

Das Experiment: Sexuallockstoff beim Seidenspinner

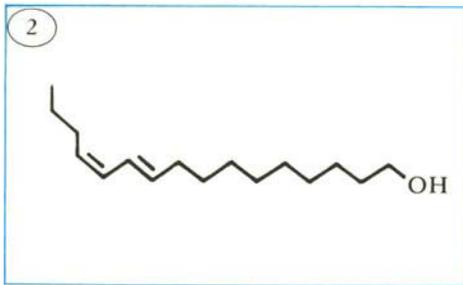


Abb. 1. Weibchen des Seidenspinners *Bombyx mori* in Lockstellung auf einem Kokon. Am Hinterleib sind die Duftdrüsen („sacculi laterales“) ausgestreckt.

Abb. 2. Molekülstruktur des Lockstoffes „Bombykol“ (10-trans, 12-cis, Hexadecadien-1-ol).

1. Die Rolle der Sexuallockstoffe bei Nachtfaltern

Bei Nachtfaltern und vielen anderen Insektengruppen finden sich die Geschlechter mit Hilfe von Duftstoffen, welche die Männchen zur Paarung zu den Weibchen locken.

Von einer Hinterleibsdrüse sondern die Weibchen ein flüchtiges Sekret in die Luft ab, Riechrezeptoren auf den männlichen Fühlern nehmen diesen Duft wahr, und bei den Männchen wird ein gegen den Wind orientierter Flug zur Duftquelle sowie Sexualverhalten ausgelöst. Solche Sexuallockstoffe bewirken unter natürlichen Bedingungen eine artspezifische Anlockung der Männchen. Es sind demnach chemische Signalsubstanzen, die der innerartlichen Kommunikation dienen, sogenannte Pheromone (vgl. biuz 7/6, 161, 1977).

Chemisch handelt es sich bei den Sexualpheromonen der Nachtfalter vorwiegend um einfach oder doppelt ungesättigte aliphatische Alkohole, Acetate und Aldehyde, und viele Faltergruppen verwenden Moleküle mit sehr ähnlichen Strukturen als Signale. Daß von den Weibchen dennoch nur Männchen der eigenen Art angelockt werden, erklärt sich zunächst durch die große Spezifität der männlichen Riechrezeptoren (s.u.). Die Pheromone sind oft auch Mischungen verschiedener Substanzen, deren qualitative und/oder quantitative Zusammensetzung arttypisch ist; schließlich bilden zusätzliche (chemische und andere) Signale sowie ökologische Faktoren Schranken zwischen den Arten.

Pheromone gewinnen mehr und mehr an praktischer Bedeutung bei der Kontrolle von Schadinsekten-Populationen sowohl in der Land- und Forstwirtschaft als auch im Vorratsschutz (vgl. J. P. Vité, dieses Heft, S. 112–119): Der Einsatz von Pheromonen eröffnet die Möglichkeit – ohne die Umwelt zu belasten –, meist sehr spezifisch die Fortpflanzungsrate von Schädlingen zu reduzieren, indem man den normalen chemischen Kommunikationsprozeß stört. Zur Bekämpfung von Nachtfaltern bieten sich unter anderen folgende Methoden an:

- Wegfangen der Männchen mittels pheromon-beköderter Fallen.
- Desorientieren („verwirren“) der Männchen durch großflächiges Ausbringen von weiblichen Lockstoffen; die Männchen können die Weibchen nicht mehr lokalisieren.
- Inaktivieren der Männchen durch den Einsatz von Duftstoffen, welche das Sexualverhalten hemmen; solche Inhibitoren werden bei einigen Arten nach der Kopulation von den Weibchen abgegeben und verhindern den Anflug weiterer Männchen.

2. Chemische Kommunikation am Beispiel von *Bombyx mori*

Für Experimente zur Demonstration der Kommunikation mit Sexuallockstoffen bei Nachtfaltern eignet sich besonders gut das relativ einfache Pheromonsystem des domestizierten Seidenspinners *Bombyx mori* L., vor allem deshalb, weil die Weibchen dieser Art unabhängig von äußeren Bedingungen ständig locken und weil durch die Flugfähigkeit der Falter die Beobachtung ihres Verhaltens erleichtert ist. – Aus diesen Gründen wurde für die folgende kurze Darstellung der Grundlagen der chemischen Kommunikation und für die anschließend angeregten Experimente das Beispiel *Bombyx* gewählt.

