



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Das Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern in der
Piper-Pheidole-Assoziation

verfasst von

Katrin Anna Friedl

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt: A 190 445 333

Studienrichtung lt. Studienblatt: Lehramtsstudium UF Biologie & Umweltkunde und UF Deutsch

Betreut von: Dipl. Biol. Dr. Veronika Mayer

Eidesstattliche Erklärung:

„Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.“

Gewidmet meinen drei wunderbaren Geschwistern

Sebastian, Julia und Jakob

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	9
2	Material und Methoden.....	12
2.1	Besucheranalyse und Blattentwicklung.....	12
2.1.1	Standortbeschreibung.....	12
2.1.2	Auswahl der Versuchspflanzen.....	13
2.1.3	Verhaltensbeobachtung.....	16
2.1.4	Dokumentation des Blattverfalls.....	17
2.2	Untersuchung der Pearl bodies.....	17
2.2.1	Anatomische und morphologische Untersuchung der Pearl bodies.....	17
2.2.1.1	Binokularaufnahmen von frischen Pearl bodies.....	18
2.2.1.2	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Pearl bodies.....	18
2.2.1.3	Lichtmikroskopische (=LM) Untersuchung der Pearl bodies.....	18
2.2.1.4	Anzahl der Pearl bodies pro Blattstadium.....	19
2.2.1.5	Größe der Pearl bodies.....	19
2.2.2	Mikrochemische Untersuchung der Pearl bodies.....	19
2.3	Duftstoffanalyse und Ölzellenuntersuchung bei den jungen Blättern.....	20
2.3.1	Duftstoffsammlung und -analyse.....	20
2.3.2	Ölzellen-Untersuchung.....	20
3	Ergebnisse.....	22
3.1	Besucheranalyse und Blattentwicklung.....	22
3.1.1	Verhaltensbeobachtung.....	22
3.1.1.1	Einfluss der Blattentwicklung auf das Patrouillier-Verhalten.....	22
3.1.1.2	Einfluss der Tagesphasen auf das Patrouillier-Verhalten.....	24
3.1.1.3	Einfluss der Niederschlagsmenge auf das Patrouillier-Verhalten.....	26
3.1.1.4	Einfluss der Temperatur auf das Patrouillier-Verhalten.....	30
3.1.2	Charakterisierung der jungen Blätter.....	30
3.1.3	Blattentwicklung bei Ameisenausschluss.....	31
3.2	Untersuchungen der Pearl bodies.....	34
3.2.1	Anatomische und morphologische Untersuchung der Pearl bodies.....	34
3.2.1.1	Binokularaufnahmen von frischen Pearl bodies.....	34
3.2.1.2	LM-Untersuchung: Vergleich der Pbs mit den Fks des Petiolus.....	38
3.2.1.3	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung.....	40

3.2.1.4	Anzahl der Pearl bodies pro Blattstadium	42
3.2.1.5	Größe der Pearl bodies	43
3.2.2	Mikrochemische Untersuchung der Pearl bodies	44
3.3	Duftstoffanalyse und Ölzellenuntersuchung bei den jungen Blättern	46
3.3.1	Duftstoffanalyse: Ergebnisse der SPME-Fasern	46
3.3.2	Ölzellenuntersuchung	46
4	Diskussion	52
4.1	Schutzhypothese: Nutzen des Patrouillier-Verhaltens	52
4.1.1	Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern	52
4.1.2	Blattentwicklung bei Ameisenausschluss	53
4.1.3	Vorteil des Patrouillier-Verhaltens für die <i>Piper-Pheidole</i> -Assoziation	55
4.2	Nahrungshypothese: Anlockung durch Pearl bodies	57
4.2.1	Patrouillier-Verhalten und Pearl bodies-Produktion	57
4.2.2	Anatomie und Produktion der Pearl bodies	60
4.2.3	Inhaltsstoffe der Pearl bodies	61
4.3	Duftstoffhypothese: Anlockung durch Duftstoffe	64
4.3.1	Duftstoffe als Auslöser des Patrouillier-Verhalten bei <i>P. fimbriatum</i>	64
4.3.2	Duftstoffsammlung	65
4.3.3	Verteilung der Ölzellen	66
5	Zusammenfassung	68
5.1	Zusammenfassung	68
5.2	Abstract	69
6	Literaturverzeichnis	71
7	Danksagung	77
8	Lebenslauf	78

1 Einleitung

Herbivorie stellt einen enormen Eingriff im tropischen Regenwald dar. Laut Coley & Aide (1991) werden ca. 11% der jährlich produzierten Blattfläche durch Herbivoren oder Pathogene konsumiert. Besonders stark anfällig auf Blattfraß sind dabei die jungen Blätter der Pflanzen. Wie die >Optimal Defense Theory< von McKey (1974) nahelegt, handelt es sich gerade bei den jungen Blättern nicht nur um die gefährdetsten Pflanzenteile, sondern auch um die kostbarsten. Da ihr Beitrag zur Photosyntheseleistung im Vergleich zu älteren Blättern am höchsten ist (Harper 1989), scheint es naheliegend, dass sie auch den höchstmöglichen Schutz von der Pflanze erhalten sollten. Zudem ist die Wahrscheinlichkeit auf Herbivorie bei jungen Blättern ca. 5-100x höher als bei adulten Blättern (Coley & Aide 1991). Verantwortlich dafür sind vermutlich einige Faktoren, die die juvenilen Blätter von den adulten unterscheiden. Zunächst sind die jungen Blätter zarter und weniger faserig und zäh als die adulten, was für die Herbivoren eine leichtere Nahrungsaufnahme ermöglicht (Coley 1983; Lowman & Box 1983). Ein weiterer Grund ist, dass die jungen Blätter für Herbivoren kostbarere Inhaltsstoffe beinhalten. Junge Blätter enthalten 2-4 mal so viel Wasser wie adulte Blätter, aber vor allem auch deutlich mehr Stickstoff in Form von Alkaloiden, der für die Fitness der Herbivoren von Vorteil ist und eine limitierte Ressource im Regenwald darstellt (Feeny 1970; Mattson & Scriber 1987; Coley & Aide 1991; Kursar & Coley 1991). Zudem sind adulte Blätter in der Regel vermehrt durch Sekundärmetabolite geschützt, die in jungen Blättern in geringeren Mengen vorhanden sind. Zu den Sekundärmetaboliten gehören unterschiedliche Substanzen, die schädlich auf Herbivoren wirken und dadurch einen wichtigen Abwehrmechanismus für die Pflanze darstellen, beispielsweise Tannine oder Glucosinolate (Coley 1980; Badenes-Perez et al. 2014).

Da Pflanzen enorm viel Ressourcen in die Entwicklung von Biomasse stecken, ist es naheliegend, dass sie Methoden entwickelt haben, um deren Verlust möglichst gering zu halten. Aus diesem Grund existieren diverseste Abwehrmechanismen, die die Pflanzen vor Herbivoren schützen sollen, etwa mechanische, die vor allem Fressfeinde vor dem Zugang zur Pflanze abhalten sollen (etwa Trichome, Dornen, verdickte Zellwände oder auch zähere Blattstrukturen) oder chemische, beispielsweise toxische Inhaltsstoffe oder auch Sekundärmetabolite (Mithöfer & Schuman 2014; Grangier 2008).

Zudem lassen sich bei diesen Strategien konstitutive und induzierbare Abwehrmechanismen unterscheiden. Konstitutive Mechanismen sorgen für einen permanenten, also vorsorglichen Schutz vor Herbivoren. Induzierbare Mechanismen treten hingegen nur dann auf, wenn unmittelbar nach

einem Herbivorieangriff darauf mit Abwehr reagiert wird (Mithöfer & Schuman 2014; Grangier 2008; Tollrian & Harvell 1999).

Durch die enorme Sensibilität der jungen Blätter haben Pflanzen spezielle Strategien entwickelt, um sie vor Herbivoren zu schützen, etwa schnelles Blattwachstum, sekundäre Inhaltsstoffe, simultane Blattentwicklung oder auch die Verteidigung durch symbiontische Ameisenpartner (Coley & Barone 1996). Ameisen, die in Assoziation mit Myrmekophyten (= Pflanzen, die in Symbiose mit Ameisen leben) stehen und von diesen Nahrung und Unterkunft zur Verfügung gestellt bekommen, können ihrer Wirtspflanze sowohl einen konstitutiven, als auch induzierbaren Schutz anbieten (Heil & McKey 2003). Solche Symbiosen zwischen Ameisen und Pflanzen sind global bekannt und untersucht. Die besonders enge Verbindung bei den Myrmekophyten, bei der häufig sogar einer der beiden Partner ohne den anderen nicht existieren kann, beschränkt sich aber auf den tropischen und subtropischen Lebensraum (Mayer et al. 2014).

Gegenstand dieser Untersuchung sind die Myrmekophyten *Piper obliquum* und *Piper fimbriatum*, die von ihrem Ameisenpartner *Pheidole bicornis* sowohl konstitutiv als auch induzierbar geschützt werden. Bei den beiden Myrmekophyten handelt es sich um Unterwuchspflanzen des tropischen Regenwalds, die für ihre Ameisenpartner sowohl eine Unterkunft als auch eine Nahrungsquelle anbieten. Die Ameisen nutzen dabei die Hohlräume der Blattstiele und den aktiv ausgehöhlten Stamm der Pflanze als Wohnraum, Domatium genannt. Im Petiolus werden für die Symbiosepartner Futterkörperchen gebildet, auch bezeichnet als Piper bodies oder Delpinian bodies (Penzig 1892; Jolivet 1996), die den Ameisen reichhaltige Nährstoffe zu Verfügung stellen (Fischer et al. 2002; Rickson & Risch 1984).

Die induzierte Abwehr von *Pheidole bicornis* wurde schon intensiv untersucht und äußert sich in Form eines Rekrutierungsverhaltens: Bei Verletzungen des Stammes, also im Falle eines Angriffs durch Herbivoren, werden Arbeiterinnen auf diese Verletzung aufmerksam und rekrutieren in kurzen Abständen zahlreiche andere Arbeiterinnen, um die Pflanze vor den Angreifern zu schützen. Diese Abwehr erfolgt durch die Freisetzung von Duftstoffen, sogenannten VOCs (volatile organic compounds – flüchtige organische Verbindungen), die von den Arbeiterinnen wahrgenommen werden und als Alarmsignal innerhalb der Symbiose dienen (Mayer et al. 2008).

Der konstitutive Schutz der jungen, heranwachsenden Blätter durch *Pheidole bicornis* ist Gegenstand der vorliegenden Untersuchung. Die jungen Blätter von *P. obliquum* und *P. fimbriatum* werden regelmäßig von den Arbeiterinnen patrouilliert und so vorbeugend vor Herbivorie geschützt (Letourneau 1983). Ein Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern durch symbiontische Ameisen

wurde auch bei einigen anderen Myrmekophyten beobachtet, etwa bei *Acacia* (Maden und Young 1992), *Leonardoxa* (Brouat et al. 2000) oder *Macaranga* (Heil et al. 2001). Bis jetzt ist jedoch nur bei wenigen Ameisen-Pflanzen-Assoziationen bekannt, was die Ameisenpartner dazu antreibt, auf den jungen Blättern zu patrouillieren (Heil & McKey 2003).

In manchen fakultativen Ameisen-Pflanzen-Systemen scheinen die Arbeiterinnen für die Patrouillier-Aktivität belohnt zu werden. Auf den Blättern wird Nahrung produziert, die die Arbeiterinnen auf die jungen Blätter locken und diese zudem für ihren Abwehrschutz entlohnen. Diese Futterquellen können in Form von extrafloralen Nektarien, wie bei *Leea glabra* (Meng et al. 2012), oder Pearl bodies, wie bei *Urera baccifera* (Dutra et al. 2006), angeboten werden. Andere Systeme zeigen hingegen, dass Ameisen auch ohne davon direkt zu profitieren, die jungen Blätter ihrer Pflanzen patrouillieren. Die Arbeiterinnen werden dabei von Duftstoffen angelockt, die von den jungen Blättern abgegeben werden und offenbar als Signalstoffe dienen. Diese, das Patrouillier-Verhalten induzierenden Botenstoffe, wurden etwa bei *Leonardoxa africana* (Brouat et al. 2000) oder *Hirtella physophora* (Grangier et al. 2008) dokumentiert.

Der Auslöser für das Patrouillier-Verhalten von *Pheidole bicornis* auf *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* ist bisher unbekannt. Ausgehend von anderen Untersuchungen wurden im Vorfeld drei zentrale Hypothesen formuliert, die im Zuge der Arbeit getestet werden sollen, um den Auslöser für das Patrouillier-Verhalten zu ermitteln.

- 1) **Schutzhypothese:** Durch das Patrouillier-Verhalten werden die jungen Blätter der Wirtspflanzen vor Herbivoren geschützt. Bei Ameisenausschluss werden die jungen Blätter stärker von Herbivoren attackiert.
- 2) **Nahrungshypothese:** Auf den jungen Blättern von *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* wird eine Futterquelle in Form von nährstoffreichen Pearl bodies angeboten, die die Ameisen auf das junge Blatt lockt und sie zum Patrouillieren motiviert. Die Pearl bodies stellen also eine direkte Belohnung für die Ameisen dar.
- 3) **Duftstoffhypothese:** Die jungen Blätter von *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* geben Duftstoffe in Form von VOCs ab, die von den Ameisen wahrgenommen werden und sie zum Patrouillieren der jungen Blätter anregen. Die Ameisen patrouillieren also, ohne eine direkte Belohnung zu erhalten.

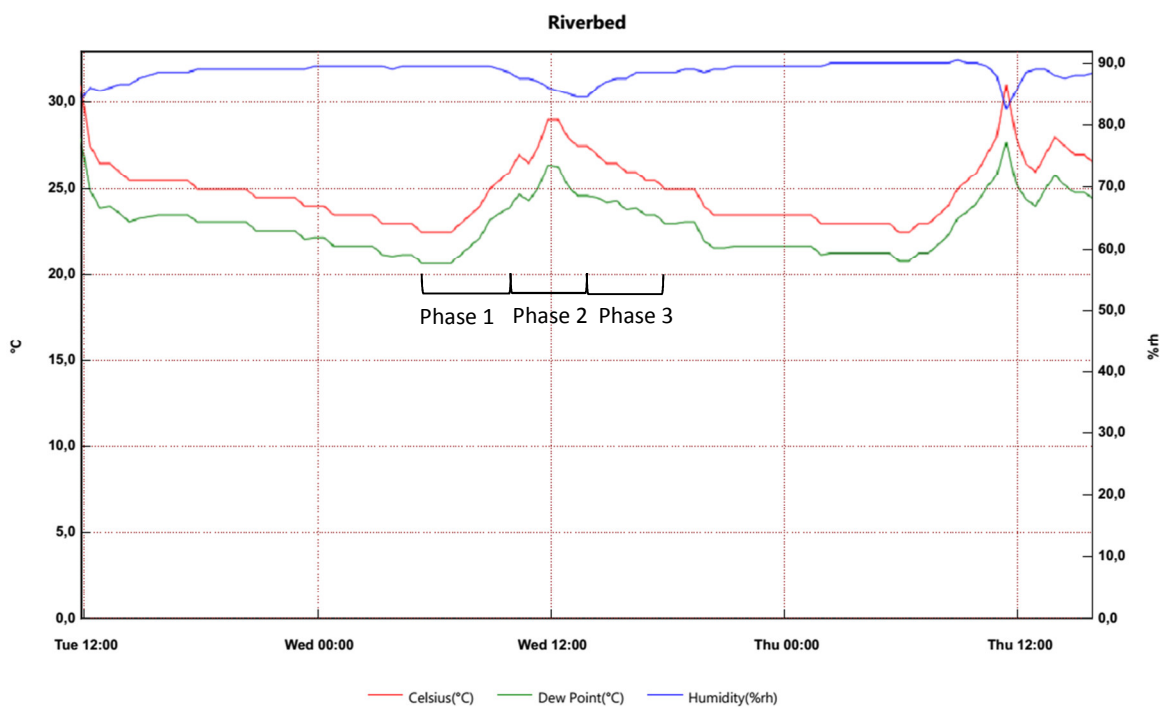
Anhand von Verhaltensbeobachtungen sowie anatomischen, morphologischen und chemischen Analysen sollen diese Hypothesen untersucht werden, um so die Funktion und den Auslöser für das Patrouillier-Verhalten der Arbeiterinnen auf den jungen Blättern zu finden.

2 Material und Methoden

2.1 Besucheranalyse und Blattentwicklung

2.1.1 Standortbeschreibung

Untersucht wurden Pflanzen (*P. obliquum* und *P. fimbriatum*) und Ameisen (*Pheidole bicornis*) im Esquinas Regenwald in der Nähe der Tropenstation La Gamba (N 8°42'61", W 83°12'97"; Seehöhe: 70 m, jährliche Niederschlagsmenge: 6000mm). Der Wald gehört dem 151 km² großen Nationalpark Piedras Blancas an und befindet sich im Südwesten Costa Ricas in der Nähe der Pazifikküste. Für die Untersuchungen wurden Pflanzen von drei Standorten herangezogen: aus dem Garten der Station, und in unmittelbarer Nähe der beiden Wanderwege Ozelot Trail und Riverbed Trail. Die Wanderwege befinden sich beide in der Nähe eines Baches, in einem humiden Sekundärwald. Die Untersuchungen fanden im Zeitraum von Anfang September bis Anfang Oktober 2013 statt, also zur Zeit einer saisonalen Regenperiode. Eine Messung der Temperatur und relativen Luftfeuchte mit einem Datalogger (Easy Log, Lascar Electronics) am Riverbed Trail, die im Februar 2014 durchgeführt wurde, ergab durchschnittliche Tagestemperaturen von 31,0°C, Nachttemperaturen von 25,0°C, eine Durchschnittstemperatur von 27,4°C und eine relative Feuchte zwischen 85-90% (Fig. 1).



From: Dienstag, 25. Februar 2014 11:50:43 - To: Donnerstag, 27. Februar 2014 15:50:43

Fig. 1: Ergebnisse der Temperatur- und Luftfeuchtemessung am Riverbed Trail im Februar 2014.

2.1.2 Auswahl der Versuchspflanzen

Für die Untersuchungen wurden Exemplare von *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* ausgewählt, die im Untersuchungszeitraum junge Blätter entwickelten und von einer Ameisenkolonie der Ameisenart *Pheidole bicornis* besiedelt waren. Zudem war auch die Höhe der Pflanzen ausschlaggebend, da die Pflanzen und Ameisen durch die tägliche Untersuchung möglichst wenig manipuliert und die jungen Blätter daher gut erreichbar sein sollten. Die Entwicklungsphasen der jungen Blätter von *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* wurden in jeweils fünf Stadien eingeteilt (Fig. 2, 3). Das Stadium der Blätter wurde bei jeder Kontrolle bestimmt und diente auch als Grundlage für die nachfolgenden anatomischen Untersuchungen. Nachdem die jungen Blätter den verschiedenen Stadien zugeordnet worden waren, wurden die Versuchspflanzen in zwei Gruppen geteilt, sodass jede Gruppe mindestens eines der jeweiligen Blattstadien enthielt. Die eine Gruppe diente als Kontrollgruppe, deren Pflanzen täglich mehrere Male auf Ameisenaktivität überprüft wurden. Bei der zweiten Gruppe wurden die Ameisen vom jungen Blatt durch das Auftragen einer klebrigen Barriere aus Tangle Trap (Contech Enterprises Inc., USA) (=TT) daran gehindert, das junge Blatt zu patrouillieren. Dadurch konnte beobachtet werden, was mit den jungen Blättern in Abwesenheit der Ameisen passiert. Insgesamt wurden für *P. obliquum* 18 Pflanzen als Kontrollgruppe und 7 Pflanzen als manipulierte TT-Gruppe ausgewählt. Bei *P. fimbriulatum* dienten 21 Pflanzen als Kontrollgruppe und 6 Pflanzen als TT-Gruppe. Insgesamt wurden circa 150 Blätter über unterschiedlich lange Zeiträume untersucht. Die Pflanzen wurden im Beobachtungszeitraum täglich besucht und die Ameisenaktivität bzw. die Entwicklung der Blätter dokumentiert.



Fig. 2: Blattstadien von *P. obliquum*.

Stadium 1 **(A)**: Das junge Blatt ist noch von einem Hüllblatt umgeben und zur Gänze eingerollt. Stadium 2 **(B)**: Junges Blatt ist ohne Hüllblatt, jedoch eingerollt. Stadium 3 **(C)**: Junges Blatt öffnet sich. Stadium 4 **(D)**: Junges Blatt bereits stark geöffnet, an den Rändern noch eingerollt. Stadium 5 **(E)**: Das junge Blatt ist voll entfaltet.



Fig. 3: Blattstadien von *P. fimbriulatum*.

Stadium 1 **(A)**: Das junge Blatt ist noch von einem Hüllblatt umgeben und zur Gänze eingerollt.
 Stadium 2 **(B)**: Junges Blatt ist ohne Hüllblatt, jedoch eingerollt. Stadium 3 **(C)**: Junges Blatt öffnet sich. Stadium 4 **(D)**: Junges Blatt bereits stark geöffnet, an den Rändern noch eingerollt.
 Stadium 5 **(E)**: Das junge Blatt ist voll entfaltet.

2.1.3 Verhaltensbeobachtung

Die Kontrollgruppe (ohne TT) wurde mehrmals täglich auf Ameisenaktivität überprüft. Notiert wurden die Art und der festgelegte Name der Pflanze, die Anzahl der beobachteten, jungen Blätter pro Pflanze, das jeweilige Datum, Uhrzeit, Blattstadium und die Ameisenanzahl. Bei einer Beobachtung handelte es sich um eine Momentaufnahme, das bedeutet, es wurde die Anzahl der Ameisen festgehalten, die sich in diesem Augenblick auf dem jungen Blatt befanden. Die Uhrzeit wurde im weiteren Verlauf der Untersuchung in drei Tagesphasen eingeteilt, die sich an den Klimaaufzeichnungen am Versuchsstandort orientieren. Phase 1 sind Untersuchungen zwischen 5:00 und 10:00 Uhr, Phase 2 entspricht der Zeit zwischen 10:00 und 14:00 Uhr, Phase 3 umfasst den Zeitraum zwischen 14:00 und 18:00 Uhr (Fig. 1).

Tagesphase 1 ist dadurch gekennzeichnet, dass die Temperatur im zeitlichen Verlauf deutlich ansteigt, nachdem sie gegen 06:00 Uhr ihren Tiefststand (ca. 23°C) erreicht hat. Die Temperatur steigt bis 10:00 Uhr auf ca. 25°C, die Luftfeuchtigkeit liegt die gesamte Tagesphase 1 in etwa konstant bei 89%. In Tagesphase 2 kommt es zunächst weiterhin zu einem Temperaturanstieg bis ca. 29°C, nach 12:00 Uhr sinkt die Temperatur aber deutlich ab und erreicht um 14:00 Uhr ca. 27°C. Die Luftfeuchtigkeit sinkt über die gesamte Phase 2 stetig ab (bis ca. 95% Luftfeuchtigkeit) und steigt erst ab ca. 13:30 Uhr wieder leicht an. In Tagesphase 3 sinkt die Temperatur weiter ab auf ca. 25°C um 18:00 Uhr und die Luftfeuchtigkeit steigt wieder an auf ca. 88% um 18:00 Uhr (Fig. 1).

Da die Temperatur- und Luftfeuchtemessungen, die zur Einteilung der Tagesphasen herangezogen wurden, zu einer anderen Jahreszeit (Februar 2014) als diese Untersuchungen (September/ Oktober 2013) vorgenommen wurden, wurden zusätzlich die Niederschlagsmenge (in mm) und die maximale und minimale Tagestemperatur (in °C) im Untersuchungszeitraum zugezogen, die während der Untersuchungen aufgezeichnet worden waren. Die Messungen erfolgten vor dem Labor der Tropenstation. Da im Laufe der Freilanduntersuchungen an einigen Tagen generell wenig Ameisenaktivität zu beobachten war, kann mit diesen Daten auch ein möglicher Zusammenhang zum Klima über den gesamten Untersuchungszeitraum hergestellt werden.

Am Ende der Untersuchung wurde zudem die Größe der Ameisenkolonie der jeweiligen Pflanzen festgestellt. Dabei wurde nach der Verletzung eines Petiolus die Anzahl von rekrutierten Ameisen, die sich innerhalb von fünf Minuten am Stamm befanden, festgehalten. Da die Bezugsdauer der Beobachtung falsch gewählt wurde und nach fünf Minuten Beobachtung keine zuverlässigen Aussagen über Koloniegößen getroffen werden können, wurde dieser Wert mit dem Faktor 1,6 für *P. fimbriulatum* und dem Faktor 1,4 für *P. obliquum* multipliziert. Diese Faktoren wurden anhand von 48 (*P. fimbriulatum*) bzw. 54 (*P. obliquum*) Verletzungen berechnet, die im Zuge der Untersuchung

Mayer et al. 2008 durchgeführt wurden. Dabei handelt es sich um den durchschnittlichen Anstieg an rekrutierenden Ameisen bis 10 Minuten nach der Petiolusverletzung. Mithilfe der errechneten Koloniegröße konnte schließlich die relative Patrouillier-Aktivität (rel. PA) pro Beobachtung definiert werden. Um die rel. PA pro Beobachtung zu berechnen, also die Anzahl der Ameisen pro Beobachtung zur Größe der Kolonie und zur Anzahl an jungen Blättern zu relativieren, wurde folgende Formel angewandt:

$$\text{relative Patrouillier-Aktivität (rel. PA)} = \text{Ameisenanzahl} / (\text{errechnete Koloniegröße} / \text{Anzahl der jungen Blätter})$$

Des Weiteren wurde auch analysiert, wie häufig gar keine Ameisen auf den jungen Blättern anzutreffen waren (=Nullbesuche), da dies auch Auskunft über das Patrouillier-Verhalten gibt und Aufschluss darüber geben könnte, unter welchen Bedingungen mehr Ameisen mobilisiert werden. Der Anteil an Nullbesuchen wurde ebenfalls nach Blattstadien und Tagesphasen gegliedert und über den gesamten Beobachtungszeitraum untersucht.

