

DIE REAKTION DER MÄNNLICHEN SEIDENSPINNER
AUF BOMBYKOL UND SEINE ISOMEREN:
ELEKTROANTENNOGRAMM UND VERHALTEN

D. SCHNEIDER, B. C. BLOCK, J. BOECKH und E. PRIESNER*

Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie Seewiesen

Eingegangen am 29. August 1966

Einleitung

Die Isolierung und spätere Synthese des weiblichen Sexuallockstoffes von *Bombyx mori* L. durch A. BUTENANDT und seine Mitarbeiter bildet die Grundlage für die erste quantitative Untersuchung der Physiologie eines Lockstoffrezeptorsystems bei Insekten. Es handelt sich bei diesem Lockstoff um das Hexadeca-dien-(10-trans, 12-cis)-ol-(1) oder Bombykol (BUTENANDT, BECKMANN, STAMM u. HECKER, 1959; HECKER, 1960; BUTENANDT, BECKMANN u. HECKER, 1961; BUTENANDT, BECKMANN u. STAMM, 1961; BUTENANDT u. HECKER, 1961; BUTENANDT, HOPP u. KOCH, 1961 u. 1962; BUTENANDT, 1962).

Während der Analyse und Synthese des Bombykols und seiner drei möglichen geometrischen Isomeren (10-cis, 12-trans; 10-cis, 12-cis; 10-trans, 12-trans) diente ein Verhaltenstest mit männlichen Tieren zur Überprüfung der biologischen Aktivität der gewonnenen Fraktionen. Die auf diese Weise für das reine Bombykol ermittelte Reaktionsschwelle lag unter 10^{-10} μg Bombykol pro ml Lösungsmittel, die für die drei Isomeren zwischen 10^{-3} und 1 μg pro ml (BUTENANDT u. Mitarb., s.o.).

Noch vor der Reindarstellung des Bombykols hatten sinnesphysiologische Experimente am Rezeptorsystem des Seidenspinner-Männchens begonnen. Bereits 1955 konnten wir von der isolierten Männchen-Antenne bei Reizung mit angereicherten Extrakten aus Weibchendrüssen langsame elektrische Potentiale ableiten, die Elektroantennogramm (EAG) genannt wurden (SCHNEIDER, 1955; SCHNEIDER u. HECKER, 1956; SCHNEIDER, 1957 a u. b). Nach neueren Untersuchungen rührt dieses EAG von synchron ablaufenden Receptorpotentialen zahlreicher Sinneszellen her.

Später wurden von synthetischem Bombykol Verdünnungsreihen bekannter absoluter Konzentration hergestellt und ihre Wirksamkeit gemessen (SCHNEIDER, 1961, 1962, 1963 a u. b). Dabei zeigte sich dann, daß die elektrische Reaktion im mittleren Konzentrationsbereich linear mit dem Logarithmus der Reizstärke, im unteren und oberen Bereich

* Herrn Prof. Dr. H. AUTRUM zum 60. Geburtstag gewidmet.

jedoch langsamer zunimmt. Bei hohen Reizstärken stellt sich eine Art Sättigungsniveau ein (s. Abb. 6 bzw. 9 in SCHNEIDER, 1963 a u. b).

Auch bei diesen ersten elektrophysiologischen Versuchsserien wurde beobachtet, daß lange vor dem Erreichen der eine steile Amplitudenzunahme bewirkenden Reizstärke (10^{-2} μg) bereits EAGs auftraten, die über den Kontrollwerten lagen. So zeigt die auf der Abb. 6 bei SCHNEIDER (1963 a) bzw. Abb. 9 bei SCHNEIDER (1963 b) im Bereich der Bombykolkonzentrationen von 10^{-10} μg bis 10^{-4} μg aufgetragene Reaktion einen langsam steigenden, schwach überschwelligen Wert. Dieser Befund ließ den Schluß zu, daß die elektrophysiologische Schwelle noch weit unterhalb des steilen Kurvenanstiegs und in der Größenordnung der von BUTENANDT u. Mitarb. im Verhaltenstest ermittelten Schwelle liegen könnte. Eine daraus abgeleitete EAG-Schwelle bei 10^{-10} μg wurde inzwischen in die Literatur übernommen (GILBERT, 1964; HODGSON, 1964, 1965; JACOBSON, 1965; STÜRCKOW, 1966).

