

2-Undecanon: ein neuartiger Lockstoff für anthropophile Stechmücken

Sebastian Haas*, Stefan Schwab[‡] & Martin Geier*

* Institut für Zoologie der Universität Regensburg

[‡] Institut für Zoologie I der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg

Abstract: 2-Undecanone: a new attractant for anthropophilic mosquitoes.

The attractiveness of 2-undecanone to host-seeking female *Stegomyia aegypti* (former *Aedes aegypti*) and female *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) mosquitoes was tested in a Y-tube bioassay under laboratory conditions. 2-Undecanone alone in a concentration of 40 ppm was significantly more attractive to *S. aegypti* mosquitoes than pure air. In combination with other kairomones such as caproic acid, lactic acid and ammonia doses of 2-undecanone from 4 ppm up to 130 ppm augmented significantly the attractiveness of these kairomones. The synergism of 2-undecanone with other attractants is comparable to that one described for lactic acid. The combination of 2-undecanone with lactic acid, however, was more attractive than the two compounds as single stimuli. Interestingly 2-undecanone is neither known as a human skin compound nor as a volatile in human breath. First field experiments near Regensburg in Germany with BG-Sentinel[®] mosquito traps could not confirm the attractive effect of 2-undecanone (ROSE et al. 2006) for *Culex* species. A possible explanation could be that the tested dose of 2-undecanone was not in the optimum range or that the studied species do not respond to this compound.

Key words: *Aedes aegypti*, *Stegomyia aegypti*, *Anopheles stephensi*, attractants, mosquito monitoring system, mosquito control, kairomones, surveillance, 2-undecanone.

Sebastian Haas, Dr. Martin Geier, Institut für Zoologie der Universität Regensburg, Universitätsstraße 31, D-93040 Regensburg, E-mail: sebastian.hase@web.de.

Stefan Schwab, Institut für Zoologie I, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Staudtstraße 5, D-91058 Erlangen

Stechmücken der Art *Stegomyia aegypti* (ehemals *Aedes aegypti*, REINERT et al. 2004) sind die wichtigsten Überträger von Gelbfieber- und Dengueviren. Diverse Arten der Gattung *Anopheles* verbreiten die Erreger der Malaria. Bei Versuchen, Malaria, Gelbfieber und Dengue einzudämmen, wurden in den letzten Jahrzehnten wiederholt Kampagnen gegen Stechmücken geführt. Dabei wurden Insektizide vielfach flächendeckend ausgebracht. Dies führte kurzfristig zu geringeren Mückendichten, allerdings entwickelten sich auch vielerorts gegen diese Gifte resistente Mückenpopulationen.

Anstelle des flächendeckenden Gifteinsatzes wird heute versucht, die Insektizide örtlich und zeitlich effektiv einzusetzen, um so die Gefahr weiterer Resistenzbildung zu minimieren und sowohl die Kosten als auch die Belastung für Umwelt und Bevölkerung möglichst gering zu halten. Um Insektizide zur richtigen Zeit gezielt ausbringen zu können, ist ein Monitoring der Mücken erforderlich. Mückenfallen, die durch optische Effekte und Duftstoffe gezielt anthropophile Stechmückenarten anlocken, sind für ein derartiges Bestandsmonitoring besonders geeignet. Auf der Suche nach attraktiven Duftstoffen, welche die Effektivität solcher Fallen erhöhen, wurde unter anderem auch 2-Undecanon getestet. In Verhaltensversuchen mit den anthropophilen Mückenarten *Stegomyia aegypti* und *Anopheles stephensi* konnte die Attraktivität dieser Substanz sowohl als Einzelreiz als auch in Kombination mit anderen Attraktanzien gezeigt und quantifiziert werden.

Material und Methoden

Weibliche stechfreudige *S. aegypti* wurden durch eine Attractantkombination aus Capronsäure, Milchsäure und Ammoniak angelockt. Mittels Festphasenmikroextraktion (SPME) wurden aus der die Mücken