Bald nach dem Schlüpfen aus der Puppe strecken *Bombyx*-Weibchen zwischen dem 8. und 9. Hinterleibssegment paarige Säckchen aus (Abbildung 1). Diese drüsigen Intersegmentalhäute (sog. „sacculi laterales“) sezernieren den Lockstoff (vgl. [12]), dessen chemische Struktur von Butenandt und Mitarbeitern [1] aus einem Extrakt von 500 000 Weibchendrüsen bestimmt wurde: trans-10, cis-12, Hexadecadien-1-ol (= „Bombykol“, Abbildung 2).

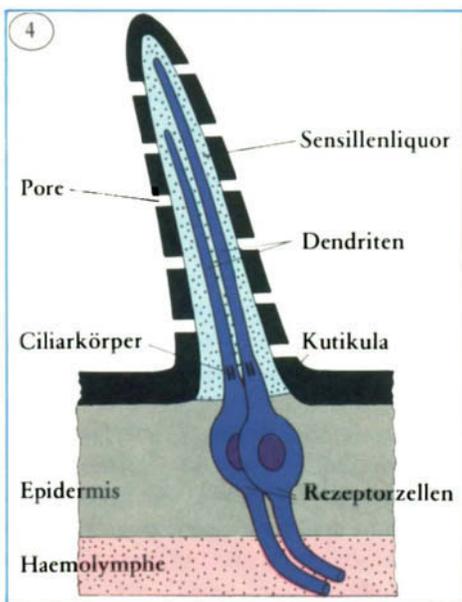


Abb. 3. Männchen von *Bombyx mori* mit aufgerichteten Antennen. b) Teilansicht einer männlichen Antenne von *Bombyx mori* (Aufnahme mit dem Rasterelektronenmikroskop). Vergrößerung ca. 800fach.

Abb. 4. Stark schematisierte Darstellung eines Insekten-Riechhaares (nach [8], vgl. [13, 14]).

Als Riechorgane dienen die Fühler (Antennen), welche dicht mit Riechhaaren besetzt sind (Abbildung 3). Beim Männchen befinden sich auf jeder Antenne ca. 17000 etwa 100 μm lange „Sensilla trichodea“ [13, 14], welche bereits bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop sichtbar sind. Jedes dieser Haare enthält zwei Sinneszellaus-

läufer (Abbildung 4), wovon jeweils einer auf die Rezeption des weiblichen Sexuallockstoffs spezialisiert ist [7, 8] (die Riechhaare auf den weiblichen Antennen können Bombykol nicht wahrnehmen). Die Duftmoleküle werden von den Antennen aus der Luft herausgefiltert und diffundieren durch zahlreiche Poren in der Sensillenwand in das Innere der Haare; dort lösen sie an den Sinneszellen Nervenimpulse aus, die zum Gehirn geleitet werden.

Besondere Beachtung verdient die Empfindlichkeit und die Spezifität dieses Kommunikationssystems. Bereits 1000 Moleküle Bombykol pro cm^3 Luft lösen das Flügelschwirren (typische Verhaltensreaktion auf Reizung mit Sexuallockstoff, s.u.) der Männchen aus [2]. Anders ausgedrückt: „Die Verdampfung von 1 kg Bombykol würde den Luftraum über der Bundesrepublik so mit diesem Lockstoff erfüllen, daß nahe der Erdoberfläche immer noch jeder Kubikzentimeter 1000 Moleküle enthielte“ [9]. Obwohl sich in den Duftdrüsen der Weibchen nur weniger als 1 μg Bombykol befinden, würde diese Menge wegen der Sensitivität der männlichen Riechrezeptoren theoretisch allerdings ausreichen, um 10^{13} *Bombyx*-Männchen zu erregen!

