

University of Groningen

Pheromones of the housefly

Noorman, N

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2001

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Noorman, N. (2001). *Pheromones of the housefly: A chemical and behavioural study*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, 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), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

Huisvliegen (*Musca domestica* L.) bezorgen mens en dier veel overlast. Bovendien kunnen deze vliegen meer dan 100 pathogenen overbrengen. Ze kunnen vectoren zijn van maag- en darmwormen, of van hun eieren, en van pathogenen van ziekten als dysenterie, gastroenteritus, thyfus, cholera and tuberculose. De aanwezigheid van organisch materiaal en de relatief hoge temperaturen die in stallen en woningen kunnen heersen bevorderen een snelle ontwikkeling en maken mogelijk dat de vliegen het hele jaar door aanwezig zijn. Het hoofddoel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift was na te gaan welke rol bepaalde vliegeigen signaalstoffen (semiochemicaliën) kunnen spelen bij een milieuvriendelijke bestrijding van huisvliegen.

Volgens de literatuur van de laatste drie decennia is er op het lichaam van vrouwtjes van huisvliegen een feromoon aanwezig dat sexueel gedrag bij de mannetjes opwekt. Men veronderstelt dat (Z)-9-tricoseen ('muscalure'), een van de meer dan 150 stoffen die op de cuticula van vrouwtjes voorkomen, de belangrijkste component is van dit vrouwelijk sexferomoon. (Z)-9-tricoseen wordt in relatief grote hoeveelheden op de vrouwtjes aangetroffen.

Het onderzoek naar de produktie van cuticulaire koolwaterstoffen en naar hun rol in het gedrag van de vliegen is tot nu toe voornamelijk verricht aan laboratoriumstammen. Willen we echter de vliegen in hun natuurlijke omgevingen kunnen bestrijden dan is onderzoek aan wild-type-vliegen uiteraard ook nodig. Daarom hebben wij niet alleen onderzoek verricht aan vliegen van een zgn. WHO-stam, vliegen die al 40 jaar in het laboratorium in kweek zijn, maar ook aan vliegen afkomstig van een kippenopfokbedrijf (Van Diermen-stam) en van een rundveehouderij annex varkensfokkerij (Pesse-stam).

In hoofdstuk 2 worden gaschromatografische studies beschreven waaruit bleek dat er grote verschillen bestonden tussen de samenstelling van huidstoffen van vrouwtjes van de WHO-stam en van de Van Diermen- en Pesse-stam. Het bleek dat bij de WHO-vrouwtjes koolwaterstoffen met 23-25 C-atomen 65% van de totale hoeveelheid cuticulaire koolwaterstoffen uitmaakten. Op eerste-generatie wild-type-vrouwtjes kwam echter niet meer dan 2% van deze stoffen voor. Op 5-20 dagen oude WHO-vrouwtjes maakte (Z)-9-tricoseen 20-30% van de totaal aanwezige koolwaterstoffen uit, terwijl dit bij wild-type-vrouwtjes minder dan 0.5% was. Op

mannetjes van zowel de WHO- als de wild-type-stammen was (Z)-9-heptacoseen de meest voorkomende koolwaterstof. Mannetjes produceerden geen (Z)-9-tricoseen. Verder werd aangetoond dat in de loop van de tijd in gemengde populaties (mannetjes en vrouwtjes tezamen in een kooi) door onderlinge contacten (Z)-9-tricoseen van vrouwtjes naar mannetjes werd overgebracht en (Z)-9-heptacoseen van mannetjes naar vrouwtjes. Door deze overdracht verandert de oorspronkelijke cuticulaire koolwaterstofsamenstelling bij mannetjes en vrouwtjes, wat wellicht de ene sexe in staat stelt vast te stellen of de andere sexe gecopuleerd heeft of niet.

