Entomologie heute 18 (2006): 65-84

Grillenflügel mit Drüsenorganen

Cricket Forewings with Epidermal Glands

MARTIN DAMBACH, ANTJE DOMBROWSKI & IRMGARD LATZ-HOCHGÜRTEL

Zusammenfassung: Neben den vielen bekannten Abwandlungen und Spezialisierungen können Insektenflügel auch Träger von exokrinen Drüsen sein. Bei den beiden untersuchten Grillenarten, *Nemobius sylvestris* (Saltatoria: Gryllidae, Nemobiinae) und *Phaeophilacris spectrum* (Saltatoria: Gryllidae, Phalangopsinae), werden die Vorderflügel (Elytra) der Männchen bei der Balz zum Stridulieren (*N. sylvestris*) beziehungsweise zur Erzeugung spezieller Flügelschlagbewegungen (*Ph. spectrum*) eingesetzt und tragen außerdem Drüsen, deren Sekrete in der jeweils typischen Paarungsstellung vor, während oder nach der Anheftung einer Spermatophore dem Weibchen zum Lecken oder Fressen angeboten werden. Bei *N. sylvestris* befindet sich das Drüsenorgan in einem dreieckigen Haarfeld auf der Dorsalseite des rechten, stets oben liegenden Flügels. Zwischen den Haaren liegen die cuticulären Austrittsöffnungen der epidermalen Drüsenzellen. Der Verlauf der Sekretansammlung auf dem Flügel lässt sich mit Hilfe der Autofluoreszenz einzelner Bestandteile verfolgen. Mit Hilfe der Gaschromatographie-Massenspektrometrie-Analyse wurden im Sekret als Hauptbestandteile Monosaccharide und Carbonsäuren nachgewiesen. Vor und nach der Kopulation (Übertragung einer Spermatophore) leckt und frisst das auf dem Rücken des Männchens sitzende Weibchen von dem Haarfeldsekret. Bei *Ph. spectrum* tragen beide Flügel des Männchens am ventralen Rand einen schmalen Haarsaum, zwischen dessen Haaren aus cuticulären Poren ein Sekret austritt und sich im Haarsaum ansammelt. Bei der Kopulation stellt das Männchen beide Flügel über den Kopf schräg nach vorn und das aufsitzende Weibchen leckt von dem Sekret der Flügelunterseite. Soweit bekannt, enthält das Sekret ebenfalls Zucker sowie aromatische Carbonsäuren. In beiden Fällen erfüllt das Sekret die Funktion einer Hochzeitsgabe (‚nuptial feeding'), durch die eine vorzeitige Entfernung der Spermatophore durch das Weibchen verhindert wird.

Schlüsselwörter: *Nemobius sylvestris*, *Phaeophilacris spectrum*, Paarungsverhalten, Hautdrüsen

Summary: Besides their known various specializations, insect wings may also carry exocrine glands. In the two cricket species studied, *Nemobius sylvestris* (Saltatoria: Gryllidae, Nemobiinae), and *Phaeophilacris spectrum* (Saltatoria: Gryllidae, Phalangopsinae), the male´s forewings are used in courtship behaviour either for stridulation (*N. sylvestris*) or soundless wing flicking (*Ph. spectrum*). Furthermore, in both species the wings carry glandular structures the viscous secretions of which are offered to their females during mating. In *N. sylvestris* the glands are located within a small triangular field of dense hairs on the dorsal side of the right forewing. Pores from glandular cell ducts, single or in groups, are present between the hairs. The dispersion and accumulation of the excreted material can be demonstrated by the auto-fluorescense of some of its components. The main components as determined by GC/MS-analysis proved to be a variety of monosaccharides and carboxylic acids. Before and after copulation (i.e. spermatophore transfer), the female, while sitting on the back of the male, 'feeds' from the secreted substance on the male's forewing. In *Ph. spectrum* males, both wings have a narrow border of dense hairs on their ventral side where a viscous secretion from the cutical pores accumulates between the hairs. In the mating position, the male folds both wings forward over its head so that the female has access to the secretion from which it licks. As far as is known, the secretion in this case also contains sugars (monosaccharides) and aromatic carboxylic acids. From the behavioural context it can be

concluded that in both cases the presentation of secretions is a kind of nuptial feeding which prevents the female from removing the attached spermatophore.

Keywords: *Nemobius sylvestris, Phaeophilacris spectrum*, courtship behaviour, epidermal glands

1. Einleitung

Obgleich über den Ursprung und die Vorstufen der Insektenflügel noch kontroverse Ansichten herrschen, ist unstrittig, dass sie in verschiedenen Taxa eine erstaunliche Perfektion in Form und Funktion erlangten (WOOTTON 1992). Darüber hinaus entstanden bei den Flügeln der Pterygota eine Fülle von Abwandlungen und Spezialisierungen für zusätzliche oder völlig andersartige Funktionen als dem bloßen Fliegen. Die Vielfalt der Farben und Muster etwa der Schmetterlingsflügel ist auf visuelle Präsentation angelegt, sowohl zum Auffallen und Signalisieren (semantisch) wie auch zum Verbergen (kryptisch). In anderen Fällen macht eine Verdickung der Cuticula aus den Vorderflügeln harte Schutzpanzer (Elytra, Tegmina) für die verletzlichen Hinterflügel und das Abdomen, wie bei den Coleoptera, Dermaptera, einigen Saltatoria und Blattodea. Bei den Männchen der Laubheuschrecken und Grillen (Tettigoniidae und Gryllidae) sind die Vorderflügel zu Schallapparaten umgebildet, mit deren Hilfe artspezifische Gesänge produziert werden, wofür besondere Stridulationseinrichtungen (Schrillleiste, Schrillkante) sowie schallabstrahlende Strukturen (Spiegelzelle, Harfe) zum Einsatz kommen. Eine recht ungewöhnliche Art von Flügelfunktion liegt bei der nordamerikanischen Beifußgrille *Cyphoderris strepitans* (Saltatoria: Haglidae) vor: Bei der Kopulation bietet das Männchen seine fleischigen Hinterflügel dem Weibchen zum Fraße an (EGGERT & SAKALUK 1994).

Es überrascht daher nicht, wenn bei einigen Vertretern der Gryllidae die Vorderflügel auch als Träger von Drüsenorganen fungieren, deren Sekret dem weiblichen Paarungspartner angeboten und von diesem beleckt oder gar verzehrt wird. Möglicherweise spielen dabei auch flüchtige Bestandteile des Sekretes eine Rolle, die an die Luft abgegeben und vom Paarungspartner olfaktorisch mit den Antennen wahrgenommen werden. Zwei solcher Beispiele wurden hinsichtlich des Verhaltens, der Struktur der Drüsenorgane sowie der chemischen Zusammensetzung der Sekrete näher untersucht. Es handelt sich einmal um unsere heimische Waldgrille *Nemobius sylvestris* (BOSC, 1792) (Saltatoria: Gryllidae, Nemobiinae) sowie um eine afrikanische Höhlengrille, *Phaeophilacris spectrum* (Saussure, 1878) (Saltatoria: Gryllidae, Phalangopsinae). Bei beiden Arten besitzen die Männchen auf der Oberbeziehungsweise der Unterseite ihrer Vorderflügel (Hinterflügel fehlen) spezialisierte Strukturen mit Hautdrüsen, deren Sekret in speziellen Haarfeldern festgehalten wird. In bestimmten Phasen des Paarungsverhaltens lecken oder fressen die auf dem Männchen aufsitzenden Weibchen von dem Sekret; bei *N. sylvestris* an der Oberseite des angelegten rechten Flügels, bei *Ph. spectrum* an der Unterseite der beiden hochgeklappten Flügel.

Während für die Drüsenstrukturen von *Ph. spectrum* und deren Verhaltensrelevanz bisher keine Untersuchungen vorlagen, wurde das komplexe Paarungsverhalten der Waldgrille bereits 1921 von GERHARDT ausführlich beobachtet. Er beschreibt zunächst das Vorkommen zweier unterschiedlicher Spermatophorentypen und stellt dann fest: Das nach der eigentlichen Spermatophorenübertragung nochmals aufsitzende Weibchen „…leckt und nagt eifrig an den Elytren des Männchens herum." (GERHARDT 1921: 299). ZACHER (1925) wiederholt diese Beobachtungen. Später vermutet RICHARDS (1953) auf dem rechten oberen Flügel eine sekretabsondernde Struktur und GABBUTT (1954) stellt darüber konkrete Vermutungen an: „…it is suggested that these hairs either secrete a substance

or hold a substance secreted by a more remote gland“ (Gabbutt 1954: 85). Gemeint sind die mikroskopisch feinen Haare in einem ungefähr dreieckigen Bereich des Flügels, der im Folgenden als „Haarfeld“ bezeichnet wird.

2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere

N. sylvestris lebt in lichten Laubwäldern und an sonnenexponierten Waldrändern in teilweise hoher Populationsdichte. Die Tiere für die Experimente und den Zuchtansatz wurden als Larven und Imagines im Ahrtal und in der Wahner Heide bei Köln gesammelt und in gemischtgeschlechtlichen Gruppen von 40-60 Tieren bei einer Temperatur von 18-27 °C in Kunststoffbehältern mit einem Bodenbelag aus feuchtem Torf und Laub gehalten. Als zusätzliche Unterschlupfe dienten Eierkartons und Pappröhren. Zur Eiablage standen zusätzlich Schalen mit ständig feucht gehaltenem Torf im Behälter. Dreimal wöchentlich wurde mit Kopfsalat und trockenem Hundefutter gefüttert und jeweils eine Hälfte des Behälters mit einer Sprühflasche befeuchtet. Durch zusätzliches Aufwärmen mit einer Schreibtischlampe ließ sich die allgemeine Aktivität der Tiere im Zuchtbehälter und in den Beobachtungsgefäßen steigern. Wenn für die Untersuchungen das genaue Alter der Tiere bekannt sein musste, wurden vorletzte Larven (Nymphen), erkennbar an der Ausbildung der Flügelanlagen, in kleineren Gefäßen isoliert und ihre Imaginalhäutung abgewartet. Die Altersangabe für die adulten Tiere bezieht sich dann auf „Tage nach der Imaginalhäutung“.
Unsere Zucht von *Ph. spectrum* geht auf ein 1968 von Liz Berger in Kenia (Kabete-Region) gefangenes gravides Weibchen zurück. Die Vertreter dieser Art leben dort, soweit bekannt, unter Laub, unter überhängenden Grasnarben und in Termitenbauten. Die Haltung und Zucht erfolgte in Gruppen bis zu etwa 30 Individuen bei 28 °C in hohen Kunststoffbehältern mit Zweigen zum Klettern und einer Bodenbedeckung aus Sand und Torf. Ablegebereite Weibchen kamen in besondere Behälter mit Legeschalen mit feuchtem Torf. Gefüttert wurde mit Salat und einem trockenen Hundefutter.

