

Strategie der olfaktorischen Wirtsfindung von *Trypodendron domesticum* L.

Holighaus, G. und Schütz, S.

Zusammenfassung

Beginnend im Jahr 2000 konnte die in diesem Band ausführlich beschriebene, neuartige Variante der Buchenkomplexkrankheit in Beständen der Rotbuche (*Fagus sylvatica*) in Mittelgebirgsregionen beobachtet werden. Gesunde, hiebsreife Buchen wurden von dem bis dahin als klassisches Totholzinsekt zu bezeichnenden Buchennutzholzborkenkäfer (*Trypodendron domesticum*, L. syn. *Xyloterus domesticus*, Coleoptera, Scolytidae) befallen und starben vielfach ab. Oft konnten keinerlei Vorschädigungen beobachtet werden. Neben dem Interesse an dieser Art als Lagerholzschädling, gab dies Anlass zu einer chemoökologischen Studie des Wirtswahlverhaltens, das bereits bestehende Untersuchungen (BYERS, 1992; KERCK 1976; KLIMETZEK, 1984) mit den aktuellen Ereignissen verknüpft. Die Duftbouquets verschiedener Holzalterungsstadien unterschiedlicher Attraktivität an gefällten Buchen wurden chemisch analysiert und charakterisiert. Gleichzeitig wurde ihre Wahrnehmbarkeit durch die Insektenantenne untersucht. Mit einem gekoppelten gaschromatographischen und elektroantennographischen Aufbau (GC-MS/EAD) fanden sich Hinweise auf 12 elektrophysiologisch aktive Substanzen, von denen 9 identifiziert werden konnten. Die identifizierten Duftstoffe sind verzweigte Alkohole, Aldehyde und Phenole. In chemometrischen Analysen zur Buchenkomplexkrankheit in einem Paarvergleich an stehenden, befallenen und unbefallenen Bäumen fand sich nur eine der Substanzen (Nonanal) wieder. Die Ähnlichkeiten und Unterschiede im Duftmuster stehender sowie gefällter Buchen und sich daraus ergebende Ableitungen für das Wirtswahlverhalten werden diskutiert und mit den weiteren Untersuchungen z.B. zur Rindenmorphologie in Beziehung gesetzt.

Schlüsselwörter: Buche, *Fagus sylvatica*, Primärattraktion, Sekundärschädlinge, *Xyloterus domesticus*, *Trypodendron domesticum*, Buchenrindennekrose Buchenkomplexkrankheit, Ambrosiakäfer, xylomycetophag, Lineatin, Ethanol, GC-EAD, Volatile, Totholz, Holzerfall

Strategy of olfactoric host finding of the xylomycetophagous beetle *Trypodendron domesticum* L.

Summary

New symptoms of the “European beech bark disease” (EBBD) were observed in the beginning of 2000. In addition to known symptoms, beech trees of a healthy outward appearance in all regions affected were surprisingly infested by wood-breeding beetles, which started in spring of 2001. To understand mechanisms of this disease, a chemo-ecological study was carried out by comparing the new phenomenon with the classical situation, where these beetles infest felled trees after the expiration of a term. A number of investigations (BYERS, 1992; KERCK 1976; KLIMETZEK, 1984) suggests that the mechanisms of host-selection consist in the chemosensory differentiation of states of wood decay. The presence at the “border” between living and dying tree make *Trypodendron domesticum* an interesting research object on xylobiont insects and physiological dying and decaying processes in trees. The perceivability of volatile compounds by *Trypodendron domesticum* was researched in a gaschromatographic and electrophysiological approach. GC/MS-EAD analysis pointed out 12 compounds with electrophysiological activity on the insect’s antenna. These include branched alcohols, aldehydes and phenolics. Chemometric analysis of the EBBD in a pairwise sam-

pling of living infested and healthy beech trees only one compound (Nonanal) was traced back. Differences and similarities in the scent pattern of standing and felled beech trees and the resulting modes of the selection of hosts are discussed. They are related to further studies e.g. on bark morphology.

Keywords: European beech, *Fagus sylvatica*, Primary attraction, secondary bark beetle, *Xyloterus domesticus*, *Trypodendron domesticum*, European beech bark disease, ambrosia beetle, wood decay, deadwood, xylomycetophagous, ethanol, lineatin, GC-EAD, volatiles

Einleitung

Neben rindenbrütenden Borkenkäfern, die vor allem lebende, in der Regel geschwächte Bäume als Brutraum nutzen (z.B. *Ips typographus*) und daher oftmals Primärschädlinge genannt werden, sind z.B. an der Buche eine Reihe von typischen so genannten Sekundärschädlingen zu finden. Neben *Trypodendron domesticum* sind dies u.a. *Anisandrus dispar* und *Hylecoetus dermestoides*. Ihre forstwirtschaftliche Bedeutung liegt deshalb weitgehend in ihrem Auftreten als Lagerholzschädlinge. In der Regel kann ihnen jedoch mit einer rechtzeitigen Holzabfuhr vor der Flugzeit im Februar / März begegnet werden. Wenn auch der Umgang mit dem Auftreten dieser Sekundärschädlinge klar erscheint, können zwingende forstbetriebliche Rahmenbedingungen zu Holzertragsverlusten führen. Wissenschaftliche Untersuchungen der Vergangenheit beschäftigten sich deshalb mit den Mechanismen der Primäranlockung, also der Bedeutung von chemischen Lock- und Ablenkstoffen der sekundären Holzschädlinge und deren intraspezifischen Aggregationsmechanismen (FRANKE, 1973; KERCK, 1978; KLIMETZEK, 1984; RAMISCH, 1984). Aufgrund der schlechten Nahrungsqualität des Holzkörpers im Vergleich zu nährstoffreichem Phloem sind diese Arten sehr häufig mit einer Reihe von Pilzarten assoziiert, die im Gegensatz zu den meisten Insekten über Enzyme wie Cellulasen verfügen, die Nährstoffe aufschließen können, die den Käfern ansonsten unzugänglich blieben. Die auftretenden Assoziationen reichen auch bei *T. domesticum* von gelegentlichem bis obligatorischem Auftreten der Pilzarten bis hin zur Symbiose. Der mit *T. domesticum* auftretende Symbiosepilz wird aktiv über Mycetangien verschleppt. Weitere Arten, die gelegentlich in den Bohrgängen gefunden werden, sind *Graphium spec.*, *Ophiostoma spec.* und *Cera-*