Bij vergelijking van de hoeveelheden (Z)-9-tricoseen en een aantal andere koolwaterstoffen op vliegen die een verschillend aantal generaties in kweek waren gehouden bleek dat, terwijl er op eerste-generatie laboratorium wild-type-vrouwtjes nauwelijks of geen (Z)-9-tricoseen voorkwam, de hoeveelheid van deze stof aanzienlijk was toegenomen na 10 of meer generaties in het laboratorium (hoofdstuk 2 en 3). Blijkbaar wordt de aantrekkelijkheid van vrouwtjes voor mannetjes hoger naarmate er meer (Z)-9-tricoseen op vrouwtjes aanwezig is. Wij veronderstelden dat bij hoge populatiedichtheden in opeenvolgende generaties selectie optreedt. Deze selectie had echter geen invloed op de produktie van andere koolwaterstoffen door de vrouwtjes, behalve op die van tricosaan waarvan de produktie aan die van (Z)-9-tricoseen gekoppeld bleek te zijn.

Ondanks de kleine hoeveelheden muscalure op wild-type-vliegen werden geen verschillen in reproductiecapaciteit van huisvliegen van verschillende stammen aangetoond. Dit suggereert dat copulatiegedrag niet alleen wordt bepaald door de hoeveelheid (Z)-9-tricoseen. Om de rol van muscalure nader te onderzoeken hebben we het sexuele gedrag van mannetjes bestudeerd ten opzichte van vrouwtjes van verschillende stammen die verschillende hoeveelheden muscalure bevatten. Verder hebben we de gevoeligheid voor muscalure bepaald van antennale reukcellen van mannetjes en vrouwtjes van de verschillende stammen door de electrofysiologische reacties (electroantennogrammen = EAG's) van deze cellen te meten bij prikkeling met muscalure (hoofdstuk 3). De resultaten toonden aan dat de sexuele activiteit van mannetjes hoger was naarmate de vrouwtjes meer muscalure op hun cuticula hadden. Bovendien bleek dat mannetjes afkomstig van stammen waarvan de vrouwtjes meer muscalure bevatten ook actiever waren. Dit gaf aan dat selectie in laboratoriumkweken niet alleen de produktie van muscalure door de vrouwtjes verhoogt maar ook de (sexuele) activiteit van de mannetjes. Uit de

electrofysiologische reacties bleek dat zowel mannetjes als vrouwtjes van de drie verschillende stammen (muscalure) even goed konden ruiken. Dit suggereert dat verschillen in seksueel gedrag niet bepaald worden door een verschil in reukvermogen.

Behalve als feromoon hebben de cuticulaire koolwaterstoffen van insecten een belangrijke functie als waterbarrière, waardoor uitdrogen van de dieren wordt voorkomen. Het is bekend dat omgevingsfactoren de productie van cuticulaire koolwaterstoffen kunnen beïnvloeden. Zoals hierboven al vermeld nemen bij een constante temperatuur en relatieve vochtigheid de hoeveelheden van zowel muscalure als tricosaan op vrouwtjes van opeenvolgende generaties laboratoriumpopulaties toe, terwijl die van de andere koolwaterstoffen gelijk blijven. Dit bracht ons ertoe te veronderstellen dat temperatuur en vochtigheid hoofdzakelijk de hoeveelheden van de niet-feromooncomponenten bepalen en dat muscalure primair geproduceerd wordt als gevolg van een selectieproces bij hoge populatiedichtheden in geïsoleerde omgevingen. We verwachtten dat deze selectie sneller zou verlopen bij hoge dan bij lage populatiedichtheden.