2.2. Rasterelektronenmikroskopie

Es wurden sowohl die Außenseiten (Ober- und Unterseite) der Flügel als auch die Innenseiten der beiden den Flügel aufbauenden dünnen Cuticulae untersucht. Für Letztere mussten an allseitig beschnittenen Flügelstückchen die beiden Lamellen mit Hilfe von Minutiennadeln getrennt werden. Die interessierenden Schichten (bei *N. sylvestris* die obere, bei *Ph. spectrum* die untere) wurden mit 90%igem Ethanol gespült, in 1,5-3 M KOH mazeriert, um alle Sekret- und Geweberückstände zu entfernen, und in einer Ethanol-Diethylether-Reihe entwässert, im Exsikkator getrocknet, mit Gold besputtert und die jeweilige gewebeseitige Oberfläche im Rasterelektronenmikroskop (Hitachi S-520) untersucht.

2.3. Fluoreszenzmikroskopie

Für die Untersuchung der Autofluoreszenz des Haarfeldsekretes von *N. sylvestris* wurden die rechten Flügel von 1-20 Tage alten Männchen amputiert, beschnitten und auf einem Objektträger mit dem Fluoreszenzmikroskop (Wild Leitz Orthoplan) mit Fluoreszenz-Auflichtilluminator (Wild Leitz Ploemopak 2,1), Anregungsbereich 340-380 nm, untersucht und fotografiert.

2.4. Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS-Analysen)

Die Untersuchungen wurden im Labor von Herrn Prof. Dr. W. Boland am Institut für Organische Chemie der Universität Karlsruhe durchgeführt. Die Kopplung der Gaschromatographie mit der Massenspektrometrie

erlaubt die Trennung, Detektion und Analyse von kleinen Substanzgemischen. Sowohl für *N. sylvestris* als auch für *Ph. spectrum* wurden jeweils drei Proben analysiert: das von dem entsprechenden Haarfeld abpräparierte Sekret, Ausschnitte von Flügeln mit dem jeweiligen sekreterfüllten Haarfeld und Ausschnitte von einem sekretfreien Flügelteil. Jede Probe enthielt das gleichzeitig von vier bis fünf Männchen entnommene Material. Für die Analysen wurden die Proben zunächst einer Derivatisierungsreaktion (Silylierung) mit BSTFA (N,O-bis(Trimethylsilyl) trifluoracetamid) der Firma Fluka Chemie ausgesetzt. Der Derivatisierungsreaktion schloss sich die GC-MS-Analyse an. Die Anlage bestand aus einem Gaschromatographen GC 6000 Vega Series 2 der Firma Carlo Erba Instruments, der über eine Einlassleitung mit einem Massenspektrometer ITD 800 der Firma Finnigan MAT verbunden war. Als Trennsäule wurde eine unpolare GC-Kapillarsäule SE-30 mit einer Länge von 10 m und einem Innendurchmesser von 0,32 mm (FS-SE-30-CB-0,25) der Firma Macherey-Nagel verwendet. Folgende Temperatureinstellungen wurden vorgenommen: Temperatur des Einspritzblockes 250 °C; Temperaturprogramm der Trennsäule: T1 (Anfangstemperatur) 100 °C, 2 min isotherm; R (Anstiegsrate der Temperatur) 15 °C/min; T2 (Endtemperatur) 280 °C, 10 min isotherm; Temperatur der Einlassleitung 280 °C.

3. Ergebnisse

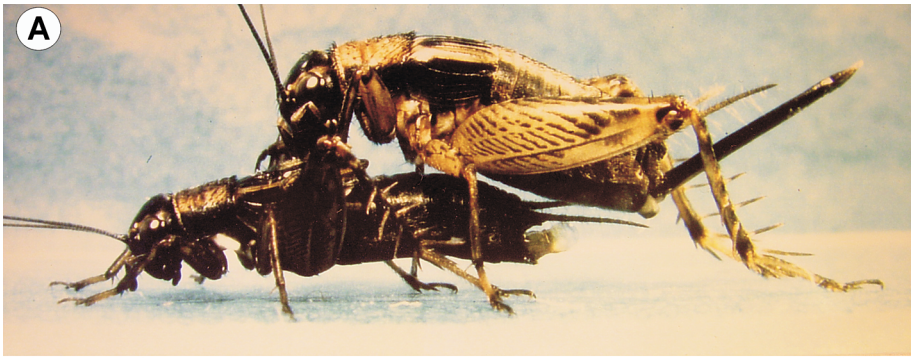
3.1. Die Waldgrille *Nemobius sylvestris*

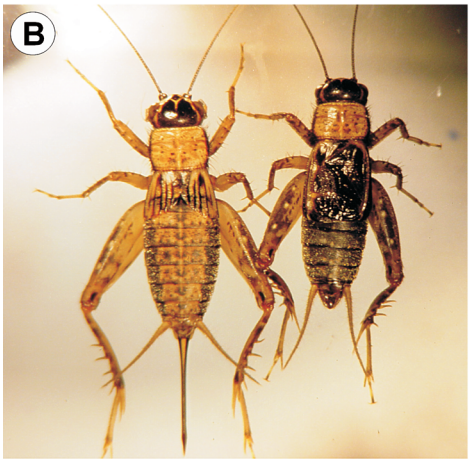
3.1.1. Das Paarungsverhalten

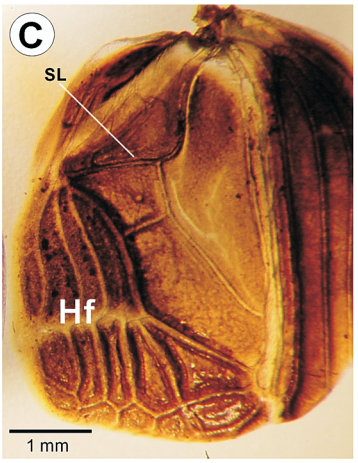
Im Verhalten der Waldgrille wird, wie bei anderen Grillen, eine Vielzahl verschiedener

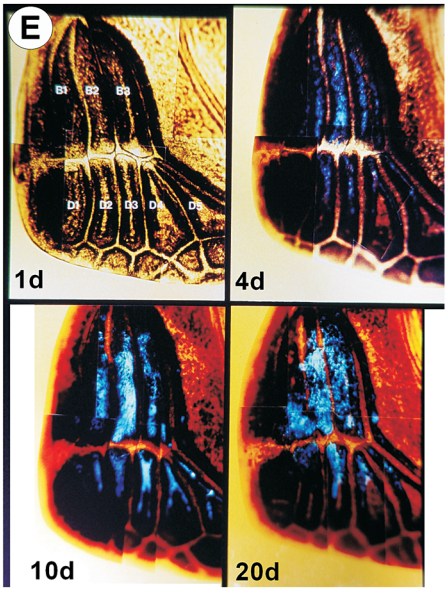
Abb. 1: *Nemobius sylvestris*: adulte Tiere und Details der rechten Elytre des Männchens. **A:** Männchen und Weibchen in Balzposition. Das Weibchen (rechts oben) leckt an der Oberfläche der Elytre des Männchens. Männchen mit großer Spermatophore, die später an die Genitalöffnung des Weibchens angeheftet wird. **B:** Weibchen (links) und Männchen. Körperlänge 7-10 mm. Sexualdimorphismus der Elytren. Hinterflügel fehlen. **C:** Rechte Elytre eines Männchens einen Tag nach der Imaginalhäutung. Bogenförmig verlaufende Postcubitalader (SL), auf der Ventralseite des Flügels als Schrillleiste mit Zähnchen ausgebildet. Dreieckiges Haarfeld (Hf), das sich aus dicken Adern, aus Basalzellen, Distalzellen und einem quer verlaufenden Steg zusammensetzt (siehe Abb. 1E). Der rechte Rand des Flügels (Lateralfeld) ist im Präparat hochgeklappt. **D:** Dorsalansicht der Flügelregion eines Männchens mit Pronotum (anterior), rechter (oben liegender) Elytre und Abdominaltergiten. Das Haarfeld auf der Elytre ist in seinem vorderen Bereich mit auskristallisiertem Sekret bedeckt. **E:** Haarfelder von vier Männchen unterschiedlichen Alters (1, 4, 10, 20 Tage nach der Imaginalhäutung). Darstellung der zunehmenden Sekretablagerung durch Autofluoreszenz von Sekretbestandteilen. Am ersten Tag sind die Basalzellen (B1-B3) und die Distalzellen (D1-D5) des Haarfeldes noch ohne Sekret.

Fig. 1: *Nemobius sylvestris*: adults and details of the right forewing of the male. **A:** Male and female in mating position. The female on top is licking the surface of the male´s right forewing. Male with extruded spermatophore which later on will be attached to the female´s genitalia. **B:** Female (left) and male. Body length 7-10 mm. Sexual dimorphism in the forewings (elytra). Hindwings absent. **C:** Right forewing (dorsal view) of a male one day after imaginal molting. Curved vein (cubitus posterior) (SL) with stridulatory file on the ventral side. Triangular hair field (Hf) consisting of thick veins, basal cells, distal cells, and a cross vein (compare Fig. 1E). Lateral field of the wing folded upwards. **D:** Dorsal region of a male with pronotum (anterior), forewing and terga of the abdomen (posterior). The frontal part of the hair field is covered with secretions already crystallized. **E**: Hair fields from four males of different ages (1, 4, 10, 20 days after imaginal moult). Demonstration of the increasing deposition of secretions by means of autofluorescence. At the first day the basal cells (B1-B3) and the distal cells (D1-D5) are still empty.


A


B


C
SL
Hf
1 mm


E
1d
4d
10d
20d

D

kommunikativer Reize eingesetzt, sowohl bei der Anlockung als auch bei der Motivation des Partners. Zunächst führt der anhaltende Lockgesang eines Männchens zur Annäherung paarungsbereiter Weibchen. Nach gegenseitigem Betasten, das zum Erkennen der Geschlechter führt, bei dem die Wahrnehmung nicht flüchtiger und flüchtiger chemischer Substanzen (Kontaktpheromone) eine Rolle spielen dürfte, beginnt das eigentliche Paarungsverhalten. Dieses lässt sich in drei gut unterscheidbare Abschnitte gliedern, nämlich in Balz, Kopulation (mit Spermatophorenübertragung) und Nachbalz. Die Balz beginnt mit der Annäherung und dem gegenseitigen Erkennen. Das Männchen wechselt nun zum Werbegesang über und es kommt zu einem wechselseitigen Antennentasten mit dem Austausch taktiler und der Aufnahme olfaktorischer Reize. Bereits in diesem Stadium presst das Männchen entweder eine große oder eine kleine Spermatophore aus und nach weiterem Betasten kommt es zu einer präkopulatorischen Besteigung des Männchens durch das Weibchen, wobei dieses sich so positioniert, dass seine Mundwerkzeuge über dem Flügel des Männchens zu liegen kommen (Abb. 1A). Bereits in dieser Phase interessiert sich das Weibchen für die Flügeloberfläche, die es eifrig mit den Maxillarpalpen betastet, bis es zu sichtbaren Leck- und Fressbewegungen im mittleren und hinteren Flügelbereich kommt. Zur Kopulation nimmt das Männchen einen plötzlichen Stellungswechsel vor, indem es sich weiter unterschiebt, so dass sein Genitalapparat genau unter dem des Weibchens zu liegen kommt. Dabei verliert das Weibchen den Flügelkontakt mit den Mundwerkzeugen. Diese Kopulationsstellung dauert im Mittel nur 1-1,5 s, während der das Männchen seine Spermatophore an die Genitalöffnung des Weibchens anheftet, wo sie im weiteren Verlauf der Nachbalz hängen bleibt und es zur Entleerung ihres Inhaltes kommt. Die Nachbalz dauert ungefähr 15 min, wobei das Männchen ständig dem Weibchen folgt und mit diesem Antennenkontakt hält. In dieser Phase kann es zu einem erneuten Besteigen des Männchens durch das Weibchen kommen sowie zu einem noch intensiveren Lecken und Fressen an dem Flügelsekret.

