leerstoelgroep Entomologie aan Wageningen Universiteit en Dr. Ir. Nicole M. van Dam van het NIOO. Het onderzoek werd uitgevoerd bij de leerstoelgroep Entomologie Wageningen Universiteit en gefinancierd door de onderzoeksschool Experimentele Plant Wetenschappen (EPS).

Inleiding

Binnen ecologisch onderzoek staat de studie van het ontstaan en de dynamiek van biodiversiteit in een levensgemeenschap centraal. Planten en de daarvan afhankelijke insecten vormen een belangrijk deel van de biodiversiteit op aarde. Planten worden aangevallen door een grote diversiteit aan organismen die een selectiedruk uitoefenen op de plant om zich tegen deze belagers te verdedigen. Planten verdedigen zichzelf door het aanmaken van chemische stoffen of uiterlijke kenmerken zoals haren en stekels waardoor planteneters de plant minder aanvreten (directe verdediging). Bovendien komen er bij vraatschade geurstoffen vrij die sluipwespen en andere natuurlijke vijanden van de planteneters aantrekken. De sluipwespen vallen op hun beurt de planteneters aan waardoor de plant via de hulp van sluipwespen van zijn belagers af komt (indirecte verdediging). Binnen een plantensoort is er genetische variatie in eigenschappen die bijdragen aan de verdediging tegen insecten. Bovendien reageren de verschillende soorten insecten binnen een levensgemeenschap verschillend op de deze variabele eigenschappen van planten. Dit betekent dat genetische variatie in planten leidt tot variatie in de samenstelling van de leefgemeenschap van organismen die aan planten gerelateerd zijn.



Figuur 1. Rupsen van het grote koolwitje (*Pieris brassicae*) op witte kool.

Doel

Het doel van dit onderzoeksproject was om te bepalen wat het effect is van variatie in de directe, en indirecte verdediging binnen een plantensoort op de insectengemeenschap. Daarbij werd gebruik gemaakt van gecultiveerde witte kool (*Brassica oleracea*) en de insecten die daarop voorkomen. Het genoom van *B. oleracea* komt voor 85% overeen met het genoom van de zandraket, *Arabidopsis thaliana*, hetgeen het gebruik van de voor *A. thaliana* ontwikkelde 70-mer oligonucleotide micro-arrays mogelijk maakt in onderzoek aan *B. oleracea*. Bovendien heeft de veredeling van *B. oleracea* geresulteerd in een diversiteit aan cultivars die binnen de cultivar geselecteerd zijn op homogeniteit in tegenstelling tot de grote genetische variatie binnen natuurlijke populaties van *B. oleracea*. Daardoor kunnen cultivars gebruikt worden als genotypen in studies naar het effect van planteneigenschappen op de diversiteit van insecten. Effecten van planteneigenschappen op herbivoren en sluipwespen werden in het veld en in het laboratorium bestudeerd. Daarbij werd een multidisciplinaire benadering gevolgd door gebruik te maken van (1) moleculair-genetische en chemische analyses van de effecten die insecten uitoefenen op plantenverdediging en (2) een ecologische analyse van de effecten van planteigenschappen op de insectendiver-

PROMOTIES

siteit. Hierdoor kon worden bestudeerd hoe mechanismen van plantenverdediging de dynamiek van een ecologische levensgemeenschap beïnvloeden.

In het begin van het project werd aangetoond dat acht witte koolcultivars verschillen in resistentie tegen rupsen van drie herbivore insecten, te weten de specialisten *Pieris rapae* (kleine koolwitje) en *Plutella xylostella* (koolmotje) en de generalist *Mamestra brassicae* (kooluil). De hypothese dat glucosinolaten, de secundaire plantenstoffen kenmerkend voor Brassicaceae, bepalend zijn voor de resistentie van de planten werd getoetst. Generalistische rupsen worden over het algemeen negatief beïnvloed door hoge concentraties van deze waardplant-specifieke verdedigingsstoffen. Er werd echter geen correlatie gevonden tussen de concentratie van glucosinolaten in de bladeren en de groeisnelheid van de rupsen. Ook reageerden rupsen van de generalist *M. brassicae* en van de specialist *P. xylostella* op vergelijkbare manier op de variatie in plantkwaliteit. Hieruit werd geconcludeerd dat niet de concentraties van glucosinolaten in de bladeren maar andere verschillen tussen cultivars de verschillen in resistentie van cultivars tegen planteneters veroorzaken. De groeisnelheid van de rupsen werd als criterium gebruikt om twee resistente cultivars en twee vatbare cultivars te selecteren voor verdere studie naar het effect van resistentie op de levensgemeenschap van insecten.