In hoofdstuk 4 beschrijven we de invloed van relatieve vochtigheid, temperatuur en populatiedichtheid op de productie van cuticulaire koolwaterstoffen. De resultaten tonen aan dat bij zowel mannelijke als vrouwelijke vliegen de productie van deze stoffen onder zeer vochtige omstandigheden (90% r.h.) wordt vertraagd tot tenminste 3 dagen na uitkomen uit de pop. Acht dagen na uitkomen bevatten vrouwtjes nog steeds minder van deze stoffen bij 90% r.h. dan bij 50 en 20% r.h., dan op de mannetjes bij alle drie relatieve vochtigheden evenveel koolwaterstoffen aanwezig zijn. Vermoedelijk houdt dit verband met het feit dat mannetjes, die actiever zijn dan vrouwtjes, meer cuticulaire koolwaterstoffen nodig hebben om waterverlies tegen te gaan dan vrouwtjes. Er werden geen aanwijzingen gevonden dat de relatieve vochtigheid de muscalureproductie anders beïnvloedt dan de productie van de andere koolwaterstoffen. Wat betreft de invloed van de temperatuur bleek dat zowel mannetjes als vrouwtjes bij 35 °C meer koolwaterstoffen produceren dan bij 20 °C. Bij mannetjesvliegen zijn de relatieve hoeveelheden geproduceerde huidstoffen bij de twee temperaturen niet verschillend. Muscalure wordt door de vrouwtjes bij beide temperaturen in even grote hoeveelheden aangemaakt, maar de relatieve hoeveelheden methyl- en dimethylnonacosanen waren bij de vrouwtjes significant hoger bij 35 °C dan bij 20 °C. Wij veronderstellen dat hierdoor het smeltpunt van het totale mengsel van huidstoffen wordt verhoogd, waardoor bij relatief hoge temperaturen waterverlies

wordt vermeden. Doordat het mengsel van koolwaterstoffen op mannetjes een hoger smeltpunt heeft dan dat op vrouwtjes (respectievelijk 39,4 and 36,8 °C; Gibbs *et al.*, 1995) nemen we aan dat er bij mannetjes geen aanleiding bestond de samenstelling van de cuticulaire koolwaterstoffen te veranderen toen de temperatuur wordt verhoogd tot 35 °C. Bij lage populatiedichtheden (<20 vliegen/kooi) produceren alle vrouwtjes van de achtste generatie in het laboratorium geringe hoeveelheden muscalure, terwijl de aanwezigheid van muscalure niet werd aangetoond op vrouwtjes van populaties met hoge dichtheden (>300 vliegen/kooi).

Uit het bovenstaande blijkt dat onze hypothese dat de produktie van muscalure niet in dezelfde mate wordt beïnvloed door veranderingen in vochtigheid en temperatuur als die van de andere cuticulaire koolwaterstoffen niet juist was: de produktie van alle koolwaterstoffen wordt in dezelfde mate beïnvloed door deze factoren. De dichtheidsexperimenten tonen aan dat selectie zeer snel kan optreden en dat hiermee terdege rekening moet worden gehouden bij laboratoriumkweken. We veronderstellen dat in kleine populaties, door hun relatief grote bijdrage aan de totale populatie, de eigenschappen van weinig vrouwtjes sneller tot uitdrukking komen in volgende generaties dan in grote populaties.

In experimenten waarbij de invloed van cuticulaire semiochemicaliën op het seksueel gedrag van *M. domestica* wordt onderzocht, worden deze stoffen meestal plaatselijk op de thorax van het insect aangebracht in een organisch oplosmiddel zoals hexaan of aceton. In hoofdstuk 5 laten we zien dat deze manier van toedienen van semiochemicaliën de conditie van de vlieg sterk kan aantasten. Bovendien kan dan de verdeling van deze stoffen over de verschillende onderdelen van het vliegenlichaam afwijken van de natuurlijke verdeling. Wij hebben aangetoond dat koolwaterstoffen die vloeibaar zijn bij kamertemperatuur, op een niet-agressieve manier door de vliegen worden opgenomen wanneer ze over filtreerpapier lopen waarop de pure stoffen zijn gepipetteerd. De verdeling van deze stoffen over het lichaam is dan veel meer in overeenstemming met de natuurlijke verdeling van stoffen over het lichaam. Hoe hoger de hoeveelheden koolwaterstof op het filtreerpapier en hoe langer de vliegen op het filtreerpapier verblijven des te hoger de hoeveelheden die worden opgenomen.