3.1.2. Flügelstrukturen

Beide Geschlechter sind micropter (Vorderflügel erreichen höchstens die Abdomenmitte), Hinterflügel fehlen (Abb. 1B). Die Flügel des Weibchens erreichen höchstens ein Drittel der Abdomenlänge. Sie sind am Hinterrand schräg abgestutzt und ihre medianen Ränder berühren sich nur knapp. Die Flügel des Männchens erreichen die Abdomenmitte und überlappen sich in Ruhelage in der grillentypischen Weise so, dass der rechte den linken nahezu völlig überdeckt. Die beiden Flügel des Männchens sind in ihren Umrissen nahezu spiegelsymmetrisch, unterscheiden sich aber in einigen Details: der rechte ist dicker, stärker pigmentiert und trägt auf seiner Oberfläche medianwärts ein dreieckiges Haarfeld (Abb. 1C). Der Besatz mit cuticulären Haaren ist ausschließlich auf den rechten Flügel beschränkt. Im vorderen Drittel tragen beide Flügel auf der Unterseite eine bogenförmige, mit Zähnchen besetzte Ader (= Schrillleiste, Abkömmling des Postcubitus), wobei die Zahl der Zähnchen rechts 70 und links nur 35 beträgt. Bei der Stridulation werden beide Flügel schräg angehoben und rhythmisch gegeneinander bewegt. Durch die vorgegebene Flügellage kommt jedoch stets nur die rechte Schrillleiste zum Einsatz und streicht über die Schrillkante des linken Flügels. Der so erzeugte Gesang ist ein angenehm schnurrendes „rürr rü rürr“ das über mehrere Sekunden anhält.

Frisch gehäutete Männchen zeigen eine noch völlig saubere Flügeloberfläche. An älteren Tieren fällt jedoch ein krustenförmiger, nur schwer ablösbarer Belag auf. Bei flüchtiger Betrachtung könnte dieser für eine Verschmutzung gehalten werden, tatsächlich handelt es sich jedoch um das aus dem Innern

des Flügels stammende Sekret, das an der Oberfläche von feinen Haaren des dreieckigen Flügelfeldes festgehalten wird und dort eintrocknet (Abb. 1D).

3.1.3. Verlauf der Sekretablagerung und Nachweis durch Autofluoreszenz

Um etwas über den zeitlichen Verlauf der Sekretablagerung zu erfahren, vor allem über die Anfangsphase, bevor es zu einer Eintrocknung und Auskristallisation einzelner Bestandteile kommt, bietet sich die Fluoreszenzmikroskopie als halbquantitative Nachweismethode an. Sie erlaubt es, Substanzen mit der Fähigkeit zur Autofluoreszenz, zum Beispiel in Sekreten oder in histologischen Präparaten, in ihrer Konzentration und Verteilung sichtbar zu machen. Abbildung 1E zeigt fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen identischer Flügelbereiche von vier Männchen unterschiedlichen Alters (1, 4, 10 und 20 Tage nach der Imaginalhäutung). Es ist eine zunehmende Blaufärbung in den kleinen Basal- und Distalzellen des dreieckigen Flügelbereiches zu erkennen. Dabei handelt es sich um die Fluoreszenz der viskosen Bestandteile des Sekretes (UV-Anregungsbereich 340-380 nm). Am einen Tag alten Flügel ist weder in den Basalzellen (B1-B3) noch in den Distalzellen (D1-D5) eines Haarfeldes eine Fluoreszenz feststellbar. Erst nach 2-3 Tagen sieht man bei stärkerer Vergrößerung erste punktförmige, blau fluoreszierende Stellen. Eine deutliche und danach weitere kontinuierliche Zunahme der Autofluoreszenz ist ab dem 4. Tag feststellbar. Sie zeigt, dass die Sekretablagerung vorzugsweise in den basalen und später auch in den distalen Zellen des dreieckigen Haarfeldes erfolgt, also in den kleinen, wannenförmigen Vertiefungen, die von den längs verlaufenden, erhabenen Adern gebildet werden. Die maximale Ausdehnung der blauen Flächen wird nach etwa 10 Tagen erreicht. Interessanterweise erlangen die Männchen und Weibchen von *N. sylvestris* auch um diese Zeit (7-10 Tage nach der Imaginalhäutung) das Stadium der Paarungsbereitschaft.

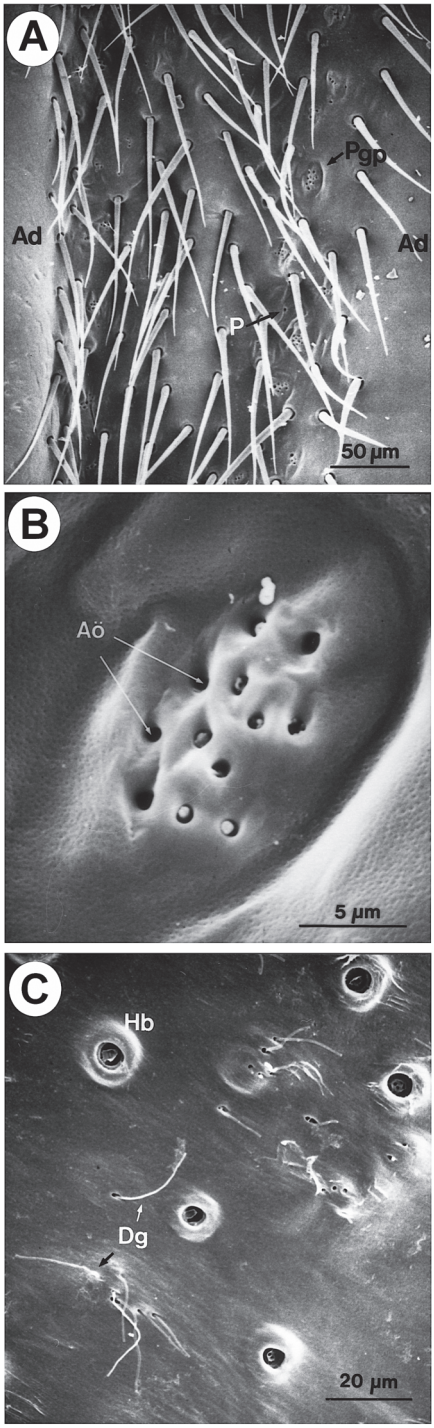
Parallel mit der Akkumulation des Sekretes ändert sich auch seine Konsistenz und Farbe. Ab dem 5. Tag ist unter dem Binokular eine leicht viskose, gelblich-braune Substanz zu erkennen. Die Viskosität nimmt im Laufe der nächsten Tage zu; das Sekret klebt fadenziehend an der Minutiennadel und erscheint milchig trüb. Im Endstadium schließlich entsteht durch Erhärtung und Auskristallisation ein einheitlicher, alles überdeckender krustenförmiger Belag (Abb. 1D).

Was den Nachweis des Sekretes mittels Autofluoreszenz anbetrifft, muss betont werden, dass diese Methode keine weitergehenden Schlüsse über die chemische Natur der Bestandteile zulässt. Eine Autofluoreszenz zeigen ganz verschiedene Substanzgruppen (aromatische Kohlenwasserstoffe und einige heterozyklische Verbindungen). Zur genauen Identifizierung sind daher andere Methoden, wie zum Beispiel die Gaschromatographie und Massenspektrometrie, heranzuziehen. Die Methode der Autofluoreszenz eignet sich im vorliegenden Fall jedoch gut zur Lokalisation der sekretorischen Bereiche unter der Annahme, dass die fluoreszierenden Substanzen zumindest begleitende Bestandteile des eigentlichen, verhaltensrelevanten Sekretes sind.

3.1.4. Feinstruktur der Drüsenöffnungen

3.1.4.1. Außenansicht

Aus dem bisher Bekannten folgt, dass der Bildungsort des Sekretes in einem Drüsengewebe des Flügellumens, also in dem Raum zwischen der oberen und unteren Cuticula, zu lokalisieren ist. Nach der gängigen, jedoch nicht einzigen Vorstellung leiten sich die Insektenflügel ontogenetisch und phylogenetisch von Hautduplikaturen des Meso- und Metathorax ab, wobei die beiden jeweiligen Epidermisschichten sich sukzessive zusam-



menlagern und resorbiert werden, bis nur noch eine einheitliche Membran aus zwei cuticulären Platten verbleibt. Einzig die Hohlräume der Adern, in denen Tracheen, Nerven und die mit der Leibeshöhle in Verbindung stehenden Blutbahnen verlaufen, werden ausgespart. Eine Untersuchung der zu fordernden Drüsenausführgänge muss sich daher sowohl mit der Außenseite (Oberfläche) des Flügels wie auch mit seiner Innenseite (= gewebeseitige Ansicht der oberen Flügellamelle) befassen.

Die rasterelektronenmikroskopische Aufsicht (Abb. 2A) auf das Haarfeld zeigt zwischen den parallel verlaufenden Adern einen dichten Besatz cuticulärer Haare (Länge 70-100 µm), die in ringförmigen Sockeln artikuliert sind, sowie zwischen den Haaren porenförmige Öffnungen, bei denen es sich um die Austrittsöffnungen der im Flügellumen gelegenen Drüseneinheiten handelt. Die Öffnungen treten als Einzelporen und als Porengruppen nach Art von Siebplatten in Erscheinung. Beide Strukturen sind in mehr oder weniger regelmäßigen Längsreihen parallel zu den die Haarfeldzellen begrenzenden Adern angeordnet.