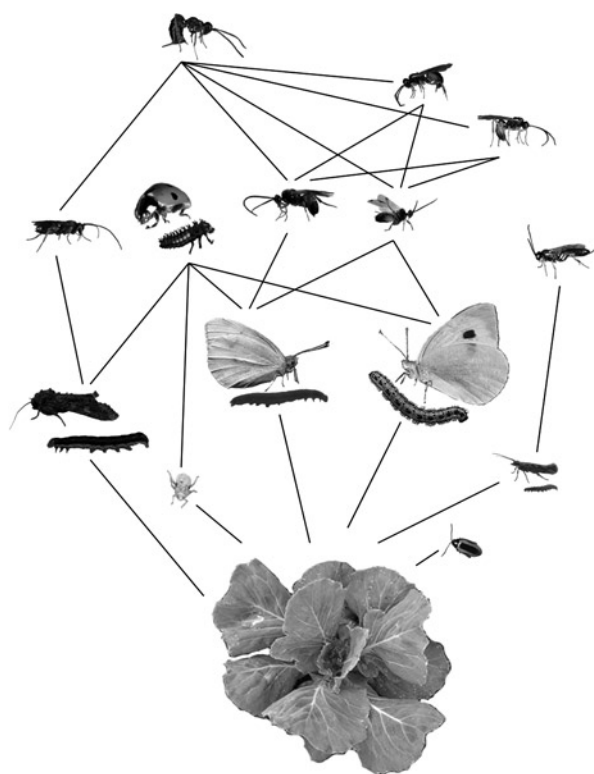
Effecten van directe plantenverdediging op diversiteit van herbivoren

Twee resistente en twee vatbare *B. oleracea*-cultivars werden blootgesteld aan natuurlijke kolonisatie door insecten in een proefveld nabij Wageningen. Op de resistente cultivars werden gedurende het seizoen minder herbivoren gevonden, die behoorden tot een kleiner aantal soorten, dan op de twee vatbare cultivars. De kwalitatieve samenstelling van glucosinolaten en niet de totale concentratie van glucosinolaten in de cultivars correleerde met parameters die insecten-diversiteit kwantificeren. Op planten met een hoge concentratie van glucosinolaten met een korte alifatische keten, zoals glucoiberine, kwamen lage aantallen herbivoren voor. Wanneer in de bladeren juist glucosinolaten met langere alifatische ketens domineerden, die biosynthetisch voortkomen uit stoffen met een korte keten, werden op de planten hogere aantallen insecten waargenomen. Hoewel bekend is dat glucosinolaten een verschillend effect hebben op specialistische en generalistische herbivoren,

gedroegen alle herbivoren zich vergelijkbaar in reactie op de variatie in kwalitatieve samenstelling van glucosinolaten in de cultivars. Bovendien legden zowel de specialist *P. rapae* als de generalist *M. brassicae* hun eieren bij voorkeur op planten met lage concentraties glucoiberine in laboratoriumexperimenten. De resultaten van de laboratoriumexperimenten stemmen overeen met de waarnemingen aan de populatiegrootte van plantenetende insecten op de cultivars in het veld. Dit toont aan dat kwalitatieve verschillen in glucosinolaten de samenstelling van de insectengemeenschap op koolplanten beïnvloedt.

Effecten van indirecte verdediging op de levensgemeenschap van sluipwespen

Bovendien bleek variatie in geïnduceerde indirecte verdediging van planten de soortensamenstelling van sluipwespen op een plant te beïnvloeden. De vier cultivars die verschillen in resistentie tegen herbivoren bleken ook te verschillen in de vluchtige stoffen die de planten produceerden na vraatschade van *P. rapae*. In windtunneltoetsen in het laboratorium werd gevonden dat de twee sluipwespen die op *P. rapae* parasiteren, *Cotesia glomerata* en *C. rubecula*, een voorkeur hadden voor de geuren van cultivars die hogere concentraties methyl-salicylaat produceerden. In het veld werden rupsen op deze aantrekkelijke cultivars vaker geparasiteerd door de sluipwespen dan rupsen op cultivars die minder aantrekkelijk waren voor sluipwespen. Bovendien werden de cocons van de twee sluipwespen op aantrekkelijke cultivars vaker geparasiteerd door hyperparasitoïden (sluipwespen die parasiteren op andere sluipwespensoorten) dan cocons op minder aantrekkelijke cultivars. Dit effect zou deels verklaard kunnen worden door de hogere aantallen cocons die aanwezig zijn op aantrekkelijke cultivars, maar ook het gebruik van dezelfde vluchtige stoffen door hyperparasitoïden zou een verklarende factor kunnen zijn. De voorkeur in windtunneltoetsen van twee hyperparasitoïden, *Lysibia nana* en *Pteromalus semotus*, voor dezelfde cultivars als de primaire *Cotesia*-sluipwespen bevestigde deze laatste hypothese. Dit experiment laat zien dat vluchtige stoffen die vrijkomen na vraatschade van plantenetende insecten een direct effect hebben op de aanwezigheid van hyperparasitoïden. Planteneigenschappen betrokken bij indirecte verdediging hebben dus een direct effect op de samenstelling van de levensgemeenschap van sluipwespen, deels onafhankelijk van effecten van planteigenschappen op de levensgemeenschap van plantenetende insecten.



