

# Tritrofe interacties in wilde en gecultiveerde kruisbloemige planten

Rieta Gols

**Op 21 mei 2008 promoveerde Rieta Gols aan Wageningen Universiteit op het proefschrift getiteld 'Tritrophic interactions in wild and cultivated brassicaceous plant species'. Promotor was Prof. Dr. Marcel Dicke van de leerstoelgroep Entomologie.**

## Inleiding

Planten staan niet volkomen weerloos tegenover potentiële belagers, zoals insecten en ziekteverwekkers. Zo kunnen chemische stoffen in de plant de groei van herbivore insecten vertragen en hun overleving verminderen. Planteneigenschappen die de herbivoren negatief beïnvloeden zijn vormen van directe plantenverdediging. Naast een direct verdedigingsarsenaal, kunnen planten gebruik maken van indirecte verdediging door de hulp in te roepen van de natuurlijke vijanden van de herbivoren, zoals predatoren en sluipwespen. Planten die zijn beschadigd door herbivoren verspreiden vluchtige stoffen die aantrekkelijk zijn voor sommige sluipwespen en predatoren. Dit is een voorbeeld van indirecte chemische verdediging. In het proefschrift zijn directe en indirecte chemische plantenverdediging vergeleken in gecultiveerde en wilde kruisbloemige plantensoorten.

De familie van de kruisbloemigen (Brassicaceae) heeft economisch belangrijke cultuurgewassen voortgebracht (o.a. kool, koolzaad en mosterd). Veredeling gericht op het vergroten van bepaalde plantenstructuren, zoals in *Brassica oleracea* (kool), heeft echter niet alleen geleid tot een grote diversiteit aan cultivars, maar ook tot een reductie van glucosinolaat (GS) -concentraties. GS zijn secundaire plantenstoffen karakteristiek voor de Brassicaceae. Secundaire plantenstoffen zijn stoffen die geen directe rol spelen in groei, onderhoud en reproductie van de plant. Deze plantenstoffen zijn wel belangrijk als verdedigingsmechanisme tegen belagers, zoals plantenetende insecten. Vanwege het economisch

belang, zijn herbivore insecten en hun natuurlijke vijanden goed bestudeerd in cultuurgewassen. Echter, om een goed beeld te krijgen van de verdedigingsstrategieën die door planten worden gebruikt, is het belangrijk om ook te kijken naar deze strategieën in wilde soortgenoten van de gecultiveerde lijnen. Dit laatste is het hoofddoel van het proefschrift.

## Effect van voedselplant op de ontwikkeling van herbivoren en hun sluipwespen

Rupsen van het grote en kleine koolwitje (*Pieris brassicae* en *P. rapae*), maar ook van de koolmot (*Plutella xylostella*) zijn zeer efficiënt in het onschadelijk maken van GS. Deze gespecialiseerde herbivoren eten alleen die plantensoorten die GS bevatten, voornamelijk in de Brassicaceae familie. Er zijn ook herbivoren die eten van plantensoorten in verschillende families, zogenaamde generalisten. Generalisten hebben een detoxificatiemechanisme dat een groot aantal verschillende secundaire plantenstoffen onschadelijk kan maken, maar zijn vaak wel gevoelig voor hoge concentraties van toxische plantenstoffen. Ook voor sluipwespen geldt dat verschillende soorten zich in meerdere of mindere mate gespecialiseerd hebben om alleen in bepaalde insectensoorten hun eitjes te leggen. De ontwikkeling van verschillende vlindersoorten en hun sluipwespen is vergeleken wanneer deze worden opgekweekt op kruisbloemige plantensoorten die variëren in zowel de samenstelling als de concentratie van GS.

De ontwikkeling van de herbivore specialisten (*P. brassicae* en *P. xylostella*) werd slechts in beperkte mate beïnvloed door variatie in voedselkwaliteit tussen verschillende mosterdsoorten, ondanks de relatief hoge GS-concentraties in hun bladeren. Dit laatste geldt voor zowel de cultivars als hun wilde soortgenoten. Verschillen in ontwikkeling hadden betrekking op de ontwikkelingsduur (van ei tot pop of van ei tot vlinder/

PROMOTIE



Figuur 1: Wilde kool groeiend langs de zuidkust van Engeland (Dorset).

mot) en pop- of adultgewicht, terwijl de overleving hoog was op alle mosterdsoorten. Hoewel de gebruikte mosterdsoorten gekenmerkt worden door verschillen in GS-samenstelling, lijken deze stoffen de groei van de specialistische rupsen niet negatief te beïnvloeden. De groei van de sluipwespen *Cotesia glomerata* en *Diadegma*

Figuur 2: De sluipwesp *Microplitis mediator* die een *Mamestra brassicae*-rups aanvalt (foto Tibor Bukovinszky).