Die Datenanalyse erfolgte mit Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation; Version: 14.0.71445.5000). Die Fehlerbalken zeigen den Standardfehler und der p-Wert wurde mit dem t-Test berechnet.

2.1.4 Dokumentation des Blattverfalls

Die Entwicklung der manipulierten Blätter (TT-Gruppe) wurde über den gesamten Beobachtungszeitraum (Anfang September bis Anfang Oktober) durch Fotografien (Canon IXUS 230 HS) dokumentiert. Dadurch sollte gezeigt werden, was mit den Blättern passiert, wenn sie nicht von den Ameisen patrouilliert werden können, und ein etwaiger Blattverfall dokumentiert werden.

2.2 Untersuchung der Pearl bodies

2.2.1 Anatomische und morphologische Untersuchung der Pearl bodies

Da sich auf den mit Tangle Trap manipulierten Blättern von *P. obliquum* nach einigen Tagen Pearl bodies (=Pbs) zeigten, wurden einige Blätter für die nähere anatomische Untersuchung an der Universität Wien ausgewählt. Dazu wurden die Blattstiele abermals mit einer Tangle-Trap-Barriere versehen, zudem wurde die Blattspreite mit einem Teebeutel eingehüllt, um das Absammeln von anderen fliegenden Insekten zu vermeiden. Dadurch konnte sich eine große Anzahl an Pbs auf den jungen Blättern bilden. Die Blätter wurden nach drei Tagen abgesammelt und in FAA (Formaldehyd, Essigsäure, Alkohol; Gerlach, 1982) für weitere anatomische Untersuchungen fixiert.

Während bei *P. obliquum* bereits zu Beginn der Freilanduntersuchungen mit bloßem Auge Pbs entdeckt wurden, konnten bei *P. fimbriulatum* nur vereinzelt Pbs auf Blättern aus dem Freiland beobachtet werden und wenn, dann auch nur mithilfe eines Binokulars. Im Glashaus am Botanischen Institut war jedoch auf den unbesiedelten Pflanzen von *P. fimbriulatum* eine große Menge an Pbs zu sehen.

2.2.1.1 Binokularaufnahmen von frischen Pearl bodies

Da sich im Glashaus des Botanischen Instituts unbesiedelte Exemplare von *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* befinden, wurden auch diese auf Pearl bodies untersucht. Wie sich zeigte, war auf allen zwei Arten eine große Menge an Pbs vorhanden, weil sie von niemandem abgesammelt wurden. Da die Photographien der Futterkörperchen, die in La Gamba gemacht wurden, qualitativ wenig hochwertig waren (Binokular: Wild Axiophot; Kamera: Nikon Coolpix), wurden zusätzlich Aufnahmen von Glashaus-Exemplaren unter dem Binokular (Olympus SZH10 research stereo) mit einer Nikon DS-FI1 gemacht. Die Bilder wurden mit dem Programm Gimp (Gimp Development Team, Version: 2.8.10.) nachbearbeitet.

2.2.1.2 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Pearl bodies

Im Rasterelektronenmikroskop (Jeol JSM 6390) wurden die verschiedenen Blattstadien von *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* und die darauf befindlichen Pearl bodies untersucht. Nach der Entwässerung (Alkohol: 70%, 85%, 96%, Aceton) wurden die Präparate kritischpunkt getrocknet (CP Autosamdri-815), auf sogenannten stups befestigt und anschließend in Argonatmosphäre mit Gold besputtert (SCD 050). Anschließend wurden sie bei 10kV gescannt. Die Aufnahmen dieser Untersuchung wurden vereinzelt mit dem Programm Gimp (Gimp Development Team, Version: 2.8.10.) nachbearbeitet.

2.2.1.3 Lichtmikroskopische (=LM) Untersuchung der Pearl bodies

Für die anatomischen Untersuchungen der Pearl bodies wurden Blätter von *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* aus allen fünf Entwicklungsstadien am Sammelort zunächst in FAA (Gerlach 1982) fixiert und in Wien in 70% Alkohol überführt. Da auf den jungen Blättern von *P. fimbriulatum* aus dem Freiland keine Pbs zu sehen waren, wurden zusätzlich junge Blätter mit Pbs aus dem Glashaus bearbeitet. Zudem wurden auch Petioli von *P. obliquum* und *P. cenocladum* geschnitten, um einen anatomischen Vergleich zwischen den Futterkörperchen (=Fks) der Petioli und der Pbs der Blätter zu ermöglichen. Leider war kein Pflanzenmaterial für die Untersuchung eines Petiolus von *P. fimbriulatum* vorhanden, weshalb aufgrund anatomischer Ähnlichkeit auf *P. cenocladum* zurückgegriffen wurde. Nach der Präparation, mehrfacher Entlüftung und Entwässerung wurden die

Proben in Technovit 7100 (Heraeus Kulzer) Härter I überführt und für zwei Wochen im Kühlschrank infiltriert, bevor sie in 7100 Härter II eingebettet wurden. Mithilfe eines Mikrotoms wurden 7 µm dicke Querschnitte der Blätter angefertigt, die anschließend mit 0,5%-Toluidinblau gefärbt und mit Entellan eingedeckelt wurden. Die Präparate wurden mit einem Olympus BX 50 Mikroskop untersucht und mit einer Nikon DS-FI1 fotografiert. Die Bearbeitung der Bilder erfolgte mit dem Programm Gimp (Gimp Development Team, Version: 2.8.10.).

2.2.1.4 Anzahl der Pearl bodies pro Blattstadium

Um zu untersuchen, ob in den verschiedenen Blattstadien eine unterschiedliche Menge an Pearl bodies ausgebildet wird, wurde im Freiland jeweils ein Blatt pro Blattstadium mit einem Teebeutel umhüllt und der Blattstiel mit Tangle Trap bestrichen. So konnten nicht nur die besiedelnden Ameisen von den Blättern ferngehalten werden, sondern auch potentielle Nahrungskonkurrenten, wie etwa fliegende Insekten. Des Weiteren waren die sich bildenden Pbs vor der Abwaschung durch den Regen geschützt.

Die Blätter wurden nach ca. 36 Stunden von der Pflanze entfernt und im Labor unter einem Binokular (Wild Axiophot) mit einer Nikon Coolpix fotografiert. Als Maßstab diente ein Millimeterpapier.

Dadurch konnte ausgewertet werden, wie viele Pbs sich in etwa pro cm² und je Blattstadium bilden.

2.2.1.5 Größe der Pearl bodies

Um den durchschnittlichen Durchmesser der Pearl bodies zu ermitteln wurden, die Fotografien mit Pbs der unterschiedlichen Behandlungsmethoden (frische Pbs aus dem Glashaus, LM-Untersuchung, REM-Untersuchung) mithilfe des angegebenen Maßstabs vermessen. Aus den Werten wurde schließlich der durchschnittliche Durchmesser der Pbs von *P. obliquum* und *P. fimbriatum* auf den Blättern und zum Vergleich auch der Durchmesser der Futterkörperchen in den Petioli errechnet.

2.2.2 Mikrochemische Untersuchung der Pearl bodies

Um mögliche Inhaltsstoffe der Pearl bodies festzustellen, wurden Nachweistests mit einer Iod-Kaliumiodid-Lösung (Stärkenachweis) und Sudan-III-Paraffin (Lipidnachweis) durchgeführt (Gerlach 1982). Für diese Untersuchung wurden sowohl Mikrotomschnitte, die Pbs zeigten, als auch frische Futterkörperchen aus dem Glashaus und getrocknete Pbs aus La Gamba verwendet.

Für den Stärkenachweis wurde die Iod-Kaliumiodid-Lösung auf einen Objektträger, auf dem sich der Mikrotomschnitt bzw. das Pb befand, aufgetragen. Nach der Einwirkzeit (ca. 5 min) wurde die überschüssige Lösung mit destilliertem Wasser abgewaschen.

Für den Lipidnachweis wurde ein Tropfen Sudan-III-Paraffin auf den Mikrotomschnitt am Objektträger aufgetragen. Nach einer Wirkungszeit von 15-20 min wurde das überschüssige Sudan-III-Paraffin mit Glycerin abgewaschen. Da dieser Vorgang bei den losen Pbs nur schwer möglich war, wurden diese nach der Behandlung mit Sudan-III-Paraffin in einem kleinen Gefäß mit Glycerin geschwemmt und anschließend für die Untersuchung auf einen Objektträger transferiert. Das Präparat wurde für die lichtmikroskopische Untersuchung mit Kaisers Glyceringelatine (Merck KG, Darmstadt, Germany) eingedeckelt. Des Weiteren wurden auch getrocknete und frische Pbs ohne Einfärbung in Wasser auf einen Objektträger übertragen. Die Präparate wurden mit einem Olympus BX 50 Mikroskop untersucht und mit einer Nikon DS-F11 fotografiert. Die Bearbeitung der Bilder erfolgte mit dem Programm Gimp (Gimp Development Team, Version: 2.8.10.).

2.3 Duftstoffanalyse und Ölzellenuntersuchung bei den jungen Blättern

2.3.1 Duftstoffsammlung und –analyse

Sowohl im Freiland als auch in Wien im Glashaus (Institut of Botany and Botanical Garden, Rennweg 14) wurden Duftstoffuntersuchungen an den jungen Blättern durchgeführt. Für die Duftstoffsammlung wurden SPME-Fasern (Supelco 57348-U, Bellafonte, PA) verwendet, die vor der Verwendung bei 250°C für sechs Stunden ausgeheizt wurden, um Kontaminationen auszuschließen. Im Freiland wurden jeweils zwei Blätter verschiedener Entwicklungsstadien pro untersuchter Pflanzenart mit inertem Papier umhüllt, anschließend wurde durch ein möglichst kleines Loch die SPME-Faser (0.75 mm ID, Supelco 2631201) eingeführt, an einer Halterung fixiert und anschließend die Duftstoffe für ca. eine Stunde gesammelt. Im Glashaus wurde zudem eine weitere Duftstoffsammlung an einem jungen Blatt von *P. fimbriulatum* durchgeführt.

Für die Auswertung durch Gaschromatographie wurden die SPME-Fasern an das Max-Planck Institut für chemische Ökologie nach Jena geschickt und von Herrn Dr. Stefan Bartram ausgewertet.

2.3.2 Ölzellen-Untersuchung

Für die anatomischen Untersuchungen der Ölzellen wurden Blätter von *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* aus allen fünf Entwicklungsstadien am Sammelort zunächst in FAA (Gerlach 1982) fixiert und in Wien in 70% Alkohol überführt. Nach der Präparation (siehe dazu Kapitel 2.2.1.3: Lichtmikroskopische Untersuchung der Pearl bodies) wurden mithilfe eines Mikrotoms 7 µm dicke Querschnitte angefertigt, die anschließend mit 0,5%-Toluidinblau gefärbt und mit Entellan eingedeckelt wurden.

Da Ölzellen in den Blättern auf mögliche Duftstoffemissionen hinweisen, wurden Blattquerschnitte von jungen Blättern der beiden *Piper*-Arten für einen Lipidnachweis mit Sudan-III-Paraffin eingefärbt und mit Kaisers Glyceringelatine (Merck KG, Darmstadt, Germany) eingedeckelt.

Die Querschnitte wurden mit einem Olympus BX 50 Mikroskop untersucht und mit einer Nikon DS-FI1 fotografiert. Die Bearbeitung der Bilder erfolgte mit dem Programm Gimp (Gimp Development Team, Version: 2.8.10.).

3 Ergebnisse

3.1 Besucheranalyse und Blattentwicklung

3.1.1 Verhaltensbeobachtung

Bei der Beobachtung der Ameisenaktivität auf den jungen Blättern wurden insgesamt 1553 Datenpunkte aufgenommen ($n= 917$ *P. fimbriulatum* und $n= 636$ *P. obliquum*). Die Untersuchung erfolgte an insgesamt 19 Tagen, im Zeitraum vom 10.09.-1.10.2013. Wenn möglich, wurde täglich jedes Blatt in allen drei Tagesphasen untersucht. Da aber im Untersuchungszeitraum eine saisonale Regenperiode das Wetter bestimmte, waren die Beobachtungsmöglichkeiten auch vom früheinsetzenden Regen abhängig. Das Hauptaugenmerk dieser Untersuchung liegt darauf, ob das Patrouillier-Verhalten mit der Blattentwicklung korreliert. Des Weiteren wurde untersucht, ob die Ameisen zu gewissen Tageszeiten aktiver sind bzw. das Patrouillier-Verhalten auch durch den Niederschlag und die Tagestemperatur geprägt ist. Um mehr Aufschluss über das Patrouillier-Verhalten zu bekommen, wurde auch analysiert, wie häufig keine Ameisen am Blatt zu sehen sind und ob dabei ein Zusammenhang zu den oben genannten Faktoren hergestellt werden kann.

3.1.1.1 Einfluss der Blattentwicklung auf das Patrouillier-Verhalten

P. obliquum:

Vergleicht man die Besucheranzahl innerhalb der verschiedenen Blattstadien (Fig.4), so zeigt sich laut Fehlerbalken kein signifikanter Unterschied, durch den t-Test konnte jedoch ermittelt werden, dass zwischen dem meistbesuchten Stadium 2 und dem am wenigsten frequentierten Stadium 5 durchaus ein signifikanter Unterschied vorliegt ($p < 0,05$; t-Test). Die Ameisenaktivität auf den jungen Blättern nimmt also im Laufe der Blattentwicklung deutlich ab. Demnach wird Blattstadium 2 am häufigsten patrouilliert (0,494 rel. PA/Beobachtung). Im Laufe der Entwicklung ist eine kontinuierliche Abnahme der Besucherzahlen zu beobachten. Blattstadium 3 wird am zweithäufigsten besucht (0,457 rel. PA/Beobachtung). Blattstadium 1 (0,385 rel. PA/Beobachtung) wird hingegen etwa genauso intensiv wie Blattstadium 4 (0,386 rel. PA/Beobachtung) patrouilliert. Im letzten untersuchten Entwicklungsabschnitt des Blattes, also im Blattstadium 5, wurden durchschnittlich die wenigsten Ameisen beobachtet (0,332 rel. PA/Beobachtung).

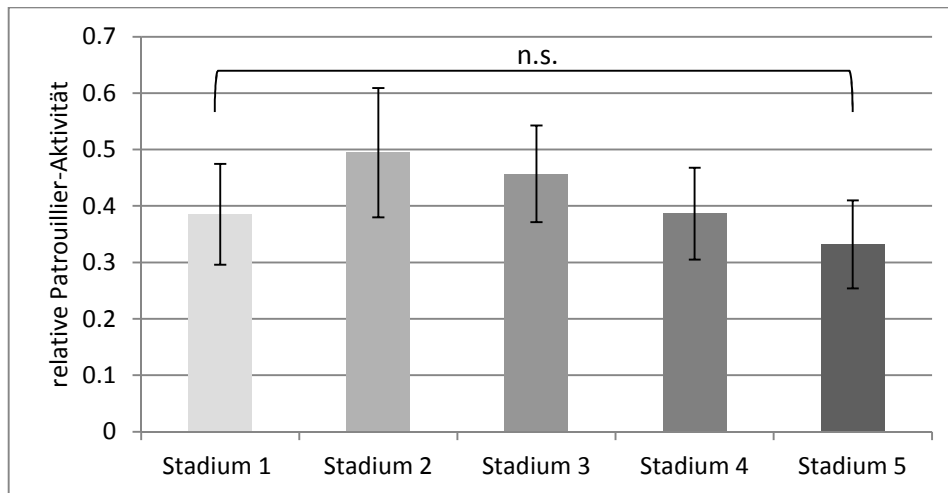


Fig. 4: Durchschnittliche, relative Patrouillier-Aktivität pro Blattstadium bei *P. obliquum*. Die Fehlerbalken entsprechen dem Standardfehler und zeigen keine signifikanten Unterschiede an.

Es wurde auch ermittelt, wie häufig auf den jungen Blättern von *P. obliquum* keine Ameisen zu sehen sind, also kein Patrouillier-Verhalten auftritt. Der Anteil von Nullbesuchen liegt zwischen 31,5% (Blattstadium 1) und 43,5% (Blattstadium 4). In Stadium 2 sind 39,8% aller Beobachtung Nullbesuche, in Stadium 3 sind es 33,3% und in Stadium 5 sind es 40,7%. Stadium 1 wird somit zwar von weniger Ameisen zur gleichen Zeit, jedoch regelmäßiger patrouilliert, als etwa Stadium 4, das in etwa die gleiche durchschnittliche, relative Patrouillier-Aktivität zeigt.

P. fimbriulatum:

Die Analyse der Daten nach der Blattentwicklung bei *P. fimbriulatum* zeigt einen signifikanten Unterschied zwischen Stadium 1 und Stadium 5 (Fig. 5). Die Anzahl der Ameisenzahl steigt beinahe kontinuierlich an, sodass zwischen Blattstadium 1 (0,361 rel. PA/Beobachtung) und Blattstadium 5 (0,627 rel. PA/Beobachtung) ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$, t-Test) erkennbar ist. Das Patrouillier-Verhalten ist demnach im letzten untersuchten Entwicklungsschritt des Blattes deutlich am höchsten, während zwischen Blattstadium 2 (0,448 rel. PA/Beobachtung), 3 (0,428 rel. PA/Beobachtung) und 4 (0,482 rel. PA/Beobachtung) nur sehr geringe Unterschiede feststellbar sind. Die übrigen Unterschiede sind demnach nicht signifikant.

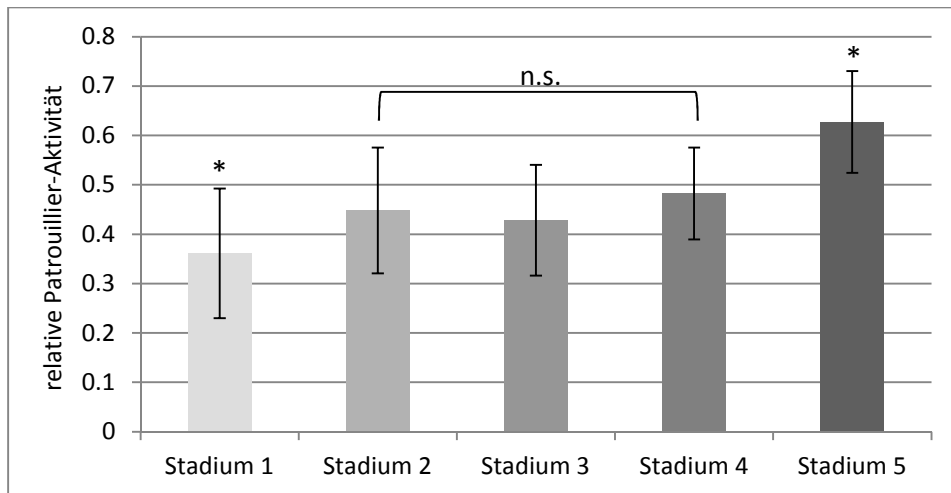


Fig. 5: Durchschnittliche, relative Patrouillier-Aktivität pro Blattstadium bei *P. fimbriulatum*. Die Fehlerbalken entsprechen dem Standardfehler

Auch bei *P. fimbriulatum* wurde der Anteil an Nullbesuchen analysiert, der zwischen 32,2 % (Stadium 2) und 58,24% (Stadium 1) liegt, also deutlich höher als bei *P. obliquum*. Blattstadium 2 bildet zudem eine Ausnahme, da der Anteil an Nullbesuchen in den anderen Stadien bei allen über 50 % liegt. Im Blattstadium 3 beläuft sich der Anteil auf 53,22%, im Stadium 4 auf 52,75% und im Stadium 5 auf 50,24%. Im Vergleich zu *P. obliquum* sind patrouillierende Ameisen seltener zu sehen, sie treten jedoch bei aktivem Patrouillier-Verhalten in größerer Anzahl auf.

3.1.1.2 Einfluss der Tagesphasen auf das Patrouillier-Verhalten

P. obliquum:

Die Analyse der Tagesphasen bei *P. obliquum* zeigt einen höchst signifikanten Unterschied (Fig. 6). Demnach ist in der ersten Tagesphase (05:00-10:00 Uhr) die Ameisenaktivität höchst signifikant geringer als in Tagesphase 2 (10:00-14:00 Uhr; $p < 0,001$, t-Test) und Tagesphase 3 (14:00-18:00 Uhr; $p < 0,001$, t-Test). Die relative Patrouillier-Aktivität/Beobachtung beläuft sich auf 0,247. Zwischen Tagesphase 2 (0,474 rel. PA/Beobachtung) und Tagesphase 3 (0,495 rel. PA/Beobachtung) ist nur ein sehr geringer Anstieg der Ameisenaktivität erkennbar.

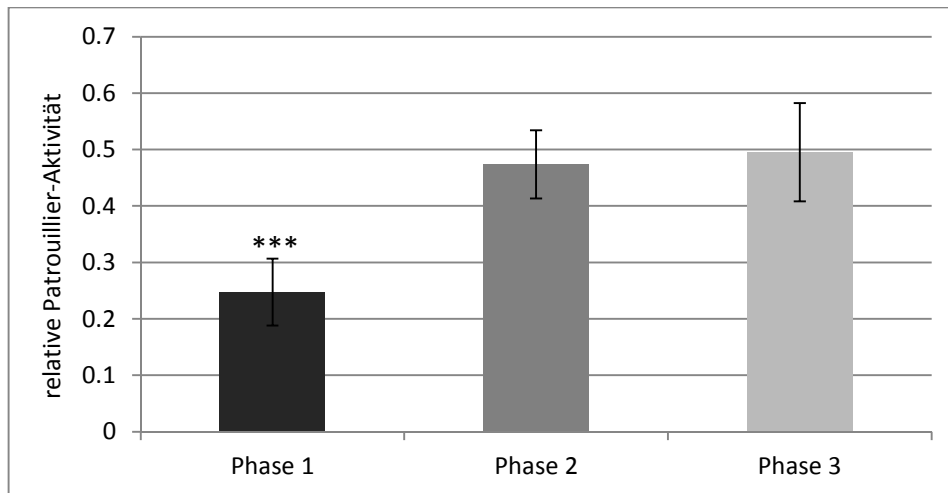


Fig. 6: Durchschnittliche, relative Patrouillier-Aktivität pro Tagesphase bei *P. obliquum*. Die Fehlerbalken entsprechen dem Standardfehler.

Des Weiteren wurde analysiert, wie häufig bei Beobachtungen keine Ameisen am Blatt vorhanden waren, also der Anteil an Nullbesuchen. Während in Tagesphase 1 mehr als die Hälfte (56,4%) aller Beobachtungen Nullbesuche waren, waren es in Tagesphase 2 und 3 jeweils weniger als ein Drittel (29,6% bzw. 30,4%). Der geringe Wert der relativen Patrouillier-Aktivität in der ersten Tagesphase hängt also sicherlich auch mit dem hohen Anteil an Nullbesuchen zusammen.

P. fimbriulatum:

Bei *P. fimbriulatum* zeigt die Datenanalyse nach Tagesphasen keine sehr deutlichen Unterschiede. Tendenziell scheint die Ameisenaktivität im Tagesverlauf zurückzugehen, doch ist kein signifikanter Unterschied feststellbar. In Tagesphase 1 ist der Wert für die rel. PA/Beobachtung 0,558, in Tagesphase 2 0,535 und in Tagesphase 3 0,439.

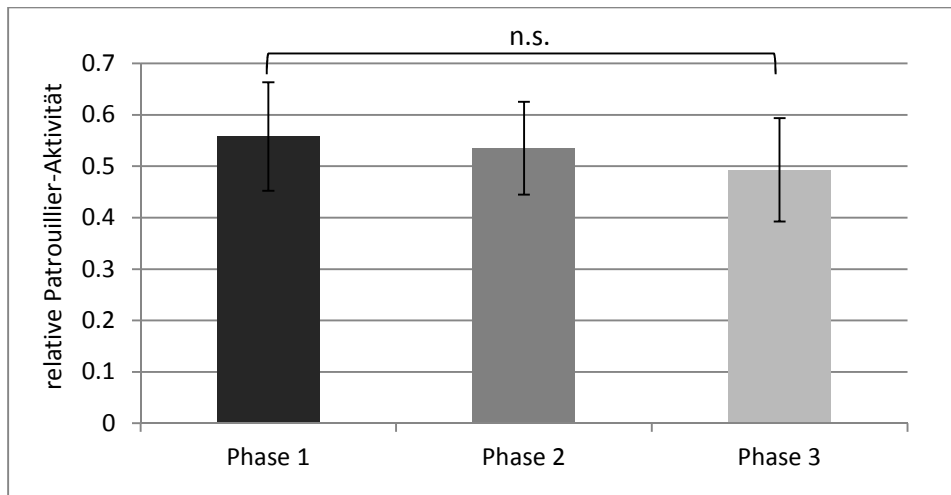


Fig. 7: Relative, Patrouillier-Aktivität pro Tagesphase bei *P. fimbriulatum*. Es sind keine signifikanten Unterschiede zu sehen. Die Fehlerbalken entsprechen dem Standardfehler.

Auch die Untersuchung der Nullbesuche liefert ein relativ homogenes Bild. In allen drei Tagesphasen waren etwa die Hälfte aller Beobachtungen Nullbesuche (Phase 1: 51,8%, Phase 2: 44,4%, Phase 3: 56%).