Diese Schwellenwerte lagen, auf die in der Reizquelle vorhandenen Molekülmengen bezogen, weit unterhalb aller bisher bekannten Riechschwellen. Zur Überprüfung dieser niederen Werte haben wir jetzt sowohl die Verhaltensantworten als auch das Antennogramm in umfangreichen neuen Versuchsserien mit vergleichbarer Reizgebung nochmals untersucht. Hier zeigt sich nun, daß sie bei Verwendung sehr ausgedehnter und kritischer Kontrollexperimente nicht zu sichern sind.

Die vorliegende Arbeit schließt die Bestimmung des Reaktionsumfanges des Bombykol-Rezeptorsystems für das Elektroantennogramm und die Schwellenbestimmung bei Verhaltensreaktionen ab. Darüber hinaus stellt sie erste Berechnungen der absoluten Schwellen aufgrund von Messungen der Absolutzahl von Duftmolekülen in der Reizluft und am Rezeptor zur Diskussion.

Material und Methode

a) Versuchstiere. Die Tiere stammten aus deutschen Zuchten mit Ausnahme einer Sendung im Frühsommer des Jahres 1963, die wir durch die Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. M. SATO (Kumamoto, Japan) und des dortigen Seidenforschungsinstitutes erhielten. Die Puppen wurden nach einer höchstens 6wöchigen Lagerung (bei 4°C) bei Zimmertemperatur zum Schlüpfen gebracht. Die Geschlechter schlüpfen in verschiedenen Räumen.

b) Ableitung und Registrierung. Von der Antenne des lebenden, mechanisch fixierten Männchens wurden langsame elektrische Potentiale (EAGs) über Stunden oder Tage abgeleitet (Abb. 1). Die Methoden sind in früheren Arbeiten bereits eingehend beschrieben worden (SCHNEIDER, 1957 a, 1962, 1963 a).

c) Herstellung der Verdünnungsreihen des Lockstoffes. Bombykol und dessen Isomeren verdanken wir dem Max-Planck-Institut für Biochemie (Prof. BUTENANDT, Prof. HECKER). Die Stammlösungen (1000 μg pro ml Petroläther vom Sdp. 40–60°C) bewahrten wir bei -15° auf. Ausgehend von diesen Stammlösungen wurden Verdünnungsreihen hergestellt, wobei jeder Verdünnungsschritt entweder auf $1/10$ oder $1/1000$ der vorhergehenden Konzentration führte.

Die vier Isomeren des Hexadecadienols werden in dieser Arbeit in der Folge als:

TC = trans — cis = Bombykol,

CT = cis — trans,

CC = cis — cis

TT = trans — trans

bezeichnet.

d) *Reizung.* Zur Reizung verwendeten wir treppenartig gefaltete Filterpapiere (Grundfläche $1,4 \times 1,4$ cm), die mit bestimmten Volumina (0,01 ml) der jeweiligen Verdünnung betropft waren und damit bekannte Mengen des Lockstoffes, bzw. der Lockstoffisomere enthielten. *Kontrollpapiere* wurden nur mit dem Lösungsmittel beschiedt und sonst wie die Testpapiere behandelt. Die Papiere kamen nach dem

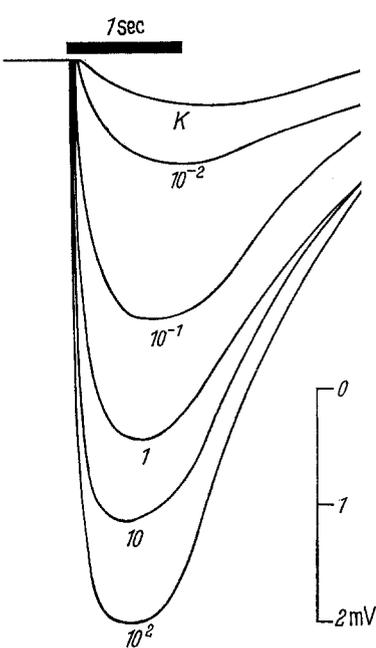


Abb. 1. *Bombyx* ♂. Elektroantennogramme bei Reizung mit Kontrollpapieren (K) bzw. verschiedenen Konzentrationen (von 10^{-2} bis $100 \mu\text{g}$) Bombykol. Nachgezeichnete Originalregistrierungen. Die Reizdauer (1 sec) ist durch den Balken über den Registrierungen dargestellt. Mit steigender Konzentration nimmt nicht nur die Amplitude, sondern auch die Anstiegsteilheit der Reaktion zu; die Reaktionszeiten nehmen von 100 bis auf ca. 20 msec ab