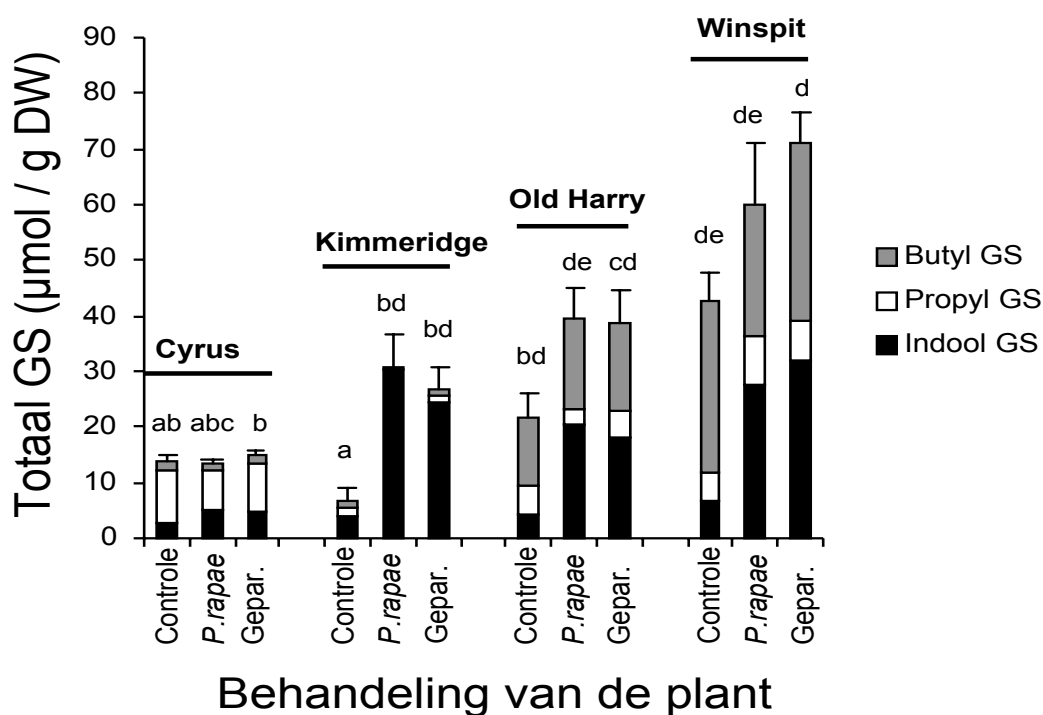


*semiclausum*, die zich ontwikkelen in rupsen van respectievelijk *P. brassicae* en *P. xylostella*, werd nog minder dan die van hun gastheren beïnvloed door verschillen in voedselkwaliteit. Het efficiënte GS-detoxificatiemechanisme in de gastheer voorkomt mogelijk dat de larven van de sluipwespen worden blootgesteld aan (hoge) GS-concentraties. Een alternatieve verklaring is dat sluipwespen van gastheren die alleen kruisbloemigen eten een eigen detoxificatiesysteem hebben ontwikkeld.

De wilde variant van de verschillende koolcultivars (*B. oleracea*) groeit langs de Atlantische kust van West-Europa (Figuur 1). Zaden van wilde populaties afkomstig uit Engeland zijn gebruikt voor experimenten in een kas. De gecultiveerde spruitkoolvariëteit was kwalitatief een betere voedselplant voor de specialisten *P. rapae* en *P. xylostella* dan de wilde kool uit Engeland. Net als voor de mosterdplanten, hadden verschillen in ontwikkeling van rupsen alleen betrekking op ontwikkelingsduur en pop- of adultgewicht. De ontwikkeling van de sluipwespen *C. rubecula* en *D. semiclausum* weerspiegelde dat van hun respectievelijke gastheer, *P. rapae* en *P. xylostella*. De effecten van verschillen in voedselkwaliteit op de ontwikkeling van de generalistische herbivoor, *Mamestra brassicae* (kooluil) waren zeer groot. Op een van de wilde populaties ('Kimmeridge') was de ontwikkeling vergelijkbaar als op de spruitkoolcultivar, terwijl op een andere wilde populatie ('Winsipit') geen enkele rups het popstadium bereikte. Net als voor de specialisten, weerspiegelde het effect van de koolpopulatie op de ontwikkeling van de sluipwesp *Microplitis mediator* in *M. brassicae*-rupsen (Figuur 2), dat van de ontwikkeling van de gastheer.