tocystis spec. Ebenso können ubiquitäre Arten (z.B. *Fomes fomentarius*) die Bohrgänge als Eintrittspforte nutzen, wie es typischerweise im Endstadium der Buchenkomplexkrankheit zu beobachten ist. Während die Pilzarten und deren Auftreten in der Vergangenheit weitreichend untersucht wurden (ZIMMERMANN, 1973), ist deren Einfluss auf den Chemismus der Buche weitgehend unbekannt. Ebenso ist die Wirkung pilzbürtiger Duftstoffe nicht untersucht. Neben der chemoökologischen Betrachtung des klassischen Befalls ist jedoch der neuartige Befall, der ohne die klassischen Symptome einhergeht, von besonderem Interesse. Insbesondere gilt die Aufmerksamkeit der vorliegenden Untersuchung daher Duftstoffen im Sinne von semiochemischen Botenstoffen, die nicht primär einer Aggregation dienen. Wenngleich auch hier neben dem bekannten käferbürtigen Aggregationspheromon „Lineatin“ weitere Stoffe denkbar sind, die aus der Reaktion der Buche auf Käferbefall entstehen (induziert) oder deren Ursprung bei den eingeschleppten Pilzarten zu suchen ist. Die Untersuchung der Primärattraktion, die bislang auf die Erkenntnis der Lockwirkung von Ethanol reduziert war, gilt den chemischen Stoffen, die die „Pionierindividuen“ anlocken, noch bevor diese mit der Produktion des Aggregationspheromons ihre massenhafte „Wirkung“ entfalten.

Zur Untersuchung des neuartigen Stehendbefalls wurde ein Paarversuch durchgeführt, in dem vom Käfer befallene und unbefallene Bäume, beide ohne äußerliche Symptome einer Prädisposition, miteinander verglichen wurden. Gleichzeitig wurden die Bäume vom Institut für Forstbotanik (LANGENFELDT-HEYSER et al., 2006a) auf rindenanatomische Anomalien und gelöste phenolische Inhaltsstoffe (FIEBELKORN et al., 2006) untersucht. Für die Betrachtung der Semiochemikalien, die un-

ter klassischen Bedingungen während der Holzlagerung durch Holzalterungsprozesse entstehen, wurden im Rahmen eines Einschlagsterminversuchs lagerungsbedingte Veränderungen von Buchenstämmen analysiert. Die Untersuchungen des Instituts für Forstzoologie und Waldschutz fokussierten auf die spurenanalytische-chemoökologische Analyse der verschiedenen Befallssituationen von *T. domesticum*. Wesentlich war die Feststellung des Status quo und der Veränderungen des Duftstoffspektrums der Buche als Grundlage für das Verständnis für eine verstärkte Disposition des Befalls mit Lagerholzschädlingen auch unter neuartigen Veränderungen und Symptomatik.

Methoden

Duftstoffgemische, die Insekten zur Orientierung nutzen, wurden mit Hilfe von Adsorptionsfallen gesammelt und analysiert. Mit einem Gaschromatographen (GC) wurden die komplexen Stoffgemische in ihre Einzelkomponenten aufgetrennt. Zur Bestimmung kam ein gekoppeltes Massenspektrometer (MS) zum Einsatz. Der Vergleich der gemessenen Zerfallsspektren wurde mit der NIST Datenbank (National Institute for Standards & Technologies, 2003) zur Identifizierung der Substanzen durchgeführt. Die zusätzlich eingesetzte Elektroantennographie (EAG/EAD) ist eine Methode zur Messung olfaktorischer Reaktionen eines Insektes durch die Ableitung elektrischer Signale an seinen Antennen, an denen die wichtigsten Rezeptoren zur Geruchswahrnehmung zu finden sind (MOECK, 1968). Rezeptorpotenzialänderungen werden als EAG-Signal aufgezeichnet und sind als Antwort einer Insektenantenne auf einen Duftpuls zu verstehen. Die verwendete parallele Detektion durch ein gekoppeltes GC/MS-EAD System (WEISSBECKER, HOLIGHAUS & SCHÜTZ, 2004) ermöglichte einerseits die quantitative Erfassung und Identifizierung sämtlicher flüchtiger, von Bäumen, Holz- und Rindenproben emittierter, organischer Verbindungen, andererseits die Zuordnung der Antennenreaktion zu bestimmten Substanzen und damit die Wahrnehmbarkeit durch *T. domesticum*.

Unbefallene und befallene Buchen wurden paarwei-

se auf den Stehendbefallsflächen (Abt. 147a, RFÖ Klink, FA „Saar-Hochwald“) ausgewählt. Im Jahr 2003 wurden befallene und unbefallene Bäume, sowie weitere unbefallene Kontrollbäume im Jahr 2004 mit Hilfe eigens dafür konstruierter Stammabsaugkammern (Ø 40-60cm) beprobt (Abb. 1a). Diese ermöglicht die Analyse der unter realen Bedingungen vom Stamm einer stehenden Buche abgebenen flüchtigen Substanzen und ist verletzungsfrei. Proben eines Einschlagsterminversuchs (PETERCORD, 2006b) auf der gleichen Fläche, in dem Buchenstämmen in monatlichem Zeitabstand (07.10.2002 bis 10.03.2003) gefällt wurden, wurden mit dem gleichen Verfahren beprobt. Vergleichende Rindenproben älteren Lagerholzes, das starken Befall aufwies, ermöglichten eine räumlich höher aufgelöste Differenzierung der Buchenduftstoffe. Dafür wurden kleinräumige Holz- und Rindenproben (1-10cm³) unter Laborbedingungen analysiert (Abb. 1b).

Ergebnisse

Die Analytik der verschiedenen Befallsstadien und Situationen zeigte eine außergewöhnlich große Variabilität und Dynamik in der Abgabe organischer Verbindungen. Während der Holzalterung vom stehenden Baum bis zu 2-3 Jahre lagernden Buchenstämmen ließen sich mehr als 140 verschiedene flüchtige chemische Verbindungen nachweisen. Die



Abb. 1: 1a) Stammabsaugkammer (Ø 60cm) an einer Buche montiert. 1b) Rinden- und Holzprobennahme im Labor (headspace sampling).

Fig. 1: 1a) Trunk sampling jacket (Ø 60cm) attached to a beech tree. 1b) Volatile sampling of bark- and woodchips under lab conditions (headspace sampling).