Verdunsten des Lösungsmittels zur *elektrophysiologischen* Untersuchung in Normal-schliff-Glashülen, mit einem Innendurchmesser von ca. 6,5 mm, die auf den Auslaß einer Luftstromleitung paßten. In regelmäßigen Abständen von 1min öffnete ein Zeitgeber ein elektrisches Ventil, wodurch ein Luftstromstoß von 1,0 sec Dauer über das in der Glashülse befindliche Papier auf die Antenne gerichtet wurde. Die Öffnung der Glashülse befand sich 5 cm von der Antenne, die Luftmenge betrug pro Stoß 0,05 l. Zwischen dem durch einen Thermistor registrierten Auftreffen des Lockstoffstromes auf die Antenne und dem Schaltartefakt des Ventils lag ein Zeitintervall von ca. 30 msec. Dieser Wert wurde bei den Berechnungen der Reaktionszeit berücksichtigt (Abb. 1). Die Folge der Reize war festgelegt und ging regelmäßig von schwächeren zu höheren Lockstoffkonzentrationen und auf jeder neuen Konzentrationsstufe von der am schwächsten wirkenden Isomere TT über CC und CT zum TC. Vor jedem Prüfreiz wurde ein Kontrollreiz (s. Abb. 1) gegeben. Zwischen zwei Reizen lag die Pause von 1 min, während der die Glashülse (s. o.) ausgewechselt und das Präparat mit Frischluft überströmt wurde.

Da den Kontrollreizungen bei der Reizschwellebestimmung eine entscheidende Bedeutung zukommt, wurden sie jetzt besonders sorgfältig vorbereitet. Früher verwarfen wir Kontrollpapiere, die eine zu große EAG Amplitude zeigten und verwendeten auch Kontrollpapiere, die nicht mit dem Lösungsmittel getränkt worden waren. Jetzt wurden alle Kontrollpapiere in größerer Zahl zusammen mit den Lockstoffpapieren vorbereitet (Lösungsmittel, jedoch ohne Lockstoff), wie diese aufbewahrt und oft gewechselt. Dadurch sollte einerseits gesichert werden, daß sich die Kontrollreize nur durch ihren Lockstoffgehalt von den Prüfreizen unterscheiden, andererseits aber möglicherweise EAG-wirksame und weniger flüchtige Lösungsmittelreste auf Test- und Kontrollpapieren gleichmäßig vorhanden sind.

e) *Bestimmung der absoluten Reizmengen.* Zur Bestimmung des in unseren früheren Arbeiten mitgeteilten Reaktionsumfanges und der Anstiegskurve der EAGs genügte eine *relative Intensitätsskala*. Damals und auch jetzt noch wird dabei angenommen, daß die beim Reiz-Luftstoß das Papier verlassenden Lockstoffmengen der Beladung des Papiers proportional sind. Diese Annahme erscheint zumindest für die mittleren und schwächeren Reizstärken berechtigt. Versuche mit Fettsäuren (Воежскн unveröff.) zeigten z. B. erst bei hohen Beladungen der als Reizquelle dienenden Papiere, daß dann weniger Moleküle in den Luftstrom gehen, als es der Papierbeladung entspricht. Da es uns in der vorliegenden Untersuchung darauf ankam, die Reaktionen zu den Molekülzahlen in Beziehung zu setzen, die dem Rezeptor jeweils angeboten werden, mußten wir versuchen, eine *absolute Intensitätsskala* der Lockstoffreize zu ermitteln.