Bombyx-Männchen reagieren jedoch *nur* auf Bombykol mit dieser hohen Empfindlichkeit. Bereits geringe Veränderungen der Molekülstruktur verringern die Sensitivität drastisch. So wirken zum Beispiel die geometrischen Isomeren des Bombykols, im Verhaltenstest in gleicher Konzentration angeboten, bereits 1000 mal schlechter [6]; Stoffe mit anderer Struktur werden überhaupt nicht wahrgenommen.

Der Lockstoff der Weibchen wird mit der Luft transportiert und löst bei den Männchen eine Kette von Verhaltensweisen aus (vgl. [10, 11]):

1. Flügelschwirren,
2. Schwirrtanz,
3. Orientierungslauf zur Bombykol-Quelle,
4. Kopulationsverhalten.

Bei der Orientierung der Männchen zur Duftquelle sind die Windrichtung sowie zeitliche und räumliche Gradienten der Duftkonzentration die entscheidenden Parameter [3, 10, 11]. In einem künstlichen Duftfeld ohne räumliche und zeitliche Konzentrationsunterschiede orientieren sich die Falter zum Wind (anemotaktische Reak-

tion). Sie bewegen sich in einem Winkel von 30–50° windaufwärts, wobei sich die Vorzeichen dieser Winkel in unregelmäßigen zeitlichen Abständen ohne erkennbaren äußeren Anlaß ändern: es resultiert ein Zick-Zack-Lauf. Demgegenüber sind im natürlich vorkommenden Duftfeld zusätzlich zur Anemotaxis chemische Orientierungsmechanismen beteiligt.

1. Nehmen die Riechrezeptoren eine Abnahme der Duftkonzentration wahr, so wird eine Änderung des Laufwinkelvorgehens wahrscheinlicher.

2. Sind die räumlichen Unterschiede in der Duftkonzentration so groß, daß beide Antennen unterschiedlich stark erregt werden, so wendet sich das Tier solange zur stärker erregten Seite, bis beide Antennen gleiche Reizkonzentrationen melden (tropotaktische Reaktion).

In der Laufspur sind manchmal Schleifen zu beobachten, die in der Regel mit einer Windabwärtsdrehung beginnen. Sie sind durch plötzliche starke Abnahmen der Duftkonzentration (z.B. am Rande der Duftfahne oder bei starken Turbulenzen) ausgelöst.

eines Fühlers sowie durch starke räumliche Konzentrationseinbrüche am Rande der Duftfahne treten besonders häufig Schleifen auf.

3. Anregungen für Experimente

Für die Durchführung von Experimenten zur Demonstration der chemischen Kommunikation bei *Bombyx** sind keine besonderen Apparate nötig: Man beobachtet das Verhalten der Männchen in einer „Arena“, zum Beispiel auf einem mit Filterpapier bedeckten Tisch, über den ein leichter Luftstrom streicht. Der Luftstrom kann durch einen Föhn erzeugt werden, wobei die Breite der

*Puppen und Eier von *Bombyx mori* (leichte Zucht mit Maulbeerblättern!) werden öfters in der Zeitschrift „Insektenbörse“ (Alfred Kernen Verlag, Schloß-Str. 80, 7000 Stuttgart 1) angeboten. In den Sommermonaten liefert auch Herr H. Rösner, Pellenzstr. 4, D-5442 Mending, Lebendmaterial. – Die kurzlebigen Falter nehmen keine Nahrung auf; in einer mit angefeuchtetem Fließpapier ausgelegten Petrischale können sie mehrere Tage lang im Kühlschrank gehalten werden.

Strömung durch Vorsetzen von Röhren verschiedener Länge und Durchmesser, die Windgeschwindigkeit durch Vorschalten eines Spannungsreglers verändert werden kann. Für die Tests bringt man eine Reizquelle (z.B. ein lockendes Weibchen) in den Luftstrom ein und in einiger Entfernung windabwärts ein Männchen, dessen Verhalten beobachtet wird (vgl. Abbildung 5).