Analyse der lebenden Bäume, wie sie im Falle des Stehendbefalls untersucht wurden, zeigte ein deutlich unterschiedliches Spektrum an Stoffen, wie es an liegendem Totholz festgestellt wurde. Stoffwechselprozesse, die sich von denen toter (gefällter) Bäume unterscheiden, jahreszeitliche, ggf. räumlich geographische Unterschiede oder saprophytische Organismen auf der Rindenoberfläche können mögliche Erklärungen hierfür liefern. Um die Vielzahl an Substanzen zu reduzieren, wurde eine Auswahl der von *T. domesticum* wahrnehmbaren Stoffe mit Hilfe der GC/MS-EAD Analytik vorgenommen. Dazu wurden Rinden- und Holzproben an Stämmen, die erstmalig frischen Befall mit *T. domesticum* aufwiesen, mit denjenigen des Einschlagsversuchs verglichen. Es zeigt sich, dass die chronologische Alterung nicht mit einer einheitlichen physiologischen Alterung eines Stammes synchronisiert ist. Es gibt sowohl individuelle Unterschiede, als auch kleinräumige Unterschiede innerhalb eines Baumes, was auf unterschiedliche Zellreaktionen schließen lässt (Abb. 2).

Die Heterogenität der physiologischen Alterung lässt sich sowohl rindemorphologisch (vgl. PETERCORD, 2006) als auch anhand der chemischen Analysen erkennen. So finden sich zwei Jahre nach Fällung an einem Buchenstamm Rindenpartien, deren Duftstoffemissionen von denen frisch gefällter Bäume kaum zu unterscheiden sind (Abb. 3a). Gleichzeitig können andere Partien bereits von Pilzen besiedelt sein, oder gar die Rinde sich schon vollständig gelöst haben (Abb. 3d). Diese chemische Heterogenität lässt sich auch für diejenigen Stadien feststellen, in denen *T. domesticum* die Holzpartien bevorzugt befällt (Abb. 3b&c). Mit zunehmender

physiologischer Zellalterung steigt die Gesamtabgaberate der Stoffe deutlich an, beginnend mit einer Erhöhung der Aldehyd-Emissionsraten (Hexanal, Nonanal, Decanal). Neben Terpenen und Alkoholen werden Phenole, wie 2-methoxy-Phenol, 4-methoxy-Phenol und 1,2-dimethoxy-Benzen, während der für *T. domesticum* attraktivsten Stadien emittiert. Sie verschwinden rasch und Alkohole werden von längerkettig verzweigten Alkoholen abgelöst. Mit dem Eindringen von Pilzen lassen sich bis zu 30 Sesquiterpene zusätzlich feststellen. Nach dem vollständigen Abbau lebender Holz- und Rindenzellen und abnehmender Holzfeuchte bleiben nur diese zurück.

GC/MS-EAD:

Die Ableitungen der Antennen von *T. domesticum* zeigten eine Reihe von reproduzierbaren EAD-Signalen. Zwölf Substanzen lösten eine Antennenreaktion bei verschiedenen Individuen aus. Neun von diesen Substanzen werden ebenso von *Hylecoetus dermestoides*, L. (Coleoptera: *Lymexylidae*) wahrgenommen, der als syntope, xylomycetophage Art Buchenstämmen häufig gemeinschaftlich mit *T. domesticum* besiedelt. Einen beispielhaften GC/MS-EAD Messlauf einer Rindenprobe (entspricht der Probe in Abb. 3b) zeigt Abbildung 4 für jeweils *T. domesticum* und *H. dermestoides*. Bemerkenswert sind neben vielen Gemeinsamkeiten die Unterschiede in der Sensitivität für einzelne Komponenten (z.B. Nonanal & 1,2-dimethoxy-Benzen).

Die Auflistung aller für *T. domesticum* ermittelten Antennensignale und die Zuordnung zu den korrespondierenden chemischen Substanzen mit deren Kenndaten zeigt Tabelle 1. Die Strukturformeln,

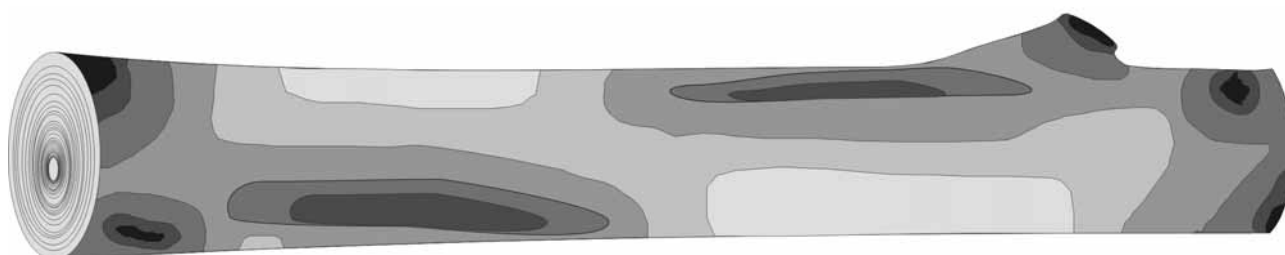


Abb. 2: Modellierter räumliche Verteilung der physiologischen Zersetzungsstadien an einem Buchenstamm, wie sie bisweilen nur nach Ablösen der Rinde sichtbar wird (von grau nach schwarz: frisch bis stark zersetzt).

Fig. 2: Modelled spatial distribution of physiological decay states on a beech trunk, as seen after excoriation of bark (from grey to black: fresh to seriously decayed).