Abb. 2: *Nemobius sylvestris*: REM-Aufnahmen von der Drüsenregion auf der rechten Elytre des Männchens. **A:** Ausschnitt aus dem Haarfeld mit Flügeladern (Ad) sowie Einzelporen (P) und Porengruppen (Pgp) der Hautdrüsen. **B:** Porengruppe in grubenförmiger Vertiefung mit Austrittsöffnungen (Aö) der Drüsengänge. **C:** Gewebeseitige Aufsicht auf die Innenfläche der oberen Flügellamelle (Flügel gespalten). Haarbecher (Hb) und cuticuläre Drüsengänge (Dg).
Fig. 2: *Nemobius sylvestris*: SEM images of the glandular region on the right forewing of the male. **A:** Detail from the hair field with veins (Ad), single pores (P), and groups of pores (Pgp) from the epidermal glands. **B:** A group of pores in a cuticular pit with the openings of the pore canals (Aö). **C:** Underside view on the upper cuticular lamella (wing plate splitted into its two layers). Hair-sockets (Hb) and cuticular canals (Dg).

Die Poren einer Gruppe liegen auf einer ovalen, kuppelförmigen Aufwölbung, die von einer ringförmigen Furche umgeben ist. Die Zahl der Öffnungen schwankt zwischen zwei und 15. Die Längsausdehnung einer ovalen Porengruppe hängt von der Zahl der vorhandenen cuticulären Öffnungen ab und beträgt im Mittel 16±5 µm.

3.1.4.2. Die Ausleitungskanäle der Drüseneinheiten

Durch eine Trennung der beiden den Flügel aufbauenden Cuticulae wird eine Innenansicht der Drüsenausgänge möglich. Nach einer Mazeration der weichen Anteile des Drüsengewebes verbleiben lediglich die resistenten cuticulären Strukturen, die sich für eine rasterelektronenmikroskopische Untersuchung weiter bearbeiten lassen. Abbildung 2C zeigt eine solche gewebeseitige Aufsicht auf die obere Cuticula. Man erkennt mehrere Haarbecher, also die Sockel der Haare aus dem Haarfeldbereich von ihrer Unterseite, sowie verschiedene cuticuläre schlauchartige Gebilde, bei denen es sich um die ausführenden Kanäle der Drüsen handelt. Eine cuticuläre Herkunft dieser Strukturen kann vermutet werden, weil sie, im Gegensatz zu den Gewebeanteilen der Drüseneinheiten, der Be-

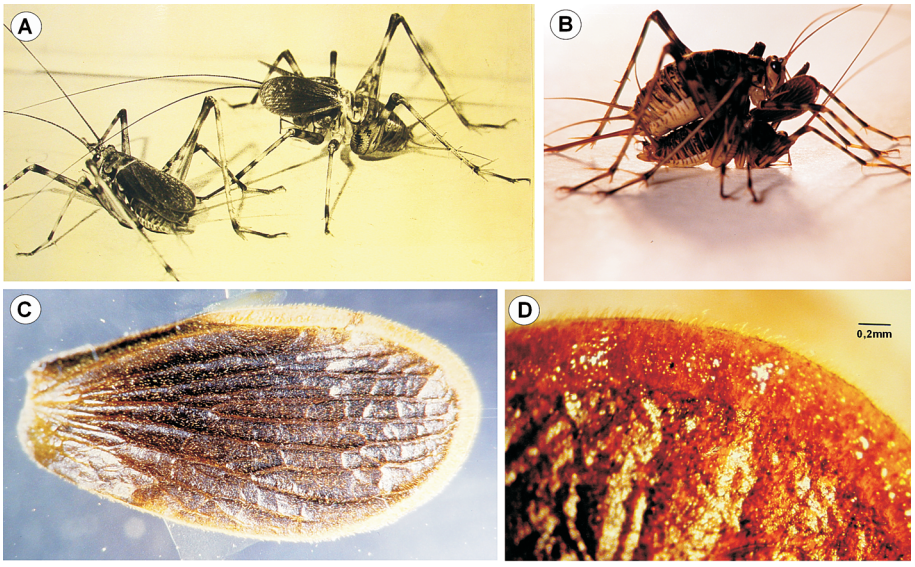


Abb. 3: *Phaeophilacris spectrum*: adulte Tiere und Elytre eines Männchens. **A:** Zwei Männchen, linkes Tier mit Flügeln in Ruheposition, rechtes Tier beim Flügelschlagen mit maximaler Auslenkung der Flügel nach vorn. **B:** Kopulationsstellung. Das aufsitzende Weibchen betastet mit den Mundwerkzeugen die Unterseite der hochgeklappten Elytren des Männchens. **C:** Linke Elytre eines einen Tag alten Männchens (Ventralseite). Länge 12 mm. Der 0,5 mm breite, weiße Haarsaum enthält noch kein Sekret. **D:** Ausschnitt von einer Elytre eines drei Tage alten Männchens mit sekretgefülltem Haarsaum. Die Haare sind bis auf die Spitzen von einer bernsteinfarbenen, glänzenden Substanz eingehüllt.
Fig. 3: *Phaeophilacris spectrum*: adults and male forewing. **A:** Two males, the right one in wing flicking action with maximal frontal bending of the wings. **B:** Copulatory posture in female-above-male position. The female examines the underside of the elevated wings of the male with her mouthparts. **C:** Left wing of a one day old male from the ventral side. Total length 12 mm. In this stage the white hair-border (0.5 mm wide) is still without secretion. **D:** Detail of the forewing of a male three days old. The hair-border is covered with secretions and the hairs are embedded up to their tips in an amber-coloured, shiny substance.

handlung mit KOH widerstehen. Die Kanäle treten durch kleine Öffnungen durch die lamellierte Endocuticula hindurch (Abb. 2C). Nach dem Vergleich mit Drüsenzellen anderer Insekten ist zu vermuten, dass die Ausleitungskanäle von einer mit der Drüsenzelle assoziierten Kanalzelle gebildet werden und aus Epicuticula bestehen (PETERS 2003). Entsprechend den auf der Außenseite als Gruppen oder als Einzelporen sichtbaren Öffnungen treten auch die Ausführungskanäle im selben Verhältnis einzeln oder in Gruppen auf. Es kann somit jeder Pore ein aus einer Drüsenzelle nach außen führender Ausleitungskanal zugeordnet werden.

3.2. Die afrikanische Höhlengrille *Phaeophilacris spectrum*

3.2.1. Paarungsverhalten

Die Gattung *Phaeophilacris* ist auf die äthiopische Region des afrikanischen Festlandes beschränkt. Charakteristisch für die etwa 60 beschriebenen Arten ist die Anpassung an scharf abgegrenzte Kleinlebensräume wie Termitenbauten und Kleinsäugernester sowie der Übergang zu rein cavernicoler Lebensweise (KALTENBACH 1983). *Ph. spectrum* gilt als typischer Vertreter der Gattung und zeigt den charakteristischen Habitus (Abb. 3A): Antennen von mehrfacher Körperlänge, lange Beine und lange Cerci. Die nur beim Männchen vorhandenen Vorderflügel (Elytren) sind häutig, mit einfacher Aderung und ohne Stridulationseinrichtungen. Eine akustische Kommunikation im üblichen Sinne fehlt daher, jedoch spielen beim Rivalenkampf und bei der Balz ganz charakteristische Stellungen und Bewegungen der Flügel eine wichtige Rolle (DAMBACH & LICHTENSTEIN 1978; HEIDELBACH & DAMBACH 1997). Eine Abwandlung der Flügelgelenke ermöglicht es den Männchen, nach vorn – über den Kopf – einzelne Flügelschläge sowie Serien von 4-5 Schlägen in Richtung eines Partners auszuführen (Abb. 3A). Die dadurch erzeugten Luftbewegungen, zum Teil in Form von sich linear nach vorn ausbreitenden Wirbelringen, die möglicherweise mit Duftstoffen aus dem Haarsaumsekret beladen sind, dienen bei der Balz nachweislich der Ruhigstellung des Weibchens für die nachfolgende Kopulation (HEINZEL & DAMBACH 1987; HEIDELBACH & DAMBACH 1997).

Zur Einnahme der Kopulationsstellung schiebt sich das Männchen mit angehobenen Flügeln, rückwärts schreitend, unter das Weibchen, streicht zunächst mehrmals mit der Unterseite seiner Flügel über Kopf, Antennen und Thorax des Weibchens und positioniert sich dann mit schräg nach vorn gestellten Flügeln so, dass die Genitalapparate beider Tiere genau übereinander liegen (Abb. 3B). Das Männchen heftet nun den Hals der bereits vorher ausgepressten Spermatophore an der Vulva des Weibchens an. Die Ampulle der Spermatophore verbleibt jedoch während der ganzen Zeit am Männchen. Diese Kopulationsstellung kann, einzig unter Grillen, bis zu einer Stunde beibehalten werden. Während dieser Zeit hat das Weibchen mit den Mundwerkzeugen Kontakt zu der Unterseite der Flügel des Männchens und kommt so mit dem Sekret des Haarsaumes in Berührung, an dem es von Zeit zu Zeit leckt.

3.2.2. Flügel und Haarsaum

Eine Besonderheit der Flügel des Männchens stellt ein auf der Ventralseite, entlang des Flügelrandes verlaufender, 0,5 mm breiter Haarsaum dar. Er umrundet die Flügelspitze und nimmt etwa zwei Drittel des Flügelumfanges ein (Abb. 3C). Unmittelbar nach der Imaginalhäutung hat der Haarsaum das Aussehen eines weißen „Pelzkragens“, doch nach wenigen Tagen sammelt sich zwischen den Haaren eine klebrige Substanz an (Abb. 3D), deren Menge, Farbe und Konsistenz sich im Laufe der Tage verändern. Am 3. Tag erscheint die Substanz gelb und verändert sich dann bis zum 12. Tag über bernsteinfarben nach dunkelbraun. Gleichzeitig wird die Substanz

immer zähflüssiger und quillt aus dem Haarsaum, so dass schließlich nur noch die Spitzen der Haare sichtbar sind. Auch bei diesem Objekt war davon auszugehen, dass es sich bei dem Sekret um ein im Flügelgewebe gebildetes, an die Oberfläche sezerniertes und zwischen den Haaren festgehaltenes Produkt handeln muss, was auch durch histologische und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt wurde.