Analyse van GS in de bladeren van de wilde koolplanten bracht grote verschillen in GS-concentraties tussen de populaties aan het licht (Figuur 3). Verder bleek dat de concentraties van bepaalde GS in de wilde populaties sterk toenamen nadat van de plant gegeten was, terwijl dat in veel mindere mate het geval was in de cultivar. Totale gehalten aan GS in aangevreten planten waren 2-4 keer zo hoog in de wilde populaties als in de cultivar. Regressieanalyse toonde een lineair verband aan tussen de overleving van de generalist *M. brassicae* en concentraties van de GS sinigrine en gluconapin en de totale hoeveelheid GS. Voor de specialist *P. rapae* was er alleen een verband tussen ontwikkelingsduur van ei tot pop en concentraties van neoglucobrassicine in de bladeren.

PROMOTIE



Figuur 3: Totale glucosinolaat (GS) -concentraties (gemiddelde + SE) in bladweefsel van een cultivar (Cyrus) en drie wilde koolpopulaties (Kimmeridge, Old Harry en Winspit) afkomstig uit Engeland wanneer opgekweekt onder standaard kascondities. GS-concentraties zijn gemeten in bladweefsel van onbeschadigde controleplanten, planten beschadigd door *P. rapae*-rupsen en planten beschadigd door *C. rubecula*-geparasiteerde *P. rapae*-rupsen. GS-concentraties zijn onderverdeeld in 3 klassen: butyl, propyl en indole GS. Staven met dezelfde letter zijn niet significant verschillend.

Ook zijn de ontwikkeling van een specialistische en een generalistische sluipwespensoort vergeleken wanneer ze zich ontwikkelen in dezelfde gastheersoort (*P. xylostella*). In tegenstelling tot de specialist, *D. semiclausum*, werd de ontwikkeling van de generalist, *D. fenestrata*, sterk beïnvloed door de voedselplant van *P. xylostella*. De overleving was hoger op spruitkool dan op de wilde 'Old Harry' populatie. De overleving was echter het laagst (slechts 5% van de eitjes ontwikkelde zich tot volwassen sluipwesp) als de gastheer van *B. nigra* at, de plantensoort die het beste was voor de ontwikkeling van niet-geparasiteerde rupsen.

De mate waarin de groei van rupsen en hun sluipwespen wordt beïnvloed door de kwaliteit van de voedselplant hangt dus af van de mate van specialisatie van zowel de rups als de sluipwesp. Ook specialisten kunnen worden beïnvloed door verschillen in voedselkwaliteit tussen, maar ook binnen een soort. Het effect van verschillen in voedselkwaliteit op de ontwikkeling van specialisten had vooral betrekking op de ontwikkelingsduur en biomassa, terwijl dit in de specialisten ook de overleving betrof.

### Is er een conflict tussen directe en indirecte verdediging?

Planten kunnen zowel directe als indirecte verdedigingsmechanismen inzetten om schade door herbivoren te voorkomen of te beperken. Secundaire plantenstoffen kunnen echter niet alleen de ontwikkeling van herbivoren nadelig beïnvloeden maar ook die van sluipwespen die zich in of op deze herbivoren ontwikkelen. Er kan dus een conflict ontstaan tussen directe en indirecte plantenverdediging als een sluipwespvrouwje wordt aangetrokken tot een plant die niet zo goed is voor de ontwikkeling van haar nakomelingen. Het mogelijk optreden van een conflict tussen directe en indirecte verdediging is nader onderzocht. Er is bestudeerd of sluipwespvrouwjes aangetrokken worden tot die planten die het beste zijn voor de ontwikkeling van haar nakomelingen. Daarbij is gekeken naar variatie in chemische verdediging tussen plantensoorten en naar variatie in verdediging binnen een soort. De sluipwespen (*D. semiclausum* en *C. glomerata*) hadden een voorkeur om te landen op planten die geen negatieve invloed hadden op de ontwikkeling van hun

nakomelingen. Voor de mosterdsoorten die hier zijn getest was er dus geen conflict tussen directe en indirecte plantenverdediging.