Figuur 2. De insectengemeenschap op witte kool: plantbelagers, hun vijanden en hyperparasitoiden.

Effecten van herbivorie op de diversiteit aan herbivoren

Vraatschade van *P. rapae* leidde niet alleen tot de inductie van vluchtige stoffen die sluipwespen aantrok, maar beïnvloedde ook op verschillende manieren de plantenetende insectengemeenschap. De inductie van plantenverdediging door *P. rapae*-rupsen beïnvloedde de reactie van planten op vraatschade van een tweede herbivoor. *P. rapae*-vraat induceerde de expressie van genen die coderen voor de aanmaak van trypsine-remmers en van een enzym dat betrokken is bij de synthese van glucosinolaten. Wanneer de specialisten *P. xylostella* of *P. rapae* daarna op de geïnduceerde planten werden geïntroduceerd, reageerde de plant met een sterkere expressie van deze genen dan wanneer de twee rupsen als eerste vraatschade aan de plant toebrachten. Echter, wanneer de generalist *M. brassicae* als tweede herbivoor vraatschade veroorzaakte, dan was de expressie van deze genen minder sterk dan wanneer *M. brassicae* een onbeschadigde plant aanvat. De respons van een plant op een eerste belager beïnvloedde dus de respons van de plant op een tweede belager en die respons was afhankelijk van de identiteit van de tweede belager.

Rupsen van de drie soorten (*P. rapae*, *P. xylostella* en *M. brassicae*) groeiden langzamer op planten die door *P. rapae* waren beschadigd in vergelijking met onbeschadigde planten. Echter, de drie herbivoren verschilden in hun eileg-voorkeur voor beschadigde en onbeschadigde planten.

P. rapae-vlinders maakten geen onderscheid tussen onbeschadigde planten en planten beschadigd door rupsen van dezelfde soort. De specialist *P. xylostella* legde meer eieren op planten die geïnduceerd waren door *P. rapae*-vraatschade dan op onbeschadigde planten, maar de generalist *M. brassicae* legde juist meer eieren op onbeschadigde planten. De tegengestelde voorkeur van specialistische en generalistische plantenetende insecten voor geïnduceerde planten werd ook in het veld gevonden. Bovendien bleek dat veel van de specialisten, die sterk verschillen in de manier waarop ze van een plant eten, een voorkeur hadden voor geïnduceerde planten. Zowel de blad-vretende rupsen van *P. xylostella*, de aardvlooiën *Phyllotreta undulata* en *P. atra*, als de floeemsap-zuigende bladluizen van *Brevicoryne brassicae* waren algemener op geïnduceerde planten dan op controleplanten. De geïnduceerde respons van planten resulteerde in sterkere resistentie tegen generalisten, maar tegelijkertijd in een verminderde resistentie tegen specialisten. Dit had tot gevolg dat de levensgemeenschap van insecten op geïnduceerde planten gedomineerd werd door specialistische plantenetende insecten. Bovendien bestond de levensgemeenschap van planteneters op de geïnduceerde plant uit meer individuen van meer verschillende soorten dan op controleplanten.

Conclusie

De bevindingen laten zien dat variatie in directe en indirecte verdediging binnen een plantensoort effect heeft op de samenstelling van de levensgemeenschap van de met de plant geassocieerde insecten. Bovendien hebben herbivoren daarbij, door hun inductie van plantenverdediging, zelf ook een effect op de diversiteit en typen insecten die op een plant worden gevonden. Uit deze resultaten moet worden opgemaakt dat de insectengemeenschap als geheel moet worden meegenomen in studies van plantenverdediging en gedrag van insecten. Een multidisciplinaire benadering in studies van plant-insectinteracties geeft daarbij een nieuw inzicht in de onderliggende mechanismen van plantenverdediging in de context van de complexiteit van een levensgemeenschap.