Ab dem 3. Tag lassen sich von dem Haarsaum Abdrücke auf einem Objektträger herstellen. Das am Glas haftende Sekret zeigt bei Beleuchtung mit kurzwelligem Licht (436 nm) eine hellgelbe Autofluoreszenz (LATZ-HOCHGÜRTEL unpubliziert). Querschnitte durch den Flügelrand zeigen, dass in der Haarsaumregion die beiden den Flügel aufbauenden Schichten stark auseinander weichen (Abb. 4). Die dünne, untere Cuticula hebt sich von der dicken oberen ab. Der Zwischenraum wird von einem lockeren Drüsengewebe ausgefüllt. Wie histologische Reihenuntersuchungen zeigen (LATZ-HOCHGÜRTEL unpubliziert), erfolgt nach dem Einsetzen und mit dem weiteren Verlauf der Sekretproduktion eine Volumenzunahme des Drüsengewebes. Der Abstand der beiden Cuticulae und damit die Dicke der Drüsenschicht erhöhen sich von 60 µm am 1. Tag auf 100 µm am 6. Tag. Beim Objekt der Abbildung 4 zeigt das Sekret auch im Semidünnschnitt, bei Beleuchtung mit kurzwelligem Licht (436 nm), eine Autofluoreszenz. Das betrifft sowohl das zwischen den Haaren festgehaltene Sekret als auch den unmittelbar darunter liegenden Bereich des Drüsengewebes. Eine gleichfalls vorhandene Fluoreszenz der Flügeloberfläche dürfte auf einer Kontamination beruhen, denn in

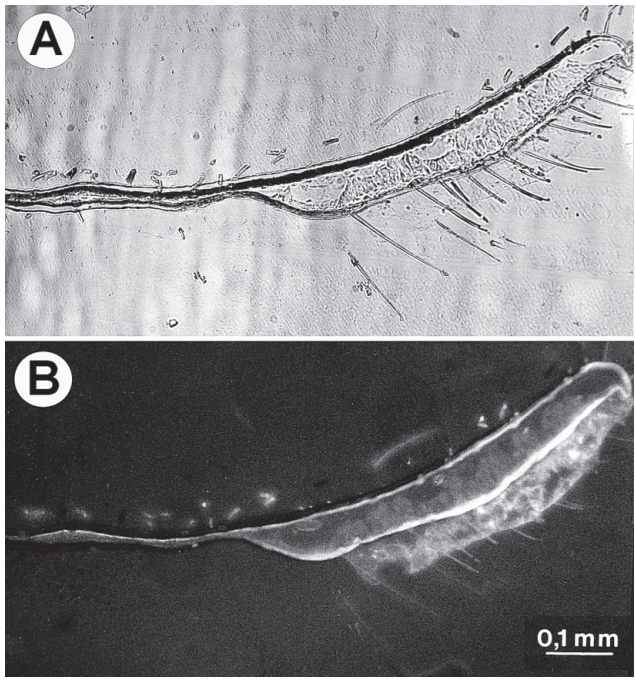


Abb. 4: *Phaeophilacris spectrum*: Querschnitt durch den Flügelrand mit Haarsaum und Sekretbelag, ungefärbter Semidünnschnitt. **A:** Lichtmikroskopische Ansicht bei normaler Beleuchtung. Zwischen der dicken, oberen und der dünnen, unteren Cuticula liegt ein lockeres Drüsengewebe. **B:** Dasselbe Präparat bei Beleuchtung mit kurzwelligem Licht (436 nm). Autofluoreszenz des zwischen den Haaren festgehaltenen Sekretes sowie der unteren Epidermis und der Flügeloberfläche (HEUSER unpubliziert).

Fig. 4: *Phaeophilacris spectrum*: cross section through the edge of a forewing with hair-border and secretion layer, unstained semi thin section. **A:** Under normal light microscopic conditions. There is a loose glandular tissue between the thick upper and the thin lower cuticular lamella. **B:** The same specimen under short wave light illumination (436 nm). The secretion between the hairs as well as the lower epidermis and the upper surface of the wing show autofluorescence (HEUSER unpublished).

Ruhe überdecken sich die beiden Flügel. Nach den einzelnen Flügelschlagserien kann es außerdem zu einem Wechsel der Flügellage kommen, so dass ständig Sekret vom Haarsaum des einen auf die Oberfläche des anderen Flügels gelangen kann.

3.2.3. Struktur der Drüsenöffnungen

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Ventralseite der Flügel zeigt einen über der ganzen Fläche vorhandenen Besatz gleichartiger Haare mit ringförmigen Sockeln und spiraliger Rillenstruktur des Schaftes. Im 0,5 mm breiten, scharf abgegrenzten Haarsaum erhöht sich jedoch die Dichte des Haarbesatzes auf das Doppelte und zwischen den Haaren liegen Porengruben (Abb. 5A). Der Durchmesser der Porengruben variiert zwischen 4 und 10 µm und die Zahl der Einzelporen beträgt 9-20, mit einem Durchmesser von 0,6±0,2 µm. Das Verhältnis von Haaren zu Porengruben beträgt 2:1.

Um eine rasterelektronenmikroskopische Betrachtung der Innenseite der unteren Flügelcuticula zu ermöglichen, wurde wiederum der Flügel gespalten und durch Mazeration das Drüsengewebe bis auf seine cuticulären Anteile entfernt. Das REM-Bild der Innenseite zeigt – neben zahlreichen Haarbechern von ihrer Unterseite – nach innen gerichtete Aufwölbungen der Porengruben mit einem Gewirr daran hängender, unterschiedlich langer Schläuche (Abb. 5B). Der Vergleich zeigt, dass im intakten Zustand jeder Porenöffnung ein solcher Schlauch, bei dem es sich um den cuticulären Ausleitungsgang einer Drüseneinheit handelt, zugeordnet werden kann. Eine stärkere Vergrößerung lässt vermuten, dass die Schläuche epicuticulärer Natur sind, da die auf der Unterseite liegenden Durchtrittsstellen der Schläuche eine ringförmige Öffnung in der Endocuticula aufweisen.

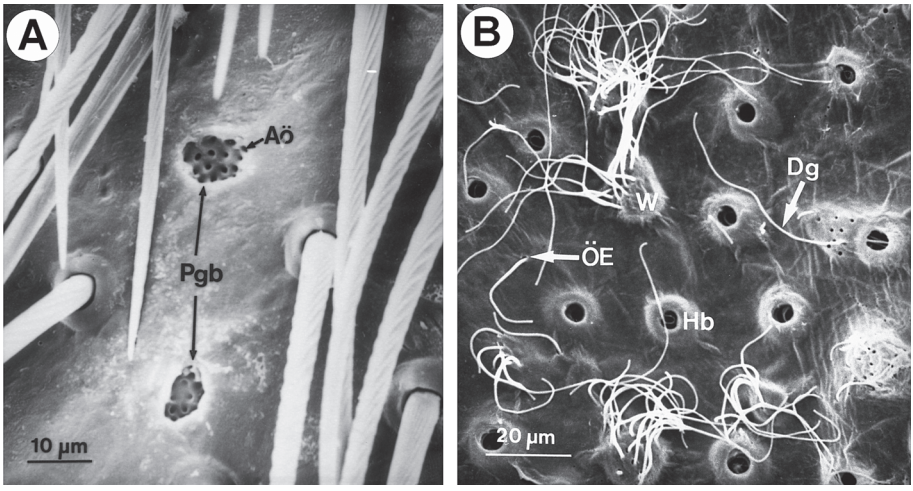


Abb. 5: *Phaeophilacris spectrum*: REM-Aufnahmen von der Drüsenregion im Haarsaum eines Flügels. **A:** Ausschnitt aus dem Haarsaum mit Haaren, Porengruben (Pgb) und den Austrittsöffnungen (Aö) der Hautdrüsen. **B:** Gewebeseitige Aufsicht auf die untere Flügellamelle (Flügel gespalten) mit Haarbechern (Hb), Einwölbungen der Porengruben (W), Drüsengängen (Dg) und deren Durchtrittsöffnungen durch die Endocuticula (ÖE).

Fig. 5: *Phaeophilacris spectrum*: SEM images of the glandular region of the forewing. **A:** Detail of the hair-border with hairs, pore pits (Pgb) with pores (Aö) of the gland units. **B:** Inside view of the lower cuticular lamella (wing splitted) showing hair sockets (Hb), underside of pore pits (W), and cuticular canals (Dg) with penetration holes in the endocuticle (ÖE).

3.2.4. Aufbau eines Drüsenorgans

Die große Übereinstimmung in der Struktur der Drüsenöffnungen und in den Ausführungsgängen zwischen *N. sylvestris* und *Ph. spectrum* lässt vermuten, dass auch die dazugehörigen Drüsen Gemeinsamkeiten in ihrem Bau aufweisen. Untersuchungen zur Feinstruktur wurden bis jetzt allerdings nur an *Ph. spectrum* durchgeführt (LATZ-HOCHGÜRTEL unpubliziert). Sie zeigen ein Bild, das sich in die bekannten Kategorien der Hautdrüsen von Insekten einfügt. Die Abbildung 6 stellt ein nach TEM-Schnitten rekonstruiertes Schema einer Drüseneinheit dar, die, zusammen mit zwei weiteren, mit ihrem Ausführungsgang in eine gemeinsame Porengrube mündet. Eine einheitliche Klassifizierung der verschiedenen Drüsenzellen und Drüsenkomplexe bei Insekten existiert noch nicht (PETERS 2003). In der Regel steht eine Drüsenzelle in einem Verband mit mehreren assoziierten Zellen, die alle aus einer gemeinsamen Stammzelle hervorgehen und den man als Drüseneinheit bezeichnet (PETERS 2003). Im Falle von *Ph. spectrum* besteht die Drüseneinheit aus nur zwei Zellen, der eigentlichen Drüsenzelle und der gangbildenden Kanalzelle. Nach der Nomenklatur von NOIROT & QUENNEDEY (1974) handelt es sich damit um eine 'class 3 gland cell', eine Drüsenzelle mit einer assoziierten Kanalzelle. Sowohl bei *Ph. spectrum* als auch bei *N. sylvestris* können solche Drüseneinheiten, nach der Zahl der Porenöffnungen zu schließen, einzeln oder in Verbänden von maximal 20 Einheiten auftreten, die dann als Drüsenkomplex oder als Drüse bezeichnet werden können. Für alle in einem abgegrenzten Bereich (Haarfeld, Haarsaum) zusammengefassten Drüsenkomple-