3.1.1.3 Einfluss der Niederschlagsmenge auf das Patrouillier-Verhalten

Fig. 8 zeigt die relative Patrouillier-Aktivität über den gesamten Untersuchungszeitraum. Wie deutlich zu sehen ist, ist das Patrouillier-Verhalten an den verschiedenen Tagen sehr unterschiedlich. Des Weiteren zeigt sich auch, dass zwischen den beiden Pflanzenarten ein sehr deutlicher Unterschied in der Ameisenaktivität zu beobachten ist. *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* verhalten sich an einigen Tagen sehr entgegengesetzt. Sehr deutlich ist dieser Unterschied am 26.09.2013 zu sehen. Während bei *P. fimbriulatum* an diesem Tag nur sehr wenige Ameisen auf den jungen Blättern beobachtet wurden (0,019 rel. PA/Beobachtung), waren auf den jungen Blättern von *P. obliquum* über den gesamten Untersuchungszeitraum nie so viele Ameisen wie an diesem Tag zu sehen (0,933 rel. PA/Beobachtung). Weniger stark ausgeprägt, aber dennoch deutlich ist diese Diskrepanz auch am 11.09., 16.09., 19.09., 21.09. und 23.09. beobachtbar.

Wie anhand Fig. 8 deutlich wird, kann nicht davon ausgegangen werden, dass die Patrouillier-Aktivität an jedem Tag gleich ist. Sowohl bei *P. fimbriulatum* als auch bei *P. obliquum* kann nicht von einem homogenen Verhalten ausgegangen werden, was nahe legt, dass die Ameisenaktivität durch interne, aber wohl auch externe Faktoren beeinflusst wird.

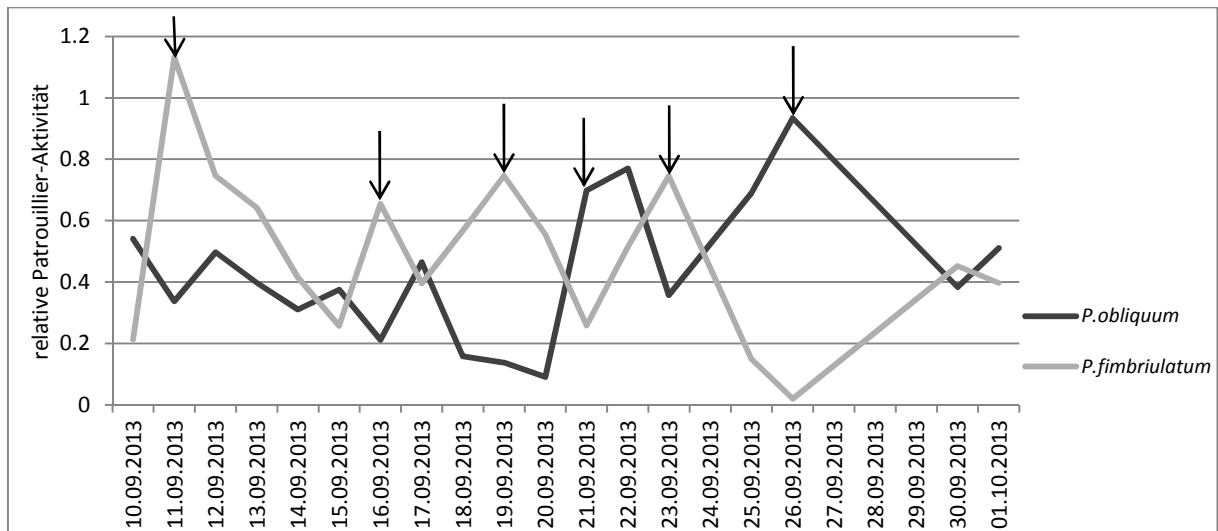


Fig. 8: Durchschnittliche, relative Patrouillier-Aktivität/Beobachtung von *P. obliquum* und *P. fimbriatum* über den gesamten Untersuchungszeitraum.

P. obliquum:

Die folgenden Analysen versuchen einen Zusammenhang der Patrouillier-Aktivität mit dem Niederschlag herzustellen. Die Ergebnisse von *P. obliquum* sind in Fig. 9 zu sehen.

Die Gegenüberstellung der relativen Patrouillier-Aktivität und des Niederschlags über den Beobachtungszeitraum erwies sich als aufschlussreich. Erhöhte Ameisenaktivität steht demnach häufig im Zusammenhang mit einer erhöhten Niederschlagsmenge. Sehr deutlich ist dies am 15.09 und 26.09.2013 zu sehen. Umgekehrt geht ein geringer Niederschlag mit einer geringeren Ameisenaktivität einher, wie sich an den Beobachtungstagen 19.09., 20.09., 23.09. zeigt. Auch wenn die Niederschlagsmenge am 21.09. vergleichsweise gering war, jedoch deutlich höher als an den beiden Vortagen, stieg auch die Ameisenaktivität nach zwei Flaute-Tagen wieder sehr deutlich an.

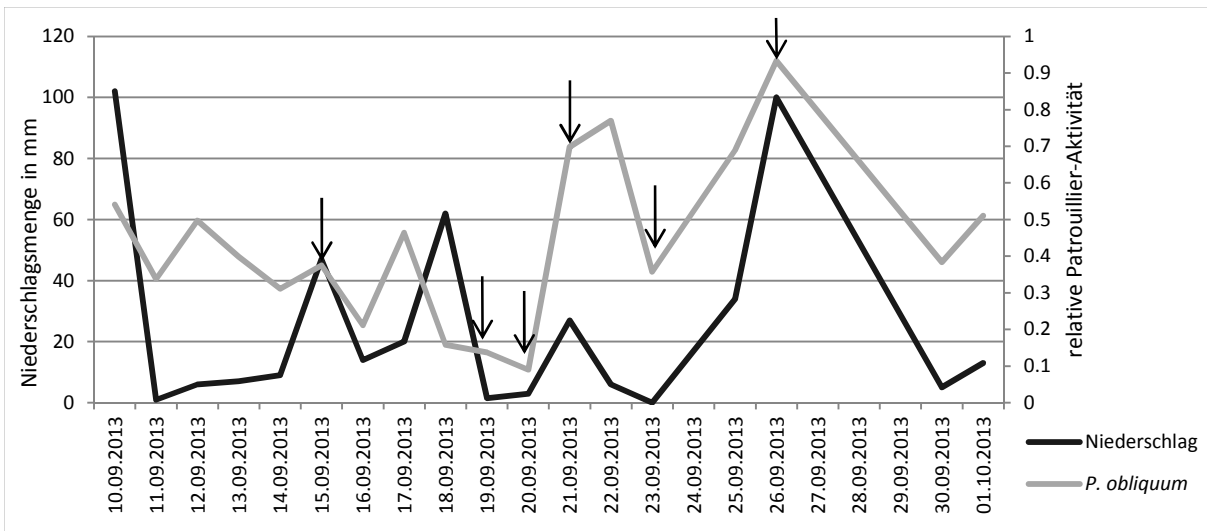


Fig. 9: Korrelation des Niederschlags mit der relativen Patrouillier-Aktivität bei *P. obliquum* über den Untersuchungszeitraum.

Auch der Anteil an Nullbesuchen über den Beobachtungszeitraum wurde analysiert (Fig. 10). Der Anteil der Nullbesuche steigt meist dann, wenn die relative Patrouillier-Aktivität sinkt, etwa am 19.9. oder 23.9.2013. An diesen Tagen ist auch ein Zusammenhang zum Niederschlag zu sehen. Der Anteil an Nullbesuchen steigt an diesen niederschlagsarmen Tagen. An anderen Tagen verhält sich der Anteil an Nullbesuchen jedoch nicht entgegengesetzt zur Menge des Niederschlags. Am 15.09. ist etwa ein Anstieg an Niederschlag zu sehen und auch die Patrouillier-Aktivität vergleichsweise hoch, gleichzeitig lag der Anteil an Nullbesuchen an diesem Tag bei über 70%. Auch am 18.09. ist der Niederschlag relativ hoch, aber auch der Anteil an Nullbesuchen, die Patrouillier-Aktivität ist an diesem Tag jedoch relativ schwach.

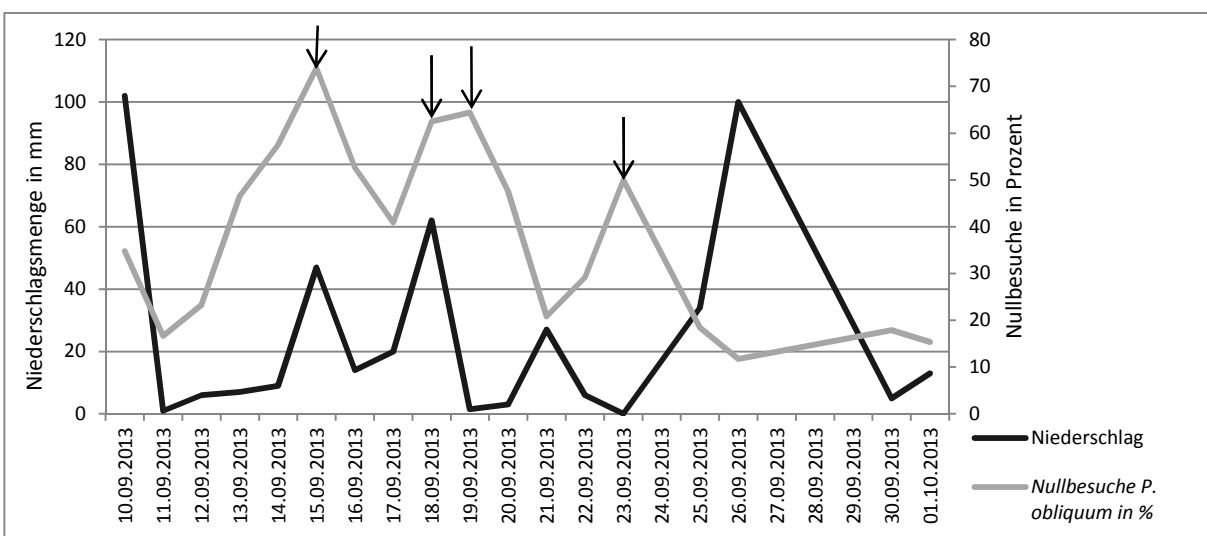


Fig. 10: Korrelation des Niederschlags mit dem Anteil an Nullbesuchen bei *P. obliquum* über den Untersuchungszeitraum.

P. fimbriulatum:

Auch bei *P. fimbriulatum* ist ein deutlicher Trend bei der Gegenüberstellung des Niederschlags mit der relativen Patrouillier-Aktivität/Beobachtung erkennbar (Fig. 11). Demnach verhalten sich die Ameisen, die *P. fimbriulatum* besiedeln, bei vermehrtem Niederschlag konträr zu den Ameisen auf *P. obliquum* (siehe auch Fig. 8). Die Ameisenaktivität scheint auch bei geringerem Niederschlag deutlich höher zu sein, wie sich an den Beobachtungstagen 11.09., 16.09., 19.09., 23.09. und 30.09. klar zeigt (Fig. 11). Bei erhöhtem Niederschlag ist hingegen die Ameisenaktivität bei weitem geringer, wie bei den Beobachtungstage 15.09, 21.09 und 26.09. zu sehen ist.

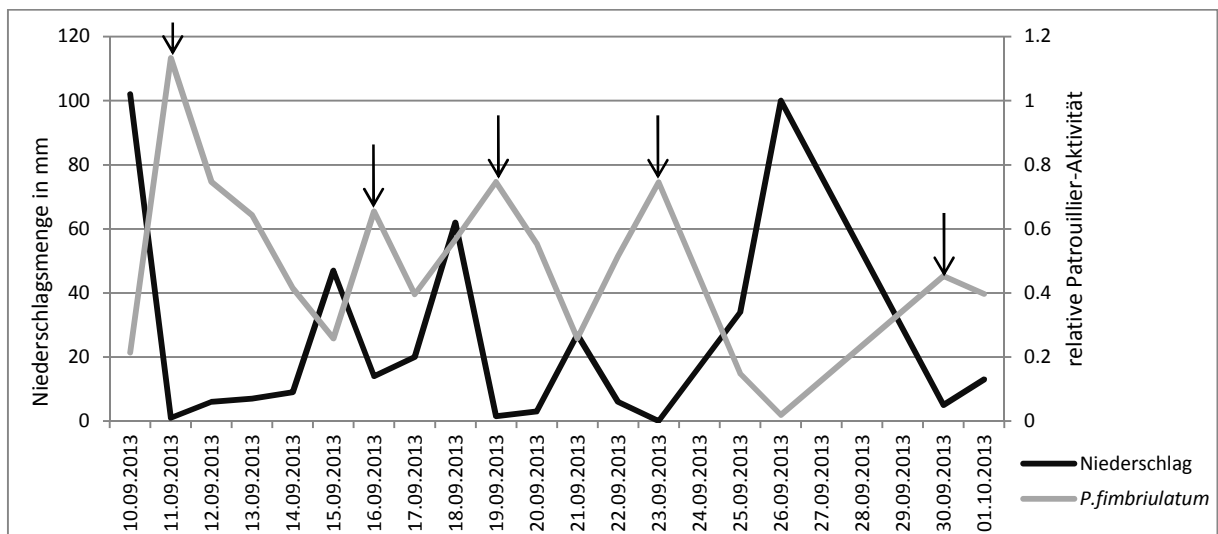


Fig. 11: Korrelation des Niederschlags mit der relativen Patrouillier-Aktivität bei *P. fimbriulatum* über den Untersuchungszeitraum.

Die sinkende Anzahl an patrouillierenden Ameisen bei steigendem Niederschlag spiegelt sich auch im Anteil der Nullbesuche wider (Fig. 12). Betrachtet man den Anteil an Nullbesuchen über den Untersuchungszeitraum, so zeigt sich, dass bei steigendem Niederschlag auch der Anteil an Nullbesuchen deutlich steigt. An niederschlagsreichen Tagen sind also häufig gar keine Ameisen auf den jungen Blättern zu sehen, was sich vor allem am 15.09., 18.09. und 26.09. zeigt. An niederschlagsarmen Tagen sinkt hingegen auch der Anteil an Nullbesuchen. Deutlich zeigt sich dies etwa am 16.09. und 23.09.2013. Der Anteil an Nullbesuchen bleibt aber bei *P. fimbriulatum* gegen Ende des Beobachtungszeitraums generell sehr hoch. Der Verlauf beider Parameter ähnelt sich zwar auch hier stark, es ist also deutlich ein Zusammenhang zwischen Niederschlagsmenge und Anteil der Nullbesuche zu sehen, der Anteil an Nullbesuchen sinkt aber ab 17.09. nicht mehr unter 50%.

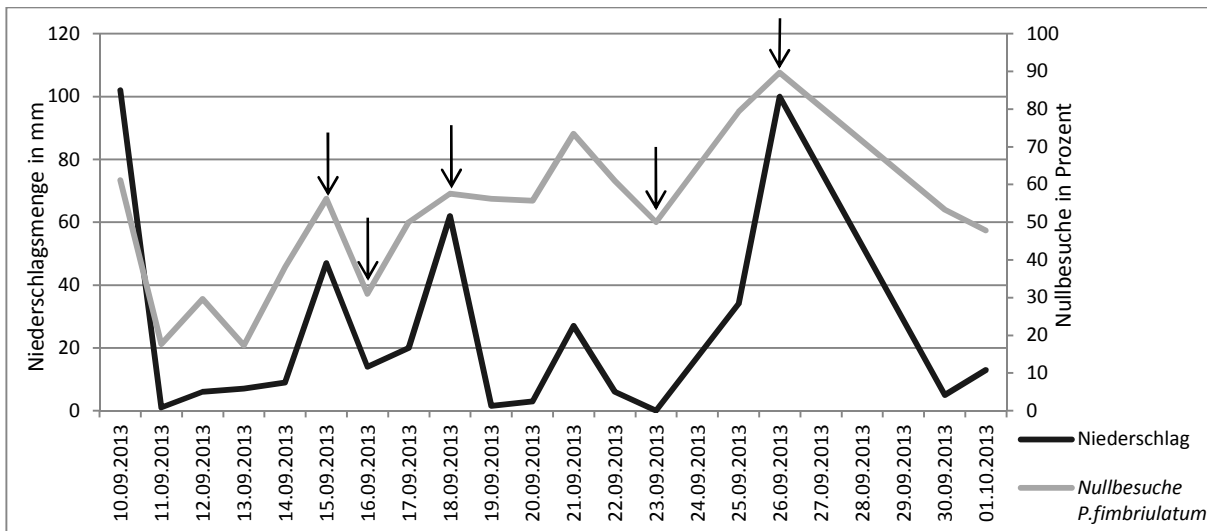


Fig. 12: Korrelation des Niederschlags mit dem Anteil an Nullbesuchen bei *P. fimbriulatum* über den Untersuchungszeitraum.

3.1.1.4 Einfluss der Temperatur auf das Patrouillier-Verhalten

Bei der Analyse der Daten zeigte sich, dass es um einen Zusammenhang der rel. Patrouillier-Aktivität/Beobachtung und der Tagestemperatur festzustellen, nicht ausreicht, die Tageshöchst- und Tagestiefsttemperatur zu messen.

Die Tageshöchsttemperatur ($\bar{\varnothing}$ 30°C) und die Tagestiefsttemperatur ($\bar{\varnothing}$ 24°C) schwankten über den Untersuchungszeitraum nur um $\pm 1,39$ bzw. $\pm 1,44$ C°. Diese zwei Einzelwerte geben nur sehr spärlich die Temperaturentwicklung im Laufe des Tages wieder, eine detailliertere Messung wäre sicherlich aufschlussreicher. An dieser Stelle wird deshalb auf die Analyse hingewiesen, die eine Korrelation der Ameisenaktivität mit den Tagesphasen wiedergibt (siehe Fig. 1). Innerhalb eines Tages kommt es zu deutlichen Temperaturschwankungen (siehe Fig. 6, 7), die sich in den für diese Untersuchung festgelegten Tagesphasen widerspiegeln.

3.1.2 Charakterisierung der jungen Blätter

Die Einteilung der Blattentwicklung in Blattstadien wurde bereits im Methodenteil beschrieben und ist in Fig. 2 und 3 zu sehen.

Durchschnittlich dauert die Entwicklung eines Blattes von Stadium 1 bis 5 bei *P. obliquum* ca. 13-18 Tage, wobei diese Dauer sicherlich auch von der Vitalität, der Sonnenexposition und Größe der Pflanze abhängig ist. Dabei kommt es nach dem Ausrollen des Blattes (Blattstadium 3) zu einer deutlichen Längen- und Breitenzunahme. Die jungen Blätter sind meist heller und fragiler als die adulten Blätter und sitzen an der Basis des Petiolus des davor entwickelten Blattes. In eher seltenen

Fällen werden auch zwei junge Blätter nebeneinander an einem Petiolus gebildet, die sich dann nebeneinander entwickeln. Es ist schwierig festzumachen, wann ein Blatt zu einem adulten Blatt wird. Bei *P. obliquum* wurde die Beobachtung beendet, wenn nach drei Tagen keine patrouillierenden Ameisen mehr am Blatt zu sehen waren. Man könnte ein Blatt auch dann als adult betrachten, wenn sich am Petiolus des gebildeten Blattes ein neues Blatt entwickelt. Dafür reichte der Untersuchungszeitraum dieser Untersuchung jedoch nicht aus.

Die jungen Blätter von *P. fimbriulatum* sind stärker behaart als die adulten, weshalb sie auch leicht gräulich schimmern. Auch sie bilden sich in der Achse des vorangegangenen Blattes. Auch bei *P. fimbriulatum* werden in seltenen Fällen zwei Blätter zeitgleich entwickelt, die sich dann nebeneinander entwickeln. Das Entrollen des Blattes geht bei *P. fimbriulatum* meist schneller voran, dafür verharren die Blätter meist länger im Blattstadium 4. Auch hier ist die Entwicklung des Blattes sicherlich von der Vitalität, der Sonnenexposition und der Größe der Pflanze abhängig, meist benötigt es zur Entfaltung aber 10 bis 15 Tage. Es war bei *P. fimbriulatum* jedoch schwierig, das Blatt aus der Untersuchung zu nehmen, also als adult zu bezeichnen, da die Blätter deutlich länger und im letzten Stadium auch intensiver als das letzte Entwicklungsstadium von *P. obliquum* patrouilliert werden (Vgl.: Kapitel 3.1.1.1: Einfluss der Blattentwicklung auf das Patrouillier-Verhalten).

An bereits adulten Blättern, aus deren Internodien sich bereits erneut Blätter gebildet hatten, zeigt sich aber, dass die Patrouillier-Aktivität wohl irgendwann nachlassen muss. Obwohl diese Blätter nicht im Fokus der Untersuchung standen, konnten beim wiederholten Beobachten der Pflanzen stets nur Patrouillier-Aktivität an den jungen Blättern festgestellt werden.

3.1.3 Blattentwicklung bei Ameisenausschluss

Fig. 13 zeigt die Entwicklung der TT-Blätter während und am Ende der Untersuchung. Neben den vermehrt vorhandenen Pearl bodies ist bei vielen Blättern ein Blattverfall zu beobachten, der sich in der Kontrollgruppe nur zu einem geringen Ausmaß zeigt. Während sich auf Blättern von *P. obliquum* vor allem stärkere Herbivorie zeigt, beginnen die Blätter von *P. fimbriulatum* zu faulen. Einige Blätter waren bereits während des Versuchsablaufs am Stängel so stark verfault, dass sie abfielen.

Bei *P. obliquum* zeigt sich während des Beobachtungszeitraums vor allem vermehrt Blattfraß (Fig. 13A-C). Die Lamina, aber auch häufig der Blattstiel (Fig. 13A, B) zeigten Fraßspuren anderer Insekten. Gerade am Stiel war bei den verletzten Stellen Fäulnis zu sehen. Auch die Blätter von unbehandelten Pflanzen zeigten häufig Blattfraß, jedoch in einem viel geringeren Ausmaß. Durch die Manipulation der Blätter wurden bei *P. obliquum* aber auch Pbs auf der Blattunterseite sichtbar (Fig. 13D).

Die manipulierten Individuen von *P. fimbriulatum* waren vermehrt anfällig auf Fäulnisbildung. Meist faulten die Blätter am Blattgrund ab (Fig. 13G). Aufgrund dieser Entwicklung konnten insgesamt drei Blätter nicht bis zum Ende des Beobachtungszeitraums untersucht werden. Fig. 14A, B zeigt ein abgefaultes Blatt von *P. fimbriulatum* unter dem Binokular. Wie sich zeigt, ist die Fäulnis am Blattstiel auf die Blattspreite übergetreten. Zu sehen ist, dass sich die verfaulenden Stellen sehr dunkel bis schwarz färben. Es sind nur noch wenige Stellen am Blatt erkennbar, die eine grüne Färbung aufweisen. Auf vielen Blättern konnten Verschmutzungen festgestellt werden (Fig. 13H). Fig. 13F zeigt aber auch bei *P. fimbriulatum* deutlichen Blattfraß. Eine weitere Auffälligkeit, die vermehrt bei *P. fimbriulatum* beobachtet wurde, war die Anwesenheit von einer Vielzahl an weißen Fliegen auf der Blattunterseite (Fig. 13E).



Fig. 13: Dokumentation des Blattverfalls bei Ameisenausschluss.

P. obliquum (A-D): Blattfraß an der Blattspreite und dem Blattnerv (A-C), Sichtbare Pearl bodies nach vier Tage Ameisenausschluss. *P. fimbriulatum* (E-H): Weiße Fliegen auf der Blattunterseite (E), Blattfraß (F), Abgefallenes Blatt (G), Verschmutzungen auf der Blattspreite (H)

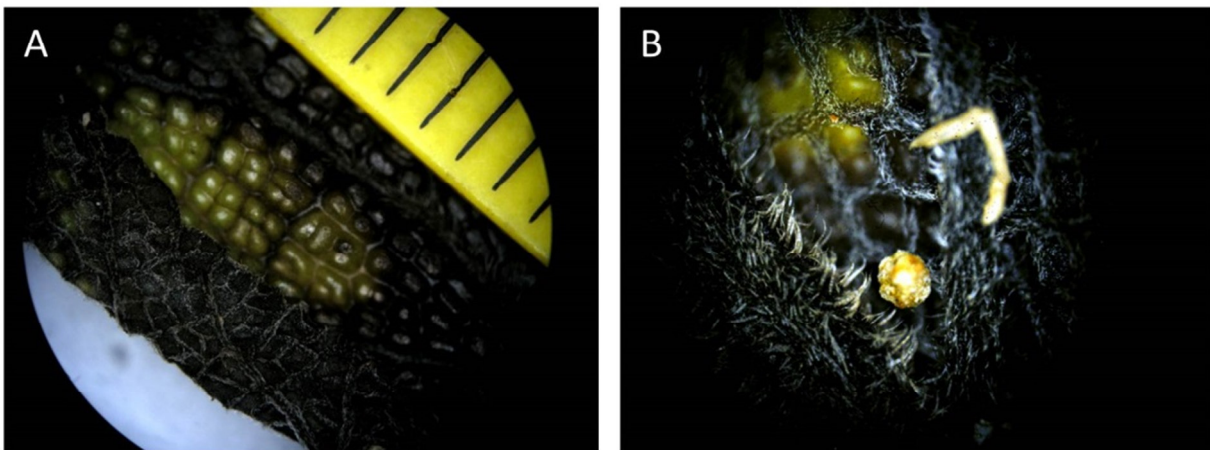


Fig. 14: Dokumentation des Blattverfalls bei Ameisenausschluss.

P. fimbriulatum (A-B): Abgefaultes Blatt unter dem Binokular. Fäulnis breitet sich vom Stiel zur Blattspreite aus.

3.2 Untersuchungen der Pearl bodies

3.2.1 Anatomische und morphologische Untersuchung der Pearl bodies

3.2.1.1 Binokularaufnahmen von frischen Pearl bodies

Fig. 15 und 16 zeigen Aufnahmen der Pearl bodies unter dem Binokular. Bis auf zwei Fotografien sind nur Blätter aus dem Glashaus (=GH) abgebildet. Da diese Pflanzen nicht von Ameisen besiedelt sind, werden die Pbs nicht abgesammelt und sind deshalb in einer sehr großen Anzahl sowohl auf den jungen als auch adulten Blätter vorhanden.