Zur Berechnung der absoluten Mengen von Bombykol im Duftstrom bedienten wir uns einer Abblasmethode. Dabei wurden die mit bekannten Mengen von Bombykol beladenen Papiere in den Glashülsen über längere Zeit kontinuierlich einem Luftstrom ausgesetzt, der den Bedingungen im elektrophysiologischen Versuch entsprach. Den Bombykolverlust ermittelten wir dann mit zwei Methoden:

1. Der progressive *Gewichtsverlust* von 100 μg tragenden Papieren wurde mit der Mikrowaage bestimmt. Von vier Papieren wurden zwei mit je 100 μg TC und zwei nur mit Lösungsmittel (Kontrolle) wie zum Reizversuch vorbereitet und in die Glashülsen gesteckt. Ein TC- und Kontroll-Hülsenpaar kam dann in eine Apparatur, wo es mit der vom physiologischen Experiment bekannten Luftstromgeschwindigkeit dauernd überströmt wurde. Die beiden anderen Hülsen (wieder mit je einem 100 μg und einem Kontrollpapier) befanden sich bei etwa gleicher Temperatur in je einer Petrischale. Die Gewichte aller vier Papiere wurden dann nach zuerst kurzen und fortschreitend längeren Zeitintervallen auf der Mikrowaage etwa gleichzeitig bestimmt. Die Kurven 2a, 2b in Abb. 2 zeigen die Gewichtsverluste als Differenzkurven der 100- μg -TC- und Kontrollpapiere aus zwei derartigen Experimenten. Wenn man bedenkt, daß im Bereich unter 100 μg solche Wägungen Schwankungen mannigfaltiger Art unterworfen sein müssen, so ist die Übereinstimmung befriedigend. Nach knapp 100 Std hat ein 100- μg -Papier etwa 80% seines Bombykols verloren. Der weitere Verlust geht langsamer vor sich. Die nicht dem Luftstrom ausgesetzten Bombykolpapiere halten ihre Gewichts Differenz gegenüber den Kontrollen annähernd konstant (Kurven 1a, 1b in Abb. 2). Die Kurven 3a und 3b in der Abb. 2 zeigen die Steigerung des Gewichtsverlustes bei fünffach erhöhter Luftstromgeschwindigkeit unter sonst gleichen Bedingungen. Nach weniger als 40 Std ist hier der TC-Gehalt auf 20% des Ausgangswertes gesunken. Die Wägewerte von zwei weiteren derartigen Experimenten schwankten so sehr, daß sie keine Bewertung verdienen. Hier traten wahrscheinlich unkontrollierte Verunreinigungen auf. Von insgesamt sechs Wäge-Differenzversuchen waren also vier verwertbar (s. Abb. 2).

2. Um den progressiven *Wirksamkeitsverlust* einer Lockstoffquelle zu erfassen, wurde in zwei EAG-Experimenten der Abfall der physiologischen Wirksamkeit von Papieren ermittelt, die, wie unter 1 beschrieben, dauernd mit Luft überströmt wurden. Als Kontrolle dienten Papiere, die wir mit der gleichen TC-Menge beluden, jedoch zwischen den EAG-Messungen bei -15°C in Petrischalen aufbewahrten. Im ersten von zwei derartigen Versuchen enthielten die Papierpaare jeweils 100 μg und 0,1 μg TC. Alle Messungen in diesem Experiment erfolgten an ein und demselben *Bombyx- β* , das über fünf Tage bei unveränderter Elektrodenlage am Leben blieb. Die Abb. 3 zeigt den Verlauf der Messungen. Die 100 μg und 0,1 μg Kurven zeigen aus bisher ungeklärten Gründen am zweiten Tag sowohl für die Test- als auch für die Kontrollwerte ein Minimum. Eine Differenz zwischen den überblasenen und den kühl gehaltenen TC-Papieren ist jedoch schon zu diesem Zeitpunkt deutlich und nimmt bis zum 4. Tag weiter zu. Mit dem dauernd überblasenen 100- μg -Papier wird