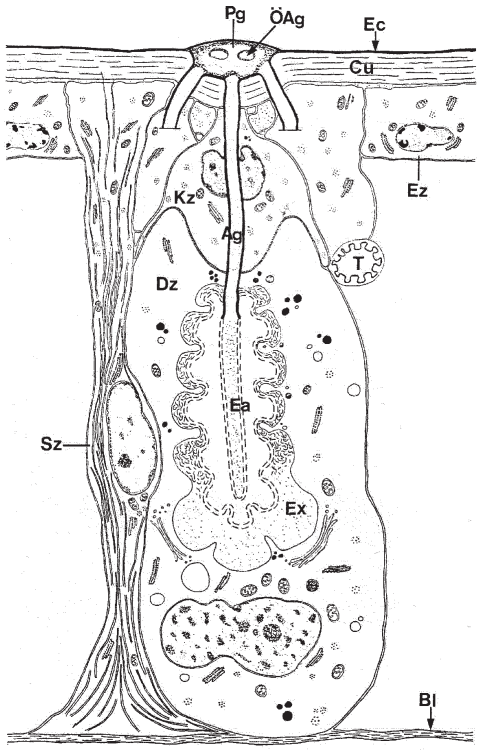


Abb: 6: *Phaeophilacris spectrum*: schematische Darstellung einer Drüseneinheit und benachbarter Strukturen. Rekonstruktion nach TEM-Schnitten. Eine Drüseneinheit besteht aus einer Drüsenzelle (Dz) und einer Kanalzelle (Kz) mit ausleitendem Drüsengang (Ag), der in eine Porengrube (Pg) mündet. Eine Porengrube kann bis zu 20 Öffnungen (ÖAg) von ebenso vielen benachbarten Drüseneinheiten enthalten. Weitere Strukturen: Endapparat (Ea), umgeben von einem Extrazellularraum (Ex), untere Cuticula (Cu) mit Epicuticula (Ec), Epidermiszelle (Ez), Stützzelle (Sz), Tracheole (T). Eine Basallamina (Bl) trennt die Drüsenschicht vom Haemolymphraum.
Fig. 6: *Phaeophilacris spectrum*: schematic drawing of a glandular unit with related structures. Reconstruction from TEM sections. A glandular unit consists of a glandular cell (Dz) and a canal cell (Kz) with a cuticular canal (Ag) ending in a pore pit (Pg). One pore pit contains up to 20 pores (ÖAg). Further structures are the end apparatus (Ea), surrounded by an extracellular space (Ex), the lower cuticle (Cu) with a layer of epicuticle (Ec), epidermis cells (Ez), a supporting cell (Sz), a tracheole (T), and the basal lamella (Bl) which separates the glandular tissue from the hemolymph space.

xe, die ihre Sekrete gleichzeitig in ein gemeinsames Depot abgeben, bietet sich der Begriff „Drüsenorgan" an. Ein charakteristisches Merkmal einer Drüseneinheit von *Ph. spectrum*, das auch für Drüseneinheiten anderer Insekten (Termiten, Schaben) nachgewiesen wurde (Typ 'G3' nach NOIROT & QUENNEDEY 1974), ist der von der Kanalzelle sezernierte cuticuläre Ausleitungskanal. Er ist von Epicuticula ausgekleidet und reicht bis in das Reservoir der Drüsenzelle, wo er in einen netzartig durchbrochenen Zylinder, den so genannten Endapparat übergeht. Die von der Drüsenzelle produzierten Sekrete werden durch Exocytose in einen extrazellulären Raum abgegeben, von wo sie über den Endapparat und den Ausleitungsgang nach außen gelangen. Der Drüsenzellbereich wird von dem Haemolymphraum durch eine Basallamina abgetrennt. Von der Basallamina bis zur (unteren) Epidermis und Cuticula wird eine Verbindung durch schlanke Stützzellen hergestellt. Diese sind von parallel verlaufenden Mikrotubuli durchzogen, die Kontakt zur Cuticula aufnehmen. Die mehrschichtige, untere Cuticula wird von einer dünnen Epicuticula bedeckt.

3.3. Analyse der Sekrete

Es ist zu fragen, worauf denn die große Attraktivität der Sekrete beruht, die die Weibchen zum Lecken und Fressen und damit zum Stillhalten verführt. Man kann davon ausgehen, dass es sich um ein Substanzgemisch handelt, für dessen chemische Analyse sich die Technik der Gaschromatographie-Massenspektrometrie anbietet, wie sie auch in der Insektenchemie zum Nachweis kleinster Substanzmengen eingesetzt wird. Das Ergebnis der Auftrennung eines Substanzgemisches wird als so genanntes Chromatogramm in Form eines Diagramms dargestellt. Die Abszisse gibt die Retentionszeit T_R (= Verweildauer der Moleküle eines Stoffes in der Kapillarsäule, eine substanzspezifische Größe) und die Ordinate die relative Ionenhäufigkeit (Totalionenstrom) wieder. Durch einen Vergleich der Retentionszeiten und der Fragmentierungsmuster der Peaks mit Massenspektren bekannter Verbindungen aus der Spektrenbibliothek im Rechner sowie aus der vergleichenden Analyse von Referenzsubstanzen lassen sich den einzelnen Peaks bestimmte chemische Verbindungen oder funktionelle Gruppen zuordnen.
Um eventuell unspezifische, in das zu analysierende Sekret gelangte Flügelkomponenten zu erfassen, wurden, außer dem mit einer Nadel abgetragenen Sekret (Proben A) auch ausgeschnittene Flügelstücke von dem sekrethaltigen Haarfeld und bei *Ph. spectrum* von dem auf der Ventralseite der Flügel gelegenen Haarsaumbereich (Proben B) sowie Stücke von sekretfreien Flügelbereichen (Proben C) analysiert.

3.3.1. Haarfeldsekret von *Nemobius sylvestris*

Wie aus Abbildung 7 ersichtlich ist, weisen die Chromatogramme der Probe A (isoliertes Sekret) und der Probe B (Flügelprobe mit Sekret) in Zahl und Anordnung der Peaks eine große Übereinstimmung auf, wohingegen zahlreiche Peaks von A und B in der Probe C (sekretfreie Flügelprobe) nicht vertreten sind. Die Peaks der Proben A und B (Nr. 1-13 und Peakgruppe 14) stimmen sowohl in der Retentionszeit als auch im Massenspektrum überein. Ferner entsprechen sich in beiden Proben wohl auch die Konzentrationsverhältnisse in den Peaks. Nach Auswertung der Daten können für die Probe A folgende Aussagen gemacht werden: Die Peaks mit den Nummern 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9 und 10 lassen sich auf Monosaccharide, nach den Retentionszeiten wahrscheinlich auf Pentosen und Hexosen zurückführen. Peak Nummer 12 geht auf ein Mono- oder Disaccharid zurück. Die chemische Natur der Peaks mit den Nummern 3, 7, 11 und 13 konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht geklärt werden. Bei der Peakgruppe Nummer 14 handelt es sich wahrscheinlich um ein unaufgelös-

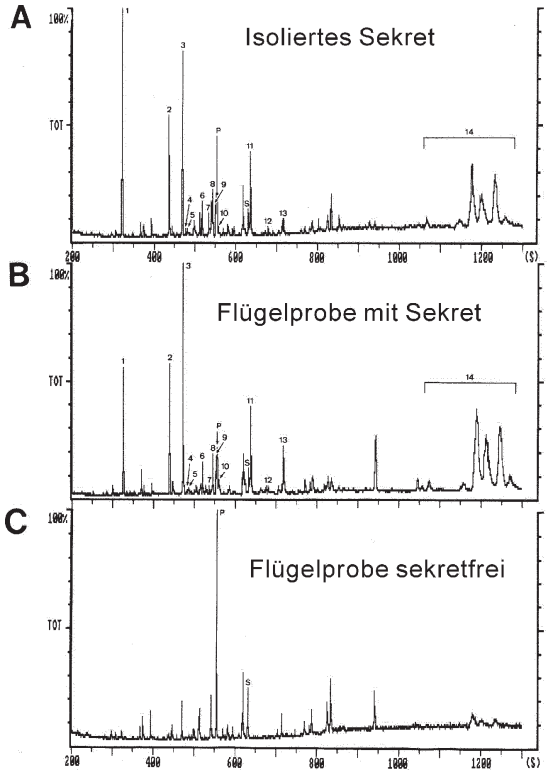


Abb. 7: *Nemobius sylvestris*: Totalionenstrom-Chromatogramme der GC-MS-Analyse des Haarfeldsekretes. Abszisse: Retentionszeit (s); Ordinate: Totalionenstrom (%). Peaks Nr. 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9 und 10 lassen sich auf Monosaccharide zurückführen. Peaks P und S repräsentieren gesättigte Fettsäuren. **A:** Sekret. **B:** Flügel mit Sekret. C: Flügel ohne Sekret.

Fig. 7: *Nemobius sylvestris*: total ion chromatograms of the wing secretion components. Abscissa: retention time (s); ordinate: relative intensity (%). Peaks No. 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, and 10 represent monosaccharides. Peaks P and S represent saturated fatty acids. **A:** Secretion. **B:** Wing with secretion. **C:** Wing without secretion.

tes Signal eines Subtstanzgemisches, möglicherweise um langkettige aliphatische Verbindungen wie zum Beispiel Wachse, Triglyceride, Kohlenwasserstoffe, Aldehyde, Ketone, Ester oder Ether. Die in den Chromatogrammen der Proben A, B und C erscheinenden Peaks P und S sind auf die beiden gesättigten Fettsäuren Palmitinsäure (= n-Hexadecansäure) und Stearinsäure (= n-Oktadekansäure) zurückzuführen (durch Vergleich mit Referenzsubstanzen abgesichert). Da beide Carbonsäuren in allen drei Proben nachgewiesen wurden, dürfte es sich hierbei um Komponenten aus Flügelmaterial und nicht um spezifische Sekretbestandteile handeln.

3.3.2. Haarsaumsekret von *Phaeophilacris spectrum*

Das aus dem Haarsaum isolierte Sekret (Probe A) sowie zwei Flügelproben mit und ohne Sekret (B und C) wurden in gleicher Weise für eine GC-MS-Analyse vorbereitet, analysiert und ausgewertet. In den Totalionenstrom-Chromatogrammen der Probe A (Sekretabtragung) und der Probe B (Flügelprobe mit Sekret) können 14 Substanzpeaks dem Sekret zugeordnet werden, die im Chromatogramm der Probe C (sekretfreie Flügelprobe) nicht erkennbar sind (Abb. 8). Die Peaks der Nummern 1 bis 14 der Proben A und B stimmen hinsichtlich ihrer GC-Retentionszeiten, der Massenspektren und im Wesentlichen auch in Bezug auf ihre Peakflächen überein. Die chemische Natur der zugrunde liegenden Substanzen ergibt sich wiederum aus dem Vergleich der im Rechner gespeicherten Daten und der Analyse von Referenzsubstanzen. Danach können für das Sekret von *Ph. spectrum* folgende Aussagen gemacht werden: Auch in diesem Fall liegt ein Substanzgemisch vor. Die Peaks mit den Nummern 1 und 6 lassen sich aromatischen Carbonsäuren zuordnen. Peak Nummer 1 repräsentiert Phenylessigsäure, während Peak Nummer 6 ein mehrfach hydroxy-

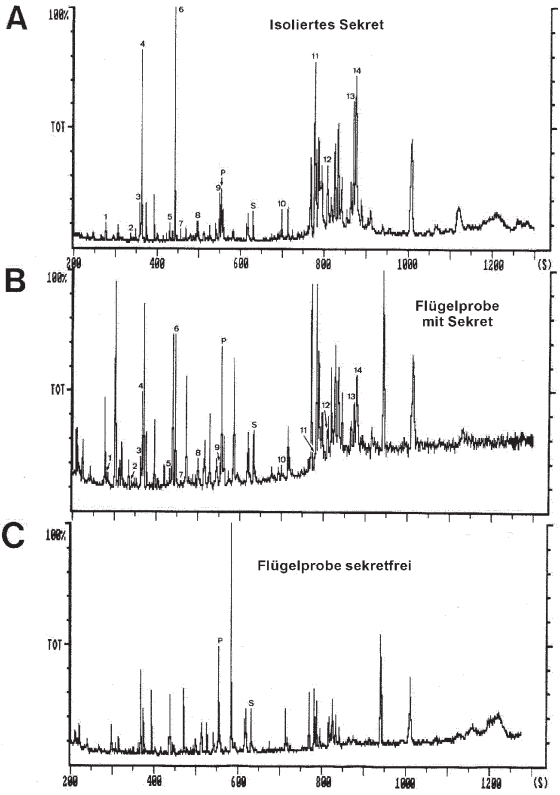


Abb. 8: *Phaeophilacris spectrum*: Totalionenstrom-Chromatogramme des Haarsaumsekretes. Abszisse: Retentionszeit (s); Ordinate: Totalionenstrom (%). Peaks Nr. 1 und 6 repräsentieren aromatische Carbonsäuren, Peak Nr. 6 ein Monosaccharid, P und S Fettsäuren. **A:** Sekret. **B:** Flügel mit Sekret. **C:** Flügel ohne Sekret.