Die große Sensitivität der männlichen Falter für den Lockstoff zwingt jedoch zu „sauberem“ Arbeiten. Das heißt, es ist notwendig darauf zu achten, daß die Arena und alle in den Tests verwendeten Gefäße etc. nicht mit Bombykol kontaminiert und die Testmännchen vor dem Experiment nicht mit Bombykol in Kontakt gekommen sind. Es ist daher auch empfehlenswert, die Puppen nach dem Geschlecht zu sortieren (Abbildung 6) und Männchen und Weibchen in getrennten Räumen (am besten unter einem Abzug oder im Freien) schlüpfen zu lassen. Außerdem sollten die Versuche in einem gut durchlüftbaren Raum durchgeführt werden.

In Tabelle 1 sind Grundversuche zusammengestellt, welche zeigen,

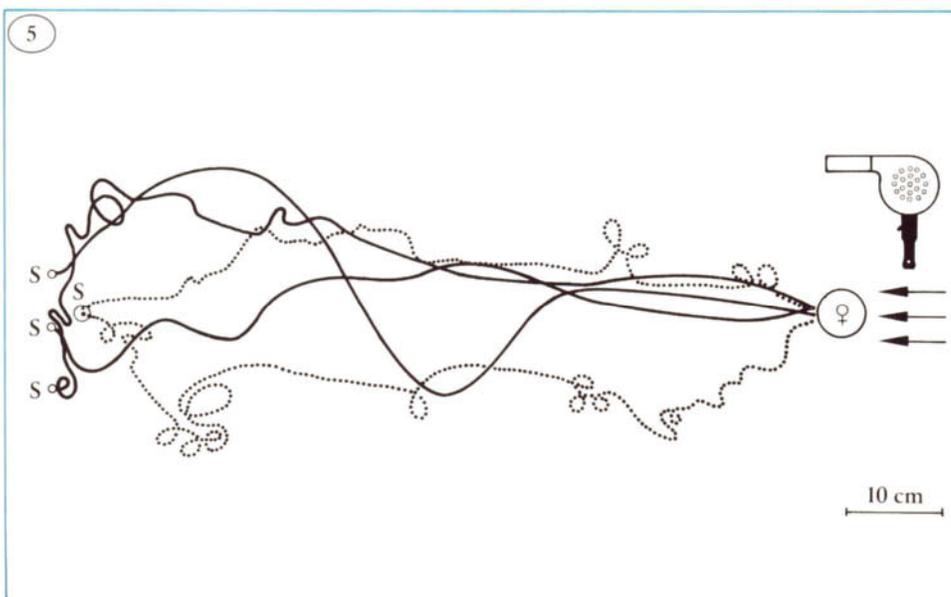


Abb. 5. Laufspuren von fünf *Bombyx*-Männchen zu einer Reizquelle (hier ein lockendes Weibchen). S: Startort; Pfeile deuten Windrichtung an; —: intakte Männchen; ----: einseitig föhleramputierte Männchen (oben: rechts amputiert, unten: links amputiert). Die hier protokollierten Tests wurden mit dem im Text beschriebenen einfachen Versuchsaufbau in einem durchlüfteten Zimmer durchgeführt; sie sind deshalb nicht frei von Störeinflüssen (verwirbelter Luftstrom u.ä.).

Auch Tiere mit nur einer Antenne finden zur Duftquelle. Allerdings ist die tropotaktische Reaktion gestört, da von der amputierten Antenne keine Erregung gemeldet werden kann. Es resultiert ein unregelmäßiger Lauf am Rande der Duftfahne; rechtsamputierte Falter nähern sich von der linken Seite der Duftquelle, linksamputierte von rechts. Durch das Fehlen der Erregung

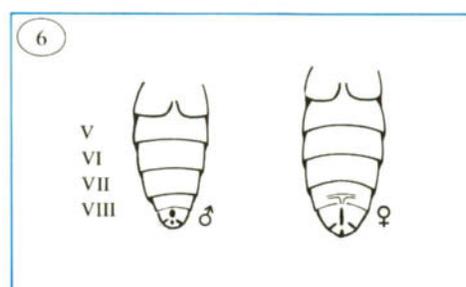


Abb. 6. Stark schematisierte Darstellung des Sexualdimorphismus von *Bombyx*-Puppen (gilt auch für andere Arten). Betrachtet man die Puppen von der Bauchseite, so finden sich zwischen dem Ende der Flügelscheiden und den Markierungen der späteren After- und Geschlechtsöffnungen beim Männchen vier, beim Weibchen nur drei freie Segmente. Weibliche Puppen sind auch größer und schwerer als männliche.

a) daß keine optischen (Test 1), sondern chemische Reize (Test 2), welche von den weiblichen *sacculi laterales* ausgehen (Test 3, 4), das Sexualverhalten der Männchen auslösen,

b) daß die Männchen das Pheromon mit ihren Antennen wahrnehmen (Test 5) und c) daß die Fühler bei der Orientierung der Falter eine Rolle spielen.