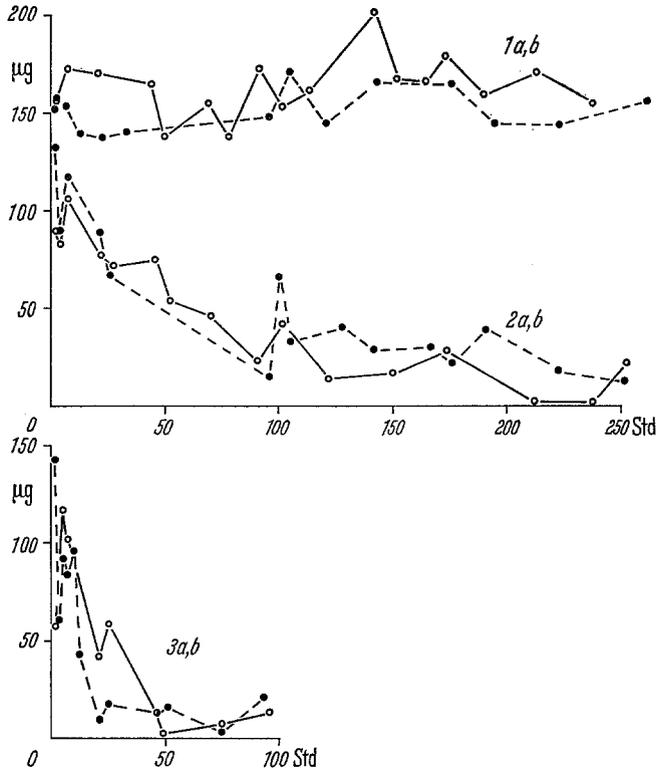


Abb. 2. Wagerversuch. Gewicht von Filterpapieren mit Bombykol in Abhängigkeit von der Zeit. Jeder Punkt stellt die Gewichts-differenz zwischen einem Testpapier (Lösungsmittel mit $100 \mu\text{g}$ Bombykol) und einem Kontrollpapier (nur Lösungsmittel) dar. Die Kurvenpaare zeigen jeweils für zwei gleich-artige Versuche den Gang der Gewichtsabnahme der Lockstoffquellen in stehender Luft (1a, 1b), unter Dauerluftstrom von 150 l/h (2a, 2b) und unter Dauerluftstrom von 750 l/h (3a, 3b)

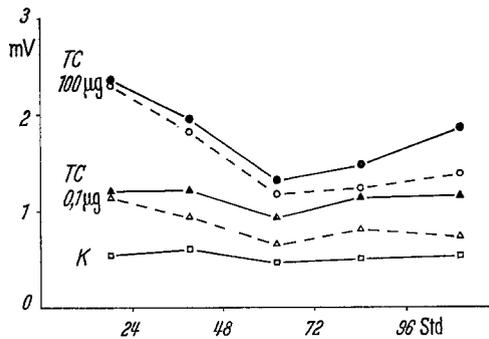


Abb. 3. Abnahme der EAG-Wirksamkeit von je zwei $100 \mu\text{g}$ und $0,1 \mu\text{g}$ Bombykol-Quellen. *Bombyx* δ , chronische Elektroden. *Ausgezogene Kurven:* Wirksamkeit von Bombykol-Papieren, die zwischen den EAG-Messungen nicht uberblasen wurden. *Unterbrochene Kurven:* Wirksamkeit von Bombykol-Papieren, die zwischen den EAG-Messungen dauernd uberblasen wurden (300 l/h). *Untere Kurve:* Kontrolle (Papier ohne Bombykol). Weitere Erklärungen im Text