Fig. 8: *Phaeophilacris spectrum*: total ion chromatograms of the wing secretion components. Abscissa: retention time (s); ordinate: relative intensity (%). Peaks No. 1 and 6 represent aromatic carboxylic acids, peak No. 6 represents a monosaccharide, and P and S are for fatty acids. **A:** Secretion. **B:** Wing with secretion. **C:** Wing without secretion.

liertes Derivat dieser Säure, nämlich die DL-4-Hydroxymandelsäure darstellt. Peak Nummer 5 repräsentiert ein nicht näher bestimmbares Monosaccharid. Eine Aussage über die chemische Natur der zu den 11 verbleibenden Peaks gehörenden Substanzen war bisher nicht möglich. Die in den Chromatogrammen aller drei Proben A, B und C festgestellten Peaks P und S lassen sich den Fettsäuren Palmitinsäure (N-Hexadecansäure) und Stearinsäure (n-Oktadecansäure) zuordnen. Es dürfte sich dabei, wie im Falle von *N. sylvestris*, um Bestandteile des Flügels handeln.

4. Diskussion

4.1. Funktion der Drüsen im Paarungsverhalten

Eine Besonderheit im Fortpflanzungsverhalten der Ensifera (Laubheuschrecken und Grillen) ist die äußere Übertragung einer Spermatophore. Eine ganze Reihe von Verhaltensweisen, einschließlich der Bereitstellung gewisser Lock- und Belohnungsmittel durch das Männchen, sind in diesem Zusammenhang zu sehen. Die verwandten Caelifera (Feldheuschrecken) praktizieren im Unterschied dazu eine innere Übertragung einer andersartigen Spermatophore. Dabei kommt es zu einer festen Verankerung des aufsitzenden Männchens über einen Zeitraum von 18-60 h (BEIER 1972). Bei dem wesentlich störanfälligeren Verfahren der Ensifera, insbesondere der Gryllidae, wird zunächst eine längere Sequenz von Verhaltensweisen durchlaufen, bis schließlich der Inhalt der am Weibchen angehefteten Spermatophore in dessen Receptaculum seminis entleert ist. Eine solche Sequenz beginnt mit dem Balzverhalten, danach folgt die Paarung (Kopulation) mit der typischen Weibchen-auf-Männ-

chen-Stellung und der Anheftung der Spermatophore. Nach dem Auflösen der Paarungsstellung schließt sich bei vielen Arten noch eine so genannte Nachbalz ('guarding behaviour') an. In unserem Zusammenhang von besonderem Interesse sind nun gewisse, in bestimmten Phasen des Ablaufs eingesetzte, materielle Angebote des Männchens an das Weibchen, die auch mit dem etwas romantischen Begriff „Hochzeitsgabe" ('nuptial gift') bezeichnet werden. Konkrete Beispiele dafür sind Sekrete der Metanotaldrüsen der Männchen des Weinhähnchens *Oecanthus pellucens* (Oecanthinae) (HOHORST 1937) und von *O. nigricornis* (BELL 1980). Bei der Paarung stellen die Männchen dieser beiden Arten die Vorderflügel senkrecht hoch, wodurch ein Drüsenkomplex auf dem Metanotum frei wird, aus dessen mit Haarbüscheln besetzten Gruben das aufsitzende Weibchen ein Sekret leckt. Recht ungewöhnlich ist auch ein Verhalten bei verschiedenen Arten der Gattung *Pteronemobius* (Nemobiinae), deren Männchen einen speziellen Drüsensporn auf der Innenseite jeder der beiden Hintertibien tragen. Bei der Paarung hält das Männchen in einer unnatürlich „verkrampften" Haltung dem aufsitzenden Weibchen eine der beiden Hintertibien hin, so dass dieses den Drüsensporn aufbeißen und an einem austretenden Sekret lecken kann (MAYS 1971). Ein noch weit größeres Opfer bringen die Männchen mehrerer Arten der Gattung *Cyphoderris* aus der den Gryllidae nahestehenden Familie der Haglidae (DODSON et al. 1983). Die Männchen haben Vorderflügel mit Stridulationseinrichtungen und außerdem unsklerotisierte, fleischige Hinterflügel, an denen das Weibchen vor und während der Kopulation frisst, bis es, nach erfolgter Spermatophorenübertragung, vom Männchen abgeworfen wird.

Einen Sonderfall von Hochzeitsgabe, allein schon wegen der Größe, stellt der bei den Tettigoniidae, aber auch bei einigen Gryllidae vorkommende, so genannte Spermatophylax dar. Es handelt sich um eine aus den Anhangsdrüsen des Männchens stammende, gallertartige Sekretmasse, die die Spermatophore teilweise oder ganz umhüllt und zusammen mit ihr an der Genitalöffnung des Weibchens angeheftet wird (BEIER 1972; ALEXANDER & OTTE 1967; THORNHILL & ALCOCK 1983). Nach der Kopulation entfernt das Weibchen den Spermatophylax und frisst ihn auf. Aufgrund seiner Größe (bis zu 25 % der Körpermasse des Männchens) kann er als zusätzliche Nahrung durchaus eine Rolle spielen.

Die Verhältnisse bei *N. sylvestris* und *Ph. spectrum* zeigen, dass sogar die Flügel mit ihren drüsigen Absonderungen im Dienst eines 'nuptial feeding' stehen können. In der Literatur wird unseres Wissens nur noch ein weiterer vergleichbarer Fall bei der Grille *Discoptila fragosoi* erwähnt, bei der während der Kopulation das Weibchen mit seinen Mundwerkzeugen die Unterseite der hochgestellten Flügel beleckt (BOLDYREV 1928). Die genaue Herkunft des erwähnten dickflüssigen, dunklen Sekretes bleibt allerdings unklar.

Es ist unstrittig, dass die verschiedenen Formen des 'nuptial feeding' einen Beitrag zum Paarungserfolg leisten. Über die Interpretation, auf welcher Ebene sich dieser auswirkt, wird bis heute eine jahrzehntelange Debatte geführt (SAKALUK 1986; VAHED 1998). Kurz gesagt geht es um die Alternativen, ob die Hochzeitsgabe (nur) einen Beitrag zur Beeinflussung des Paarungsablaufes ('mating effort') liefert, oder ob es sich um eine väterliche Investition ('paternal investment') handelt, das heißt um einen physiologisch ins Gewicht fallenden Beitrag zur Steigerung der Fitness (z.B. für größere und „bessere" Eier). Außer einigen positiven Hinweisen aus Studien zum Spermatophylax bei Tettigoniidae scheint insgesamt mehr für den ersten Fall ('mating effort') zu sprechen (VAHED 1998). Die hauptsächliche Bedeutung einer Nachbalz ('guarding behaviour') bei Grillen und den unter Umständen dabei präsentierten 'nuptial gifts' wird in drei Funktionen gesehen: erstens dem Ausschluss von Paarungskonkurrenten, zweitens dem Abhalten des Weibchens von der Entfer-

nung der Spermatophore, bevor deren Inhalt in das Receptaculum seminis entleert ist, sowie drittens der Monopolisierung des Weibchens für weitere Paarungen (SAKALUK 1984; LOHER & DAMBACH 1989).
Die Beobachtungen an *Ph. spectrum* zeigten, dass die Paarungsbereitschaft von einer Reihe von Parametern abhängt und ein zusätzlicher Haarsaumkontakt den Paarungserfolg zwar verbessert, aber keine unbedingte Voraussetzung ist (LATZ-HOCHGÜRTEL unpubliziert). Bei *N. sylvestris* ließ sich der positive Effekt eines 'nuptial feeding' mit Sekret quantitativ bestimmen (DOMBROWSKI 1995). Normale Männchen (mit intaktem Haarfeld) hatten innerhalb einer festen Beobachtungszeit in 85 % der Fälle eine Spermatophore erfolgreich übertragen. Operierte Männchen (Haarfeld entfernt) bei unvermindert gebliebener Balzaktivität nur noch in 50 % der Fälle.