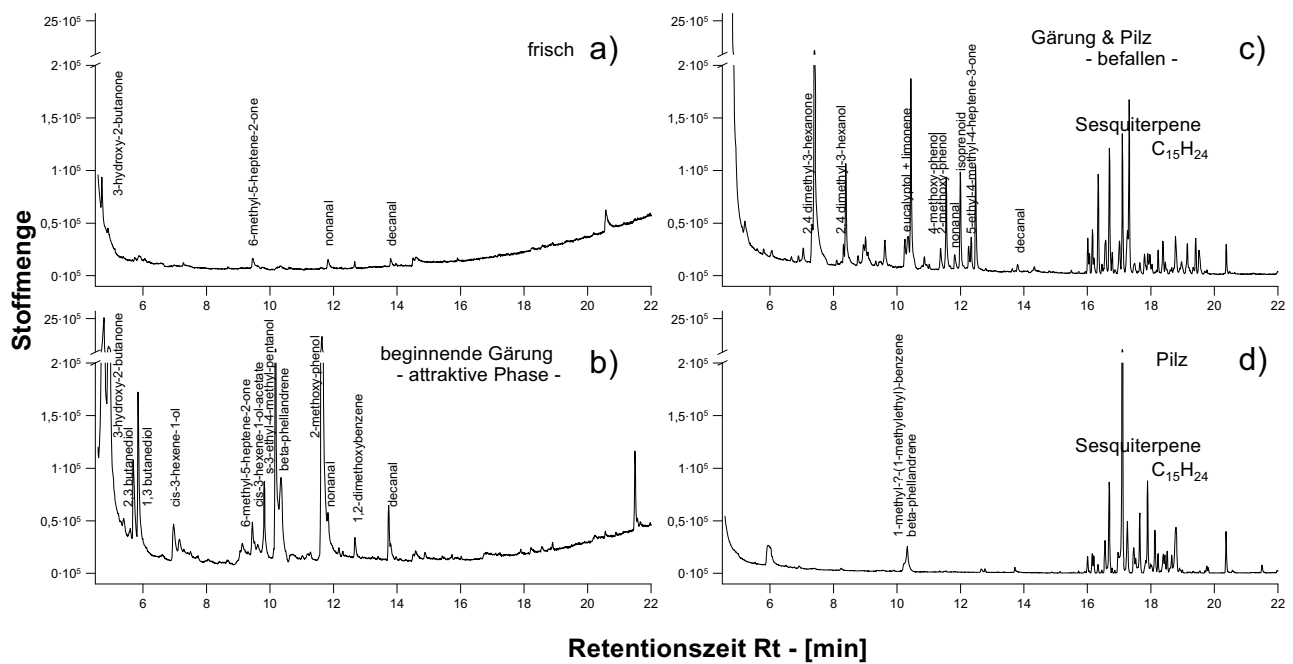


Abb. 3: Totalionenchromatogramme vier verschiedener Zersetzungsstadien. Sukzessive von frischer Rinde bis starker Zersetzung mit Pilzbefall (a - d). Attraktive Stadien für *Trypodendron domesticum* sind b) und c). Rinde mit Charakteristik a) noch nicht, d) nicht mehr befallsgeeignet.

Fig. 3: Totalionchromatogram of four different decay states. Successive from fresh bark to strongly decayed bark including fungal infestation (a - d). Attractive states for *Trypodendron domesticum* are b) and c). Bark of type a) not yet, d) no longer suitable for breeding.

der von *T. domesticum* wahrnehmbaren Stoffe, die identifiziert werden konnten zeigt Abbildung 5.

Nach Eingrenzung der für *T. domesticum* in Frage kommenden Semiochemikalien interessiert deren Auftreten und Abgaberraten während der unterschiedlichen Befallsituationen. Während der Holzalterung zeigt sich ein zeitlicher Verlauf wie in Abbildung 6 dargestellt. Hier sind die in Abb. 3b&c bereits dargestellten Stadien, die die höchste Attraktivität auf *T. domesticum* ausüben, weiter differenziert und anhand einzelner exemplarischer Messungen, die den Holzzersetzungsstadien in chronologischer Reihe folgen, quantifiziert.

Diese kleinräumigen Stadien lassen sich als chronologisch-physiologischer Gesamtverlauf verstehen, sie sind jedoch gleichzeitig an alternden Baumstämmen von vielzähligen Initiationspunkten ausgehend (häufig an Verletzungen, Astansätze o.ä. beginnend) graduell abgestuft zu finden (Abb. 2 & Abb. 6). Anhand der Abgaberraten und der Sensitivität der Insektenantenne lassen sich erste Rückschlüsse auf die Bedeutung der Stoffe als Semiochemikalien ziehen. Für eine Anlockung über große Entfernung kommen vor allem Stoffe mit hohen

Abgaberraten in Frage, die zusätzlich mit besonders hoher Sensitivität von *T. domesticum* wahrgenommen werden. Die aus den Elektroantennogrammen nur grob abzuleitende Sensitivität ist in Tabelle 1 mit Markierungen (*) dargestellt. Die Ermittlung von Dosis-Antwort-Kurven mit Reinsubstanzen zur besseren Einschätzung dieser Daten für eine weitergehende Beurteilung wäre wünschenswert. Vor allem treten bei der Betrachtung des Verhältnisses von Abgaberrate zur Signalstärke 1,2-dimethoxybenzen und Nonanal hervor, die *T. domesticum* mit besonders hoher Empfindlichkeit wahrnehmen kann. Zwei weitere Stoffe mit starken Signalen sind bislang nicht identifiziert (siehe Abb. 4, Stoffnr. 4 & 5). Die Sensitivität sagt etwas über die potentielle Reichweite einer Infochemikalie aus und damit deren Eignung als Lockstoff, jedoch bedarf es von Seiten des Käfers zusätzlich einer eingehenden Prüfung des Brutmaterials aus nächster Nähe. Hier können auch Stoffe mit geringen Abgaberraten oder schlechter Wahrnehmbarkeit eine existenzielle Bedeutung im Wirtswahlverhalten besitzen. Aus diesem Grund ist eine vorsichtige Interpretation geboten, angepasste Verhaltensversuche zu konkreten Verhaltensschritten sind unabdingbar. Eine Aus-

Tab. 1: Identifizierte Volatile in Buchen- und Buchenrindenproben (*Fagus sylvatica*), die eine Antennenaktivität von *Trypodendron domesticum* im Elektroantennogramm auslösen. Mit einem * versehene Stoffe wurden als Reinsubstanz mittels EAD überprüft.

Tab. 1: Identified volatiles in beech- and beechbark samples (*Fagus sylvatica*), eliciting antennal activity of *Trypodendron domesticum* in electroantennograms. Compounds highlighted with a * were tested as pure compounds in an EAG experiment.

Stoffnummer	R _t	Substanz	EAD	Formel	Molekülmasse	CAS-Nr.	FALLENTTEST
1	1,730	Methanol*	*	CH ₄ O	32	67-56-1	nein
2		unbekannt	ja	-	-	-	-
4		Ethanol ?*	***	C ₂ H ₆ O	46	64-17-5	ja
5		unbekannt	ja	-	-	-	-
6	4,749	3-Methyl-1-Butanol*	*	C ₅ H ₁₂ O	88	123-51-3	ja
7	4,804	2-Methyl-1-Butanol*	**	C ₅ H ₁₂ O	88	137-32-6	ja
9	6,842	(cis)-3-Hexene-1-ol*	*	C ₆ H ₁₂ O	100	544-12-7	ja
10	9,400	6-methyl-5-Hepten-2-on?	*	C ₈ H ₁₄ O	126	110-93-0	nein
12a	11,575	2-Methoxy-Phenol*	*	C ₇ H ₈ O ₂	124	90-05-1	ja
12b	11,806	Nonanal*	***	C ₉ H ₁₈ O	142	124-19-6	ja
13	12,664	1,2-Dimethoxy-Benzen*	***	C ₈ H ₁₀ O ₂	138	91-16-7	nein
15	13,802	Decanal*	*	C ₁₀ H ₂₀ O	156	112-31-2	ja