nach vier Tagen nur noch 75% und mit dem dauernd überblasenen 0,1- μ g-Papier nur noch 50% der EAG-Amplitude der gekühlten Vergleichspapiere erzielt. Nach der Charakteristik der Kurve in Abb. 4 (EAG-Amplitude als Funktion des Logarithmus der Reizkonzentration) entsprechen diese Werte bei dem 100- μ g-Papier in vier Tagen einem Abfall auf etwa 10 μ g und bei dem 0,1- μ g-Papier einem Abfall auf etwa 0,01 μ g. — In einem zweiten Versuch dieser Art wurde in drei Tagen für ein 100- μ g-Papier ein flacherer und für ein 1- μ g-Papier ein relativ steilerer Abfall bestimmt. Die TC-Verluste, wie sie in diesem Experiment bestimmt wurden, geben uns über die Größenordnung des Verlustes bei Dauerüberblasung Auskunft. Die extremen Abfallwerte sind 90% TC-Verlust für je ein 100- μ g- und ein 1- μ g-Papier in 24 Std. Wegen der begrenzten Wäge- und Meßgenauigkeit konnte nicht gleich nach Beginn des Abblasens mit den Messungen begonnen werden; die erste verwertbare Messung erfolgte 1 Std nach Abblasebeginn. Aus dem Verlauf solcher Abnahmekurven läßt sich jedoch die zu Beginn des Abblaseversuchs von dem 100- μ g-Papier abgehende Molekülzahl extrapolieren und mit 7×10^{12} , die von dem 1- μ g-Papier abgehende Zahl mit 7×10^9 pro sec angeben. Unter der Annahme, daß sich das Verhältnis von aufgetropfter und pro sec abgeblasener Menge Bombykol über mehrere Konzentrationsschritte hinweg nicht wesentlich ändert, erfolgte eine weitere Extrapolation auf die abgehenden Molekülmengen bei den 10^{-2} bzw. 10^{-4} μ g-Papieren, die die Schwellenreaktionen im EAG bzw. Verhalten auslösen (BOECKH, SCHNEIDER und KAISLING, 1965).

f) *Verhaltensreaktionen.* Hier arbeiteten wir mit einer Methode, die im Prinzip auf B. C. BLOCK (1960) zurückgeht. Dabei befinden sich pro Versuch 20—30 Tiere frei beweglich in kleinen offenen Pappröhren in einem Gestell von 30×30 cm (STEINBRECHT, 1964). Die Testpapiere entsprechen denen im EAG-Versuch, nur waren sie nicht in Glashülsen eingeschlossen, sondern 50 cm vor dem Gestell frei befestigt. Zur Reizung wurde mit einem Ventilator über das Papier in Richtung auf das Gestell geblasen. Nur die mit vollen Schwirrbewegungen reagierenden Tiere wurden gezählt. Der Abstand zwischen den Reizen betrug 15 min. Vor jedem Testreiz wurde ein Kontrollreiz gegeben, zwischen den Reizen der Raum entlüftet.

Die Arbeit wurde durch Sachbeihilfen der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. Bei den Versuchen und den Auswertungen, besonders aber bei der mühsamen und gewissenhaften Herstellung der vielen Verdünnungsreihen, halfen zu verschiedenen Zeiten Frau E. SIEMER-BESENTHAL, Frau U. GRAMM-VOLOTA, Fräulein E. PFEFFER und Fräulein I. ROHRSCHNEIDER. Herrn Dr. K.-E. KAISLING danken wir für die Berechnung der absoluten Reizintensität und Herrn U. WALDOW für die Durchführung eines EAG-Abblaseversuchs.

Ergebnisse

1. Elektrophysiologie

Mit steigender Konzentration nehmen Amplitude und Anstiegssteilheit des Potentials zu, während die Reaktionszeiten abnehmen (Abb. 1). Bei hohen Reizstärken zeigte sich im EAG oft zusätzlich eine Anfangszacke (vgl. SCHNEIDER, 1962). Gewertet wurde nur die maximale EAG-Amplitude innerhalb der Reizzeit von 1 sec, nicht die Anstiegssteilheit. Auf der Abb. 4 sind die gemittelten Bombykol (TC) Meßwerte, die vor und zwischen den TC Reizen gemessenen Kontrollwerte und die mittleren Fehler (± 3 m) der Mittelwerte aller Versuche des Jahres 1963 (105 Meßreihen an über 40 Tieren) dargestellt. Die EAG-Reaktionen waren für

dasselbe Präparat voll reproduzierbar, schwankten aber stark von Tier zu Tier. Nur Präparate, die bei Höchstkonzentrationen eine Amplitude von 1,0 mV nicht erreichten, wurden nicht berücksichtigt. Die kleinste Zahl der einzelnen Messungen bei einer gegebenen Konzentration betrug 17, die größte 203. Diese großen zahlenmäßigen Unterschiede der Messungen bei bestimmten Konzentrationen erklären sich daraus, daß wir bei der Herstellung der Verdünnungsreihen nicht nur 10:1 Stufen, sondern