Die in der Tabelle angeregte Testserie kann leicht durch weitergehende Versuche ergänzt werden. Unter anderem bietet es sich an, Wahlversuche zwischen zwei Reizquellen durchzuführen (Weibchen im Glas – Weibchen frei; eine Drüse – mehrere Drüsen; verschiedene Konzentrationen eines Heptan-Drüsenextraktes, u.ä.).

Aufschlußreich sind auch vergleichende Tests zur Orientierung der Falter zur Duftquelle. So kann man den Einfluß unterschiedlicher Fühleramputation, der Windgeschwindigkeit und/oder von Störungen des Duftfeldes durch Seitenwind oder Verwirbelung (Hindernisse zwischen Reizquelle und Testmännchen legen!) untersuchen, die Entfernung Startort – Reizquelle und Reizquelle – Föhn verändern oder Männchen in unterschiedlichen Winkeln zur Windrichtung in das Duftfeld einbringen. Zum Protokollieren und späteren Auswerten von Orientierungsversuchen bietet es sich an, die Laufspuren mit einem Stift nachzuzeichnen (vgl. Abbildung 5).

Die hier behandelten Experimente mit *Bombyx* können nur als Anregung für Versuche zur chemischen Kommunikation verstanden werden. Es lassen sich leicht weiterführende Versuche entwickeln. Auch Freilandtests sind möglich: Man kann unbefruchtete Nachtfalterweibchen aus Zuchten in Käfigen mit einer Reuse ins Freiland ausbringen und so Männchen ködern. Bei tagaktiven Nachtfalterarten (z.B. *Agria tau*, *Saturnia pavonia*, *Lymantria dispar*) kann man dabei die Orientierung der anfliegenden Männchen beobachten. – Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß für Schulversuche zur chemischen Kommunikation auch die Spurpheromone der Ameisen ein interessantes System darstellen (vgl. [5]).

Weiterführende Literaturangaben

[1] Butenandt, A., R. Beckmann und E. Hecker: Über den Sexuallockstoff des

Tabelle 1. Zusammenstellung von Grundversuchen zur chemischen Kommunikation bei *Bombyx*.

Test	Reizquelle	Behandlung der Testmännchen	beobachtbares Verhalten der Testmännchen	Schlußfolgerungen
1	lockendes Weibchen in durchsichtigem, aber luftdicht schließendem Gefäß	keine	keine Reaktion	Sexualverhalten wird nicht durch optische Reize ausgelöst
2	lockendes Weibchen in undurchsichtigem, aber durchlöcher-tem Gefäß		Sexualverhalten wird durch chemische Reize ausgelöst	
3	Filterpapier, mit dem „sacculi laterales“ abgewischt wurden		Flügelschwirren, Lauf gegen den Wind, Kopulationsversuche	chemische Reize gehen von „sacculi laterales“ aus
4	abpräparierte „sacculi laterales“			
5	wie bei 3 oder 4	beide Fühler amputiert	keine Reaktion	Fühler dienen der Erkennung der chemischen Signale
6		ein Fühler amputiert	ähnlich wie mit zwei Fühlern, aber unregelmäßiger Lauf	Fühler dienen der Orientierung zur Reizquelle

Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. Z. Naturforsch. **14b**, 283–284, 1959.

[2] Kaissling, K. E., und E. Priesner: Die Riechschwelle des Seidenspinners. Naturwiss. **57**, 23–28, 1970.

[3] Kramer, E.: Orientation of the male silmoth to the sex attractant bombykol.

In: Olfaction and Taste V, Academic Press, NY, San Francisco, London, 1975.