umgebenden Atmosphäre (Headspace) Proben entnommen. Die extrahierten Analyte wurden mit Hilfe gekoppelter Gaschromatographie / Massenspektrometrie (GC/MS) aufgetrennt und über den Vergleich ihrer Massenspektren mit Referenzen in Datenbanken identifiziert. Die auf diese Weise detektierte Substanz 2-Undecanon wurde in Verhaltensversuchen zunächst an *S. aegypti*, später auch an *A. stephensi* untersucht. Unter Laborbedingungen (26 °C, 60 % RLF) fanden Versuche in einem nach GEIER & BOECKH (1999) modifizierten Y-Olfaktometer statt. Die Applikation und Dosierung der olfaktorischen Stimuli erfolgte durch Einleiten von gesättigter Luft aus dem Headspace der flüssigen Lockstoffe. Die Konzentration der Substanzen im Luftstrom wurde in Kenntnis ihrer Dampfdrücke über die Ideale Gasgleichung berechnet. Die weiblichen, stechfreudigen Mücken wurden in Gruppen von etwa 25 Individuen getestet. Der Anflug einer Gruppe wurde als N = 1 definiert. Die Wahl der Stechmücken für einen der beiden Schenkel des Y-Olfaktometers wurde prozentual erfasst. Die transformierten Messwerte wurden mit dem Statistikprogramm SPSS 12.0 für Windows® bearbeitet und mit dem T-Test für abhängige Stichproben auf signifikante ($p < 0,05^*$) Mittelwertsunterschiede geprüft.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der Verhaltensversuche mit weiblichen *S. aegypti* im Y-Olfaktometer zeigten, dass 2-Undecanon in einer Dosis von 40 ppm auch alleine Mücken anlockt. Gegenüber Reinluft wurde die Seite der Einleitung signifikant ($p < 0,001^{***}$; T-Test, 2-seitig; N = 8) bevorzugt angefliegen (Abb. 1). Damit ist 2-Undecanon in Reingabe attraktiv wie sonst nur Milchsäure (GEIER *et al.* 1995).

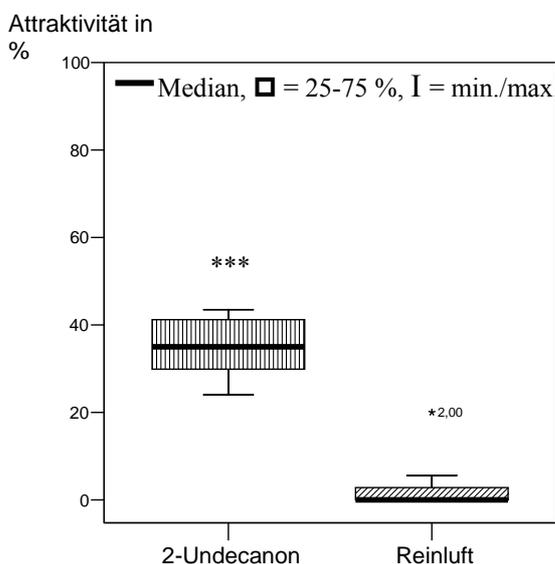


Abb. 1: Vergleich der Attraktivität von 2-Undecanon (40 ppm) vs. Reinluft im Y-Olfaktometer: ♀♀ Mücken bevorzugten zu 34,9 % den Schenkel mit 2-Undecanon. Die Seite mit Reinluft flogen 3,2 % der Stechmücken an: $p < 0,001^{***}$, (T-Test, 2-seitig), N = 8.

Des weiteren attrahierte 2-Undecanon (2-U) zusammen mit den Kairomonen Capronsäure (CS) und Ammoniak (NH_3) ebenso stark wie Milchsäure (MS) in Verbindung mit diesen Substanzen. 2-Undecanon kann demnach den Synergist Milchsäure ersetzen. Werden alle vier Lockstoffe ($\text{CS} + \text{NH}_3 + \text{MS} + 2\text{-U}$) kombiniert dargeboten, so erreicht die Attraktivität ein noch höheres Niveau. Daraus lässt sich schließen, dass 2-Undecanon ein eigenes, zur Attraktivität der Milchsäure additiv wirkendes Prinzip darstellt und vermutlich andere Rezeptoren anspricht als Milchsäure (Abb. 2).

Die dosisabhängige Lockwirkung von 2-Undecanon auf weibliche *S. aegypti* wurde in Kombination mit einem attraktiven Duftgemisch, bestehend aus Capronsäure, Milchsäure und Ammoniak untersucht (s. Abb. 3). Nach acht Testläufen pro Dosis ergab sich die in Abb. 3 dargestellte Dosis-Wirkungs-Kurve: Dosen von 4 ppm bis 130 ppm 2-Undecanon erhöhten die Attraktivität der Seite mit 2-Undecanon signifikant ($p < 0,05^*$; T-Test, 2-seitig; N = 8).

Diese synergistische Wirkung von 2-Undecanon – mit einem Optimum von 40 ppm – könnte in Zukunft die Effizienz von Mückenfallen im Rahmen des Bestandsmonitorings anthropophiler Mückenarten steigern.

Aufgrund dieser Lockwirkung wurde 2-Undecanon am 02.08.2004 von der Universität Regensburg zum Patent angemeldet (GEIER *et al.* 2004).