### **Plantenverdediging in gecultiveerde en wilde soortgenoten**

Plantenveredeling is gericht op het versterken van bepaalde planteneigenschappen, zoals het vergroten van bepaalde plantendelen of het produceren van meer zaden, maar ook op het veranderen van chemische eigenschappen. Echter, sommige van deze kunstmatige veranderingen kunnen in conflict zijn met verdedigings-eigenschappen zoals die aanwezig waren in de voorouder van het cultuurgewas. Als gevolg van deze selectie, kunnen concentraties van primaire en secundaire plantenstoffen dusdanig zijn gewijzigd dat deze planten meer vatbaar zijn voor bijvoorbeeld plantenetende insecten dan de wilde variant. In het proefschrift is aangetoond dat veredeling van spruitkool geleid heeft tot een verlaging van GS-concentraties in de bladeren en dat de herbivoren beter groeien op de cultivar dan op sommige wilde populaties. In de mosterdsoorten waren de GS-concentraties relatief hoog, zowel in gecultiveerde variëteiten als in wilde populaties, terwijl de effecten daarvan op de ontwikkeling van de specialistische herbivoren gering waren. Het effect van plantenveredeling op eigenschappen die de vatbaarheid voor plantenetende insecten kunnen verhogen, hangt dus af van de eigenschap waarop is geselecteerd. In kool heeft veredeling geleid tot lagere GS-concentraties in de bladeren terwijl selectie op de zaden in mosterdplanten de GS-gehalten in de bladeren nagenoeg niet heeft veranderd. Het is onduidelijk in hoeverre veredeling in zwarte mosterd (*B. nigra*) heeft geleid tot veranderingen in de productie van plantengeuren die aantrekkelijk zijn voor sluipwespen. Conflicten tussen directe en indirecte verdediging in landbouwsystemen zullen niet zo snel optreden aangezien directe (chemische) verdedigingsmechanismen in cultuurgewassen vaak zijn verminderd.

### **Zoekgedrag van sluipwespen buiten de Y-buis en de windtunnel**

In veel wetenschappelijk onderzoek gericht op het ontrafelen van plantengeuren die een rol spelen bij de aantrekking van sluipwespen wordt gebruik gemaakt van windtunnel- en Y-buisopstellingen. In deze opstellingen krijgen sluipwespvrouwtjes de mogelijkheid een keuze

te maken tussen (meestal twee) verschillende geurbronnen. Echter, in hun natuurlijke leefomgeving moeten sluipwespen hun gastheer zien te vinden in een complexe vegetatie bestaande uit meerdere plantensoorten die vaak zijn aangetast door verschillende herbivoren. Om het effect van een meer complexe leefomgeving op het zoekgedrag te bestuderen, is het gedrag van een sluipwespvrouwtje (*D. semiclausum*) bestudeerd in een semi-veld opstelling. De basisopstelling bestond uit een groep koolplanten waarvan alleen de middelste plant gastheren bevatte. Vervolgens is het gedrag van individuele sluipwespvrouwtjes gevolgd totdat zij in vijf rupsen eitjes had gelegd. Daarnaast is gekeken of sluipwespvrouwtjes meer of minder efficiënt zijn in het vinden van de gastheren als er een niet-kruisbloemige plantensoort (gerst, *Hordeum vulgare*) of een andere kruisbloemige soort (witte mosterd, *Sinapis alba*) aan de opstelling werd toegevoegd. Uit de gegevens bleek dat *D. semiclausum*-vrouwtjes meer moeite hebben met het vinden van de koolplant als er ook witte mosterd dan wel gerst in de opstelling aanwezig is. Blijkbaar interfereren de geuren die verspreid worden door de mosterdplanten met het zoekgedrag van de sluipwespen. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat geuren van onbeschadigde witte-mosterdplanten net zo aantrekkelijk zijn als geuren van koolplanten die aangevreten zijn door hun gastheer. Gerstplanten lijken een fysiek obstakel te vormen die het vinden van de koolplant met gastheren belemmeren. Deze resultaten geven aan dat voorzichtigheid geboden is met betrekking tot het vertalen van voorkeuren van sluipwespen voor bepaalde geuren in windtunnels en Y-buizen naar het gedrag van sluipwespen in een natuurlijke vegetatie.

### **Tot slot**

Het vergelijken van het zoekgedrag van sluipwespen en de populatiedynamica van de gastheer en de sluipwesp in gecontroleerde landbouwsystemen en in ongecontroleerde ecosystemen zullen nieuwe inzichten geven met betrekking tot de mechanismen die ten grondslag liggen aan tritrofe interacties. Daarnaast helpen zulke studies om het relatieve belang van bottom-up (plant-gerelateerde) en top-down (predatie/sluipwesp-gerelateerde) -regulatie van geleedpotige herbivoren te openbaren.

Rieta Gols blijft verbonden aan de leerstoelgroep Entomologie van Wageningen Universiteit; e-mail: Rieta.Gols@wur.nl.

PROMOTIE