[4] Priesner, E.: Artspezifität und Funktion einiger Insektenpheromone. Fortschr. Zool. **22**, 49–135, 1973.

[5] Hangartner, W.: Spezifität und Inaktivierung des Spurpheromons von *Lasius fuliginosus* Latr. und Orientierung der Ar-

beiterinnen im Duftfeld. Z. vergl. Physiol. 57, 103–136, 1967.

[6] Schneider, D., B. C. Block, J. Boeckh und E. Priesner: Die Reaktion der männlichen Seidenspinner auf Bombykol und seine Isomeren: Elektroantennogramm und Verhalten. Z. vergl. Physiol. 54, 192–209, 1967.

[7] Schneider, D.: Olfactory Receptors for the sexual attractant (bombykol) of the silk moth. In: The Neuroscience, Second Study Programme. F. O. Schmitt (Hrsg.), Rockefeller University Press, New York, 1970.

[8] Schneider, D.: The sex-attractant receptor of moths. Sci. Amer. 231 (1), 28–35, 1974.

[9] Schneider, D.: Kommunikation mit chemischen Signalen. Jhb. der Max-Planck-Ges. (München), 1975, S. 19–35.

[10] Schwinck, I.: Experimentelle Untersuchungen über Geruchssinn und Strömungswahrnehmungen in der Orientierung bei Nachtschmetterlingen. Z. vergl. Physiol. 37, 19–56, 1954.

[11] Schwinck, I.: Weitere Untersuchungen zur Frage der Geruchsorientierung der Nachtschmetterlinge: Partielle Fühleramputation bei Spinnermännchen, insbesondere am Seidenspinner *Bombyx mori*. Z. vergl. Physiol. 37, 439–458, 1955.

[12] Steinbrecht, R. A.: Die Abhängigkeit der Lockwirkung des Sexualduftorgans weiblicher Seidenspinner (*Bombyx mori*) von Alter und Kopulation. Z. vergl. Physiol. 48, 341–356, 1964.

[13] Steinbrecht, R. A.: Zur Morphometrie der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L.: Zahl und Verteilung der Riechensillen (Insecta, Lepidoptera). Z. Morph. Tiere 68, 93–126, 1970.

[14] Steinbrecht, R. A.: Der Feinbau olfaktorischer Sensillen des Seidenspinners (Insecta, Lepidoptera). Z. Zellforsch. 139, 533–565, 1973.

Plasmasklette – nicht nur aus Mikrotubuli.

Die Proteinkonzentration im Cytoplasma liegt gewöhnlich zwischen 15 und 20 % des Frischgewichtes. Das Zellplasma entspricht damit einer relativ „dicken“ Proteinlösung, und tatsächlich kann es je nach Bedingungen flüssig oder gallertig-fest sein, als Sol oder Gel vorliegen. Während die mit fester Zellwand ausgestatteten Pflanzenzellen ihr Plasma gewöhnlich im Sol-Zustand halten und häufig Plasmaströmung zeigen, können wandlose tierische Zellen ihre Form nur durch ein Plasma-Gel stabilisieren. Aus der Kolloidchemie ist bekannt, daß globuläre Teilchen die Viskosität einer Lösung auch in relativ hoher Konzentration nicht über gewisse Grenzwerte zu erhöhen vermögen. Bei fädigen Teilchen genügen dagegen schon erstaunlich geringe Konzentrationen, um Gallerten entstehen zu lassen. Beispiele dafür sind einerseits das Blutplasma, das bei einem Protein-Gesamtgehalt von 7 % (Gew.) flüssig ist, während Gelatine, Agar oder Pektin schon bei Konzentrationen unter 2 % gallertig erstarren. Hermann Staudinger, der Begründer der makromolekularen Chemie, sprach treffend von *Sphärokolloiden* und *Linearkolloiden*, um diese beiden unterschiedlichen Gruppen zu charakterisieren, und er zeigte an vielen Beispielen, daß nicht die chemische Zusammensetzung, sondern allein die Teilchenform die Eigenschaften der „Lösung“ diktiert. Diese allgemeinen Zusammenhänge gelten natürlich auch in der lebenden Zelle. Tatsächlich ist seit langem bekannt, daß im Plasma-Gel vieler Zellen fädige Strukturen (Filamente) auftreten, die für Verfestigung sorgen. Häufig sind es *Mikrotubuli*, die diese Rolle eines Plasmaskellets übernehmen. Sie sind unseren Lesern gut bekannt durch den Übersichtsartikel von F. Wunderlich im 1. Heft des letzten Jahrganges von *biuz*. Gewöhnlich treten Mikrotubuli dort gehäuft auf, wo wandlose Zellen von der Kugelgestalt abweichen – seien es nun Blutplättchen, rote Blutkörperchen, Dendriten von Nervenzellen, sich streckende junge Muskelzellen, Euglenen oder Pantoffeltierchen. Aber es gibt noch andere Möglichkeiten der Verfestigung. Zum Beispiel enthalten die Mikrozoiten (Mikrovilli), die der Oberflächenvergrößerung vieler Zellen (zumal in Epithelien) dienen, keine Mikrotubuli. Diese Zellauswüchse sind vielmehr durch dichte Bündel von *Aktin-Filamenten* ausgesteift.