Fig. 15 zeigt Blätter und einen Petiolus von *P. obliquum*; in Fig. 15A und B sind ein junges Blatt (Stadium 3; GH) einem adulten Blatt (GH) gegenübergestellt. Bei dem jungen Blatt befinden sich die größeren Pbs entlang der Nervatur, aber auch auf der Lamina ist eine Vielzahl von kleineren Pbs zu sehen (Fig. 15A). Am adulten Blatt ist die Anzahl an Pbs noch höher, des Weiteren sind auch die Pbs größer. Die Verteilung der Pbs konzentriert sich weniger stark auf die Nervatur, sondern die Pbs sind mehr oder minder regelmäßig auf der Lamina verteilt. Die Verunreinigungen, im Bild als schwarze Punkte zu erkennen, rühren von einem starken Milbenbefall der Glashauspflanzen her (Fig. 15A). Im Glashaus beschränkt sich das Auftreten der Pbs aber nicht nur auf die Blätter, auch auf den Blattstielen, Petioli und Zweigen sind Pbs zu sehen, wie etwa in Fig. 15C am jüngsten Petiolus. Fig.

15D zeigt eine Nahaufnahme von Pbs auf dem adulten Blatt. Wie sich zeigt, liegt eine größere Anzahl an Pbs auf kleinem Raum beieinander und sie weisen unterschiedliche Größen auf (Vgl.: Kapitel 3.2.1.5: Größe der Pearl bodies). In Fig. 15E, F sind Aufnahmen von jungen Blättern zu sehen, die aus ihrem natürlichen Habitat in Costa Rica entnommen wurden. Abgebildet sind ein junges Blatt (Stadium 3) und ein beinahe ausgewachsenes Blatt (Stadium 5). Vergleicht man diese Stadien mit jüngeren Stadien (Fig. 15A, B), so ist eine deutliche Abnahme von Pbs im Laufe der Blattentwicklung ersichtlich. Auch bei den Freilandblättern sind die Pbs in früheren Stadien vermehrt entlang der Nervatur (Fig. 15E) und im weiteren Verlauf verteilt auf der Lamina zu beobachten (Fig. 15F).

Während bei *P. fimbriulatum* im Freiland nur vereinzelt Pbs zu sehen waren, wiesen die adulten Blätter der Glashauspflanze viele Pbs, obgleich dennoch deutlich weniger als *P. obliquum*, auf (Fig. 16B; auch hier mit enormem Milbenbefall). Bei sehr jungen Blättern (Stadium 1, 2) waren jedoch auch bei den Pflanzen im Glashaus keine Pbs erkennbar (Fig. 16A). Demnach bilden sich die ersten Pbs erst in Stadium 3 (Fig. 16C) entlang der Nervatur. In Stadium 4 treten dann vereinzelt mehr Pbs auf, die auch mit dem freien Auge wahrnehmbar sind. Fig. 16D zeigt einen Blattausschnitt eines Blattes in Stadium 5. Erst ab diesem Stadium sind vergleichbar viele Pbs, wie auf den jungen Blättern von *P. obliquum* zu sehen.

P. fimbriulatum weist im Gegensatz zu *P. obliquum* eine sehr dichte Behaarung vor allem auf der Blattunterseite auf, die von zwei unterschiedlichen Trichomtypen gebildet wird (Vgl. dazu auch Kapitel 3.2.1.3: Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung, Fig. 18F). Fig. 16E zeigt eine Nahaufnahme dieser Behaarung. Die Vermutung liegt nahe, dass die längeren weißen Trichome möglicherweise mit Flüssigkeit gefüllt sind. In Fig. 16F ist eine Nahaufnahme von Pbs auf einem adulten Blatt zu sehen. Im Vergleich zu den Pbs von *P. obliquum* wirken die Bilder in der Aufnahme milchig und deutlich drüber.



Fig. 15: Pearl bodies auf Blättern von *P. obliquum*.

Blattproben aus dem Glashaus (**A-D**). Junges Blatt: Stadium 3. Zahlreiche Pbs sind auf der Blattunterseite, v.a. entlang der Nervatur zu sehen (A). Adultes Blatt: bei Ameisenexklusion bleiben die Pbs auch am adulten Blatt vorhanden (B). Zahlreiche Pbs außen am Petiolus (C). Nahaufnahme von Pearl bodies (D). Blattproben aus dem natürlichen Habitat (**E,F**). Junges Blatt: Stadium 3. Vielzahl an Pbs (E). Stadium 5. Deutlich weniger Pbs (F).



Fig. 16: Blätter aus dem Glashaus mit und ohne Pearl bodies von *P. fimbrilatum*.

Junges Blatt Stadium 2, ohne Pbs (A). Adultes Blatt mit Pbs (B). Erste Pbs auf der Nervatur, junges Blatt Stadium 3 (C). Mehrere Pbs auf einem jungen Blatt Stadium 5 (D). Nahaufnahme der Trichome auf der Blattunterseite, junges Blatt, Stadium 2 (E). Nahaufnahme Pbs auf einem adulten Blatt (F).

3.2.1.2 LM-Untersuchung: Vergleich der Pbs mit den Fks des Petiolus

In Fig. 17 sind die Pearl bodies, die sich hauptsächlich an der Unterseite der jungen Blätter bilden, den bereits bekannten Futterkörperchen in den Petioli der Pflanzen gegenübergestellt. Wie sich anhand dieser Fotografien zeigt, unterscheiden sich die Pbs der Blattunterseite in ihrer Erscheinung nicht wesentlich von den Fks der Petioli. Die Inhaltsstoffe sind bei den Fks und Pbs immer bläulich gefärbt und erscheinen durch die Färbung trüb und flockig. Sie sind meist rundlich und von einer Zellwand umgeben, die vor allem bei den kleineren Fks bzw. Pbs violett gefärbt ist. In Fig. 17A ist ein Pb auf einem jungen Blatt (Stadium 3) von *P. obliquum* zu sehen. Der Inhalt des rundlichen Pbs ist blau gefärbt und umschlossen wird es von einer violett eingefärbten Zellwand. Fig. 17B zeigt ein Pb auf einem jungen Blatt (Stadium 4) von *P. fimbriulatum* (GH). Auch hier ist die Zellwand leicht violett gefärbt und die Inhaltsstoffe bläulich. Bei dieser Abbildung ist aber auch eine Verbindung des Pbs zur Epidermis zu sehen.

Bei einem Vergleich der Fks des Petiolus (Fig. 17C, D) und der Pbs der Blattunterseite zeigt sich, dass die Fks vergleichsweise größer als die Pbs der jungen Blätter, aber auch deutlich unförmiger sind. Im Erscheinungsbild ähneln sie dennoch stark den Pbs, auch wenn die violette Zellwand weniger deutlich ausgeprägt ist. Erst beim Größenvergleich zeigt sich ein wesentlicher Unterschied. Fig. 17A-D sind allesamt in der gleichen Vergrößerung (40fach) fotografiert. Die Futterkörperchen im Petiolus sind im direkten Vergleich größer als die Pearl bodies der Blätter (Vgl.: Kapitel 3.2.1.5: Größe der Pearl bodies).

Bei Fig. 17C handelt es sich um ein Fk im Petiolus von *P. obliquum*. Fig. 17D zeigt zwei Fks im Petiolus von *P. cenocladum*. Beide Fks sind nicht deutlich rund, sondern eher unförmig mit Anhängen. Das rechte, kleinere Fk ist deutlich von einer violett gefärbten Zellwand umgeben. Auch beim größeren, linken ist die Zellwand erkennbar. Auch bei den Fks der Petioli sind die Inhaltsstoffe bläulich gefärbt.

Fig. 17E und 17F zeigen Nahaufnahmen von Pbs. Beim ersten (Fig. 17E) handelt es sich um eine Nahaufnahme desselben Pbs wie in Fig. 17A. Besonders deutlich ist hier zu sehen, dass die Pbs aus Epidermiszellen gebildet werden. Fig. 17F zeigt ein Pb auf einem jungen Blatt von *P. obliquum*. Interessant ist, dass an diesem Bild neben den blaugefärbten Inhaltsstoffen im Inneren des Pbs auch eine weitere Struktur erkennbar ist. Dabei handelt es sich vermutlich um den stark vergrößerten Nucleus (Risch und Rickson 1981).

Entscheidend ist, dass die Pbs der jungen Blätter den Fks, die im Petiolus als Hauptnahrungsquelle für die Ameisenbrut gebildet werden, sehr stark ähneln und deswegen auch als Ameisennahrung dienen könnten.

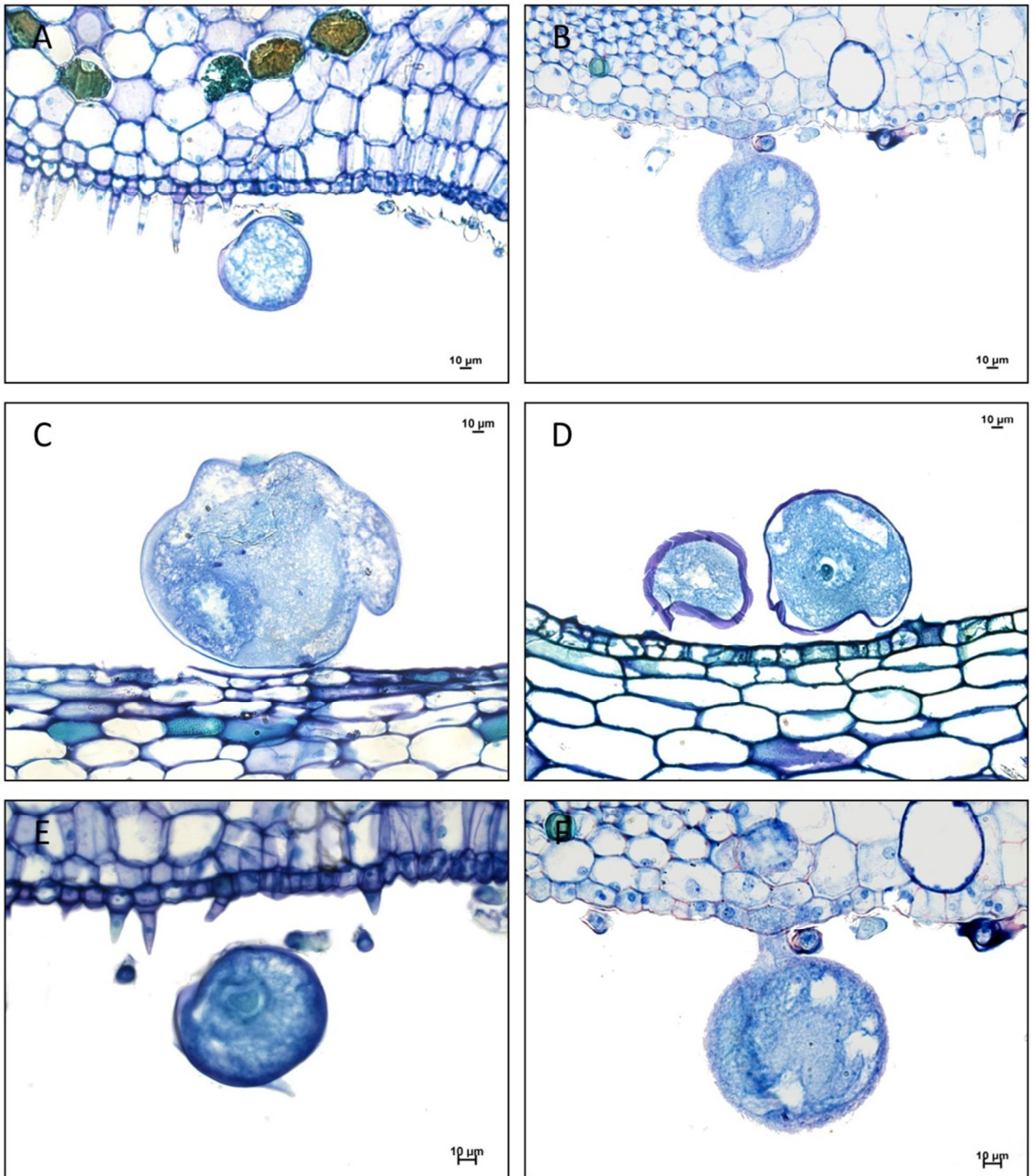


Fig. 17: Pearl bodies der jungen Blätter und Futterkörperchen der Petioli.

Pb auf einem jungen Blatt von *P. obliquum* (A). Pb auf einem jungen Blatt (Glashaus) von *P. fimbriculatum* (B). Fk im Petiolus von *P. obliquum* (C). Fk im Petiolus von *P. cenocladum* (D). Vergrößerung: Pb von *P. obliquum* mit stark vergrößertem Nucleus (E). Vergrößerung: Pb von *P. fimbriculatum* (F).

3.2.1.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Die Ergebnisse der REM-Aufnahmen sind in Fig. 18 zu sehen, wobei Fig. 18A-D Blattausschnitte von einem jungen Blatt (Stadium 3) von *P. obliquum* und Fig. 18E, D von *P. fimbriulatum* (Stadium 3) zeigt. Fig. 18A gibt einen Überblick eines Blattausschnitts (Stadium 3), mehrere Futterkörperchen in unterschiedlichen Größen sind zu sehen. Auf den ca. 18 mm² befinden sich 18 zählbare Pbs, also etwa 100 pro cm². In der Aufsicht zeigt sich, dass die Oberfläche des Pbs nicht glatt, sondern stellenweise unruhig und gewölbt ist (Fig. 18B). Es befinden sich auch Verschmutzungen und Kristalle auf der Oberfläche. In Fig. 18C ist eine Nahaufnahme eines Pbs zu sehen. Am Pbs ist eine Einbuchtung zu erkennen, auf der sich Kristalle befinden. Möglicherweise sind hier Inhaltsstoffe des Pbs durch Verletzung ausgetreten und an der Oberfläche kristallisiert. Auch in dieser Aufnahme sind deutlich Verunreinigungen und Wachskristalle auf der unregelmäßigen Oberfläche zu sehen. In der Seitenansicht ist eine direkte Verbindung zur Epidermis nicht erkennbar (Fig. 18D). Die Blattoberfläche von *P. fimbriulatum* ist dicht mit kurzen Trichomen besetzt. (Fig. 18A, D).

Fig. 18E und 18F zeigt Blattausschnitte eines jungen Blattes von *P. fimbriulatum*. Da auf den mitgebrachten Blättern aus Costa Rica keine Pbs zu sehen waren und nur diese Blätter für die REM-Aufnahmen bearbeitet wurden, sind leider keine Aufnahmen der Pbs von *P. fimbriulatum* vorhanden. Es kann also anhand der REM-Aufnahmen, kein Vergleich der beiden *Piper*-Arten erfolgen. *P. fimbriulatum* weist eine stärkere Behaarung auf als *P. obliquum*. Neben den kurzen, dicht angeordneten Trichomen, die auch bei *P. obliquum* zu sehen sind, ist auf der Unterseite von *P. fimbriulatum* auch ein weiterer Trichomtyp zu finden. Diese Trichome sind um ein Vielfaches länger, jedoch in einer geringeren Anzahl als die kürzeren Trichome vorhanden. Dieser Trichomtyp ist zudem gehäuft an der Blattaderung zu sehen, wohingegen die gewölbten Interkostalfelder eine geringere Behaarung aufweisen (Fig. 18E).

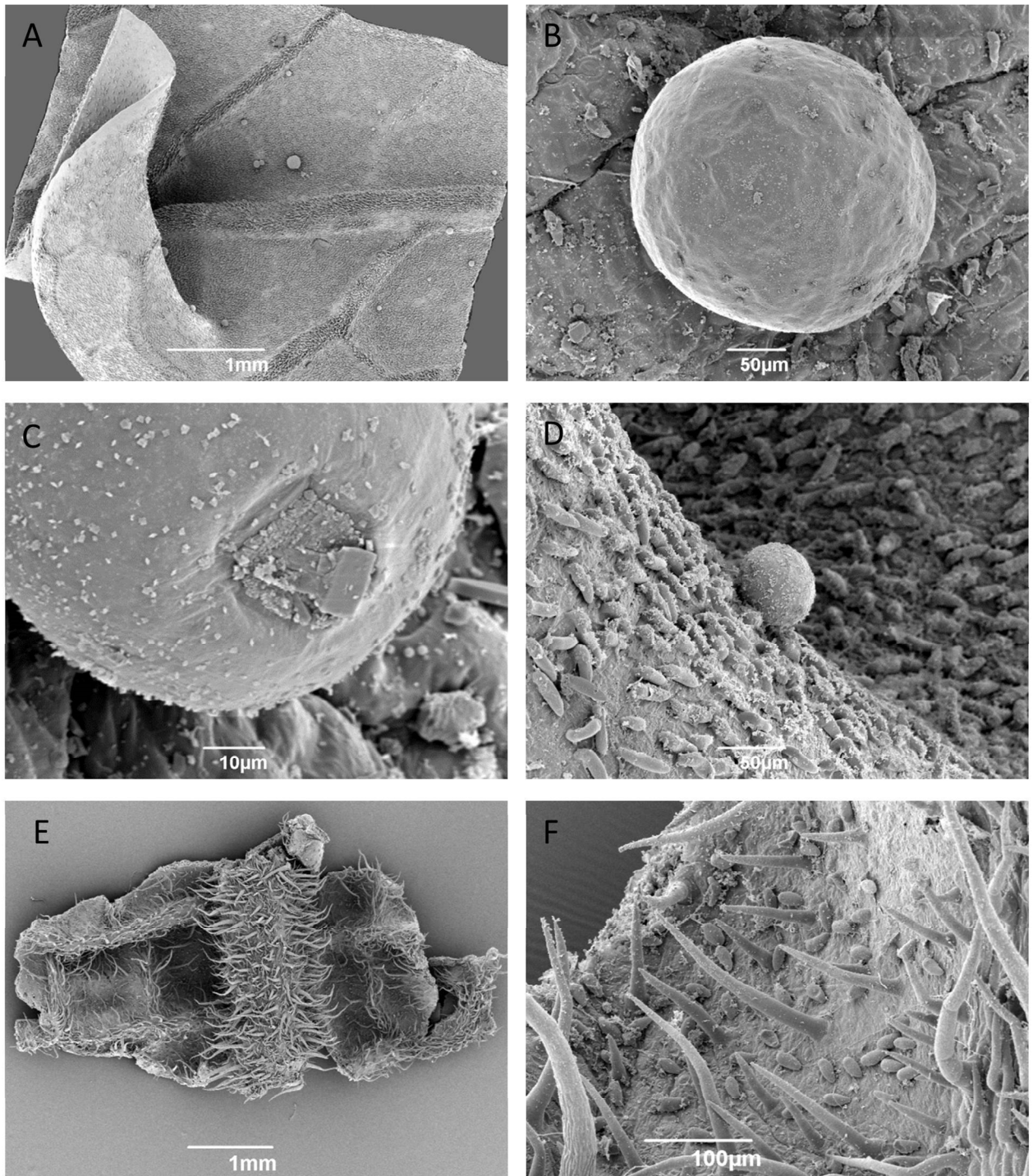


Fig. 18: REM-Aufnahmen von *P. obliquum* (A-D) und *P. fimbriculatum* (E, F).

Überblick *P. obliquum* mit zahlreichen Pearl bodies (A). Nahaufnahme, Aufsicht auf ein Pearl body (B). Nahaufnahme eines Pearl bodies mit Einbuchtung und Kristallen (C). Seitenansicht eines Pearl bodies, Trichome bedecken die Blattunterseite (D). Überblick *P. fimbriculatum* (E). Nahaufnahme mit beiden Trichomtypen (F).

3.2.1.4 Anzahl der Pearl bodies pro Blattstadium

Die Zählungen der Pearl bodies auf Blattausschnitten von *P. obliquum*, die für ca. 36 Stunden mit Teebeuteln eingetütet wurden, um das Absammeln durch *Pheidole bicornis* und andere Insekten zu verhindern, lieferten folgende Ergebnisse:

Tabelle 1: Anzahl der Pearl bodies pro cm² je Blattstadium bei *P. obliquum*.

Blattstadium	Anzahl der Pearl bodies pro cm ²
Stadium 1 (n=1 Blattausschnitt (3 cm ²))	13,33 Pbs/cm ²
Stadium 2 (n=1 Blattausschnitt (3,75 cm ²))	25,06 Pbs/cm ²
Stadium 3 (n=1 Blattausschnitt (3,5 cm ²))	33,42 Pbs/cm ²
Stadium 4 (n=1 Blattausschnitt (4 cm ²))	48 Pbs/cm ²
Stadium 5 (n=1 Blattausschnitt (5,75 cm ²))	8,17 Pbs/cm ²

Die meisten Pbs sind im Stadium 4 vorhanden, nämlich 48 Pbs/cm². Im dritten Stadium wurden ca. 33 Pbs/cm² gezählt und im zweiten Stadium ca. 25 Pbs/cm². Deutlich weniger sind in Stadium 1 mit ca. 13 Pbs/cm² und nochmals weniger im Stadium 5 mit ca. 8 Pbs/cm² vorhanden. Die Pearlbodies-Produktion nimmt demnach bei adulten Blättern ab, da im fünften Blattstadium nur noch sehr wenige Pbs frisch gebildet werden. Die Zählung wurde allerdings stets nur an einem Ausschnitt eines Blattes vorgenommen, ihre Aussagekraft ist somit beschränkt.

Bei *P. fimbriulatum* wurden Zählungen an Blättern aus dem Glashaus durchgeführt:

Tabelle 2: Anzahl der Pearl bodies pro cm² je Blattstadium bei *P. fimbriulatum*.

Blattstadium	Anzahl der Pearl bodies pro cm ²
Stadium 1 (n=1)	Keine Pbs zu sehen
Stadium 2 (n=1)	Keine Pbs zu sehen
Stadium 3 (n=1 Blattausschnitt (4 cm ²))	0,5 Pbs/cm ²
Stadium 4 (n=1 Blattausschnitt (4,5 cm ²))	7,11 Pbs/cm ²
Stadium 5 (n=1 Blattausschnitt (6 cm ²))	19,33 Pbs/cm ²

Bei *P. fimbriulatum* werden Pbs auf den jungen Blättern erst in späteren Blattstadien gebildet. So waren die ersten Pbs vereinzelt (0,5 Pbs/cm²) mithilfe des Binokulars erst auf Blättern des Blattstadiums 3 zu sehen. Bei Blättern im vierten Entwicklungsstadium ergaben die Zählungen 7,25 Pbs/cm² und im fünften Stadium 19,33 Pbs/cm². Die Bildung von Pearl bodies beginnt bei *P.*

fimbriulatum also deutlich später als bei *P. obliquum*. Wieder können die Werte der Zählung allerdings nur als Trend gesehen werden, da keine wirklich repräsentative Fläche ausgewählt wurde. Allerdings spiegelt die durch die Zählung dokumentierte späte Entwicklung der Pearl bodies sich auch in anderen Untersuchungen wider (Vgl. etwa Kapitel 3.2.1.1: Binokularaufnahmen von frischen Pearl bodies).

3.2.1.5 Größe der Pearl bodies

Anhand der unterschiedlichen Fotografien der Pearl bodies (REM-Untersuchung, LM-Untersuchung, unbehandelte, frische GH-Pearl bodies) wurde der Durchmesser der Pearl bodies ermittelt und daraus Durchschnittswerte errechnet. Als Vergleichswert wurden die durchschnittlichen Durchmesser der Futterkörperchen des Petiolus von *P. obliquum* und *P. cenocladum* errechnet.

Tabelle 3: Durchschnittliche Größe der Pearl bodies bei *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* und Futterkörperchen bei *P. obliquum* und *P. cenocladum* in den verschiedenen Untersuchungsmethoden.

<i>P. obliquum</i>	Durchschnittliche Größe
Lichtmikroskopische Untersuchung (n=4)	76,25 µm (±14,36 µm)
REM-Untersuchungen (n=22)	90,90 µm (±47,68 µm)
FrISCHE Pbs aus dem Glashaus (n=30)	101,38 µm (±56,53 µm)
Durchschnittswert aller Untersuchungen (n=56)	95,27 µm (±45,57 µm)
Pbs des Petiolus (LM-Untersuchung) (n=9)	132,22 µm (±57,12 µm)
<i>P. fimbriulatum</i>	
Lichtmikroskopische Untersuchung (n=1)	100 µm
FrISCHE Pbs aus dem Glashaus (n=16)	103,75 µm (±40,93 µm)
Durchschnittswert aller Untersuchungen (n=17)	103,41 µm (±39,63 µm)
<i>P. cenocladum</i>	
Pbs des Petiolus (LM-Untersuchung) (n=12)	121,66 µm (±28,47 µm)

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung wurden folgende Durchmesser für die Pearl bodies ermittelt. Der durchschnittliche Durchmesser der Pbs auf den jungen Blättern von *P. obliquum* beträgt 76,25 µm, wobei das kleinste von insgesamt vier gemessenen Pbs einen Durchmesser von 55 µm und das größte einen Durchmesser von 85 µm hat. Das einzige Pb, das auf einem aus dem Glashaus stammenden jungen Blatt von *P. fimbriulatum* im Mikrotomschnitt zu sehen war, hat einen Durchmesser von 100 µm.

Die Pearl bodies der REM-Untersuchung haben einen durchschnittlichen Durchmesser von 90,9 μm , wobei das größte einen Durchmesser von 270 μm und das kleinste einen Durchmesser von 45 μm hat. Insgesamt wurden 22 Pbs vermessen.

Die Pearl bodies, die sich auf den Blättern der Glashaus-Pflanzen von *P. obliquum* befinden, haben einen durchschnittlichen Durchmesser von 101,38 μm . Insgesamt wurden 30 Pbs vermessen, das größte Pearl body hatte dabei einen Durchmesser von 220 μm , das kleinste einen Durchmesser von 25 μm . Die insgesamt 16 vermessenen Pearl bodies von *P. fimbriulatum* haben einen durchschnittlichen Durchmesser von 103,75 μm . Das größte hat einen Durchmesser von 210 μm und das kleinste einen Durchmesser von 25 μm .

