

# Verdedigingsmechanismen van planten in een tritroof systeem

Cindy E.M. van den Boom

Op 25 April 2003 promoveerde Cindy van den Boom aan de Wageningen Universiteit op het proefschrift getiteld 'Plant defence in a tritrophic context: chemical and behavioural analyses of the interactions between spider mites, predatory mites and various plant species'. Promotoren waren Prof. dr. A. de Groot, Prof. dr. M. Dicke en Dr. T.A. van Beek (Wageningen Universiteit).

spintmijt, maar de Solanaceae soorten varieerden in de mate waarin ze door de spintmijt geaccepteerd werden van goed (tabak: *Nicotiana tabacum*) tot slecht (papkraut: *Capsicum annuum*).

## Inleiding

Planten hebben niet alleen interacties met hun belagers maar ook met de natuurlijke vijanden van hun belagers. We spreken dan van een tritroof systeem, wat wil zeggen dat drie verschillende niveaus uit een voedselketen onderlinge interacties hebben. In dit proefschrift is een tritrofe interactie onderzocht waar de spintmijt *Tetranychus urticae*, de roofmijt *Phytoseiulus persimilis* en verscheidene waardplanten deel van uitmaken (Figuur 1). De spintmijt *T. urticae* is een alleseter en heeft meer dan honderd soorten waardplanten. Hij kan een enorme plaag veroorzaken in akkerbouwgewassen, fruitbomen en glasgroenten. De roofmijt *P. persimilis* is één van zijn belangrijkste natuurlijke vijanden. Planten kunnen zich op verschillende manieren verdedigen tegen een herbivoor. Als er sprake is van het gebruik van toxische of smaakvergallende stoffen dan noemen we dit directe verdediging. Indien de plant gebruik maakt van de aantrekking van de natuurlijke vijanden (carnivoren) van de herbivoor met behulp van vluchtige stoffen dan noemen we dit indirecte verdediging. Onderzoek naar de directe en indirecte verdedigingsstrategieën van verscheidene plantensoorten zal bij-

dragen tot het verkrijgen van meer kennis in de voedselketen plant – spintmijt – roofmijt.

## Direct verdediging

Als eerste werd de acceptatie van elf waardplanten door de spintmijt *T. urticae* onderzocht. Deze waardplantacceptatie wordt gebruikt als maat voor de directe verdediging van deze plantensoorten. Verwacht werd dat de mate waarin de spintmijt de waardplant accepteert, afhankelijk is van de voedingswaarde van de plant en het voorkomen van toxische of smaakvergallende stoffen in een plant. De proeven lieten een grote variatie zien in de mate waarin de spintmijt de planten accepteert. De meeste planten werden goed tot zeer goed geaccepteerd. Alleen ginkgo (*Ginkgo biloba*) vormde hierop een uitzondering. Naast de verschillen tussen waardplantsoorten werden twee plantenfamilies de Fabaceae (Vlinderbloemigen) en de Solanaceae (Nachtschadeachtigen) met elkaar vergeleken. Van beide families waren vier plantensoorten betrokken bij het onderzoek. Uit deze vergelijking bleek dat alle soorten behorend tot de Fabaceae goed geaccepteerd werden door de

## Indirecte verdediging

Vervolgens is de indirecte verdediging van de plantensoorten onderzocht en hiervoor werden dezelfde plantensoorten gebruikt. In dit experiment werden bladeren die door spintmijten waren aangetast naast onbeschadigde bladeren aangeboden aan de roofmijt *P. persimilis* in een olfactometer als een keuzetoetsopstelling. Er werd nagegaan of bladeren met spintmijt aantrekkelijker zijn voor de roofmijt dan bladeren zonder spintmijt. De resultaten laten zien dat de door spintmijt aangetaste bladeren van alle plantensoorten de roofmijt significant aantrekken. Eerdere experimenten beschreven in de literatuur lieten zien dat de geurstoffen van spintmijten zelf niet aantrekkelijk zijn voor roofmijten. Hieruit kan worden geconcludeerd dat de stoffen die uit de plant vrijkomen de roofmijten aantrekken. Eerder opgedane ervaring van de roofmijt met door spintmijt aangetaste bladeren van de plantensoort die wordt getoetst vertoonde geen invloed op de mate van aantrekking van de roofmijt. Aangezien de spintmijten niet overleefden wanneer ze de bladeren van de ginkgoboom als voedsel aangeboden kregen werd het

