



## UvA-DARE (Digital Academic Repository)

### Isomers of green leaf volatiles in *Nicotiana attenuata* and their role in plant-insect interactions

Allmann, S.

**Publication date**  
2012

[Link to publication](#)

#### **Citation for published version (APA):**

Allmann, S. (2012). *Isomers of green leaf volatiles in Nicotiana attenuata and their role in plant-insect interactions*. [Thesis, fully internal, Universiteit van Amsterdam]. Wöhrmann Printing Service.

#### **General rights**

It is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), other than for strictly personal, individual use, unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

#### **Disclaimer/Complaints regulations**

If you believe that digital publication of certain material infringes any of your rights or (privacy) interests, please let the Library know, stating your reasons. In case of a legitimate complaint, the Library will make the material inaccessible and/or remove it from the website. Please Ask the Library: <https://uba.uva.nl/en/contact>, or a letter to: Library of the University of Amsterdam, Secretariat, Singel 425, 1012 WP Amsterdam, The Netherlands. You will be contacted as soon as possible.

## ZUSAMMENFASSUNG

Pflanzen gebrauchen Duftstoffe, so wie wir unsere Stimme – zur Kommunikation: wir können laut und leise sprechen, mit freundlichem oder aggressivem Unterton, und wir gebrauchen unterschiedliche Laute um Wörter zu formen und Informationen zu übermitteln. Bei Pflanzen entsprechen die unterschiedlichen Laute den produzierten Duftstoffen und die Lautstärke entspricht den absoluten Mengen an freigesetzten Duftstoffen. Sie „tunen“ ihr Duftstoffbouquet in dem sie sowohl die Zusammensetzung als auch die Menge der einzelnen Duftstoffkomponenten variieren. Auf diese Weise können sie ihrer Umgebung unter anderem Informationen über ihren Gesundheitszustand zukommen lassen, oder von welchen Insekten sie gerade attackiert werden. Da Pflanzen ständigen Attacken durch Insekten ausgesetzt sind, haben sie ein ausgeklügeltes Verteidigungssystem entwickelt. Einige Verteidigungsstrategien haben einen direkten Effekt auf die Angreifer: Pflanzen können zum Beispiel Gifte in ihrem Gewebe anreichern und Insekten damit am Fressen hindern. Andere Verteidigungsstrategien sind indirekt und funktionieren indem die Pflanzen Duftstoffe in die Umgebung abgeben und somit die natürlichen Feinde ihrer Angreifer anlocken. Eine wichtige Gruppe dieser flüchtigen Pflanzenduftstoffe sind die sogenannten „Green Leaf Volatiles“ (GLVs), grüne Blattduftstoffe, die aus Fettsäuren hergestellt werden. GLVs werden von der Pflanze emittiert, sobald sie mechanisch verwundet oder durch Insekten angefressen wird. Viele Pflanzenfresser, und besonders die, die Pflanzenmaterial zerkauen, produzieren während des Fressvorgangs ein Mundsekret, das eine wichtige Rolle bei der Duftstoff-Feinabstimmung der Pflanze spielt. Dieses Mundsekret enthält chemische Substanzen und Enzyme die von der Pflanze erkannt werden sobald sie mit dem verwundeten Blattmaterial in Berührung kommen. Die Pflanze fährt daraufhin ihre Verteidigung hoch, und initiiert unter anderem auch eine vermehrte Freisetzung von Duftstoffen. GLVs stellen eine dieser Duftstoffgruppen dar.

In meiner Doktorarbeit beschreibe ich wie GLVs von wildem Tabak, *Nicotiana attenuata*, synthetisiert werden, wie Pflanzenfraß durch Raupen des Tabakschwärmers *Manduca sexta* die Zusammensetzung von GLVs beeinflusst und was für Konsequenzen diese Veränderung der Duftstoffkomposition auf Insekten und deren Fraßfeinde hat.

GLVs werden durch den Oxylipin- Biosyntheseweg produziert, der mehrere Abzweigungen besitzt. Eine Abzweigung führt zur Synthese von GLVs, ein anderer zur Herstellung des Pflanzenhormons Jasmonsäure (JA). Beide Abzweigungen erhalten ihr Substrat durch eine Lipoxygenase (LOX), ein Enzym, das molekularen Sauerstoff in