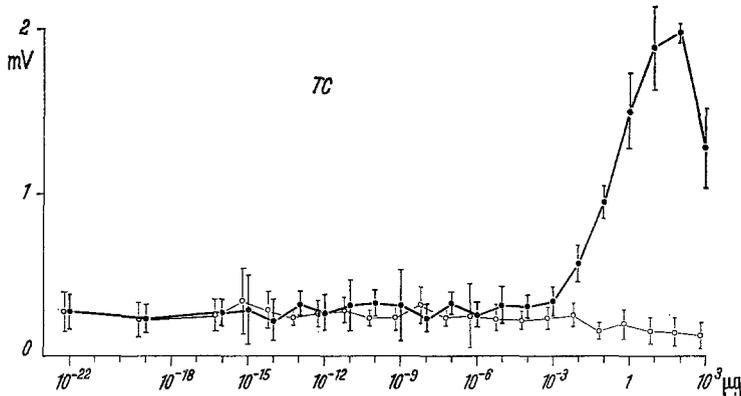


Abb. 4. *Bombyx* ♂ Elektrophysiologie. Abhängigkeit der EAG-Amplitude von der Bombykol-Konzentration. Die Meßpunkte sind Mittelwerte ± 3 m. Die Kurve mit ausgefüllten Kreisen zeigt die EAG-Amplitude bei Bombykol-Reizung, die Kurve mit offenen Kreisen die Amplitude bei Kontrollreizen (nur Lösungsmittel). Senkrechte Balken ± 3 m. Die jeweils vor dem Bombykol-Test ermittelte Kontrollreaktion ist links von dem Test-Mittelwert eingetragen. S. Text

auch 1000:1-Stufen ohne Zwischenwerte einlegten. Da jedoch diese unterschiedliche Herstellung der Verdünnungsreihen keinen merklichen Einfluß auf die Ergebnisse hatte, wurden die Meßwerte gemeinsam verwertet. Im Bereich hoher Konzentrationen wurde insgesamt weniger gemessen. So wurde der 1000 μg Reiz nicht sehr oft gegeben, da er etwa 100fach stärker wirkt als eine frische *Bombyx*-drüse (vgl. STEINBRECHT, 1964) und die Rezeptoren dann längere längere Zeit zur Erholung brauchten, ehe sie wieder voll reaktionsfähig waren (vgl. SCHNEIDER, 1963a, Abb. 7). Zusätzlich bestand bei den hohen Reizkonzentrationen noch die Gefahr einer gesteigerten Verunreinigung des Präparates, Meßplatzes und Meßraumes mit dem Lockstoff. Die Reize wurden stets in aufsteigender Konzentration hintereinander geboten; auch der 1000- μg -Reiz kam stets nach einem 100- μg -Reiz. Die Bombykol-Kurve (Abb. 4) verläuft bei aufsteigender Reizkonzentration von 10^{-22} μg bis zu etwa 10^{-4} μg nahezu parallel zur Abszisse und steigt dann zuerst langsam und in der Folge steil an. Bei 100 μg hat die Kurve ein vom 10- μg -Wert nicht gesichert verschiedenes Maximum und ist bei 1000 μg gesichert niedriger als bei 10 und 100 μg . Dieser Abfall der Reaktion ist die Folge einer Adaptation des Systems auf die vorher gegebenen 100- μg -Reize. Alle

Meßwerte zwischen 10^{-3} μg und 10 μg sind mit statistischer Sicherheit voneinander verschieden. Die Fehlervariation (± 3 m) bei 10^{-2} μg TC gibt an, daß hier bereits die EAG-Reizschwelle überschritten ist.

Die Kurve der Kontrollwerte zeigt eine von links nach rechts abfallende Tendenz: je höher die Lockstoffkonzentration war, desto niedriger ist bei den mittleren und höheren Reizkonzentrationen der nachfolgende Kontrollwert. Ob im Kontroll-EAG eine schwache Geruchsreaktion enthalten ist, die bei starken TC-Reizen adaptiert, muß noch untersucht werden.