Errechnet man eine durchschnittliche Größe aus allen Untersuchungen, so ergibt sich für *P. obliquum* ein Durchmesser von 95,27 μm und für *P. fimbriulatum* ein Durchmesser von 103,41 μm .

Um einen Vergleich zu ermöglichen, wurden neben den Pearl bodies der jungen Blätter auch die Futterkörperchen im Petiolus abgemessen. Bei *P. obliquum* beträgt der durchschnittliche Durchmesser 132,22 μm (0,13 mm), wobei das kleinste gemessene Fk einen Durchmesser von 70 μm und das größte einen Durchmesser von 215 μm aufweist. Bei den 12 gemessenen Fk des Petiolus von *P. cenocladum* beträgt der durchschnittliche Durchmesser 121,66 μm (0,122 mm), das kleinste Fk hat dabei einen Durchmesser von 70 μm und das größte 160 μm .

3.2.2 Mikrochemische Untersuchung der Pearl bodies

Der Stärkenachweis zeigt bei allen drei Objekten (Schnitt, Frisch- und Trockenmaterial) ein negatives Ergebnis. Der Lipidnachweis, der mit Sudan-III-Paraffin durchgeführt wurde, war hingegen positiv. Die Ergebnisse sind in Fig. 19 zu sehen.

Fig. 19A zeigt einen Querschnitt (Mikrotomschnitt) durch ein Pb von *P. obliquum*, das sich auf der Unterseite eines Blattes des Blattstadiums 3 befindet. Am linken und rechten Rand des Pbs sind jeweils größere Bereiche orange eingefärbt. Fig. 19B zeigt ein frisches, mit Sudan-III-Paraffin eingefärbtes Futterkörperchen. Im Inneren sind mehrere Bläschen zu sehen, die orange gefärbt sind. Dass sich Inhaltsstoffe orange färben, weist in der Regel auf einen positiven Lipidnachweis hin (Gerlach 1982).

Fig. 19C zeigt ein frisches, intaktes Pearl body ohne Einfärbung in Wasser, Fig. 19D ein zerstörtes Pb, aus dem die Inhaltsstoffe austreten, die sich deutlich vom umgebenden Wasser abheben. Die Zerstörung erfolgte wahrscheinlich durch das Verschieben des Deckglases.

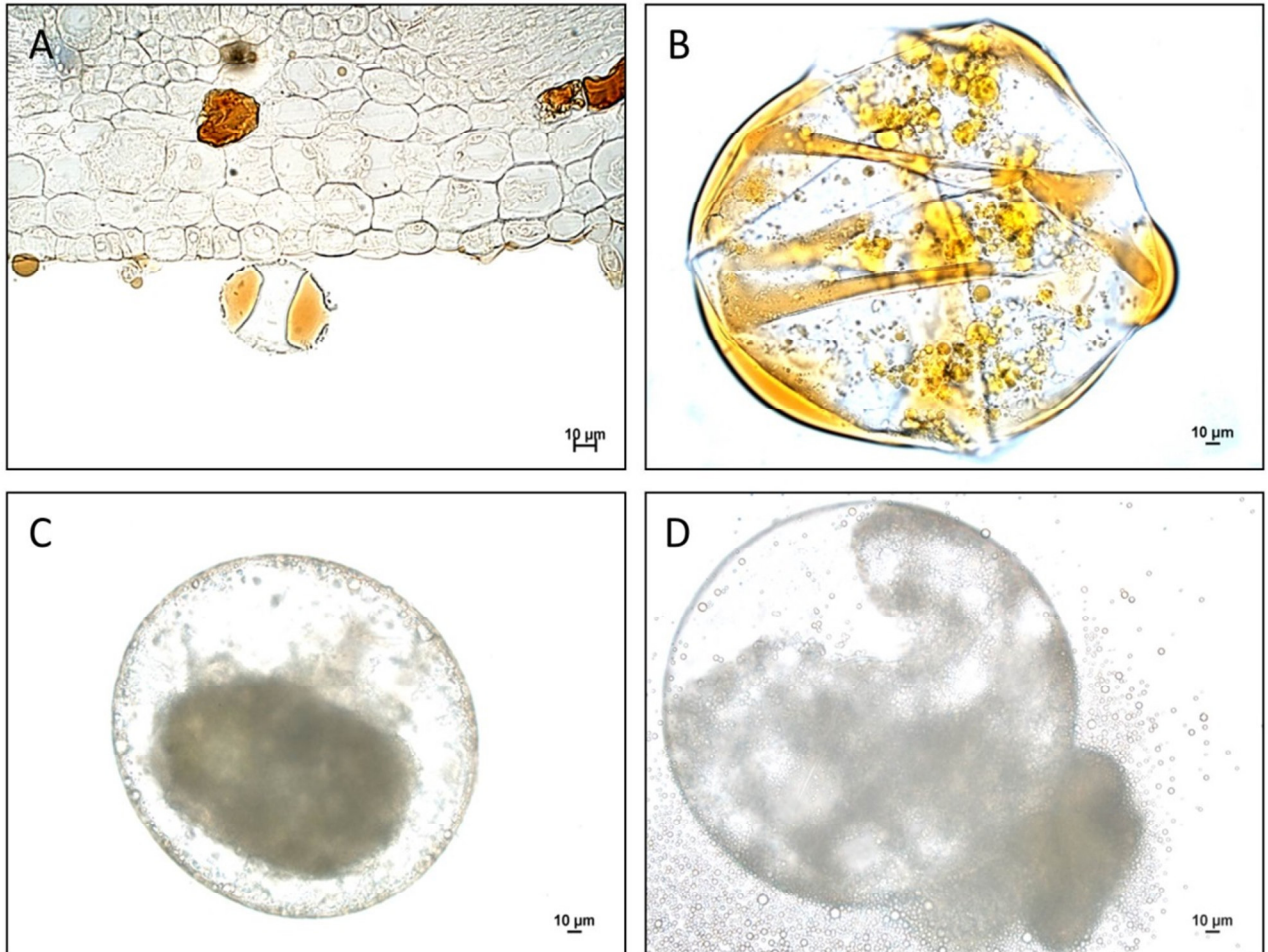


Fig. 19: Pearl bodies von *P. obliquum*.

Lipidnachweis bei einem Mikrotomschnitt eines Pearl bodies (A). Lipidnachweis bei einem getrockneten Pearl body (B). Nahaufnahme eines frischen Pearl bodies aus dem Glashauss (C). Verletztes, frisches Pearl body mit austretenden Inhaltsstoffen (D).

3.3 Duftstoffanalyse und Ölzellenuntersuchung bei den jungen Blättern

3.3.1 **Duftstoffanalyse: Ergebnisse der SPME-Fasern**

Die Auswertung der SPME-Fasern konnte leider im Rahmen dieser Arbeit nicht erfolgen. Eine SPME-Faser wurde durch den aufziehenden Sturm im Freiland zerstört, eine weitere war nicht ausreichend erhitzt worden, weshalb Siloxane die gesammelten Duftstoffe in der Gaschromatographie überdeckte. Weitere Duftstoffsammlungen, die an Glashaus-Exemplaren in Wien durchgeführt wurden, konnten bis dato leider noch nicht ausgewertet werden.

3.3.2 **Ölzellenuntersuchung**

In Fig. 20 sind toluidinblaugefärbte Mikrotomschnitte der verschiedenen Blattstadien von *P. obliquum* zu sehen. Auffallend ist in allen Blattstadien eine Schicht, die sich durch die Färbung grün hervorhebt. Diese Schicht befindet sich zwei Zellschichten unter der Epidermis der Blattoberseite und verändert sich deutlich entlang der Stadien. In Blattstadium 1 und 2 ist die gesamte Fläche der Zelle grünlich eingefärbt und nur wenig intensiv (Fig. 20A, B). Im weiteren Verlauf der Blattentwicklung, ca. ab Blattstadium 3, bilden sich im Zellinneren grüne, perlenförmige Tröpfchen aus (Fig. 20C). Diese Kügelchen sind auch in Blattstadium 4 und 5 vorhanden, auch wenn sich der Zellinhalt der auffallenden Schicht vermehrt am Zellenrand anordnet und sich die Zelle auch sukzessive leert. In manchen Zellen sind in den letzten beiden Stadien keine Inhaltsstoffe mehr zu sehen. Toluidinblau färbt Phenole und Terpene grün (Gerlach 1982), die auch in ätherischen Ölen vorhanden sind, grün.

Fig. 21 zeigt zudem den Lipidnachweis mit Sudan-III-Paraffin bei Blattschnitten von *P. obliquum*. Zu sehen ist, dass sich die Schicht deutlich färbt, es sich bei dieser Schicht also um ölhaltige Zellen, vermutlich Ölbehälter, handelt (Nultsch 2000). Außerdem sieht man auch bei der Färbung mit Sudan-III-Paraffin, dass sich die Zellen über die fünf Blattstadien deutlich verändern und sich die Zellinhaltsstoffe immer mehr zusammenziehen und teilweise perlenartig aussehen.

Auch bei *P. fimbriulatum* sind im Blattquerschnitt grüngefärbten Zellen erkennbar (Fig. 22). Diese befinden sich meist in der Zellreihe direkt unter der Epidermis unterhalb der Blattoberseite. Sie liegen somit näher an der Oberfläche als die Zellen bei *P. obliquum*, zudem ist diese Schicht nicht durchgängig, das heißt, nicht jede Zelle scheint Lipide zu enthalten. Auch bei *P. fimbriulatum* verändern sich die Zellen im Laufe der Blattentwicklung. Die Ölzellen zeigen im ersten Blattstadium eine flächige Grünfärbung, in Blattstadium 2 ist zu sehen, dass sich der Inhalt bereits anders formiert und zusammenzieht. Während bei *P. obliquum* die Ölzellen innerhalb der Blattentwicklung vorhanden bleiben und sich nur deren Erscheinung ändert, werden die Zellen bei *P. fimbriulatum* im Laufe der Blattentwicklung immer weniger.

Fig. 23 zeigt den Lipidnachweis mit Sudan-III-Paraffin, beim Blattstadium 1 und 5. Zu sehen ist, dass sich die Schicht deutlich färbt, es sich also um Ölzellen handelt und sich auch hier die Zellen entlang der Blattentwicklung verändern.

Neben dieser Hauptschicht finden sich auch im Bereich der Leitbündel und unregelmäßig im Bereich der Blattunterseite Ölzellen, die sich auch im Laufe der Blattentwicklung verändern und bei *P. fimbriulatum* deutlich weniger werden. Auch bei *P. obliquum* finden sich im Bereich der Leitbündel und verteilt auf die Blattunterseite weitere Ölzellen, scheinbar nimmt deren Anzahl aber nicht im Laufe der Blattentwicklung ab.

Diese Ölzellen könnten auf ätherische Öle, also Duftstoffe hinweisen, die häufig durch Trichome an die Umgebung abgegeben werden (Nultsch 2000).

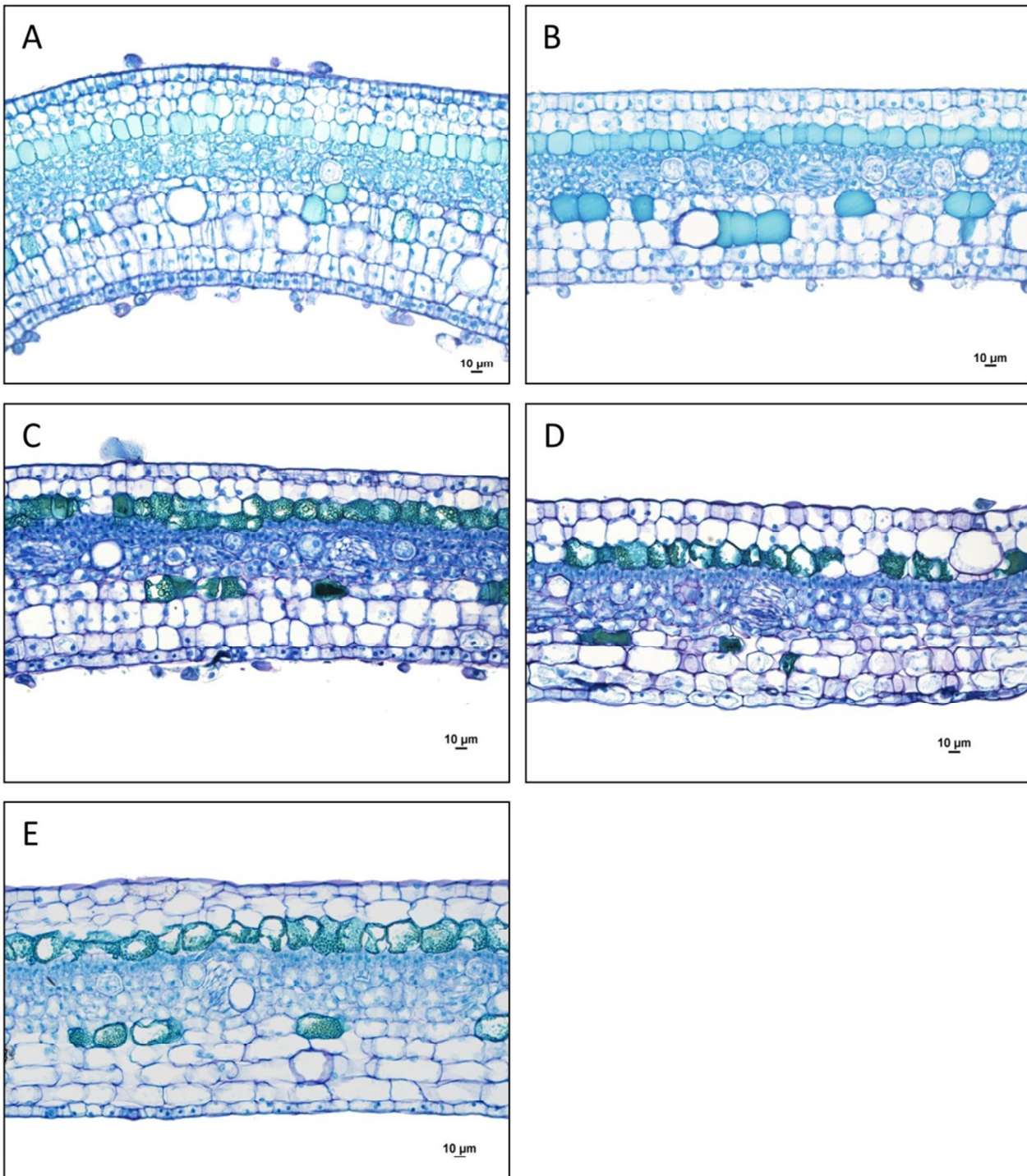


Fig. 20: Mikrotomschnitte der Blattstadien von *P. obliquum*.

Stadium 1 (A). Stadium 2 (B). Stadium 3 (C). Stadium 4 (D). Stadium 5 (E). Auffallend ist die Entwicklung der dritten, grüngefärbten Zellschicht und deren Veränderung im Lauf der Blattentwicklung. Es handelt sich dabei vermutlich um Ölzellen.

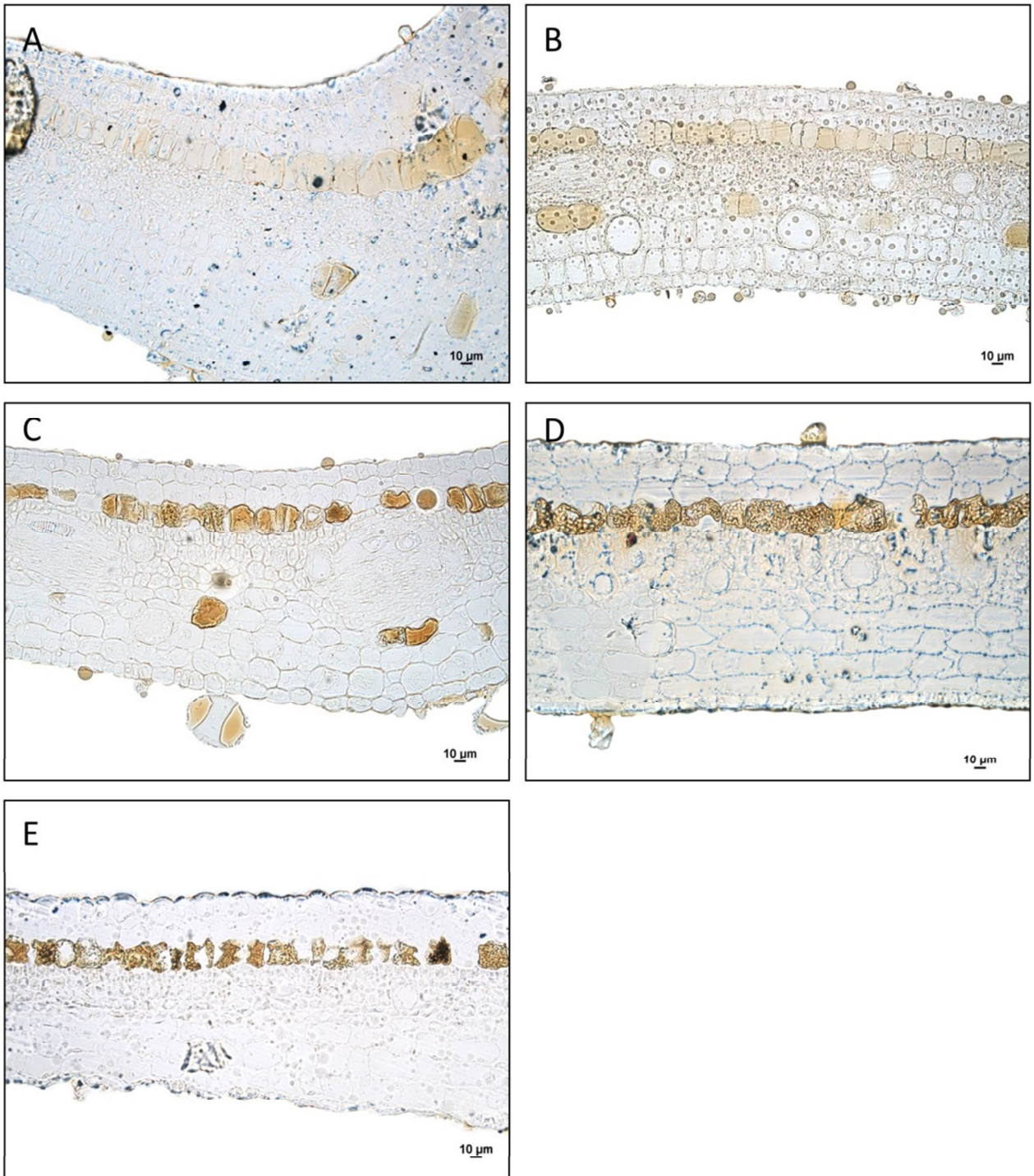


Fig. 21: Mikrotomschnitte der Blattstadien von *P. obliquum* mit Lipidnachweis.

Stadium 1 (A). Stadium 2 (B). Stadium 3 (C). Stadium 4 (D). Stadium 5 (E). Durch das Einfärben mit Sudan-III-Paraffin ist zu sehen, dass die Zellen der dritten Zellschicht Lipide enthalten. Auch hier ist eine Veränderung dieser Zellen über die Stadien zu sehen.

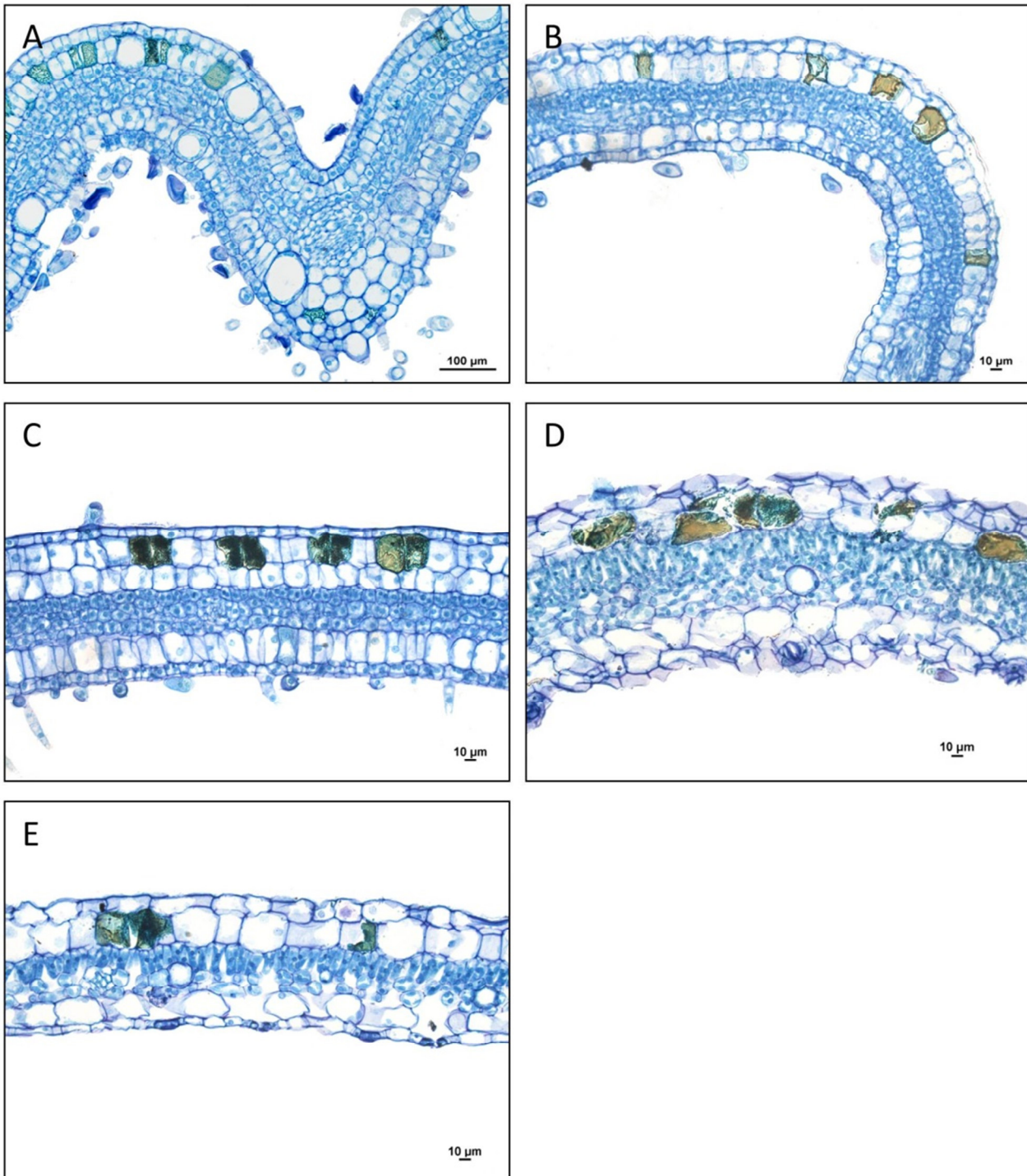


Fig. 22: Mikrotomschnitte der Blattstadien von *P. fimbrilatum*.

Stadium 1 (A). Stadium 2 (B). Stadium 3 (C). Stadium 4 (D). Stadium 5 (E). Auch bei *P. fimbrilatum* ist eine Schicht mit grüngefärbten Zellen zu sehen. Diese befindet sich jedoch direkt unterhalb der Epidermis und die grüngefärbten Zellen sind nicht durchgängig, sondern nur vereinzelt vorhanden. Es zeigt sich auch eine Veränderung im Laufe der Blattentwicklung.

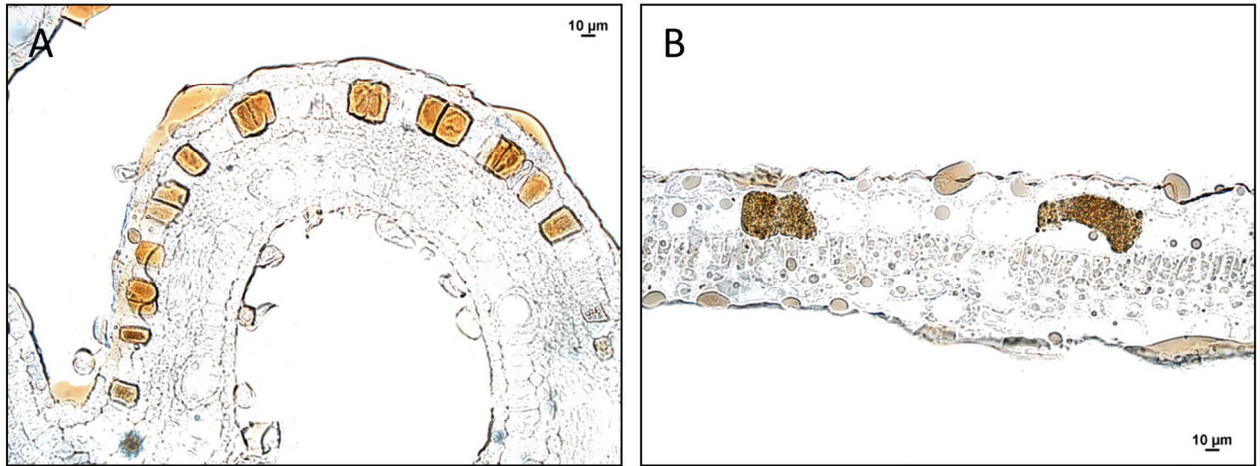


Fig. 23: Mikrotomschnitte der Blattstadien von *P. fimbrilatum* mit Lipidnachweis.
Stadium 1 (A). Stadium 5 (B). Durch das Einfärben mit Sudanparaffin ist zu sehen, dass es sich auch bei *P. fimbrilatum* um Ölzellen handelt. Auch hier ist eine Entwicklung über die fünf Blattstadien zu erkennen.