PROMOTIE

ginkgobladd behandeld met jasmonzuur. Op deze wijze werd getracht om een vergelijkbaar mengsel van vluchtige plantenstoffen te produceren als spintmijt besmette bladeren mogelijk zouden kunnen produceren. Uit deze proef kwam naar voren dat roofmijten in een geringe mate aangetrokken worden tot de met jasmonzuur behandelde bladeren. Er kan geconcludeerd worden dat alle onderzochte plantensoorten na besmetting met spintmijt investeren in indirecte verdediging, zelfs wanneer ze al een sterke directe verdediging hebben.

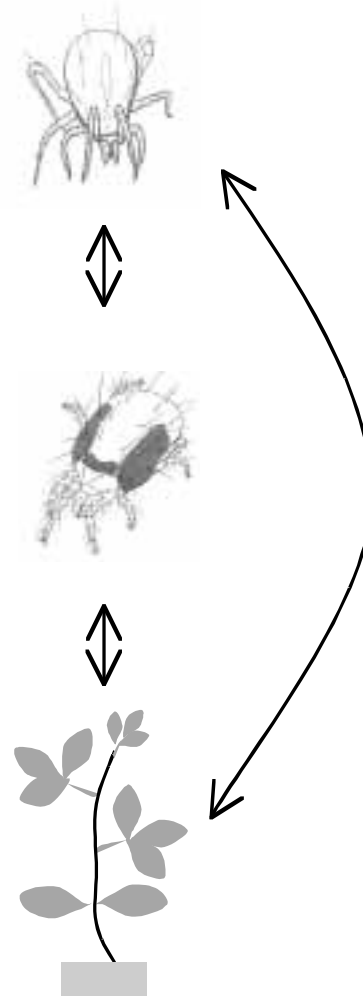
## Vluchtige verbindingen

Toen vastgesteld was dat alle onderzochte planten na aantasting door spintmijt aantrekkelijk waren voor roofmijten, werd onderzocht welke verbindingen deze planten produceren. Tevens is gekeken in welke mate de geproduceerde mengsels van vluchtige verbindingen nieuwe stoffen bevatten in vergelijking met mengsels van niet-beschadigde of mechanisch beschadigde bladeren. De analyses van de vluchtige mengsels, die door de met spintmijt aangetaste bladeren worden uitgestoten, tonen aan dat alle onderzochte planten nieuwe verbindingen produceren. Een aantal van deze nieuw geproduceerde verbindingen zijn dominant aanwezig in het mengsel, zoals methylsalicylaat en verscheidene terpenen, oximen en nitrillen. Echter, aubergine- en tabakspflanzen produceren na spintmijtaantasting slechts enkele nieuwe componenten in kleine hoeveelheden. Methylsalicylaat is in zes van de onderzochte plantensoorten gevonden als de dominant aanwezige verbinding in het mengsel; in twee andere plantensoorten is methylsalicylaat minder dominant aanwezig. Hoewel is aangetoond dat methylsalicylaat roofmijten aantrekt, is deze ver-

Roofmijt  
*Phytoseiulus persimilis*

Spintmijt  
*Tetranychus urticae*

Waardplant  
*Phaseolus lunatus*



Figuur 1. Schematische voorstelling van de tritrofe interactie tussen spintmijt, roofmijt en waardplant.