Anzahl der Sternchen in Spalte EAD (*, **, ***) zeigt die Sensitivität der Antenne (Signalstärke relativ zur Stoffmenge)

wahl an Stoffen, die die verschiedenen Zersetzungsstadien charakterisieren, wurde in einem Fallenversuch getestet. Darunter waren die Aldehyde Hexanal, Nonanal und Decanal; die Phenole 2-methoxy-Phenol und 4-methoxy-Phenol; die Alkohole 3-methyl-1-Butanol, 2-methyl-1-Butanol; 1,3-Butandiol, 2,3-Butandiol; als typischen Grünblattduft 3-Hexen-1-ol; als pilzspezifische Komponenten 3-Octen-1-ol und 3-Octanon sowie die Terpene Eucalyptol und Limonen. Acht dieser Substanzen wurden mit elektroantennographischen Methoden als von *T. domesticum* wahrnehmbar erkannt. Die Stoffe wurden entsprechend der analysierten Abgabern von Rindenproben in Lösungsmittel Ethanol in einem randomisierten Blockdesign in 6 verschiedenen Stoffmixturen (1-6) gegenüber einer Kontrolle (K) mit reinem Ethanol mit je 5 Wiederholungen in Kreuz-Fensterfallen ausgebracht. Es wurden insgesamt nur sehr geringe Fangzahlen erreicht (Abb. 7). Die konkurrierende starke Lockwirkung des Aggregationspheromons ausgehend von natürlichem, besiedeltem Brutmaterial in der näheren und weiteren Umgebung ist sehr wahrscheinlich und versuchstechnisch nicht zu vermeiden. Dennoch zeigten sich leicht erhöhte Fangzahlen für die

Fallenvariante mit verstärkten Abgabern für Aldehyde, ebenso wie für die Phenolvariante. Deren Hauptkomponenten sind Hexanal, Nonanal und Decanal sowie 2-methoxy-Phenol und 4-methoxy-Phenol.

Die Duftstoffanalysen des Stehendbefalls aus dem Jahr 2003 zeigten, wie bereits erwähnt, ein zu den Rindenproben deutlich verschiedenes Spektrum. Nonanal wurde als einzige der ermittelten wahrnehmbaren Substanzen auch im Stehendbefall gefunden, jedoch zeigte sich kein Unterschied zwischen befallenen und unbefallenen Bäumen. Die Abgaberrate von Nonanal aus Bäumen des Einschlagsversuchs war jedoch signifikant erhöht. Aufgrund der Homogenität der Proben wurden im Folgejahr 2004 erneut Kontrollmessungen an unbefallenen Buchen durchgeführt, da erneuter Stehendbefall nicht mehr beobachtet wurde. Die Messungen beider Jahre sind in einer Hauptkomponentenanalyse in Abbildung 8 dargestellt. Eingang in die Analyse fanden pro Datenpunkt die identifizierten Stoffe ($n_{\text{ges}}=140$) und deren Abundanzen.

Deutlich zeigt sich die große Ähnlichkeit der Paarvergleichsproben 2003. Die Duftmuster befallener

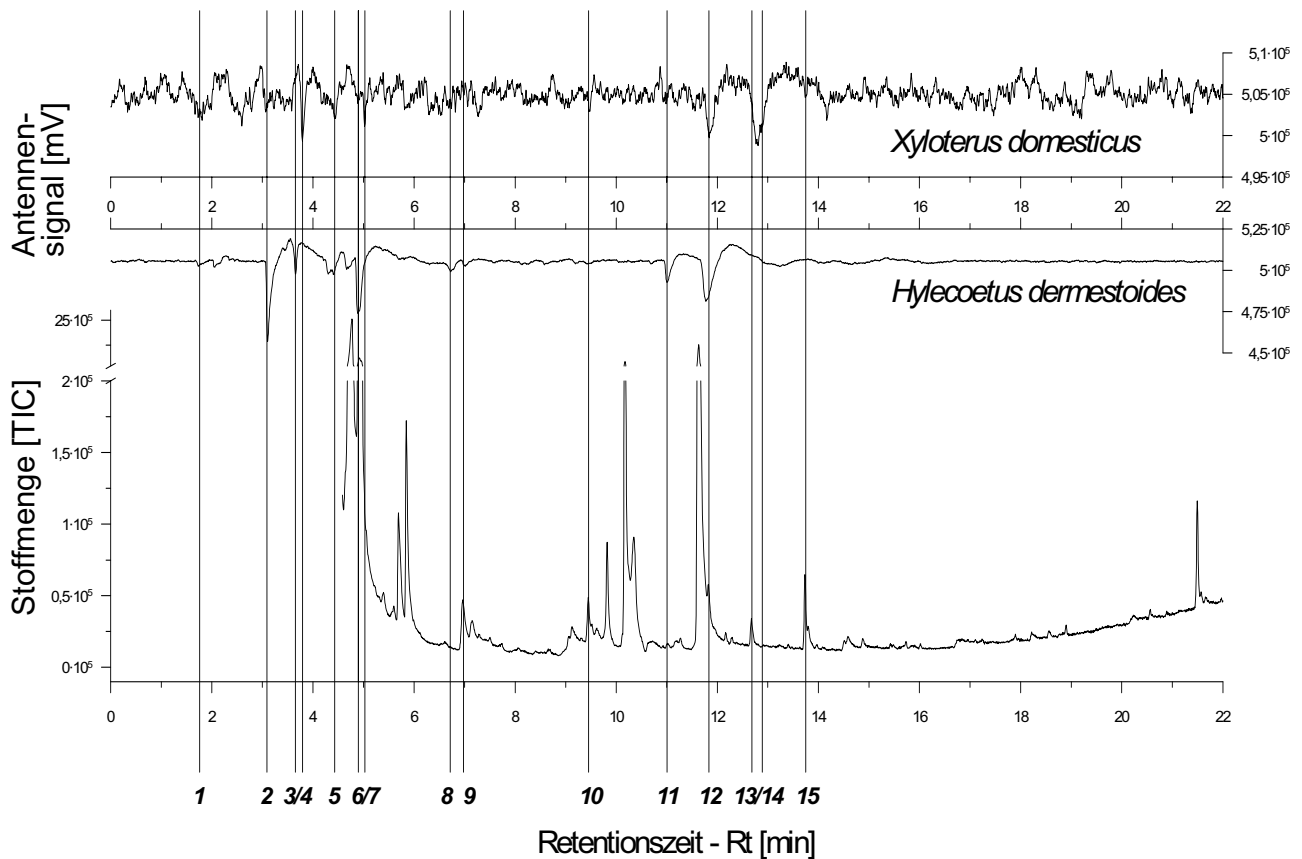


Abb. 4: Volatile Inhaltsstoffe einer Rindenprobe (Buche, nach 1 Jahr waldlagernd, frischer Befall durch *T. domesticum*), die als stark attraktiv eingestuft wurde. – GC/MS-EAD Analytik: Gaschromatogramm (unten) zeigt die Einzelsubstanzen als Peaks. Elektroantennogramme von *Hylecoetus dermestoides* und *Trypodendron domesticum*-♀♀ (oben) zeigen die korrespondierende Antennenreaktion auf die jeweiligen Stoffe.