4 Diskussion

4.1 Schutzhypothese: Nutzen des Patrouillier-Verhaltens

4.1.1 Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern

In der vorliegenden Arbeit wurden die Auslöser des Patrouillier-Verhaltens der symbiontischen Ameisen *Pheidole bicornis* auf den neu gebildeten Blättern ihrer Wirtspflanzen *Piper obliquum* und *Piper fimbriulatum* untersucht. Risch et al. (1977) beschrieben das Patrouillier-Verhalten von *Pheidole bicornis* auf den jungen Blättern verschiedener myrmekophytischer *Piper*-Arten und taten es als eigenartiges, nicht besonders effektives Putzverhalten ab. Letourneau (1983) untersuchte wenige Zeit später das Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern von *P. sagittifolium* und *P. fimbriulatum* und stellte fest, dass die Ameisenaktivität auf den jungen Blättern (Mittelwert= 2,00 Ameisen/Blatt) signifikant höher ist als auf den adulten Blättern (Mittelwert= 0,51 Ameisen/Blatt). Dabei wurden jedoch, im Gegensatz zur vorliegenden Untersuchung, die Größe der Kolonie und die Anzahl der jungen Blätter nicht berücksichtigt. Wenn man diese beiden Faktoren bei den Ergebnissen der vorliegenden Untersuchung außer Acht lässt, ergibt sich bei *P. obliquum* ein Durchschnittswert von 2,25 Ameisen/Blatt. 2,82 Ameisen/Blatt sind dabei durchschnittlich im meist besuchten Blattstadium 2 und 1,76 Ameisen im am seltensten besuchten Stadium 5 zu sehen. Bei *P. fimbriulatum* liegt der Durchschnittswert im meist patrouillierten Stadium 5 bei 2,4 Ameisen/Blatt, die wenigste Patrouillier-Aktivität wurde im Blattstadium 3 mit 1,5 Ameisen/Blatt nachgewiesen. Daraus ergibt sich für *P. fimbriulatum* ein Durchschnittswert von 1,97 Ameisen/Blatt.

Die Ameisenaktivität auf den jungen Blättern der vorliegenden Untersuchung entspricht also bei *P. fimbriulatum* ziemlich exakt dem Wert von Letourneaus Untersuchung (1983). *P. obliquum*, die Letourneau nicht bearbeitete, wird hingegen durchschnittlich etwas intensiver patrouilliert. Alle Blattstadien dieser Untersuchung werden aber deutlich häufiger als die adulten Blätter besucht. Die Ameisenaktivität nimmt bei *P. obliquum* im letzten Blattstadium signifikant ab. Im Gegensatz dazu ist die Ameisenaktivität bei *P. fimbriulatum* im letzten Blattstadium signifikant am höchsten, was überrascht. Eine mögliche Ursache könnte die vermehrte Anfälligkeit auf Verunreinigung durch die papillöse Oberfläche der Blätter sein, zudem wurde auch nachgewiesen, dass die Pearlodies-Produktion bei *P. fimbriulatum* erst später einsetzt (Vgl. Kapitel 4.1.2: Blattentwicklung bei Ameisenausschluss; Kapitel 4.2.1: Patrouillier-Verhalten und Pearlodies-Produktion). Bei den adulten Blättern von *P. fimbriulatum* wurde aber weder bei Letourneau (1983) noch im Zuge dieser Untersuchung ein vermehrtes Ameisenaufkommen dokumentiert. Die adulten Blätter müssen wohl

chemische oder mechanische Schutzmechanismen aufweisen, wodurch sie weniger anfällig auf Herbivorie sind und deshalb das Patrouillieren der Ameisen nicht mehr notwendig ist (McKey 1984, Gaume et al 1997). Diese sogenannte „direkte Verteidigung“ (direct defense) ist bei vielen Blütenpflanzen beobachtet worden (Boege & Marquis 2005, Hanley et al. 2007).

Grangier et al. (2008) führten eine ähnliche Untersuchung bei den jungen Blättern der Ameisenpflanze *Hirtella physophora* durch, bei der jedoch auch die Zunahme der Blattoberfläche im Laufe der Blattentwicklung berücksichtigt wurde. Die Integration dieses Faktors wird darin begründet, dass im ersten Blattstadium die Blattfläche deutlich geringer ist und deswegen auch weniger Ameisen zum Patrouillieren benötigt werden. Wenn man diesen Faktor auch bei den Resultaten dieser Arbeit einfließen ließe, so würde die Ameisenaktivität in den letzten beiden Blattstadien noch deutlicher zurückgehen, da weniger Ameisen pro Blattfläche vorhanden wären. Blattstadium 1 würde dann hingegen deutlich stärker patrouilliert werden als etwa Blattstadium 3 und möglicherweise auch als Blattstadium 2. Grangier et al. (2008) untersuchten zudem auch, welches Entwicklungsstadium am anfälligsten auf Herbivorie ist, und zeigten, dass die anfälligste Entwicklungsphase auch am stärksten patrouilliert wird. Der Unterschied zwischen den beiden Ameisen-Pflanzen-Assoziationen ist aber, dass die Ameisen (*Allomerus decemarticulatus*) auf *Hirtella physophora* bei Verletzungen der jungen und auch adulten Blätter andere Arbeiterinnen rekrutieren und aggressives Verhalten zeigen, was bei *P. obliquum* und *P. fimbriatum* nicht der Fall ist (Grangier et al. 2008). *Pheidole bicornis* zeigt ein Rekrutierungsverhalten hingegen nur bei Verletzungen des Stammes (Mayer et al. 2008).

4.1.2 Blattentwicklung bei Ameisenausschluss

Wie bereits in der Einleitung verdeutlicht wurde, ist der Herbivorendruck im tropischen Regenwald sehr hoch. Besonders anfällig sind dabei die jungen Blätter, da sie aufgrund ihrer chemischen und anatomischen Zusammensetzung besonders attraktiv auf Herbivoren wirken (Feeny 1970; Coley 1980, 1983; Lowman & Box 1983; Mattson & Scriber 1987; Coley & Aide 1991; Kursar & Coley 1991; Badenes Perez et al. 2014). Wie die >Optimal Defense Hypothese< von McKey (1974) nahelegt, muss gerade für diese besonders wertvollen und sensiblen Pflanzenteile ein verstärkter Schutzmechanismus vorhanden sein.

Symbiotische Ameisen, die die jungen Blätter der Pflanzen patrouillieren, können gegen Herbivoren einen sehr zuverlässigen Schutzmechanismus darstellen. Bei Individuen von *Leonardoxa africana* wurde etwa nachgewiesen, dass bei Ameisenexklusion ein Drittel des Blattmaterials durch Herbivoren zerstört wird (Gaume et al. 1997). Interessant ist, dass *Leonardoxa africana* von zwei unterschiedlichen Ameisenarten bewohnt wird, wobei nur eine dieser Arten auf den jungen Blättern

patrouilliert, was sich auch in einer geringeren Herbivorie rate niederschlägt (Gaume & McKey 1999). Bei *Macaranga hosei* und *Macaranga triloba* verringerte sich nach einem Jahr Ameisenexklusion die Blattfläche durch Herbivorie sogar um 70% bzw. 80%, im Vergleich zu bewohnten Pflanzen (Heil et al. 2001). Bei der myrmekophilen Pflanze *Urera baccifera* konnte ein deutlicher Vorteil gegenüber Herbivoren durch die Anwesenheit von Ameisen auf den jungen Blättern festgestellt werden (Dutra et al. 2006).

Auch im Zuge dieser Untersuchung wurde die Blattentwicklung bei Ameisenexklusion dokumentiert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Anwesenheit von Ameisen auf den jungen Blättern einen klaren Vorteil für die Fitness der jungen Blätter darstellt. Vor allem bei *P. obliquum* ist vermehrter Blattfraß bei Ameisenausschluss im Vergleich zur Kontrollgruppe zu beobachten, bei *P. fimbriulatum* kommt es hingegen häufig zu Fäulniserscheinungen am Blatt. In einigen wenigen Fällen faulte das junge Blatt sogar vor Ende der Untersuchungsdauer ab. Bei *P. obliquum* scheinen die Ameisen potentielle Fressfeinde von den jungen Blättern zu vertreiben und Eier und Larven von Herbivoren zu entfernen. Letourneau (1983, 1998) hat bei mehreren myrmekophytischen *Piper*-Arten (u.a. auch *P. fimbriulatum*) nachgewiesen, dass die Arbeiterinnen sehr zuverlässig Eier und Larven von potentiellen Fressfeinden von den jungen Blättern entfernen (Letourneau 1983). Auf den von Ameisen exkludierten jungen Blättern von *P. fimbriulatum* konnte auch eine Vielzahl an weißen Fliegen auf der Blattunterseite beobachtet werden. Auch wenn keine eindeutige Schädigung des Blattes durch die Anwesenheit der Fliegen festgestellt werden konnte, waren sie dennoch nur auf manipulierten Blättern zu beobachten, was nahelegt, dass die Ameisen beim Patrouillieren auch diese vertreiben.

Offensichtlich reinigt *Pheidole bicornis* aber auch die jungen Blätter ihres Symbiosepartners, wie die Ergebnisse von *P. fimbriulatum* nahelegen. Da es bei *P. fimbriulatum* bei Abwesenheit der Ameisen zu Blattfäulnis kommt, ist anzunehmen, dass die Ameisen das junge Blatt von Pilzsporen, Hyphen und anderen pathogenen Fremdkörpern befreit. Möglicherweise entfernen sie aber auch Regenwasser, das sich auf den Blättern sammelt. Ein möglicher Grund dafür, dass Blattfäulnis nur bei *P. fimbriulatum* beobachtet werden konnte, könnte in der Anatomie der Blätter liegen. Durch die gewölbten Interkostalfelder und die dichte, lange Behaarung könnten Fremdkörper leichter am Blatt haften bleiben und so schneller zu Fäulnisbildungen durch Verschmutzungen führen.

Letourneau (1998) beobachtete bei *P. sagittifolium* die Entwicklung der Blätter bei Ameisenexklusion und stellte starke Herbivorie auf den ungeschützten, jungen Blättern fest (Letourneau 1998). (Pilz-) pathogene wurden bei den jungen Blättern nicht nachgewiesen, sondern nur auf den Blüten und Samenanlagen. Möglicherweise stellt *P. fimbriulatum* also tatsächlich aufgrund seiner speziellen

Blattoberfläche eine Ausnahme dar. Da die Blätter anfälliger auf Verschmutzung sind, kann die Reinigung durch die Ameisen tatsächlich eine entscheidende Rolle für die Entwicklung und den Fortbestand der jungen Blätter darstellen. Die Blattoberfläche von *P. sagittifolium* ist zwar auch deutlich stärker gewölbt als die Blätter von *P. obliquum*, aber nicht so stark wie bei *P. fimbriulatum*, zudem fehlt die charakteristisch lange Behaarung. Letourneau (1998) stellte fest, dass die Samenanlagen der *Piper*-Arten von den Ameisen gereinigt werden, und vermutete, dass die Ameisen zusätzlich antibiotische und antifungale Substanzen absondern könnten. Es ist denkbar, dass auch beim Patrouillieren der jungen Blätter schützende Substanzen abgegeben werden (Gonzalez-Teuber 2014).

Möglicherweise könnte die erhöhte Anfälligkeit auf Verunreinigung auch der Grund sein, weshalb die jungen Blätter von *P. fimbriulatum* im Gegensatz zu *P. obliquum* in den letzten Blattstadien so stark patrouilliert werden. Da sich die Blattoberfläche in den letzten beiden Stadien deutlich vergrößert, könnte es noch leichter zu Verunreinigungen kommen und deshalb das Putzverhalten auch bei den beinahe adulten Blättern eine wichtige Rolle spielen (Vgl. auch Kapitel 4.2.1: Patrouillier-Verhalten und Pearlodies-Produktion).

4.1.3 Vorteil des Patrouillier-Verhaltens für die *Piper-Pheidole*-Assoziation

Die meisten zitierten AutorInnen gehen davon aus, dass die Pflanze einen großen Nutzen von patrouillierenden Ameisen auf den jungen Blättern hat, da dadurch die Herbivorie rate enorm sinkt (Gaume et al. 1997; Gaume & McKey 1999; Heil et al 2001; Dutra et al. 2006). Die Untersuchung von Letourneau (1998) zeigt aber, dass dies für *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* nicht unbedingt der Fall ist. Die Reduktion der Blattoberfläche durch Herbivoren hat auf die Fitness der Pflanze, die Letourneau (1998) nach deren Samenproduktion und Blatterneuerung misst, keinen Einfluss. Um Auskunft über die Fitness der Pflanze zu erhalten, verglich Letourneau (1998) die Samenmenge und Anzahl an neu gebildeten Blättern in einem Intervall von zwei Wochen zwischen ameisenbewohnten Pflanzen und solchen Pflanzen, bei denen die Ameisen exkludiert wurden. Da sich sowohl *P. obliquum* als auch *P. fimbriulatum* vorrangig vegetativ vermehren, ist die Änderung der Samenmenge für die beiden *Piper*-Arten bei Ameisenexklusion jedoch nicht unbedingt von Bedeutung für deren Fortbestand.

Letourneau (1998) vermutete, dass der Hauptnutzen der Ameisen viel eher in der Abwehr von potentiellen Stammbohrern liegt. Vor allem Zikaden der Art *Metheisa lucillodes* legen bevorzugt Eier in den Stamm von *Piper*-Arten (Mayer et al. 2008). Da bei Verletzung des Stammes Duftstoffe freigesetzt werden, die zu einer Rekrutierung der Ameisen führen, können die Zikaden vertrieben werden (Mayer et al. 2008). Bei Zerstörung des Stammes können die Pflanzen zwar wieder erneut

austreiben, das führt jedoch zu einer enormen Samenreduktion (ca. 75%). Zudem dauert es dann länger, bis sie die adulte Phase erreichen und Samen produzieren können (Letourneau 1998). Da am Untersuchungsort bei *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* jedoch nur selten Blütenbildungen zu beobachten sind, die Pflanzen sich also kaum generativ vermehren, ist die Samenreduktion eher von geringer Bedeutung. Dennoch ist die Ausbildung eines erneuten Haupttriebs für eine Pflanze sehr energieaufwendig, zudem können die Ameisen in diesem Zeitraum nur geringe Mengen an Futterkörperchen sammeln, was bei der Abhängigkeit der Larven von den Futterkörperchen (Fischer et al. 2002) einen verheerenden Einschnitt darstellt. Die Abwehr von Stammbohrern ist somit sowohl für die *Piper*-Arten als auch für *Pheidole bicornis* von grundlegender Bedeutung.

Lange ging man davon aus, dass *Piper* vor allem von der Stickstoffdüngung durch *Pheidole bicornis* profitiert (Risch et al. 1977). Mittlerweile ist diese Annahme aber widerlegt, da Fischer et al. (2003) nachweisen konnte, dass der N-Eintrag durch *Pheidole bicornis* nur sehr gering ist (ca. 1%). Die Abwehr von Stammbohrern stellt also für die Pflanze vermutlich den größten Nutzen der Assoziation mit *Pheidole bicornis* dar. Auch Heil & McKey (2003) vermuten, dass die Beschädigung des Stammes für die Pflanzenfitness verheerender ist als der Blattflächenverlust durch Herbivorie.

Nun drängt sich die Frage auf, welchen Nutzen *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* vom Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern haben könnten. Da nachgewiesen wurde, dass *Pheidole bicornis* Eier und Larven sehr effizient von den jungen Blättern entfernt (Letourneau 1983), könnten die Ameisen dadurch auch Konkurrenten, die die Assoziation mit *Piper* möglicherweise parasitieren, fernhalten. Ein Bunkkäfer (*Tarsobaenus letourneaue*) ist dafür bekannt, dass er die Symbiose von *Pheidole bicornis* und *P. obliquum* parasitiert. Er nistet sich in die Domatien der Pflanze ein, frisst die Ameisenkolonie sukzessive auf und ernährt sich anschließend von den Futterkörperchen des Petiolus (Letourneau 1990). Die Käferlarve schadet zwar primär nicht der Pflanze, aber da sie die Ameisenkolonie vernichtet, leidet auf Dauer auch die Fitness der Pflanze. Das Patrouillier-Verhalten könnte also die Ameisen vorsorglich vor parasitären Konkurrenten schützen und längerfristig auch der Pflanze einen Vorteil bringen. *Tarsobaenus letourneaue* wurde jedoch bis jetzt nur bei *P. obliquum* beobachtet (Letourneau & Dyer 1998).

Grundsätzlich garantiert das Patrouillier-Verhalten der Ameisen auf den jungen Blättern aber auch, dass eine zukünftige Futterquelle erhalten bleibt. Da sich im Petiolus des jungen Blattes später auch Ameisen ansiedeln werden und dort auch Futterkörperchen produziert werden, stellt der Schutz dieser Pflanzenteile einen sinnvolle Investition für die Ameisen dar (Brouat et al. 2000).

4.2 Nahrungshypothese: Anlockung durch Pearl bodies

4.2.1 Patrouillier-Verhalten und Pearlbodies-Produktion

Vergleicht man die Anzahl der patrouillierenden Ameisen mit der Anzahl an Pearl bodies auf den jungen Blättern in den verschiedenen Entwicklungsstadien, so scheint bei *P. obliquum* die rapide Abnahme an Pbs im letzten Blattstadium auch eine signifikante Abnahme der Ameisenaktivität herbeizuführen. Obwohl die Stichprobenanzahl bei der Pbs-Zählung auf den jungen Blättern sehr gering ist, kann dennoch ein Trend beobachtet werden, der auch mit persönlichen Eindrücken der Freilandbeobachtungen übereinstimmt. Die Anzahl der Pbs in den verschiedenen Stadien korreliert zwar in den Blattstadien 2, 3 und 4 nicht mit der Dichte der Ameisenaktivität, was vermutlich auf die zu geringe Stichprobenzahl zurückzuführen ist, aber im Blattstadium 1 und 5 sind neben der geringen Ameisenaktivität auch eine geringere Anzahl an Pbs dokumentiert worden. Auch wenn die ermittelte hohe Anzahl an Pearl bodies im vierten Blattstadium überrascht, ist dennoch eine klare Abnahme der Pbs im folgenden Stadium zu verzeichnen. Wenn man die relative Patrouillier-Aktivität und die Nullbesuche in den einzelnen Stadien vergleicht, zeigt sich, dass Stadium 1 zwar durchschnittlich von einer geringen Anzahl an Ameisen patrouilliert wird, dafür aber häufiger und regelmäßiger, da der Anteil an Nullbesuchen relativ niedrig ist. Möglicherweise werden im ersten Stadium zunächst erst geringere Mengen an Pbs gebildet, zudem ist die Blattfläche auch kleiner, sodass ohnedies weniger patrouillierende Arbeiterinnen benötigt werden. Blattstadium 4 weist hingegen den höchsten Anteil an Nullbesuchen aller Stadien auf. Die Ergebnisse der Nullbesuche im Stadium 4 könnten hingegen darauf hindeuten, dass die Pbs-Produktion bereits am Abnehmen ist und viele Blätter nicht mehr regelmäßig besucht werden.

Da adulte Blätter weniger Herbivorie gefährdet sind (Coley 1980; Williams-Linera & Baltazar 2001), scheint im fünften Stadium der Schutz durch patrouillierenden Ameisen nicht mehr notwendig zu sein. Um eine detailliertere Aussage über den Zusammenhang zwischen der Abnahme des Patrouillier-Verhaltens im letzten Blattstadium und der Anzahl der Pearl bodies bei *P. obliquum* treffen zu können, ist es unbedingt notwendig, eine höhere Stichprobenanzahl an jungen Blättern verschiedener Stadien auf ihre Menge an Pearl bodies zu untersuchen.

P. fimbriulatum unterscheidet sich deutlich von *P. obliquum*. Im Freiland wurden in keinem Stadium Pbs auf den jungen Blättern gefunden, aber an Glashauspflanzen wurde beobachtet, dass ab dem dritten Blattstadium und vermehrt ab dem vierten Pbs gebildet werden. Um eine Korrelation zur Patrouillier-Aktivität zu ermöglichen, wurden die Pbs auf den jungen Blättern der GH-Pflanzen gezählt. Trotz der geringen Stichprobenanzahl kann ein deutlicher Trend festgestellt werden. Die

Ameisenaktivität steigt ab dem vierten Blattstadium signifikant an und erreicht ihren Höhepunkt im fünften Blattstadium, in der auch die höchste Anzahl an Pbs gezählt wurde. Die Annahme, dass die Patrouillier-Aktivität an die Pbs-Produktion gebunden ist, bestätigt sich also auch für *P. fimbriulatum*: Eine vermehrte Pbs-Produktion scheint die Arbeiterinnen zu motivieren, die jungen Blätter aufzusuchen und zu patrouillieren.

Dass bei *P. fimbriulatum* auch die frühen Stadien der jungen Blätter trotz fehlender Pbs-Produktion patrouilliert werden, könnte auf die Anlockung durch Duftstoffe zurückzuführen sein. Diese Strategie wurde auch schon bei anderen Myrmekophyten, etwa bei *Leonardoxa africana*, nachgewiesen (Brouat et al. 2000). Auffällig ist, dass die letzten beiden Entwicklungsstadien bei *P. fimbriulatum* so stark patrouilliert werden. Welchen Nutzen der Schutz der beinahe adulten Blätter hat, kann zum jetzigen Zeitpunkt nur schwer geklärt werden. Da sich bei *P. fimbriulatum* möglicherweise zwei Systeme (Duftstoffe und Pbs) herausbildeten, um Ameisen auf die jungen Blätter zu locken, könnte es sein, dass die Pbs durch ihre Inhaltsstoffe (vermutlich Fette, Proteine und Kohlenhydrate, Tepe et al. 2004; Vgl.: eigene Färbung mit Sudan-III-Paraffin) attraktiver auf die Arbeiterinnen wirken und es deshalb zu einem enormen Anstieg kommt. Möglicherweise liegt ein Vorteil der späten Patrouillier-Aktivität auch darin, dass durch die vergrößerte Fläche der Blattspreite die Gefahr von Verschmutzungen, Pilzbefall und daraus resultierender Blattfäulnis bei *P. fimbriulatum* deutlich höher ist, weshalb ein zusätzlicher Schutz notwendig ist.

Dass die Produktion von Pbs auch mit klimatischen Faktoren zusammenhängen könnte, wurde bereits von Dale (1901) vermutet, der davon ausging, dass eine hohe Lichtintensität die Pearl-bodies-Produktion von *Hibiscus vitifolius* antreibt. Auch bei *Cecropia* scheint ein Zusammenhang zwischen Lichtintensität und FB-Produktion zu bestehen (Folgarait et al. 1994).

In dieser Arbeit konnte hingegen eine mögliche Korrelation zwischen Niederschlag und Ameisenaktivität aufgezeigt werden. Da die Ameisenaktivität stark an die Pbs-Produktion gekoppelt ist, könnte auch bei *P. obliquum* die Pbs-Produktion mit klimatischen Bedingungen zusammenhängen. Wie die Korrelation mit den Niederschlagsdaten zeigt, steigt bei zunehmendem Niederschlag auch die Ameisenaktivität deutlich an; die Nullbesuche gehen hingegen tendenziell deutlich zurück. Ein Grund für diese Resultate könnte sein, dass durch den vermehrten Niederschlag die Pflanze mehr Wasser zur Verfügung hat und deswegen vermehrt Pbs ausbilden kann. Plausibler scheint jedoch, dass die Ameisen möglicherweise den drohenden Niederschlag wahrnehmen können, etwa durch Änderung der Lichtintensität, der Luftfeuchtigkeit oder des Luftdrucks, und deswegen vermehrt Pbs absammeln, bevor sie vom Regen abgespült werden. Auch die relativ geringe Patrouillier-Aktivität in der ersten Tagesphase, also am frühen Vormittag, könnte darin begründet

liegen. Da die Untersuchungen im Zeitraum einer saisonalen Regenperiode stattfanden, war Regen am Abend sehr häufig. Möglicherweise wurden am Abend die Pbs abgewaschen und mussten am nächsten Morgen erst erneut gebildet werden, weshalb die Ameisen in diesem Zeitraum weniger stark angelockt wurden.

Eine entscheidende Erkenntnis der Untersuchung ist, dass sich die Ameisen auf *P. fimbriulatum* beinahe konträr zu den Ameisen auf *P. obliquum* verhalten. Die Ameisen auf *P. fimbriulatum* zeigen eine stärkere Ameisenaktivität an niederschlagsarmen Tagen. Auch die Anzahl an Nullbesuchen ist an niederschlagsarmen Tagen deutlich geringer. Da die Pbs-Produktion bei *P. fimbriulatum* erst in späteren Blattstadien einsetzt, könnte also ein anderer Faktor die Ameisen auf die jungen Blättern locken, der vor allem an niederschlagsarmen Tagen zu tragen kommt (Vgl. Kapitel 4.3: Duftstoffhypothese: Anlockung durch Duftstoffe).

Die Korrelation mit den Niederschlagsdaten wurde nur in einem Nebenversuch ermittelt. Um genauere Ergebnisse zu bekommen, wäre es sicherlich zielführend, mit Datalogger zu arbeiten und auch die Temperatur und Luftfeuchtigkeit im Verhältnis zur Ameisenaktivität über einen längeren Zeitraum zu untersuchen. Die Ergebnisse der Temperatur- und Luftfeuchtemessungen, die zur Einteilung der Tagesphasen herangezogen wurden, zeigen jedoch keine eindeutige Korrelation mit der Patrouillier-Aktivität. Einzig bei *P. obliquum* kommt es, wie bereits erwähnt, zu einem enormen Anstieg der Patrouillier-Aktivität in der zweiten Tagesphase, also ab 10:00 Uhr. Da es ab diesem Zeitpunkt auch zu einem enormen Temperaturanstieg kommt, könnte dies die Pbs-Produktion möglicherweise antreiben. Aber auch diese Vermutung sollte unbedingt im Zuge einer erneuten Untersuchung mit Dataloggern überprüft werden.