Wie weitere Versuche mit der Malaria mücke *Anopheles stephensi* im Olfaktometer zeigten, attrahiert ein Zusatz von 40 ppm bis 130 ppm 2-Undecanon auch bei dieser Mückenart signifikant mehr weibliche Mücken auf Blutwirtsuche ($p < 0,05^*$; T-Test, 2-seitig; N = 8) als die Lockstoffe Capronsäure, Milchsäure und Ammoniak alleine.

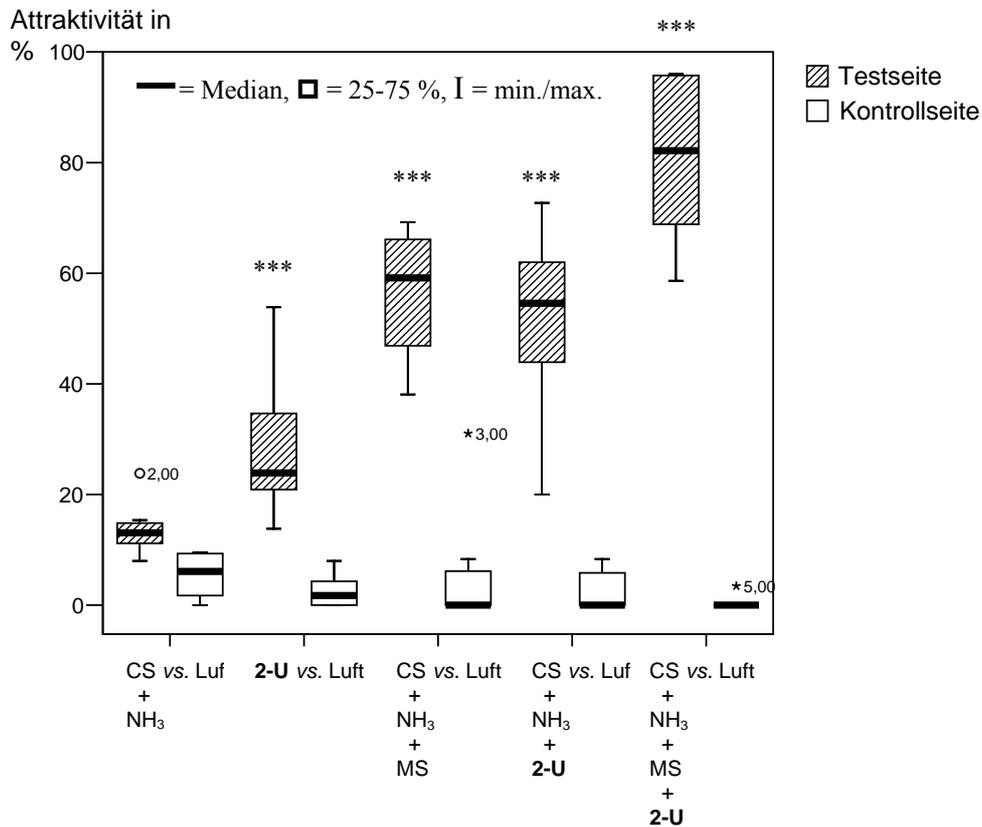


Abb. 2: Vergleich der Attraktivität verschiedener Lockstoffkombinationen vs. Reinluft im Y-Olfaktometer. Die Lockstoffe wurden gasförmig aus dem gesättigten Headspace reiner Flüssigkeiten dargeboten. Die Dosierung erfolgte durch Einleiten der Atmosphäre in ml min^{-1} . CS = Capronsäure (5 ml min^{-1}), NH_3 = Ammoniak 25% ig (1 ml min^{-1}), 2-U = 2-Undecanon (30 ml min^{-1}), MS = Milchsäure (20 ml min^{-1}), Luft = Reinluft (26°C , 65% RLF). Pro Test flogen 25 *S. aegypti* an. Signifikante Unterschiede der Attraktivität sind hervorgehoben: $p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$. N = 8 (je Stimulus), kontinuierlich permutiert.

Die Frage, weshalb weibliche Culiciden verschiedener Gattungen von 2-Undecanon angelockt werden, kann noch nicht mit Sicherheit beantwortet werden. DU & MILLAR (1999) isolierten 2-Undecanon aus Heuaufgüssen und untersuchten diese Substanz auf ihre Attraktivität als „oviposition stimulus“ für gravide *Culex quinquefasciatus* und *Culex tarsalis*. Obgleich die weiblichen Mücken in elektrophysiologischen Untersuchungen (GC-EAG) dieser Studie auf 2-Undecanon reagierten, unterschieden sich Verhaltensversuche mit dem vermeintlichen Eiablagestimulus nicht von Kontrollversuchen.

2-Undecanon konnte bisher weder im menschlichen Hautbukett (BERNIER *et al.* 2000) noch im Atem (PHILLIPS *et al.* 1994) nachgewiesen werden. Möglicherweise ist 2-Undecanon eine flüchtige Komponente von Blütendüften und reifen Früchten, die den Mücken beiderlei Geschlechts Kohlenhydratquellen anzeigt.