Fettsäuren einbaut. Pflanzen können mehr als eine Lipoxygenase kodieren. Interessanterweise versorgen manche dieser Enzyme nur einzelne Abzweigungen des Oxylin- Synthesewegs mit oxigenierten Fettsäuren. Wir haben gezeigt, dass zwei Lipoxygenasen des wilden Tabaks (NaLOX2 und NaLOX3) nur spezifische Abzweigungen versorgen: Während NaLOX3 Aktivität für die Bildung von Jasmonsäure notwendig ist, gebraucht die Pflanze NaLOX2 um GLVs zu produzieren. Diese Schlussfolgerungen beruhen auf Arbeiten mit transgenen Tabak Pflanzen bei denen entweder die Genexpression von *NaLOX2* (*ir-lox2*) oder *NaLOX3* (*ir-lox3*) deutlich verringert war. Während eine reduzierte *NaLOX2* Expression die Produktion von GLVs stark beeinflusste, ohne dabei die Jasmonsäure Werte in der Pflanze zu verändern, führte die Reduktion der *NaLOX3* Expression zu deutlich niedrigeren Jasmonsäure Werten, ohne dabei die Emission von GLVs zu beeinflussen (**Kapitel 2**).

GLVs bestehen aus einem Gerüst aus 6 Kohlenstoffatomen. (*Z*)-3-hexenal ist dabei das GLV das von der Tabakpflanze in den größten Mengen produziert wird. Dieses Aldehyd kann zu seinem entsprechenden Alkohol und dessen Ester, oder zu seinem (*E*)- isomer, (*E*)-2-hexenal, umgewandelt werden. Während (*E*)-2-hexenal dieselbe molekulare Formel wie sein (*Z*)- isomer besitzt, ist die Struktur eine andere.

Wir konnten zeigen, dass mechanisch verwundete Blätter des wilden Tabaks große Mengen an (*Z*)- GLVs und geringe Mengen an (*E*)- GLVs freisetzen. Erstaunlicherweise veränderte sich das Verhältnis von (*Z*)- und (*E*)- GLVs dramatisch, wenn Raupen des Tabakswärmers von der Pflanze aßen, oder wenn kleine Mengen an Mundsekret der Raupe auf den Blattwunden verteilt wurden. Obwohl (*Z*)- und (*E*)- isomere die gleiche molekulare Formel besitzen, können sich deren Gerüche sehr voneinander unterscheiden. Während (*Z*)-3-hexenal zum Beispiel nach frisch geschnittenem Grass riecht, besitzt (*E*)-2-hexenal einen eher süßlich beißenden Geruch. In Feldexperimenten konnten wir zeigen, dass Wanzen der Gattung *Geocoris*, die auf Grund ihrer großen Augen auch „big-eyed bugs“ genannt werden und sich von Eiern und kleinen Raupen des Tabakswärmers ernähren, (*Z*)- und (*E*)- GLVs sowie unterschiedliche (*Z*)/(*E*)-Verhältnisse unterscheiden können. Folglich registrieren die natürlichen Feinde von *Manduca* Raupen die Veränderungen in der GLV- Zusammensetzung und gebrauchen diese „flüchtigen“ Informationen um Pflanzen mit entsprechender Beute zu finden. Erstaunlicherweise stellte sich bei näheren Untersuchungen im Labor heraus, dass die Umwandlung von (*Z*)-3- zu (*E*)-2-hexenal durch ein Enzyme im Mundsekret der Raupe katalysiert wurde und dass somit in diesem Fall die Raupe selbst und nicht die Pflanze für ihren eigenen Verrat verantwortlich ist (**Kapitel 3**).

Nicht nur *Geocoris*, sondern auch die Weibchen des Tabakswärmers können (*Z*)- und (*E*)-GLVs unterscheiden und diese Information gebrauchen um geeignete Pflanzen für ihre Nachkommen zu finden. Wir konnten zeigen, dass (*Z*)- und (*E*)- isomere unterschiedliche Regionen im Gehirn der Mottenweibchen (Antennallobus) aktivieren und dass Motten im Feld mehr Eier auf solche Pflanzen ablegten, die mit (*Z*)- und nicht mit (*E*)-GLVs parfümiert wurden, oder deren (*Z*)/(*E*)- Verhältnis relativ hoch war (**Kapitel 4**). Auf diese Weise können Motten solche Pflanzen vermeiden, die schon von anderen Raupen befallen sind und die ihr Verteidigungssystem wahrscheinlich bereits hochgefahren haben.

Die ersten Schritte zur Identifizierung des Enzym, das für die Umwandlung von (*Z*)-3- zu (*E*)-2-hexenal verantwortlich ist, sind getan. Wir haben bereits größere Mengen an Raupen-“spucke” gesammelt und mit Hilfe von biochemischen Fraktionierungsmethoden eine aktive Fraktion aufgereinigt, die größer als 50kDa und in einem großen pH-Bereich aktiv ist (**Kapitel 5**). Mit den in Kürze zur Verfügung stehenden genomischen und transkriptomischen Datenbanken von *Manduca sexta* sind wir zuversichtlich, die Isomerase bald zu identifizieren.