Eine weitere, nicht-publizierte Untersuchung von Daniel Wasner und Marlon Schwienbacher (2014), die nach der Entdeckung der Pearl bodies auf den jungen Blättern an Exemplaren von *P. obliquum* im Rahmen eines Projektpraktikums durchgeführt wurde, zeigt ebenfalls einen klaren Zusammenhang zwischen Pbs-Produktion und Patrouillier-Aktivität. Bei der Untersuchung wurden die Pbs durch Abwischen von den jungen Blättern entfernt. Im Vergleich mit einer nicht-manipulierten Kontrollgruppe konnte ein signifikanter Rückgang der Patrouillier-Aktivität nachgewiesen werden. Möglicherweise sind auch Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung auf einen ähnlichen Effekt zurückzuführen. Wie sich zeigte, ist das Patrouillier-Verhalten bei *P. obliquum* in den Morgenstunden deutlich geringer ausgeprägt. Möglicherweise wäscht der Regen am Abend die Pbs von den Blättern, wodurch der gleiche Effekt wie bei der artifiziellen Entfernung auftritt. Das Blatt muss dann erst von Neuem Pbs bilden, um die Ameisen wieder anzulocken.

4.2.2 Anatomie und Produktion der Pearl bodies

Die genaue Genese der Pearl bodies der jungen Blätter wurde bei dieser Arbeit nicht weiter untersucht, aufgrund der anatomischen Ähnlichkeit vor allem bei den toluidinblaugefärbten Mikrotomschnitten kann aber davon ausgegangen werden, dass die Entwicklung jener der Futterkörperchen im Petiolus entspricht (siehe dazu Risch & Rickson 1984). Auch die Pbs sind einzellig und werden wie die Fks vermutlich aus Epidermiszellen gebildet, die sich langsam um ein Vielfaches (ca. 78x) vergrößern und sich ab einer bestimmten Größe kugelförmig nach außen wölben (Risch & Rickson 1984). Was auch für die Ähnlichkeit der Fks und Pbs spricht, ist, dass sowohl das junge Blatt als auch der Petiolus sich aus dem Gewebe des Oberblatts differenzieren und dadurch auch morphologische Ähnlichkeiten aufweisen.

Ein klarer Unterschied zwischen Futterkörperchen und Pearl bodies wurde hingegen bei der Größe festgestellt. Die Pbs sind um ein Vielfaches kleiner. Risch & Rickson (1984) ermittelten einen Durchmesser von 300-500 µm für die Futterkörperchen von *Piper*. Die vermessenen Pearl bodies der jungen Blätter waren hingegen durchschnittlich ca. 100 µm groß. An dieser Stelle ist jedoch zu betonen, dass auch sehr kleine Pbs in die Berechnungen des Mittelwerts einfließen (25 µm-45 µm). Nur vereinzelt wurden Pbs vermessen, die zwischen 250 µm und 300 µm groß waren, wobei es sich dabei um Pbs auf unbesiedelten GH-Pflanzen handelte, die also die absolute Maximalgröße erreichen konnten. Im Freiland werden sie vermutlich bereits bei einer sehr geringen Größe von den Ameisen abgesammelt.

Ein weiterer Unterschied zeigt sich im Vergleich der frischen Pbs mit frischen Fks des Petiolus. Während die Fks eine milchig-trübe Färbung besitzen, wirken die Pbs der jungen Blätter deutlich transparenter, was auf eine andere Zusammensetzung der Inhaltsstoffe hindeuten könnte (Vgl. Kapitel 4.2.3: Inhaltsstoffe der Pearl bodies).

Die anatomischen Untersuchungen zeigten, dass sich die Pbs vermehrt entlang der Nervatur der jungen Blätter bilden. Das ist auch bei anderen Myrmekophyten, die Pbs auf den jungen Blättern bilden, etwa *Leea sambucina* und *Macaranga hypoleuca*, der Fall (Raciborski 1898; Ridley 1910; Rickson, 1980). Auch die Bildung von Pearl bodies auf der Oberfläche anderer Pflanzenteile ist bei anderen Myrmekophyten (etwa *Urera baccifera*, Dutra et al. 2003) nicht unüblich. Im Gegensatz zu den GH-Pflanzen, bei denen Pbs auch auf dem jüngsten Petiolus und dem Stamm festgestellt wurden, konnten bei den Freilandpflanzen nur Pbs auf den jungen Blättern nachgewiesen werden. Möglicherweise sollten auch im Freiland nach Ameisenexklusion andere Pflanzenteile, wie etwa der jüngste Petiolus, näher auf Pearl bodies untersucht werden.

Dass sich der Ort der Pb-Bildung bei nahverwandter Arten einer Gattung unterscheidet, ist nicht unüblich. Bei der Untersuchung dreier *Macaranga*-Arten (*M. tanarius*, *M. hosei*, *M. triloba*) waren die Pearl bodies auf sehr vielen unterschiedlichen Pflanzenteilen zu finden. So findet sich bei der nicht-myrmekophytischen Art *M. tanarius* Pbs willkürlich auf der gesamten Pflanzenoberfläche, bei *M. hosei* werden die Pbs hingegen auf der Oberseite der Stipeln gebildet und bei *M. triloba* auf der Unterseite der eingerollten Stipeln. Zudem unterscheiden sich die Pbs innerhalb der drei Arten auch stark in der Größe (Heil et al. 1998).

Bei nicht-myrmekophytischen Vertretern der Gattung *Piper* wurden im Rahmen dieser Untersuchung auch vereinzelt Pearl bodies auf den jungen Blättern entdeckt (etwa bei *P. auritum*). Zudem wurden bei anderen Untersuchungen Pearl bodies auch auf anderen Pflanzenteilen, wie etwa auf dem Stamm, den Infloreszenzen oder auch außen auf dem Petiolus bei Nicht-Myrmekophyten *Piper*-Arten dokumentiert (Meyen 1837; Penzig 1892; Nestler 1893; Gastreich & Gentry 2004; Tepe et al. 2007). Laut Tepe et al. (2004; 2007) enthalten diese Pearl bodies Proteine, Fette und Kohlenhydrate und stellen ein wichtiges Indiz für die Entwicklung des Myrmekophytismus bei den *Piper*-Arten dar. Durch die auf der Pflanzenoberfläche präsentierten Pearl bodies werden fakultative Ameisen und auch andere Insekten angelockt, die die Pflanzen möglicherweise vor Herbivoren schützen. Zudem sprechen auch Tepe et al. (2007) davon, dass die Pearl bodies der Blätter den Futterkörperchen des Petiolus, die sich jedoch nur bei obligat-myrmekophytischen *Piper*-Arten bilden, eine große Ähnlichkeit aufweisen.

Ein großer Unterschied zwischen Futterkörperchen und Pearl bodies liegt darin, dass die Futterkörperchen nur bei Anwesenheit von *Pheidole bicornis* (und der parasitären Käferlarve *Tarsobaenus letourneauae*) in einem größeren Ausmaß gebildet werden, bei unbewohnten Pflanzen werden nur sehr geringe Mengen ausgebildet (Rickson & Risch 1984). Die unbesiedelten Pflanzen im Glashaus wiesen aber, trotz Abwesenheit der Ameisen, eine enorme Menge an Pbs auf. Dies deutet darauf hin, dass die für Bildung der Pbs auf den jungen Blättern kein Ameisenanreiz benötigt wird, im Gegensatz zur FK Produktion in den Petioli.

4.2.3 Inhaltsstoffe der Pearl bodies

Die anatomischen Untersuchungen und vor allem die morphologische Ähnlichkeit zu den Futterkörperchen des Petiolus legen nahe, dass es sich auch bei den Pbs um Nahrungsquellen für die Ameisen handelt. Aufgrund der geringen Größe der Pbs wird vermutet, dass sie von den Arbeiterinnen bereits am jungen Blatt konsumiert werden, da kein Abtransport beobachtet werden

konnte und die Arbeiterinnen verschiedenen Inhaltsstoffe auch durch Trophallaxis an andere Koloniemitglieder weitergeben können (Hölldobler & Wilson 1990).

Aufgrund der geringen Größe der Pbs reichte die Menge für eine genaue Untersuchung der Inhaltsstoffe nicht aus, jedoch ließen einige mikrochemische Untersuchungen Rückschlüsse auf mögliche Inhaltsstoffe zu und legen nahe, dass sich die Inhaltsstoffe der Fks und der Pbs nur gering unterscheiden. Der Stärkenachweis mit Iod-Kaliumiodid fiel negativ aus. Daraus lässt sich schließen, dass die Pbs wie die Futterkörperchen keine Stärke enthalten (Fischer et al. 2002). Der Lipidnachweis zeigte hingegen ein positives Ergebnis. Sowohl beim Mikrotomschnitt des Pbs als auch bei den frischen bzw. getrockneten Pbs, wurden Inhaltsstoffe durch das Sudan-III-Paraffin orange eingefärbt. Das bedeutet, dass die Pbs wie auch die Fks des Petiolus Lipide enthalten (Fischer et al. 2002). Neben den Nachweistests wurde bei der REM-Untersuchung auch eine Verletzung eines Pbs beobachtet, an dessen Stelle Inhaltsstoffe auskristallisieren. Möglicherweise handelt es sich dabei um Zucker, die an dieser Stelle austraten und kristallisierten (Fig. 22C). Bei den Abbildungen eines zerstörten Pearl bodies unter dem Binokular konnte auch gezeigt werden, dass sich die Inhaltsstoffe deutlich vom umgebenen Wasser absondern (Fig. 23D). Fischer et al. (2002) ging davon aus, dass die Futterkörperchen des Petiolus die einzige Nahrungsquelle für die Ameisen darstellen und sie deswegen auch so einen hohen Nährwert aufweisen. Der Nachweis von Lipiden und anderen Inhaltsstoffen ist nun aber ein deutliches Indiz dafür, dass die Pearl bodies der jungen Blätter ebenfalls als Nahrungsquelle für die Ameisen dienen können. Zudem weist auch Tepe et al. (2004; 2007) daraufhin, dass die Pearl bodies auf den äußeren Pflanzenteilen, also auch jungen Blättern, von nicht-myrmekophytischen *Piper*-Arten Proteine, Fette und Kohlenhydrate enthalten und als Nahrung für fakultative Ameisen und andere Insekten dienen können.

Die Inhaltsstoffe der Futterkörperchen des Petiolus wurden detailliert untersucht (Fischer et al. 2002; Risch & Rickson 1984). Der Großteil der Futterkörperchen besteht aus Lipiden (50% des Trockengewichts), etwa 20% des Trockengewichts entfallen auf Proteine und nur ca. 2% bestehen aus löslichen Kohlenhydraten (v.a. Fructose, Galactose, Glucose, Sucrose, Raffinose, Stachyose, Glycerol und Myo-inositol). Etwa 1,5% setzen sich aus löslichen Aminosäuren zusammen. Stärke und andere Polysaccharide konnten hingegen nicht nachgewiesen werden (Fischer et al. 2002).

Durch eine Natural-Abundance-Analyse konnte auch gezeigt werden, wer vermutlich der Hauptkonsument der Futterkörperchen ist (Fischer et al. 2002). Demnach weist die Brut (Larven und Puppen) die größte Ähnlichkeit zu den Fks der Petioli auf, was nahelegt, dass der Großteil der Fks von den Larven verzehrt wird und für sie auch die einzige Futterquelle darstellt. Beide Arbeiterinnenkasten (major and minor workers) und die reproduktiven Koloniemitglieder

differenzieren hingegen von den beiden Geweben Fks und der Brut. Grund dafür könnte laut Fischer et al. (2002) das Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern sein, bei dem möglicherweise Sporen, Pilzfragmente, Schuppen von Schmetterlingen und Eier und Larven von Herbivoren auf der Pflanzenoberfläche abgesammelt und von den Ameisen konsumiert werden (Fischer et al. 2002; Letourneau 1983, 1998). Zudem konnte in seltenen Fällen auch beobachtet werden, dass sich *Pheidole bicornis* am Boden vor der Pflanze aufhält (Risch et al. 1977) und hier möglicherweise symbiosefremde Substanzen aufnimmt. Dennoch vermuten alle Autoren (Risch et al. 1977; Letourneau 1983, 1998; Fischer et al. 2002), dass der Eintrag von fremden, externen Substanzen sehr gering ist. Auch Brouat et al. (2000) halten fest, dass Eier und Larven von Herbivoren auf jungen Blättern für obligate Ameisen als Nahrungsquelle nicht besonders attraktiv sind und deshalb vermutlich keinen Grund für ein Patrouillier-Verhalten darstellen.

Bekannt ist, dass die unterschiedlichen Entwicklungsstadien einer Ameisenkolonie verschiedene Nahrungsbestandteile bevorzugt benötigen (Howard & Tschinkel 1981). Demnach werden Lipide vor allem von Arbeiterinnen und Larven gebraucht (Echols 1966), Proteine von wachsenden Larven und eierlegenden Königinnen (Lange 1967; Vinson 1968). Aminosäuren werden hingegen in der gesamten Kolonie aufgeteilt (Howard & Tschinkel 1981). Kohlenhydrate werden vorrangig von den patrouillierenden und nahrungssuchenden Arbeiterinnen und Larven konsumiert (Sorensen & Vinson 1981; Cassill & Tschinkel 1999).

Die Analyse von Fischer et al. (2002) zeigt sehr deutlich, dass, während die anderen Nahrungsbestandteile in ausreichender Menge vorhanden sind, der Gehalt an Zucker für die patrouillierenden und nahrungssuchenden Arbeiterinnen sehr gering ist. Zwar ist es durchaus üblich, dass obligate Myrmekophyten für ihre Ameisenpartner eher lipid- und proteinreiche Nahrungsmittel zur Verfügung stellen und kohlenhydratreiche Futterquellen eher von fakultativen, myrmekophilen Ameisenpflanzen angeboten werden (Heil et al. 1998), dennoch ist der Zuckergehalt bei den untersuchten *Piper*-Arten auch im Vergleich zu anderen obligaten Myrmekophyten (etwa *Cecropia*, *Acacia*, *Macaranga*) eher gering (Heil et al. 1998, 2004; Fischer et al. 2002; Kaltenbrunner pers. Mitteilung). Fischer et al. (2002) ging davon aus, dass *Pheidole bicornis* möglicherweise aus Proteinen, die in ausreichender Menge vorhanden sind, Zucker metabolisiert. Es wäre aber auch denkbar, dass die Pbs der jungen Blätter im Vergleich zu denen der Petioli eine höhere Menge an Zucker aufweisen. Dafür spricht auch die Annahme, dass vor allem Arbeiterinnen die Pbs konsumieren.

Zudem unterscheiden sich die frischen Pbs in ihrer Farbe auch leicht von den Fks der Petioli (persönliche Beobachtung). Während die Fks eher trüb und leicht milchig wirken, sind die Pbs der

jungen Blätter transparenter. Die Transparenz könnte auch darauf zurückzuführen sein, dass die Pbs der jungen Blätter möglicherweise mehr Wasser enthalten. Eine Analyse der Futterkörperchen von *Acacia* zeigte, dass der hohe Anteil von Wasser im Vergleich zu den Futterkörperchen von *Macaranga* und *Piper* auf deren bevorzugten Standort auf ruderalen, sonnenexponierten Flächen zurückzuführen ist (Heil et al. 2004). Da es sich jedoch bei den *Piper*-Arten um Unterwuchspflanzen handelt, die bevorzugt auf wasserreichem Untergrund wachsen, scheint dies, trotz der Exponiertheit der jungen Blätter, vermutlich nur eine untergeordnete Rolle auf die Pbs-Zusammensetzung zu spielen.

Fischer et al. (2002) argumentieren, dass die *Piper*-Pflanzen auch möglicherweise vor Parasiten und Herbivoren besser geschützt sind, wenn die Futterquelle (im Petiolus) versteckt ist, da Pearl bodies auf der Pflanzenoberfläche häufig auch andere Insekten anlocken. Dieser vermeintliche Vorteil kann durch diese Arbeit wohl widerlegt werden. Falls die Pbs tatsächlich vermehrt Zucker enthalten, würde das sogar eine zusätzliche Attraktivität für symbiosefremde Insekten darstellen (Heil et al. 1998) und mögliche Symbioseparasiten anlocken.

Die Fks des Petiolus enthalten sehr hohe Mengen an Lipiden und Proteinen (2x mehr Lipide und 4x mehr Proteine im Vergleich zu *Macaranga*), was die Produktion der Futterkörperchen für die Pflanze sehr aufwendig macht (Fischer et al. 2002; Heil et al. 1998; Federle et al. 1997). Die Futterkörperchen enthalten auch einen höheren Anteil an Stickstoffen als etwa die Müllerschen Körperchen von *Cecropia* (Heil et al. 1998). Da aber auch die Produktion von Sekundärmetaboliten sehr aufwendig ist, scheint die Pflanze einen größeren Nutzen davon zu haben, in die Ernährung ihrer Ameisenpartner zu investieren (Federle et al. 1997). Besonders deutlich zeigt sich das bei *P. cenocladum*, bei der die Menge an Sekundärmetaboliten deutlich reduziert ist und dafür mehr Aufwand in die Produktion der Futterkörperchen gesteckt wird (Dyer et al. 2001). *P. cenocladum* wurde im Zuge dieser Arbeit nicht näher untersucht, aber auch hier wiesen die GH-Pflanzen Pbs auf den jungen Blättern auf.

4.3 Duftstoffhypothese: Anlockung durch Duftstoffe

4.3.1 **Duftstoffe als Auslöser des Patrouillier-Verhalten bei *P. fimbriulatum***

Das Patrouillier-Verhalten von *Pheidole bicornis* unterscheidet sich bei *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* in einigen Aspekten sehr stark voneinander. Während bei *P. obliquum* die Ameisenaktivität im zweiten Blattstadium am höchsten war und dann kontinuierlich abnahm, war die Anzahl der patrouillierenden Arbeiterinnen bei *P. fimbriulatum* relativ homogen und erst ab dem vierten Blattstadium stieg sie zunächst leicht und im letzten Blattstadium dann signifikant an. Da auch in den früheren Blattstadien die Ameisenanzahl deutlich über der der adulten Blätter lag (Vgl.

Letourneau 1983), aber die Pb-Produktion bei *P. fimbriulatum* erst im vierten Blattstadium richtig einsetzte, muss in den ersten drei anderen Stadien ein anderer Anreiz zum Patrouillieren anregen. Die Vermutung liegt nahe, dass *Pheidole bicornis* in den frühen Blattstadien von *P. fimbriulatum* über Duftstoffe angelockt wird, wie es auch bei einigen anderen Myrmekophyten der Fall ist (Brouat et al. 2000, Romero & Izzo 2004). Untersuchungen bei *Leonardoxa africana* zeigten, dass Ameisen, auch ohne eine Belohnung zu erhalten auf den jungen Blättern ihrer Pflanzenpartner patrouillieren und die Patrouillier-Aktivität bei *Leonardoxa africana* mit einer konstanten Methylsalicylat-Freigabe der Blätter korreliert ist (Brouat et al 2000).

Duftstoffe könnten somit auch bei *P. fimbriulatum* der Grund dafür sein, warum erstens die jungen Blätter ohne PB Produktion patrouilliert werden und zweitens die Ameisenaktivität in den frühen Blattstadien relativ einheitlich ist. Drittens war bei *P. fimbriulatum* über den Tagesverlauf hinweg die Ameisenaktivität relativ regelmäßig, während bei *P. obliquum* in den Morgenstunden ein deutliches Nachlassen der Ameisenaktivität zu erkennen war. Eine konstante Abgabe von Duftstoffen der jungen Blätter von *P. fimbriulatum* könnte die regelmäßige Patrouillier-Aktivität erklären. Zudem wird *Leonardoxa africana* auch nachts patrouilliert (Brouat et al 2000) und Stichprobenuntersuchungen zeigten, dass dies bei *P. fimbriulatum* und bei *P. obliquum* ebenso der Fall ist. Da auch *P. obliquum* nachts patrouilliert wird, scheint jedoch auch die Pbs-Produktion nicht auf den Tag beschränkt zu sein.

Für Duftemissionen als Patrouillier-Auslöser bei *P. fimbriulatum* spricht auch, dass *Pheidole bicornis* auf *P. fimbriulatum* an niederschlagsreichen Tagen deutlich weniger stark patrouillierte. Eine mögliche Erklärung dafür könnte sein, dass durch den starken Regen Duftsignale aus der umgebenden Luft ausgewaschen werden könnten und dadurch nicht mehr für die Ameisen wahrnehmbar sind. Möglicherweise könnte dadurch die deutlich verringerte Ameisenaktivität erklärt werden. Auf jungen Blättern von *P. obliquum* hingegen gab es einen Anstieg der Patrouillier-Aktivität an niederschlagsreichen Tagen (Vgl. Kapitel 4.2.1: Patrouillier-Verhalten und Pearl bodies-Produktion), da die Ameisen auf *P. obliquum* in allen Blattstadien von Pearl bodies auf die jungen Blätter gelockt werden.

4.3.2 Duftstoffsammlung

Dass *Pheidole bicornis* auf Duftstoffe ihrer Wirtspflanze reagiert, ist schon länger bekannt (Mayer et al. 2008). Bei der Verletzung des Stammes werden Duftstoffe, sogenannte VOCs (volatile organic compounds – flüchtige organische Verbindungen), frei, die die Ameisen zum Rekrutieren anregen (Mayer et al 2008). Die Reaktion von Ameisen auf Duftstofffreisetzung wurde auch schon bei vielen anderen Ameisen-Pflanzen-Assoziationen beschrieben (Fiala & Maschwitz 1990; Agrawal & Dubin-

Thaler 1999; Lapola et al. 2003; Bruna et al. 2004; Christianini & Machado 2004; Romero & Izzo 2004). Leider konnten die SPME-Fasern dieser Untersuchung nicht rechtzeitig ausgewertet werden bzw. lieferten einige SPME-Fasern keine aussagekräftigen Ergebnisse. Bei *Leonardoxa africana* wurde nachgewiesen, dass das Patrouillier-Verhalten der assoziierten Ameisen *Petalomyrmex* von Duftstoffen ausgelöst wird. Die jungen Blätter des Myrmekophyten enthalten dabei eine höhere Konzentration an Green-leaf-Volatiles, der Duftstoff, der für das Patrouillier-Verhalten verantwortlich ist, ist Methylsalicylat (Brouat et al. 2000, Schatz et al. 2009). Methylsalicylat verhält sich sehr ähnlich zu Pheromonen, die die Ameisen in ihrer artspezifischen Kommunikation verwenden. Dieser Signalstoff war bei Untersuchungen auch bei nahverwandten Nicht-Myrmekophyten zu finden, jedoch in viel geringerer Konzentration (100x weniger stark konzentriert) enthalten. Es kann davon ausgegangen werden, dass dieser Duftstoff zunächst vermutlich eine andere Funktion hatte und nun zur Kommunikation mit dem Ameisenpartner dient (Brouat et al. 2000, Schatz et al. 2009).

Methylsalicylat war bei GC-MS Analysen weder im konstitutiven Duftprofil noch im Duftprofil nach Verletzungen der adulten Blätter und den Stängeln von myrmekophytischen *Piper*-Pflanzen zu finden (S. Bartram, pers. Mitteilung). Einige Duftstoffe waren ausschließlich nach einer Verletzung dedektierbar, etwa β -Caryophyllen, Germacren D, α -Copaen und es ist anzunehmen, dass diese Duftstoffe für die Reaktion der Ameisen auf Verletzungen des Stängels und das Rekrutierverhalten verantwortlich sind. Möglicherweise sind in den jungen Blättern ähnliche Stoffe zu finden, die damit ein Patrouillier-Verhalten auslösen. Damit hätte sich bei *P. fimbriulatum* eine andere Möglichkeit herausgebildet, um Ameisen auf die jungen Blätter zu locken und die fehlende Pbs-Produktion in den frühen Blattstadien zu kompensieren. Untersuchungen bei *Leonardoxa africana* zeigten, dass ein Extrakt aus den jungen Blättern mehr Ameisen anlockt als ein Extrakt aus den alten. Eine ähnliche Untersuchung wäre auch innerhalb der verschiedenen *Piper*-Arten und Blattentwicklungsphasen von Interesse, um festzustellen, ob *P. fimbriulatum* tatsächlich Duftstoffe abgibt und wie *Pheidole bicornis* darauf reagiert.

4.3.3 Verteilung der Ölzellen

Einen Hinweis auf die Freigabe von Duftsignalen liefert der Aufbau der jungen Blätter. Anhand von Blattquerschnitten konnte sowohl bei *P. obliquum* als auch bei *P. fimbriulatum* eine Schicht knapp unter der Epidermis festgestellt werden, die fast durchgehend Ölzellen aufweist. Diese Schicht stach bereits bei den Toluidinblau-Färbungen durch die intensiv grüne Färbung deutlich hervor, die für die Anwesenheit von Terpenen spricht (Gerlach 1982). Ein anschließender Lipidnachweis mit Sudan-III-Paraffin bestätigte, dass es sich dabei um fetthaltige Zellen handelt. Da Terpene die wichtigste Gruppe der VOCs darstellen, könnten diese Ölzellen also potentielle Duftstoffe enthalten. Auffallend

an dieser Schicht ist, dass sie sich bei *P. fimbriulatum* im Laufe der Blattentwicklung sehr deutlich verändert und die Ölzellen immer geringer werden, was für eine Freigabe von Duftstoffen im Laufe der Blattentwicklung sprechen könnte. Zudem befindet sich diese Schicht bei *P. fimbriulatum* eine Zellreihe weiter oben, also näher an der Epidermis als bei *P. obliquum*, was die Freigabe von Inhaltsstoffen möglicherweise erleichtern könnte.