4.2. Flügel und Drüsenstrukturen

Bei den vielen Möglichkeiten für die Platzierung von Drüsen stellt sich die Frage, warum es bei unseren Objekten ausgerechnet die Flügel sein müssen. Man könnte gewisse Probleme in der geforderten Bifunktionalität der Flügel erwarten (Stridulation oder Fächeln und zusätzlich Drüsenfunktion) oder in den langen physiologischen Versorgungswegen der Drüsen durch die Flügeladern. Andererseits gelten gerade die Saltatoria und speziell die Gryllidae als Paradebeispiele für vielfältigste Abwandlungen der Vorder- und Hinterflügel in Form artspezifisch konstanter Merkmale sowie als variable Polymorphismen (BEIER 1972). Eine verwirrende Fülle diesbezüglicher Termini, von apter bis makropter, legt davon Zeugnis ab. Es ließe sich spekulieren, dass bei der grillentypischen Kopulationshaltung das Weibchen zwangsläufig mit dem Kopf und seinen Mundwerkzeugen in engen Kontakt mit den Flügeln des Männchens gerät, und damit eine günstige Ausgangsbasis für ein dortiges Entstehen von Drüsen mit verhaltensrelevanten Substanzen gegeben ist.
Das Zusammentreffen eines dichten Haarfeldes und der Ausscheidung von Sekreten führte im Falle von *N. sylvestris* zu Überlegungen über den kausalen Zusammenhang. Es war zunächst unklar, ob die Haare selbst das Sekret produzieren oder ob es aus darunter liegenden Strukturen stammt (GABBUTT 1954). Es gibt zwar in verschiedenen Insektenordnungen (Zygentoma, Diplura, Embioptera) echte Drüsenhaare, also Haare mit einem Ausleitungskanal im Haarschaft und einem apicalen Porus (PETERS 2003). Generell dient jedoch bei Drüsen und Drüsenorganen mit flüssigen oder viskosen Ausscheidungen der Haarbesatz lediglich dem Festhalten der Sekrete. Bei Pheromon produzierenden Drüsen der Schaben können Haarbüschel auch zur Oberflächenvergrößerung und damit zu einer effektiveren Ausbreitung flüchtiger Stoffe beitragen (ROTH 1969). Ob die Haarfeld- und Haarsaumhaare von *N. sylvestris* und *Ph. spectrum* auch innerviert sind, ist unbekannt. Eine mechanosensorische Funktion ist bei ihrer eingeschränkten Beweglichkeit durch das umgebende Sekret jedoch unwahrscheinlich.
Licht- und transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen liegen bisher nur für *Ph. spectrum* vor (LATZ-HOCHGÜRTEL unpubliziert). Die für beide Arten durchgeführten REM-Untersuchungen zeigen prinzipielle Übereinstimmungen im Bau der cuticulären Poren und Ausleitungskanäle. Das lässt vermuten, dass auch bei *N. sylvestris* die zugrunde liegenden Drüsenstrukturen zum gleichen Typ gehören (Typ 3 nach NOIROT & QUENNEDEY 1974), wie er bei Insekten weit verbreitet ist.

4.3. Chemische Zusammensetzung der Sekrete

Nach den vorliegenden Untersuchungen handelt es sich bei den Sekreten um Substanzgemische. Bei *N. sylvestris* fällt der hohe Anteil von mindestens acht verschiedenen Monosacchariden auf. Für *Ph. spectrum* wurden außer

einem Monosaccharid verschiedene aromatische Carbonsäuren nachgewiesen. Für die polyphagen Grillen sind kohlehydrathaltige Stoffe als Futter und Köder sehr attraktiv. Ein anhaltendes Belecken und der Verzehr zuckerhaltiger Sekrete wären daher verständlich. Über die Rolle der Carbonsäuren können nur Vermutungen angestellt werden. Interessant in diesem Zusammenhang ist vielleicht der Befund, dass ein Gemisch aus Carbonsäuren, wie es sich aus den Faeces von *Blattella germanica* (Dictyoptera) isolieren lässt, eine stark aggregationsfördernde, also festhaltende, Wirkung auf Larven und Adulte dieser Spezies ausübt (SCHERKENBECK et al. 1999).

Das zuckerreiche Sekret von *N. sylvestris* stellt außerdem einen idealen Nährboden für Mikroorganismen dar. DOMBROWSKI (unpubliziert) konnte in älteren Sekreten einen Befall durch verschiede Pilze und Bakterien nachweisen. Da es sich um ubiquitäre Formen handelt, dürften solche Infektionen aus der Umwelt (Bodenstreu etc.) herrühren. Aus Beobachtungen des Fressverhaltens (RICHARDS 1952) und aus Magen-Darm-Untersuchungen (GABBUTT 1954) ist bekannt, dass Pilze einen wesentlichen Anteil auf dem Speisezettel von *N. sylvestris* ausmachen. Mengenmäßig und damit ernährungsphysiologisch dürften die Pilze (Köpfchenschimmel, Ordnung Mucorales) im Sekret jedoch nicht ins Gewicht fallen, sondern höchstens einen zusätzlichen Fressreiz liefern.

Danksagung

Wir danken Herrn Prof. Dr. W. BOLAND für seine Hilfe und die Ermöglichung der GC-MS-Analysen am Institut für Organische Chemie der Universität Karlsruhe. Frau AGNES GRAS danken wir für vielfältige technische Hilfe und PETER HEUSER für die Überlassung unpublizierter Daten. Herrn Prof. Dr. G. WENDLER sei Dank gesagt für kritische Anmerkungen. PETER und JOHANNES DAMBACH halfen freundlicherweise bei der Erstellung der Abbildungen.

Literatur

ALEXANDER, R.D., & OTTE, D. (1967): The evolution of genitalia and mating behavior in crickets (Gryllidae) and other Orthoptera. Miscellaneous Publications of the Museum of Zoology, University of Michigan 133: 1-62.

BEIER, M. (1972): Saltatoria (Grillen und Heuschrecken). S. 1-217 in: HELMCKE, J.-G., STARCK, D., & WERMUTH, H. (Hrsg.): Handbuch der Zoologie. Eine Naturgeschichte der Stämme des Tierreiches, Band 4: Arthropoda, 2. Hälfte: Insecta, 2. Auflage, 2. Teil, 9. Walter de Gruyter & Co.; Berlin.

BELL, P.D. (1980): Opportunistic feeding by the female tree cricket, *Oecanthus nigricornis* (Orthoptera: Gryllidae). Canadian Entomologist 112: 431-432.

BOLDYREV, B.T. (1928): Einige Episoden aus dem Geschlechtsleben von *Discoptila fragosoi* Bol. (Orthoptera, Gryllidae). Revue Russe d'Entomologie 22: 137-147.

DAMBACH, M., & LICHTENSTEIN, L. (1978): Zur Ethologie der afrikanischen Grille *Phaeophilacris spectrum* Saussure. Zeitschrift für Tierpsychologie 46: 14-29.

DODSON, G.N., MORRIS, G.K., & GWYNNE, D.T. (1983): Mating behavior in the primitive orthopteran genus *Cyphoderris* (Haglidae). S. 305-318 in: GWYNNE, D.T., & MORRIS, G.K. (Hrsg.): Orthopteran mating systems. Sexual competition in a diverse group of insects. Westview Press; Boulder (Colorado).

DOMBROWSKI, A. (1995): Neues zum Paarungsverhalten der Waldgrille *Nemobius sylvestris* (Gryllidae, Nemobiinae, Nemobiini). Verhandlungen Westdeutscher Entomologentag 1994: 41-50.

EGGERT, A.-K., & SAKALUK, S.K. (1994): Sexual cannibalism and its relation to male mating success in sagebrush crickets, *Cyphoderris strepitans* (Haglidae: Orthoptera). Animal Behaviour 47: 1171-1177.

GABBUTT, P.D. (1954): Notes on the mating behaviour of *Nemobius sylvestris* (Bosc) (Orth., Gryllidae). Animal Behaviour 2: 84-88.

GERHARDT, U. (1921): Neue Studien über Copulation und Spermatophoren von Grylliden und Locustiden. Acta Zoologica (Stockholm) 2: 293-327.

HEIDELBACH, J., & DAMBACH, M. (1997): Wingflick signals in the courtship of the African

cave cricket, *Phaeophilacris spectrum*. Ethology 103: 827-843.

HEINZEL, H.G., & DAMBACH, M. (1987): Travelling air vortex rings as potential communication signals in a cricket. Journal of Comparative Physiology A 160: 79-88.

HOHORST, W. (1937): Die Begattungsbiologie der Grille *Oecanthus pellucens* Scopoli. Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere 32: 227-275.

KALTENBACH, A. (1983): Vorarbeiten für eine Revision der Phalangopsidae der äthiopischen Faunenregion (Saltatoria-Grylloidea). 2. Revision der ostafrikanischen und nordostafrikanischen Arten der Gattung *Phaeophilacris* Walker. Aus den Sitzungsberichten der österreichischen Akademie der Wissenschaften Wien, Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse, Abteilung 1, Band 192, 5.-10. Heft: 267-306.

LOHER, W., & DAMBACH, M. (1989): Reproductive behavior. S. 43-82 in: HUBER, F., MOORE, T.E., & LOHER, W. (Hrsg.): Cricket behavior and neurobiology. Cornell University Press; Ithaca (N.Y.).

MAYS, D.L. (1971): Mating behavior of Nemobiine crickets – *Hygronemobius*, *Nemobius*, and *Pteronemobius* (Orthoptera: Gryllidae). The Florida Entomologist 54: 113-126.

NOIROT, C., & QUENNEDEY, A. (1974): Fine structure of insect epidermal glands. Annual Review of Entomology 19: 61-80.

PETERS, W. (2003): Integument. S. 1-46 in: DETTNER, K., & PETERS, W. (Hrsg.): Lehrbuch der Entomologie. 2. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag; Heidelberg, Berlin.

RICHARDS, T.J. (1952): *Nemobius sylvestris* in S.E. Devon. The Entomologist 85: 83-87, 108-111, 136-141, 161-166.

RICHARDS, T.J. (1953): *Nemobius sylvestris* (F.) (Orthopt., Gryllidae): a corrrection and some further notes. The Entomologist 86: 133-134.

ROTH, L.M. (1969): The evolution of the tergal glands in the Blattaria. Annals of the Entomological Society of America 62: 176-208.

SAKALUK, S.K. (1984): Male crickets feed females to ensure complete sperm transfer. Science 223: 609-610.

SAKALUK, S.K. (1986): Sperm competition and the evolution of nuptial feeding behavior in the cricket, *Gryllodes supplicans* (Walker). Evolution 40: 584-593.

SCHERKENBECK, J., NENTWIG, G., JUSTUS, K., LENZ, J., GONDOL, D., WENDLER, G., DAMBACH, M., NISCHK, F., & GRAEF, C. (1999): Aggregation agents in German cockroach *Blattella germanica*: examination of efficacy. Journal of Chemical Ecology 25: 1105-1119.

THORNHILL, R., & ALCOCK, J. (1983): The evolution of insect mating systems. Harvard University Press; Cambridge (Massachusetts), London.

VAHED, K. (1998): The function of nuptial feeding in insects: a review of empirical studies. Biological Reviews 73: 43-78.

WOOTTON, R.J. (1992): Funtional morphology of insect wings. Annual Review of Entomology 37: 113-140.

ZACHER, F. (1925): Züchtung von Orthopteren. S. 89-190 in: ABDERHALDEN, E. (Hrsg.): Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abteilung 9, Teil 1, 2. Hälfte, Heft 1. Urban & Schwarzenberg; Berlin, Wien.

Prof. Dr. Martin Dambach
Zoologisches Institut der
Universität zu Köln
Weyertal 119
D-50923 Köln
E-Mail: m.dambach@uni-koeln.de

Antje Dombrowski
Eichendorffstr. 57
D-71665 Vaihingen/Enz

Irmgard Latz-Hochgürtel
Eichenstr. 1
D-52399 Merzenich

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Entomologie heute

Jahr/Year: 2006

Band/Volume: 18

Autor(en)/Author(s): Dambach Martin, Dombrowski Antje, Latz-Hochgürtel Irmgard

Artikel/Article: Grillenflügel mit Drüsenorganen. Cricket Forewings with Epidermal Glands 65-84