Identifikation der Substanzpeaks: 1: Lösungsmittel (Methanol & CH₂Cl₂) – 2-5, 8,11,14: nicht identifiziert – 6: 3-methyl-1-Butanol – 7: 2-methyl-1-Butanol – 9: cis-3-Hexene-1-ol – 10: 6 methyl-5-Heptene-2-on – 12: 2-methoxy-Phenol + Nonanal – 13: 1,2-dimethoxy-Benzen – 15: Decanal.

Fig. 4: Volatile compounds of a bark sample (beech, after one year storing, freshly infested with *T. domesticum*) classified as “attractive”. – GC/MS-EAD analysis: Gaschromatogram (bottom) shows single compounds as peaks. Electroantennograms of *Hylecoetus dermestoides* and *Trypodendron domesticum*-♀♀ (top) show corresponding antennal response to the particular compounds.

Identification of compound-peaks: 1: solvent (methanol & CH₂Cl₂) – 2-5, 8,11,14: not identified – 6: 3-methyl-1-butanol – 7: 2-methyl-1-butanol – 9: cis-3-hexene-1-ol – 10: 6 methyl-5-heptene-2-one – 12: 2-methoxy-phenol + nonanal – 13: 1,2-dimethoxy-benzene – 15: decanal.

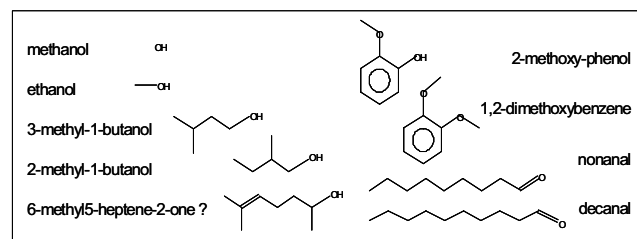


Abb. 5: Von *T. domesticum* wahrgenommene Stoffe, ermittelt aus GC/MS-EAD Experimenten. Ethanol, 2-methoxy-Phenol, Nonanal und 4-methoxy-Phenol wurden zusätzlich als Reinsubstanz getestet: Alle Komponenten werden sehr sensitiv wahrgenommen und bis zu einer Konzentration von 0.1 ppb in Luft detektiert.

Fig. 5: Von *T. domesticum* wahrgenommene Stoffe, ermittelt aus GC/MS-EAD Experimenten. Ethanol, 2-methoxy-Phenol, Nonanal und 4-methoxy-Phenol wurden zusätzlich als Reinsubstanz getestet: Alle Komponenten werden sehr sensitiv wahrgenommen und bis zu einer Konzentration von 0.1 ppb in Luft detektiert.

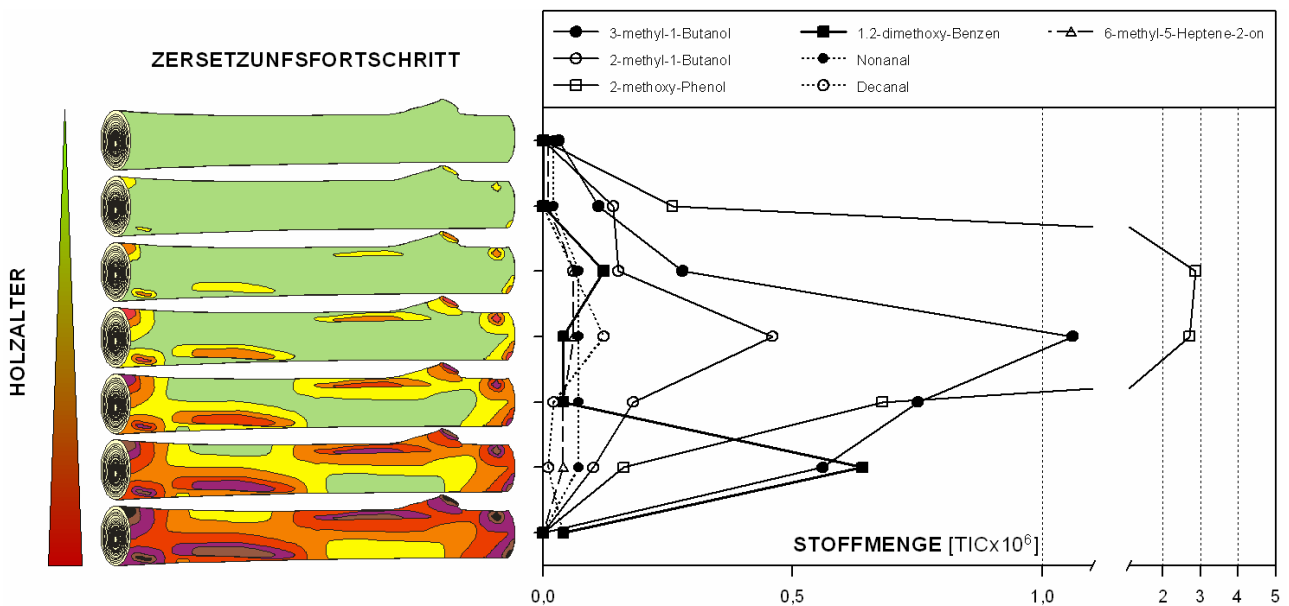


Abb. 6: Morphologisches Erscheinungsbild der Zersetzungsstadien mit zunehmendem Holzalter und deren entsprechende Emissionsraten der von *T. domesticum* wahrgenommenen Substanzen. Maximaler Käferbefall in den Stadien 3 bis 6.

Fig. 6: Outward appearance of decay states with incremental aging and corresponding emission rates of compounds perceived by *T. domesticum*. Maximum infestation during states 3 to 6.