Eine endgültige Klärung, welche Rolle diese Substanz im Leben der Culiciden spielt, müssen weitere Verhaltensversuche liefern.

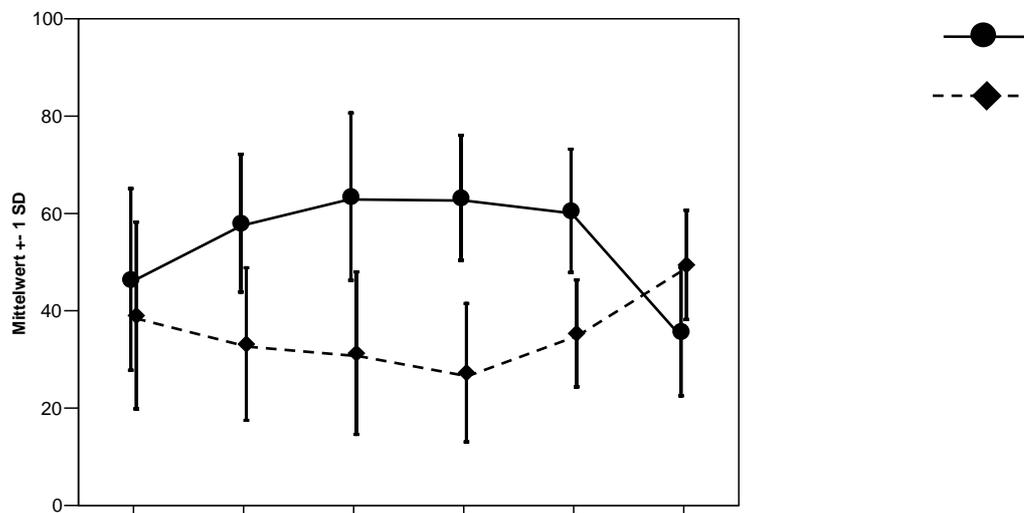


Abb. 3: Dosis-Wirkungs-Kurve von 2-Undecanon vor einem konstanten olfaktorischen Hintergrund von Capronsäure, Milchsäure und Ammoniak auf beiden Schenkeln des Y-Olfaktometers. N = 8 (je Dosis). Aufgetragen ist die Attraktivität in Mittelwerten mit einfacher Standardabweichung in Prozent gegen die Dosis eingeleiteten 2-Undecanons in ppm (logarithmische Skalierung). Signifikante Unterschiede der Attraktivität sind hervorgehoben: $p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$; $p < 0,001^{***}$.

Literatur

- BERNIER, U.R.; KLINE, D.L.; BARNARD, D.R.; SCHRECK, C.E. & YOST, R.A. (2000): Analysis of human skin emanations by gas chromatography/mass spectrometry. – *Anal. Chem.* 72: 747-756.
- DU, Y.J. & MILLAR, J.G. (1999): Electroantennogram and oviposition bioassay responses of *Culex quinquefasciatus* and *Culex tarsalis* (Diptera: Culicidae) to chemicals in odor from Bermuda grass infusions. – *Journal of Medical Entomology* 36 (2): 158-166.
- GEIER, M. (1995): Verhaltensversuche mit Gelbfiebermücken *Aedes aegypti* zur Aufklärung des attraktiven Reizmusters bei der olfaktorischen Wirtsfindung. – Dissertation, Naturwissenschaftlichen Fakultät III – Biologie und Vorklinische Medizin, Universität Regensburg.
- GEIER, M. & BOECKH, J. (1999): A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours. – *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92: 9-19.
- GEIER, M.; HAAS, S. & SCHWAB, S. (2004): Mittel zum Anlocken von Insekten. Europäische Patentanmeldung. Priorität: DE/02.08.04/DEA 102004037636. Patentinhaber: Universität Regensburg.
- PHILLIPS, M.; HERRERA, J.; KRISHNAN, S.; ZAIN, M.; GREENBERG, J. & CATANEO, R.N. (1999): Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans. – *Journal of Chromatography B* 729: 75-88.
- REINERT, J.F.; HARBACH, R.E. & KITCHING, I.J. (2004): Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae), based on morphological characters of all life stages. – *Zool. J. Linn. Soc.* 142: 289-368.
- ROSE, A.; KRÖCKEL, U.; BERGBAUER, R.; GEIER, M. & EIRAS, Á. (2006): Der BG-Sentinel®, eine neuartige Stechmückenfalle für Forschung und Überwachung. – *Mitt. Dtsch. Ges. allg. angew. Ent.* 15: (diese Ausgabe).