Aktin-Filamente stehen normalerweise allerdings nicht im Dienste der Verfestigung,

sondern der Bewegung. Sie werden deshalb oft als „Kontraktile Mikrofilamente“ bezeichnet. Auch über sie sind *biuz*-Leser bereits informiert (2/5, 1972, S. 161–163).

In jüngster Zeit ist nun eine dritte Cytoskelett-Sorte näher charakterisiert worden. Wie in solchen Fällen oft, so waren auch die hier gemeinten Filamentstrukturen eigentlich schon lange bekannt – nur daß man eben ihre Bedeutung unterschätzt hatte, weil man zu wenig von ihnen wußte. Beispielsweise hängen benachbarte Epithel- und Endothelzellen über besondere „Zellhaften“ fest aneinander, deren bekannteste die sog. Desmosomen sind. Im Bereich eines Desmosoms ist die dünne Lage von Interzellularsubstanz auffällig verdichtet, die Membranen sind verändert und von ihnen gehen Büschel von Filamenten aus, die ein Stück weit in das Grundplasma der Zellen hineinreichen. Man bezeichnet sie als *Tonofilamente*, was eine bestimmte Vorstellung über ihre Funktion ausdrückt (griech. *tónos* = Spannung). Die aus der Lichtmikroskopie wohlbekanntesten, doppelbrechenden Tonofibrillen von Muskel-, Glia- und Epithelzellen sind nichts anderes als dichte Bündel solcher Tonofilamente. Aus Nervenzellen ist eine besondere Spielart dieses Filamenttyps unter dem Begriff „Neurofilamente“ beschrieben worden. In den letzten Jahren hat nun die Anwendung der *Immunfluoreszenz* gezeigt, daß es sich keineswegs nur um Besonderheiten einiger weniger Zelltypen handelt. Bei dieser Methode wird ein Protein, dessen Lokalisation in einem Gewebe man gerne kennen möchte, zunächst in reiner Form isoliert und einem artfremden Säuger als Antigen eingespritzt. Das injizierte Tier bildet nun Antikörper gegen das antigene Protein. Behandelt man jetzt mit dem Serum dieses Tieres die zu untersuchenden Zellen und Gewebe, dann kommt es überall dort, wo das fragliche Protein sitzt, zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion und damit zur Bindung der spezifischen Antikörper. Diese sind als solche natürlich unsichtbar. Man macht sie sichtbar, indem man fluoreszierende Anti-Antikörper (die man kaufen kann) zugibt und damit indirekt das ursprüngliche Antigen markiert: Alle jene Orte, an denen die erste Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat, leuchten im Fluoreszenzmikroskop hell auf. Diese Methode ist äußerst empfindlich und gestattet auch die Lokalisierung solcher Proteinstrukturen, die im Lichtmikroskop unsichtbar bleiben. Beweis: Schlagen Sie bitte S. 22 in Heft 1 des letzten Jahrganges auf!

Michael Boppré

Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, D-8131 Seewiesen/Obb.