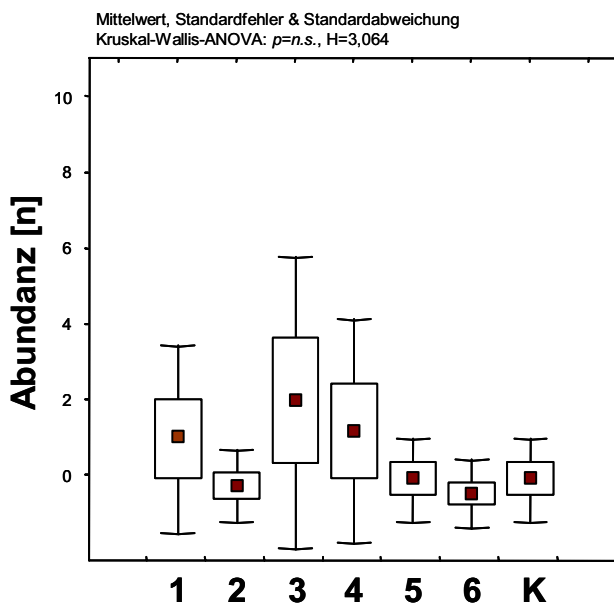


Abb. 7: Mittlere Fangzahlen der verschiedenen Stoffgemische. Dominierende Komponenten der Lockstoffformulierungen für Fallenvariante 1-6: 1: „Grünblatt-Duftstoffe“ – 2: C4/C5-Alkohole – 3: Aldehyde – 4: Phenole – 5: Pilz (C8) – 6: Terpene – K: „Kontrolle“= Ethanol.

Fig. 7: Means of individuals of *T. domesticum* caught with different mixtures of pure compounds in different release rates. Main components of attractant-formulation in traps 1-6: 1: „green leaf volatiles (GLV's)“ – 2: C4/C5-alcohols – 3: aliphatic aldehydes – 4: phenols – 5: „fungus“ (C8) – 6: terpenes – K: „control“= ethanol.

und unbefallener Proben differieren nicht und entstammen der gleichen Grundgesamtheit. Deutlich hiervon getrennt sind jedoch die unbefallenen Kontrollbäume aus dem Jahr 2004.

Diskussion

Die olfaktorische Wirtsfindung von *Trypodendron domesticum* zeigt sich als sehr komplex. Der Käfer ist in der Lage sich in einer zeitlich und räumlich dynamischen „Duftlandschaft“ zu orientieren und unterschiedliche Brutssubstrate unter scheinbar gänzlich verschiedenen Situationen nutzen zu können. Wenngleich er an das optimale Wachstum seines Symbionten gebunden ist, was mit Bedingungen zur Holzfeuchte, Pilzkonkurrenz und Pflanzenabwehr im Holzsubstrat und abiotischen Faktoren verknüpft ist, werden diese Faktoren in eine chemische „Sprache“ transferiert. Klar wurde in der Untersuchung, dass die Schlüsselsubstanzen dieser Kommunikation eine eigenständige Dynamik besitzen, wenngleich einige durch chemische Stoffwechsel- oder Abbauprozesse der Stammkompartimente oder auch Pilze miteinander synchronisiert oder gar voneinander abhängig sind. Die Beurteilung eines geeigneten Brutssubstrates liegt in der Kombination verschiedener Komponenten. Die optimale Kombination mag einer Normalverteilung

entsprechen, in der einige Komponenten immer attraktiv wirken, andere nur bisweilen oder in Kombination mit weiteren. So müssen nicht zwangsläufig für einen Stehendbefall an einem lebenden Baum exakt die gleichen Stoffe befallsauslösend sein, die für den Lagerholzbefall gelten. Eine hohe Schnittmenge der Stoffe ist jedoch sehr wahrscheinlich. Das Duftstoffspektrum gefällter Bäume und Totholz diversifiziert sich mit zunehmender Zersetzung regelrecht. Stressfaktoren, wie sie im Falle des Stehendbefalls vorangegangen sein müssen, können z.B. Weichbastnekrosen verursachen (vgl. LANGENFELD-HEYSEY et al., 2006a; PARINI und PETERCORD, 2006), die durch absterbendes Zellmaterial *T. domesticum* geeignetes Brutmaterial suggerieren, das anaeroben Zersetzungsmechanismen im Totholz nicht nur ähnelt, sondern gleich ist. Ist die Abwehrkraft des Baumes ebenso geschwächt, können diese Besiedlungsversuche zum Erfolg führen und in Folge einer gestarteten Kettenreaktion das Absterben des Baumes verursachen. Auslöser ist im Wesentlichen nicht der Käfer, sondern auf großräumige Gebiete wirkende abiotische oder biotische Stressfaktoren oder eine Kombination beider. Diese im Interreg-Projekt wiederholt aufgeworfene Hypothese liefert auch eine Erklärungsmöglichkeit der beobachteten homogenen Duftstoffchemie des Stehendbefalls. Den charakteristischen Lockstoffen, die dort aus verschiedenen denkbaren Gründen nicht gefunden wurden, wirkten möglicherweise Zellheilungsprozesse der betroffenen Bäume zeitig entgegen. Was beobachtet wurde, war die nachschwingende Reaktion aller Bäume des betroffenen Gebiets. Die deutlich veränderten Duftmuster im Folgejahr 2004 wären demnach Zeichen eines Regenerationsprozesses. Die Erkenntnisse aus der vorliegenden Untersuchung zeigen einen deutliches „Mehr“ an semiochemischen Stoffen, als es mit Ethanol bislang bekannt war. Die Verursacher der festgestellten Botenstoffe sind noch nicht geklärt, es ergeben sich jedoch deutliche Hinweise. Grünblattduftstoffe wie cis-3-Hexen-1-ol dienen der Abgrenzung des Brutmaterials zu gesundem und frischem Holzmaterial. Octenol und andere Pilzmarker kennzeichnen das andere

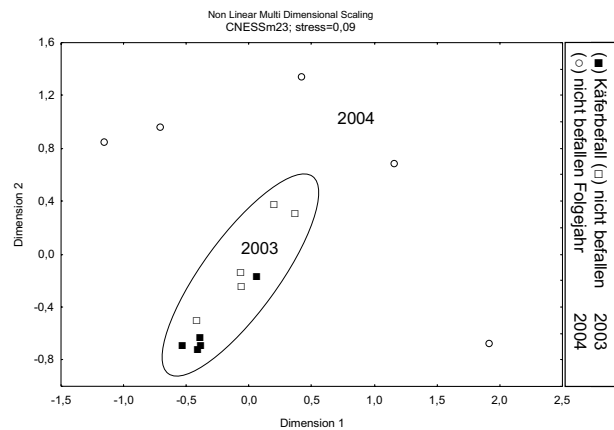


Abb. 8: Nicht lineare multidimensionale Skalierung von je 5 ausgewählten Duftstoffspektren: Duftstoffmuster der Bäume (Stammabsaugungen) des neuartigen Stehendbefalls, befallen (■), nicht befallen (□), Kontrollbäume (nicht befallen) im Folgejahr (○).

Fig. 8: Non linear multidimensional scaling of 5 selected odourspectra per group: Volatile pattern of beech trees (obtained with sampling jackets) of novel infestation of living trees. Infested (■), non infested (□), control (non infested) in the following year (○).