Met deze nieuwe 'zelf-opname'-techniek werd (Z)-9-heptacoseen of (Z)-9-pentacoseen op de vrouwtjes aangebracht. De eerste stof is in grote hoeveelheden aanwezig op mannelijke huisvliegen en komt slechts in kleine hoeveelheden voor op de vrouwtjes. (Z)-9-pentacoseen, dat niet op huisvliegen wordt gevonden, is het

vrouwelijk sexferomoon van ‘de kleine huisvlieg’ *Fannia canicularis*, die vaak sympatrisch met *M. domestica* voorkomt. Op grond hiervan veronderstelden we dat zowel (Z)-9-heptacoseen als (Z)-9-pentacoseen een remmende werking zouden kunnen hebben op het sexueel gedrag van mannelijke huisvliegen. We vonden echter dat (Z)-9-heptacoseen een copulatiebevorderend effect heeft en dat (Z)-9-pentacoseen het sexueel gedrag van mannetjes niet beïnvloedt.

In Hoofdstuk 6 wordt een radar-Doppler actometer beschreven, waarmee bewegingen van individuele lichaamsdelen van vliegen kunnen worden geregistreerd. Door de vorm en amplituden van de registraties (actogrammen) met elkaar te vergelijken kan onderscheid worden gemaakt tussen de bewegingen van kop, poten en vleugels. De kopbewegingen die optreden bij prikkeling met (Z)-9-tricoseen, (Z)-9-heneicoseen en met een 7 : 3 mengsel van deze twee stoffen gebruikten we om enig inzicht te krijgen in de gedragsreacties van huisvliegen op deze stoffen. Deze reacties werden, zowel bij mannetjes als bij vrouwtjes, vergeleken met EAG-registraties verkregen in eerder uitgevoerde experimenten (hoofdstuk 3) waarbij dezelfde stoffen werden gebruikt. Hoewel (Z)-9-heneicoseen bij zowel mannetjes als vrouwtjes hoge EAG's opwekte, traden er bij beide sexen geen gedragsreacties op bij prikkeling met deze stof. Vergelijking van onze resultaten met die van veldexperimenten beschreven in de literatuur deed ons veronderstellen dat (Z)-9-tricoseen zowel als aggregatieferomoon kan functioneren dat mannetjes en vrouwtjes samenbrengt als sexferomoon waarbij mannetjes worden aangezet tot copulatie.

In hoofdstuk 7 beschrijven we het ovipositiegedrag van vrouwelijke huisvliegen. We toonden aan dat vrouwtjes bij voorkeur hun eieren in clusters in spleten in een ruwe, vochtige ondergrond deponeren. Veel vrouwtjes leggen hun eieren gestapeld op een en dezelfde plek. We hebben sterke aanwijzingen gevonden dat de geur van pasgelegde eieren (tot 30 minuten na ovipositie) aantrekkelijk is voor zwangere vrouwtjes en deze aanzet tot ovipositie. Dit suggereert dat tegelijkertijd met de eieren een ovipositieferomoon wordt afgezet. Oudere eieren (2-6 uur oud) induceerden geen ovipositie wat erop wijst dat het feromoon snel na ovipositie verdampt of wordt afgebroken. Ook de geur van rottend organisch materiaal, mogelijke voedselbronnen voor de larven, trok zwangere vrouwtjes aan en zette deze aan tot eileggen.

Voor zover ons bekend is dit de eerste aanwijzing dat huisvliegen gebruik maken van een ovipositieferomoon. Toepassing van dit feromoon op geschikte locaties binnen hun habitat zou nieuwe mogelijkheden kunnen openen voor milieuvriendelijke

bestrijding van de vliegen. Verwijdering van individuen uit de populatie op een moment dat ze nog geen overlast bezorgen en zich nog niet kunnen voortplanten is een meer efficiënte manier van bestrijding dan verwijdering van volwassen individuen. Identificatie van het ovipositieferomoon verdient grote prioriteit.