binding op zichzelf niet specifiek genoeg om te kunnen dienen als een indicator voor spintmijtaantasting van planten. In het proefschrift werd de aanname gemaakt dat plantensoorten met een zwakke directe verdediging zouden investeren in de productie van nieuwe verbindingen, terwijl planten met een sterke directe verdediging hierin niet zouden hoeven te investeren. Uit de resultaten kwam naar voren dat plantensoorten met een zwakke directe verdediging inderdaad indirecte verdediging gebruiken om roofmijten aan te trekken, maar dat ze hiervoor niet altijd nieuwe verbindingen produceren. Voor twee plantenfamilies zijn de vluchtige mengsels, die geproduceerd worden door spintmijt aangetaste bladeren, vergeleken met mengsels die geproduceerd

worden door mechanisch beschadigde bladeren. Hieruit kwam naar voren dat deze kwalitatieve verschillen in vluchtige mengsels afkomstig van door spintmijt aangetaste bladeren prominenter worden aangetroffen in planten van de Fabaceae dan in die van de Solanaceae.

## Detectie biologisch actieve verbindingen

Om biologisch actieve verbindingen in mengsels van vluchtige stoffen beter te kunnen opsporen en identificeren is een nieuwe fractioneringsmethode ontwikkeld. Deze fractioneringsmethode is selectiever en efficiënter in het opsporen van biologisch actieve

PROMOTIE

verbindingen dan de gangbare technieken, waarbij gebruik wordt gemaakt van het vergelijken van profielen van vluchtige mengsels of waarbij mengsels van biologisch actieve mengsels nagemaakt worden met behulp van synthetische verbindingen. De eerste stap in deze fractioneringsmethode was het scheiden van stoffen van een biologisch actief mengsel met een gaschromatograaf. De gaschromatografische scheiding maakt het mogelijk om selectief verbindingen uit het mengsel te verwijderen. Vervolgens werden de verbindingen opgevangen in een buis gevuld met adsorptiemateriaal (Tenax) en daarna weer vluchtig gemaakt door middel van verhitting (thermodesorptie) en opgevangen in een Teflon zak. Om de verbindingen te kunnen testen op hun biologische activiteit met behulp van een olfactometer, werd de Teflon zak onder druk ge-

zet zodat er een continue zwakke stroom van vluchtige stoffen ontstaat. Deze zwakke stroom wordt vervolgens meegenomen in een luchtstroom en naar de olfactometer geleid. In de olfactometer wordt het hele mengsel (of het overgebleven mengsel) getoetst om vast te kunnen stellen of het mengsel nog biologisch actief is. De werking van deze methode werd gecontroleerd met behulp van vluchtige stoffen die variëren in kookpunt, chemische en fysische eigenschappen. De stoffen zijn na het proces opnieuw opgevangen om te kijken hoeveel procent van deze stoffen na het hele proces nog overgebleven zijn. De meeste stoffen die zijn getest werden in een hoge opbrengst van 80 en 100 % teruggewonnen. Slechts enkele stoffen met een relatief hoog kookpunt (> 300 °C) of met een fenolgroep, gaven lage opbrengsten (30–50 %). De biologi-

sche activiteit van de stoffen die geproduceerd werden door spintmijt-aangetaste bladeren van de limaboon (*Phaseolus lunatus*) en de verbindingen methylsalicylaat en (3E)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatrien zijn met succes getest op hun aantrekkelijkheid voor roofmijten. Een voordeel van deze methode is dat mengsels van vluchtige stoffen selectief gemanipuleerd kunnen worden. Een tweede voordeel is dat met deze methode geen oplosmiddel in de biotoets wordt geïntroduceerd. Door het mengsel met deze methode te bewerken en opnieuw vluchtig te maken is het mogelijk om een bekende en realistische concentratie van de verbindingen in de biotoets te brengen. Dit maakt deze fractioneringsmethode tot een handige en snelle werkwijze om biologisch actieve verbindingen in complexe mengsels op te kunnen sporen en vervolgens te kunnen identificeren.

PROMOTIE