Ende, verbrauchtes und von Pilzen fortgeschritten besiedeltes Material. Neben Ethanol dienen eine Reihe weiterer verzweigter kurzkettiger Alkohole der Orientierung zu geeignetem Brutmaterial. Phenole können die Abwehrkraft des Baumes signalisieren, aber auch von mikrobiellen Organismen produziert werden. Die Bedeutung für *T. domesticum* ist unklar, dient ihm aber möglicherweise zur Fokussierung auf ein bestimmtes Zersetzungsstadium. Aldehyde zeigten sich in der Untersuchung als generelle Alterungsmarker, die quantitativ mit Zellsterben in Verbindung zu stehen scheinen. Sie würden demnach als generelle Holzalterungsmarker dienen, ggf. unabhängig von Gärungsprozessen und Mikroorganismen. Weiterführende differenzierende Verhaltenstests zu den ermittelten potentiellen Lock- und Ablenkstoffen, u.a. des 1,2-dimethoxy-Benzens erscheinen vielversprechend. Die Evolution hat *Trypodendron domesticum* als Lagerholz-/Totholzinsekt mit sehr empfindlichen und spezifischen Fähigkeiten „ausgestattet“, geschwächte Buchen zu erkennen und als Lebens- und Brutraum zu nutzen. Die hier vorgestellten Ergebnisse erweitern die bestehenden Kenntnisse über dessen Wirtsfindung und weisen zielgerichtet auf

Substanzen und chemische Prozesse hin, die eine unmittelbare funktionelle Reaktion auf die Ursachen der Erkrankung sind. Damit ist ein wichtiger Hinweis gefunden, der deren Erkennung ermöglichen kann.

Ergebnisse dieser Arbeit wurden unter dem folgenden Titel publiziert:

HOLIGHAUS, G.; SCHÜTZ, S. (2006): Odours of wood decay as semiochemicals for *Xyloterus domesticus* L. (Col., Scolytidae). In: Mitteilungen der deutschen Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie, Band 15 [2005] S. 161-165

Literatur

BYERS, JA. (1992): Attraction of bark beetles, *Tomicus piniperda*, *Hylurgops palliatus*, *T. domesticum* and other insects to alcohols and monoterpenes. - J. Chem. Ecol. 18 (12): 2385-2402

FIEBELKORN, G.; ERNST, D. UND POLLE, A. (2006): Untersuchungen von Genexpression und physiologischen Abwehrreaktionen an gesunden und geschädigten Buchen (*Fagus sylvatica* L.). Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz Nr. 59/06, 111 - 118

FRANKE, W. (1973): Untersuchungen über Aggregations-substanzen bei *Xyloterus domesticus*, L. (Col.: Scolytidae) Z. ang. Ent. 74: S. 319-332

KERCK, K. (1976): Zur Bedeutung der primären und sekundären Anlockung von *Xyloterus domesticus* L. (Col., Scolytidae). - Z. ang. Ent. 82: 119-123

KERCK, K. (1978): Einfluss baum- und käferbürtiger Reize auf das Suchverhalten von *Xyloterus domesticus*, L. - Naturwissenschaften 65: S. 542-543

KLIMETZEK, D. (1984): Grundlagen einer Überwachung und Bekämpfung der Nutzholzborkenkäfer (*Trypodendron spp.*) mit Lock- und Ablenkstoffen. - Freiburger Waldschutz-Abhandlungen, Hrsg. Forstzool. Inst. Alb. Ludw. Univ., Freiburg i. Br., Bnd. 5: 227 S.

KLIMETZEK, D.; KOHLER, J.; VITE J.P. und KOHNLE, U. (1986): Dosage response to ethanol mediates host selection by 'secondary' bark beetles. Naturwissenschaften 73: 5, S. 270-272

LANGENFELD-HEYSE, R.; LANG, CH., FRITZ, E.; PETERCORD, A.; POLLE, A. (2006a): Stehendbefall von *Fagus sylvatica* L. mit *Trypodendron* - anatomische Untersuchungen. Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz, Nr. 59/06, S. 79 - 94

MOECK, H. A. (1968): Electron microscopic studies of antennal sensilla in the ambrosia beetle *Trypodendron lineatum* (OLIVIER) (Scolytidae). Canadian Journal of Zoology, 46: 521-570

PARINI, C. und PETERCORD, R. (2006): Der Laubnutzholzborkenkäfer *Trypodendron domesticum* L. als Schädling der Rotbuche. Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz Nr. 59/06, S. 63 - 78

PETERCORD, R. (2006b): Totholzmanagement in Buchenwäldern. Mitteilungen aus der Forschungsanstalt für Waldökologie und Forstwirtschaft Rheinland-Pfalz Nr. 59/06, S. 191 - 202

RAMISCH, H. (1984): Zur Wirtsfindung von *T. domesticum* und *Trypodendron lineatum* (Col.: Scolytidae) Dissertation Universität Göttingen: 288 S.

SCHROEDER, L.M. & LINDELÖW, A. (1988): Attraction of scolytids and associated beetles by different absolute amounts and proportions of α -Pinene and Ethanol. J. of Chem. Ecol. (15): S. 807-817

SCHÜTZ, S.; WEISSBECKER, B.; APEL, K.-H. und WENK, M. (2004): Duftstoffsignale als Marker für die Befallsdisposition von Kiefern durch den Blauen Kiefernprachtkäfer *Phaenops cyanea* F. (Col., Buprestidae). - Mitt. dtsh. Ges. allg. angew. Ent. 14: 301-306

WEISSBECKER, B.; HOLIGHAUS, G. und SCHÜTZ, S. (2004): Gas chromatography with mass spectrometric and electroantennographic detection: analysis of wood odorants by direct coupling of insect olfaction and mass spectrometry. - J. Chromatography A 1056: 209-216

ZIMMERMANN, G. (1973): Vergleichende ökologisch-physiologische Untersuchungen an Ambrosiapilzen, assoziierten Bläuepilzen und Luftbläuepilzen. Diss. Univ. Göttingen

Danksagung

Die Untersuchungen wurden unterstützt durch das Interreg III A DeLux Projekt und das Land Rheinland-Pfalz. Wertvolle Hilfe leisteten Dr. Ralf Petercord (Trippstadt) und Mitarbeiter bei der Probennahme, Stefan Dötterl (Bayreuth) mit CNESS und Björn Weis (Göttingen) bei der Datenaufbereitung.

Autorenanschriften:

Gerrit Holighaus und Prof. Dr. Stefan Schütz
Georg-August-Universität Göttingen
Institut für Forstzoologie und Waldschutz
Büsgenweg 3, D-37077 Göttingen
Tel. 0551-393610 und 0551-393601

Email: gholigh@gwdg.de
stefan.schuetz@forst.uni-goettingen.de