Terpene, die auch in ätherischen Ölen sehr häufig vertreten sind, sind sehr oft in Ölzellen zu finden (Nultsch 2000). Abgegeben werden die Inhaltsstoffe von Ölzellen häufig über Drüsenhaare, die auch der Verteilung von Duftstoffen dienen (Nultsch 2000). Eine besonders dichte Behaarung ist auch bei *P. fimbriulatum* zu finden und einige Fotoaufnahmen deuten darauf hin, dass diese Trichome auch mit Flüssigkeit gefüllt sind. Die Trichome befinden sich aber überwiegend auf der Blattunterseite, im Gegensatz zu den Ölzellen, was gegen die Abgabe über die Drüsenhaare spricht.

Auch in den jungen Blättern von *P. obliquum* sind solche Ölzellen angelegt, sie werden aber im Laufe der Blattentwicklung nicht weniger, sondern differenzieren sich nur aus. Da aber *Pheidole bicornis* durch PBs auf die jungen Blätter gelockt wird und auch nicht auf die Zerstörung junger Blätter reagiert (Mayer et al. 2008), bleibt der Nutzen der Ölzellen bei *P. obliquum* im Moment noch unklar. Es wäre aber sicherlich sinnvoll, auch bei den jungen Blättern von *P. obliquum* eine weitere Duftstoffsammlung und –analyse durchzuführen.

5 Zusammenfassung

5.1 Zusammenfassung

Da die Abwehr von Fressfeinden im tropischen Regenwald für Pflanzen eine existentielle Notwendigkeit darstellt und vor allem die jungen Blätter die kostbarsten und gleichzeitig aber auch herbivorie-anfälligsten Teile einer Pflanze sind, haben sich unterschiedlichste Mechanismen entwickelt, um potentielle Fressfeinde zu bekämpfen und fernzuhalten. *Pheidole bicornis* schützt ihre Wirtspflanzen, myrmekophytische *Piper*-Arten, durch zwei unterschiedliche Mechanismen. Bei der ersten Strategie handelt es sich um einen induzierbaren Abwehrmechanismus: Bei Stammverletzung gibt die Pflanze Duftstoffe frei, die die Ameisen zum Rekrutieren auffordern und zur Bekämpfung des Schädling führen. Bei der zweiten Strategie handelt es sich um einen konstitutiven Abwehrmechanismus. Die jungen Blätter von *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* werden regelmäßig patrouilliert, was einen enormen Vorteil für die Fitness der jungen Blätter darstellt.

Hauptaugenmerk dieser Untersuchung war, festzustellen, wodurch das Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern ausgelöst wird. Im Vergleich zu anderen Myrmekophyten, deren Ameisen ein Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern zeigen, ergeben sich zwei Möglichkeiten. Der Ameisenpartner wird entweder durch Nahrung angelockt, die von der Wirtspflanze produziert wird, oder die jungen Blätter geben Duftstoffe frei, die die Ameisen zum Patrouillieren anregen.

Im Zuge dieser Untersuchung konnten erstmals Pearl bodies auf den jungen Blättern von *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* nachgewiesen werden. Die Korrelation von Ameisenanzahl und Pbs-Anzahl auf den jungen Blättern sowie der signifikante Unterschied in der Ameisenaktivität zwischen jungen Blättern mit Pbs und ohne Pbs weisen darauf hin, dass das Patrouillier-Verhalten von *Pheidole bicornis* auf *P. obliquum* und in den späteren Stadien auch bei *P. fimbriulatum* von den Pbs ausgelöst wird. Ein weiterer Beweis ist bei *P. fimbriulatum* der deutliche Anstieg der Patrouillier-Aktivität ab dem Zeitpunkt der einsetzenden Pbs-Produktion.

Dass die Pearl bodies der jungen Blätter wohl als Nahrungsquelle dienen, wurde durch deren anatomische Ähnlichkeit mit den Futterkörperchen des Petiolus und mikrochemische Tests gezeigt. Es wird vermutet, dass die Pbs eine zusätzliche Kohlenhydratquelle für die patrouillierenden Arbeiterinnen darstellen könnten, da der Kohlenhydratanteil in den Fks des Petiolus sehr gering ist.

Fischer et al. (2002) geht in ihrer Untersuchung davon aus, dass die Futterkörperchen im Petiolus die einzige Nahrungsquelle der Ameisen darstellen. Durch die Entdeckung der Pearl bodies auf den

jungen Blättern konnte diese Annahme widerlegt werden. *P. obliquum* und *P. fimbriulatum* bieten für *Pheidole bicornis* also zwei unterschiedliche Nährstoffquellen an, was für ein duales System, das auch bei vielen anderen Myrmekophyten vorkommt, spricht.

Da *P. fimbriulatum* auch in den ersten drei Blattstadien patrouilliert wird, obwohl keine Pearl bodies angeboten werden, liegt die Annahme nahe, dass Duftstoffe dieses Verhalten induzieren. Zudem konnte durch Blattquerschnitte eine Schicht mit Ölzellen festgestellt werden, die sich bei *P. fimbriulatum* im Laufe der Blattentwicklung sukzessive auflösen. Falls diese Zellen Duftstoffe enthalten, könnten sie möglicherweise über die zahlreichen Trichome von *P. fimbriulatum*, abgegeben werden. Dass *Pheidole bicornis* auf Duftsignale ihrer Wirtspflanze reagiert, konnte bereits anhand einiger Untersuchungen festgestellt werden (Mayer et al 2008).

Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen vermuten, dass sowohl Pearl bodies als auch Duftstoffe das Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern von *P. fimbriulatum* und *P. obliquum* auslösen. Während *P. obliquum* den Ameisenpartner vermutlich ausschließlich über Pearl bodies anlockt, scheinen bei *P. fimbriulatum* in den früheren Blattstadien zuerst Duftstoffe ausschlaggebend für das Patrouillier-Verhalten zu sein, während Pearl bodies die Arbeiterinnen in den letzten beiden Blattstadien anlocken.

Schlüsselbegriffe: *Piper obliquum*, *Piper fimbriulatum*, *Pheidole bicornis*, Patrouillier-Verhalten, junge Blätter, Pearl bodies, Duftstoffe (VOCs)

5.2 Abstract

The defense of herbivores in the tropical rainforest is an existential necessity for plants. The most valuable and the most vulnerable parts of a plant are the young leaves. Therefore, plants developed different mechanisms to combat and repel potential predators. Myrmecophytic *Piper* species, for example, live with the ants *Pheidole bicornis* which protect them, by two different mechanisms. The first strategy is an inducible mechanism of defence: By hurting the stem the plant emits VOCs (volatile organic compounds) that prompt the ants to recruit and defence the herbivore. The second strategy is a constitutive defence mechanism. The young leaves of *P. obliquum* and *P. fimbriulatum* are patrolled regularly, which is a tremendous advantage for the health of the young leaves.

The main focus of this study was to discover, how the patrol activity on the young leaves is triggered. In ant-plants, there are usually two possibilities to motivate the ant partner to patrol the young leaves: either by food (extrafloral nectar) or by scent (VOCs) which is emitted. .

During this investigation Pearl bodies were discovered on the young leaves of *P. obliquum* and *P. fimbriulatum* for the first time. The correlation of numbers of ants and numbers of Pearl bodies on the young leaf, as well as the difference in ant-activity between young leaves with Pearl bodies and without Pearl bodies indicate that the patrolling behavior of *Pheidole bicornis* on *P. obliquum* is triggered by the Pearl bodies. In *P. fimbriulatum*, Pearl body production starts in later stages of the young leaf. The significant increase in patrolling activity as soon as the young leaves of *P. fimbriulatum* start producing Pearl bodies is also evidence for the assumption, that Pearl bodies are the trigger. It is assumed that those Pearl bodies could be an additional source of carbohydrates for patrolling workers as the content of carbohydrates in the food bodies from the petiole is rather low.

Fischer et al. (2002) assumed that the food bodies from the petiole represent the sole source of nutrition for the ants. The discovery of the Pearl bodies on the young leaves disproves this theory. *P. obliquum* and *P. fimbriulatum* offer their ant partner *Pheidole bicornis* two different sources of food, which argues for a dual system that is also found in many other myrmecophytes.

As *P. fimbriulatum* is patrolled during the first three leaf stages, though no Pearl bodies are offered, it is assumed that VOCs might induce this behavior. In cross sections of young leaves a layer with oil cells was found close to the surface that dissolves in the course of leaf development. These cells might contain volatile terpenes and sesquiterpenes which may emit. Due to other investigations it is already known that *Pheidole bicornis* ants respond to terpene and sesquiterpene signals of their host plants (Mayer et al. 2008).

The results of this study suggest that both Pearl bodies and VOCs trigger the patrol activity on young leaves of *P. obliquum* und *P. fimbriulatum*. While *P. obliquum* attracts ants partners probably exclusively via Pearl bodies, young leaves of *P. fimbriulatum* might emit VOCs in the first stages of leaf development that motivate the ants to patrol and attract the workers with Pearl bodies in the last two leaf stages.

Keywords: *Piper obliquum*, *Piper fimbriulatum*, *Pheidole bicornis*, patrol activity, young leaves, pearl bodies, VOCs

6 Literaturverzeichnis

- Agrawal, A. A., & Dubin-Thaler, B. J. (1999). Induced responses to herbivory in the Neotropical ant-plant association between *Azteca* ants and *Cecropia* trees: response of ants to potential inducing cues. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45(1), 47-54.
- Badenes-Pérez, F. R., Gershenzon, J., & Heckel, D. G. (2014). Insect attraction versus plant defense: young leaves high in glucosinolates stimulate oviposition by a specialist herbivore despite poor larval survival due to high saponin content. *PLoS one* 9(4), DOI: 10.1371/journal.pone.0095766.
- Boege, K., & Marquis, R. J. (2005). Facing herbivory as you grow up: the ontogeny of resistance in plants. *Trends in Ecology & Evolution* 20(8), 441-448.
- Brouat, C., McKey, D., Bessi re, J. M., Pascal, L., & Hossaert-McKey, M. (2000). Leaf volatile compounds and the distribution of ant patrolling in an ant-plant protection mutualism: Preliminary results on *Leonardoxa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and *Petalomyrmex* (Formicidae: Formicinae). *Acta Oecologica* 21(6), 349-357.
- Bruna, E. M., Lapola, D. M., & Vasconcelos, H. L. (2004). Interspecific variation in the defensive responses of obligate plant-ants: experimental tests and consequences for herbivory. *Oecologia* 138(4), 558-565.
- Cassill D.L., & Tschinkel W.R. (1999). Regulation of diet in the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Journal of Insect Behavior* 12(3), 307–328.
- Christianini, A. V., & Machado, G. (2004). Induced biotic responses to herbivory and associated cues in the Amazonian ant-plant *Maieta poeppigii*. *Entomologia experimentalis et applicata* 112(2), 81-88.
- Coley, P. D. (1980). Effects of leaf age and plant life history patterns on herbivory. *Nature* 284, 545-546.
- Coley, P.D. (1983). Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecological Monographs* 53, 123–233.
- Coley, P. D., & Aide, T. M. (1991). Comparison of herbivory and plant defenses in temperate and tropical broad-leaved forests. *Plant-animal interactions: evolutionary ecology in tropical and temperate regions. Journal of Tropical Ecology* 173, 25-49.
- Coley P.D., & Barone J.A. (1996). Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annual review of Ecology and Systematics* 27, 305–335.
- Dale, E. (1901). Investigations on the abnormal outgrowths or intumescences on *Hibiscus vitifolius* L.- A study in experimental plant pathology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B, Biological Sciences* 194, 163-182.
- Dutra, H. P., Freitas, A. V. L., & Oliveira, P. S. (2006). Dual ant attraction in the Neotropical shrub *Urera baccifera* (Urticaceae): the role of ant visitation to pearl bodies and fruits in herbivore deterrence and leaf longevity. *Functional Ecology* 20(2), 252-260.

- Dyer L.A., Dodson C.D., Beihoffer J., & Letourneau D.K. (2001). Tradeoffs in antiherbivore defenses in *Piper cenocladum*: ant mutualists versus plant secondary metabolites. *Journal of Chemical Ecology* 27, 581–592.
- Echols H.W. (1966). Assimilation and transfer of mirex in colonies of Texas leaf cutting ants. *Journal of Economic Entomology* 59, 1336–1338.
- Federle W., Maschwitz U., Fiala B., Riederer M., & Hölldobler B. (1997). Slippery ant-plants and skilful climbers: selection and protection on specific ant partners by epicuticular wax blooms in *Macaranga* (Euphorbiaceae). *Oecologia* 112(2), 217–224.
- Feeny, P. (1970). Seasonal Changes in Oak Leaf Tannins and Nutrients as a Cause of Spring Feeding by Winter Moth Caterpillars. *Ecology* 51(4), 565-581.
- Fiala, B., & Maschwitz, U. (1990). Studies on the south east Asian ant-plant association *Crematogaster borneensis*/*Macaranga*: Adaptations of the ant partner. *Insectes sociaux* 37(3), 212-231.
- Fischer, R. C., Richter, A., Wanek, W., & Mayer, V. (2002). Plants feed ants: food bodies of myrmecophytic *Piper* and their significance for the interaction with *Pheidole bicornis* ants. *Oecologia* 133(2), 186-192.
- Fischer, R. C., Wanek, W., Richter, A., & Mayer, V. (2003). Do ants feed plants? A ¹⁵N labelling study of nitrogen fluxes from ants to plants in the mutualism of *Pheidole* and *Piper*. *Journal of Ecology* 91(1), 126-134.
- Folgarait, P. J., & Davidson, D. W. (1994). Antiherbivore defenses of myrmecophytic *Cecropia* under different light regimes. *Oikos* 71(2), 305-320.
- Gastreich K.R., & Gentry G.L. (2004). Faunal studies in model *Piper spp.* systems, with a focus on spider-induced indirect interactions and novel insect–*Piper* mutualisms. In: Dyer LA, Palmer ADN, eds. *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*. Boston: Kluwer Academic Press, 97–116.
- Gaume, L., & McKey, D. (1999). An ant-plant mutualism and its host-specific parasite: activity rhythms, young leaf patrolling, and effects on herbivores of two specialist plant-ants inhabiting the same myrmecophyte. *Oikos* 84(1), 130-144.
- Gaume, L., McKey, D., & Anstett, M. C. (1997). Benefits conferred by “timid” ants: active anti-herbivore protection of the rainforest tree *Leonardoxa africana* by the minute ant *Petalomyrmex phylax*. *Oecologia* 112(2), 209-216.
- Gerlach, D. (1984): Botanische Mikrotechnik. – Eine Einführung. Thieme, Stuttgart.
- González-Teuber, M., Kaltenpoth, M., & Boland, W. (2014). Mutualistic ants as an indirect defence against leaf pathogens. *New Phytologist* 202(2), 640-650.
- Grangier, J., Dejean, A., Malé, P. J. G., & Orivel, J. (2008). Indirect defense in a highly specific ant–plant mutualism. *Naturwissenschaften* 95(10), 909-916.
- Hanley, M. E., Lamont, B. B., Fairbanks, M. M., & Rafferty, C. M. (2007). Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 8(4), 157-178.

- Harper, J.L. (1989). The value of a leaf. *Oecologia* 80, 53–58.
- Heil, M., & McKey, D. (2003). Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* (34), 425-453.
- Heil, M., Fiala, B., Kaiser, W., & Linsenmair, K. E. (1998). Chemical contents of *Macaranga* food bodies: adaptations to their role in ant attraction and nutrition. *Functional Ecology* 12(1), 117-122.
- Heil, M., Fiala, B., Maschwitz, U., & Linsenmair, K. E. (2001). On benefits of indirect defence: short- and long-term studies of antiherbivore protection via mutualistic ants. *Oecologia*, 126(3), 395-403.
- Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). *The ants*. Harvard University Press.
- Howard, D. F., & Tschinkel, W. R. (1981). The flow of food in colonies of the fire ant, *Solenopsis invicta*: a multifactorial study. *Physiological Entomology* 6(3), 297-306.
- Jolivet, P. (1996). *Ants and plants, an example of coevolution*. Backhuys Publishers, Leiden.
- Kursar, T. A., & Coley, P. D. (1991). Nitrogen content and expansion rate of young leaves of rain forest species: implications for herbivory. *Biotropica* 23(2), 141-150.
- Lange, R. (1967). Die Nahrungsverteilung unter den Arbeiterinnen des Waldameisenstaates. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 24(5), 513–545.
- Lapola, D. M., Bruna, E. M., & Vasconcelos, H. L. (2003). Contrasting responses to induction cues by ants inhabiting *Maieta guianensis* (Melastomataceae). *Biotropica* 35(2), 295-300.
- Letourneau, D. K. (1990). Code of ant-plant mutualism broken by parasite. *Science* 248(4952), 215-217.
- Letourneau, D. K., & Dyer, L. A. (1998). Density patterns of *Piper* ant-plants and associated arthropods: Top-predator trophic cascades in a terrestrial system?. *Biotropica* 30(2), 162-169.
- Letourneau, D.K. (1983). Passive aggression: an alternative hypothesis for the *Piper*–*Pheidole* association. *Oecologia* 60, 122–126.
- Letourneau, D.K. (1998). Ants, stem-borers, and fungal pathogens: experimental tests of a fitness advantage in *Piper* ant-plants. *Ecology* 79, 593–603.
- Lowman, M. D., & Box, J. D. (1983). Variation in leaf toughness and phenolic content among five species of Australian rain forest trees. *Australian Journal of Ecology* 8(1), 17-25.
- Mattson, W.J. & Scriber, J.M. (1987). Nutritional ecology of insect folivores of woody plants: nitrogen, water, fiber, and mineral considerations. *Nutritional Ecology of Insect, Mites, Spiders, and Related Invertebrates*. John Wiley & Sons, New York, 105-146
- Mayer, V. E., Frederickson, M. E., McKey, D., & Blatrix, R. (2014). Tansley review: Current issues in the evolutionary ecology of ant-plant symbiosis. *New Phytologist* 202(3), 749-764.
- Mayer, V., Schaber, D., & Hadacek, F. (2008). Volatiles of myrmecophytic *Piper* plants signal stem tissue damage to inhabiting *Pheidole* ant-partners. *Journal of Ecology*, 96(5), 962-970.

- McKey, D. (1974). Adaptive patterns in alkaloid physiology. *The American Naturalist* 108 (961), 305–20.
- McKey, D. (1984). Interaction of the ant-plant *Leonardoxa africana* (Caesalpinaceae) with its obligate inhabitants in a rainforest in Cameroon. *Biotropica* 16(2), 81-99.
- Meng, L. Z., Martin, K., Liu, J. X., & Chen, J. (2012). Young leaf protection in the shrub *Leea glabra* in south-west China: the role of extrafloral nectaries and ants. *Arthropod-Plant Interactions* 6(1), 59-65.
- Meyen, F.J. (1837). *Ueber die Secretionsorgane der Pflanzen*. Berlin: F. H. Marin.
- Mithöfer, A., & Schuman, M. C. (2014). Subtile Verteidigungsstrategien in Pflanzen. *Biologie in unserer Zeit* 44(1), 26-32.
- Nestler, A. (1893). Die Perldrüsen von *Artanthe cordifolia* Miq. *Österreichische Botanische Zeitschrift* 43, 333–335, 386–390, plate XVI.
- Nultsch, W. (2000). *Allgemeine Botanik*. Thieme, Stuttgart.
- Penzig, O. (1892). Ueber die Perldrüsen des Weinstockes und anderer Pflanzen. *Atti del Congresso Botanico Internazionale di Genova*, 237-245.
- Raciborski, M. (1898). Biologische Mittheilungen aus Java. *Flora* 85, 325-367.
- Rickson, F. R., & Risch, S. J. (1984). Anatomical and ultrastructural aspects of the ant-food cell of *Piper cenocladum* C. DC. (Piperaceae). *American Journal of Botany* 71(9), 1268-1274.
- Rickson, F.R. (1980). Developmental anatomy and ultrastructure of the ant food bodies (Beccarian bodies) of *Macaranga triloba* and *M. hypoleuca* (Euphorbiaceae). *American Journal of Botany* 67, 285-292.
- Ridley, H. N. (1910). Symbiosis of ants and plants. *Annals of Botany* 24, 457-483.
- Risch, S. J., & Rickson, F. R. (1981). Mutualism in which ants must be present before plants produce food bodies. *American Journal of Botany* 71(9), 1268-1274.
- Risch, S., McClure, M., Vandermeer, J., & Waltz, S. (1977). Mutualism between three species of tropical *Piper* (Piperaceae) and their ant inhabitants. *American Midland Naturalist* 98(2), 433-444.
- Romero, G. Q., & Izzo, T. J. (2004). Leaf damage induces ant recruitment in the Amazonian ant-plant *Hirtella myrmecophila*. *Journal of Tropical Ecology* 20(06), 675-682.
- Schatz, B., Djieto-Lordon, C., Dormont, L., Bessière, J. M., McKey, D., & Blatrix, R. (2009). A simple non-specific chemical signal mediates defence behaviour in a specialised ant–plant mutualism. *Current Biology* 19(9), R361-R362.
- Tepe, E. J., Vincent, M. A., & Watson, L. E. (2004). Phylogenetic Patterns, Evolutionary Trends, and the Origin of Ant–Plant Associations in *Piper* section *Macrostachys*: Burger’s Hypotheses Revisited. In *Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution*, Springer US, 156-178.

- Tepe, E. J., Vincent, M. A., & Watson, L. E. (2007). The importance of petiole structure on inhabitability by ants in *Piper* sect. *Macrostachys* (Piperaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 153(2), 181-191.
- Tollrian, R., & Harvell, C. D. (1999). *The ecology and evolution of inducible defenses*. Princeton University Press.
- Vinson, S.B. (1968). The distribution of an oil, carbohydrate, and protein food source to members of the imported fire ant colony. *Journal of Economic Entomology* 61, 712–714.
- Williams-Linera, G., & Baltazar, A. (2001). Herbivory on young and mature leaves of one temperate deciduous and two tropical evergreen trees in the understory and canopy of a Mexican cloud forest. *Selbyana* 22(2), 213-218.

7 Danksagung

Ganz besonderer Dank gebührt meiner Diplomarbeitsbetreuerin Dipl. Biol. Dr. Veronika Mayer, die stets ein offenes Ohr für meine Probleme hatte und mich die ganze Arbeit hindurch intensiv betreute und unterstützte. Ohne ihr Fachwissen und ihre professionelle Anleitung wäre diese Arbeit nicht entstanden.

Zudem bedanke ich mich ganz herzlich beim gesamten Departement für Strukturelle und Funktionelle Botanik der Universität Wien, besonders aber bei Mag. Susi Sonntag, Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Martina Weber und Andrea Frosch-Radivo, die mir die nötigen laboratorischen Methoden vermittelten und mich im Labor aufs herzlichste unterstützten. Bedanken möchte ich mich auch bei der Universität Wien für die finanzielle Unterstützung meines Forschungsaufenthalts (KWA-Stipendium) in La Gamba, Costa Rica und für eine sehr großzügige Studienbeihilfe, die mein Studium überhaupt erst ermöglichte. Des Weiteren bedanke ich mich auch bei den MitarbeiterInnen der Tropenstation La Gamba für die Möglichkeit meine Forschungen stets wohlgenährt und gut versorgt durchführen zu können. Ich bedanke mich bei den Gärtnern des Universitätsversuchsgartens im Augarten und ganz besonders bei Dr. Judith Haumann. Durch die langjährige Zusammenarbeit habe ich nicht nur meine Liebe zu Pflanzen vertiefen können, sondern auch Einblicke in die Praxis des Hochschulbetriebs bekommen. Besonderer Dank gilt dem Universitätsversuchsgarten auch für die Bereitstellung der Datalogga zur Aufzeichnung der Klimadaten. Zudem möchte ich mich bei Mag. Johann Kaltenbrunner und Julia Friedl für Korrekturen und Layout-Arbeiten bedanken. Außerdem bin ich Lisa Haberl zu großem Dank verpflichtet. Sie hat mich nicht nur als Kollegin durch mein Studium begleitet und mich bei dieser Arbeit mathematisch und statistisch unterstützt, sondern ist vor allem eine großartige Freundin. Außerdem danke ich Thomas Luft, der bei allen EDV-Problemen meine Anrufe tolerierte und der stets die richtigen Lösungen parat hatte.

Ganz besonders bedanke ich mich bei meinen Eltern, Ingrid und Ferdinand Friedl, die immer zu mir standen und stets versuchten, meine Entscheidungen zu unterstützen und meine Träume zu verwirklichen.

Der größte Dank geht aber an Klaus Kaltenbrunner, der diese Arbeit vermutlich mittlerweile beinahe so gut kennt wie ich selbst, mich in allen Höhen und Tiefen unterstützte und mir zur Seite stand. Ich weiß nicht, ob ich es ohne dich geschafft hätte!

8 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Katrin Anna Friedl
Geburtsdatum: 20.12.1988 in Grieskirchen
Email: kati_friedl@yahoo.de



Schulbildung

1995 – 1999	Besuch der Volksschule in Wallern an der Trattnach
1999 - 2007	Besuch des BG/BRG Anton-Bruckner-Straße Wels
Juni 2007	Matura mit gutem Erfolg

Unterbrechung der Schul- und Studienzzeit

Sept. – Dez. 2007	Soziale Tätigkeit in einem Kindergarten in Alesd, Rumänien
Jan. – Juli 2008	Au Pair in Dublin, Irland

Studium

2008-2015	Lehramtsstudium UF Biologie & Umweltkunde und UF Deutsch (Universität Wien)
SoSe 2012-2014	Tutorium an der Universität Wien (Lehrveranstaltung: Pflanzenphysiologisch-ökologisch gärtnerische Übungen)
Mai 2013	Beginn Diplomarbeit (verbunden mit einmonatiger Forschungstätigkeit in Costa Rica) <u>Kurztitel:</u> Das Patrouillier-Verhalten auf den jungen Blättern in der <i>Piper-Pheidole</i> -Assoziation