Auf der Abb. 5a—c sind entsprechend der Abb. 4 die Kontroll- und Testreaktionskurven für die 3 Bombykol-Isomeren aufgetragen. Verdünnungen unter 10^{-5} μg wurden nicht geprüft, da schon in den Verhal-

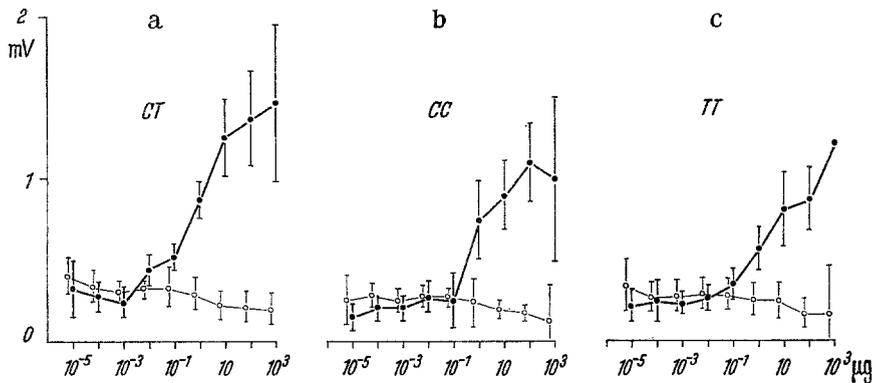


Abb. 5. *Bombyx* ♂ Elektrophysiologie. Abhängigkeit der EAG-Amplitude von der Konzentration verschiedener Bombykol-Isomeren: a cis-trans; b cis-cis; c trans-trans. Die Punkte sind Mittelwerte ± 3 m. Darstellung wie in Abb. 4

tensversuchen die Reizschwellen für diese Stoffe über diesem Wert lagen (vgl. z. B. BUTENANDT, HECKER, HOPP und KOCH, 1961/62; HECKER, 1960). Die EAG-Reizschwellen liegen hier für CT unter 10^{-1} μg (10^{-3} μg ist von 10^{-1} μg signifikant different), für CC und TT unter 1 μg . Unterhalb dieser Werte sind weder aufeinanderfolgende Test-, noch Test- und Kontrollreize voneinander gesichert unterschieden. Eigentümlicherweise liegen die Kurven der Kontrollwerte bei allen drei Isomeren unterhalb der Reizschwelle knapp über den Testkurven. Der von der Abb. 4 bereits bekannte Abfall der Kontrollkurve bei höheren Reizstärken ist auch hier sichtbar. Alle drei Isomerenkurven steigen etwas flacher an, wie die TC-Kurven. Der schlecht gesicherte letzte Anstieg der Kurven läßt es offen, ob mit den benutzten Reizstärken schon ein Plateau erreicht wurde. Die Zahl der Messungen war bei den Isomeren geringer als beim TC.

Die Abb. 6 enthält die Mittelwertskurven der EAGs von Bombykol und den Isomeren oberhalb der Konzentration von 10^{-5} μg . Jetzt wird

deutlich, daß die Reihenfolge der EAG-Wirksamkeiten $TC > CT > CC \cong TT$ ist. Dabei ist TC von allen Isomeren, außerdem ist CT von TT gesichert verschieden, während CT sich nur bei einigen Werten von CC , und CC nirgends von TT statistisch gesichert trennen läßt.

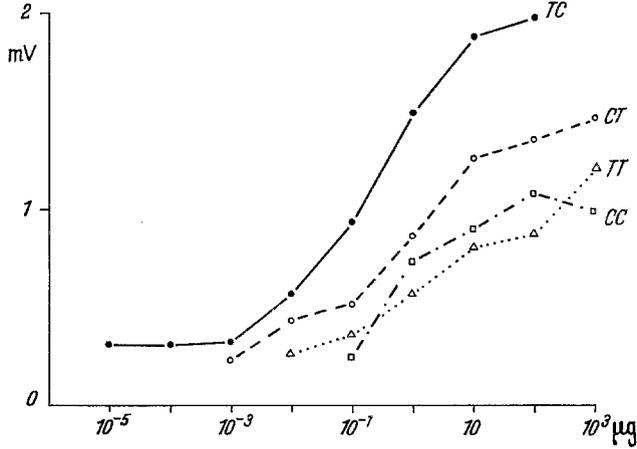


Abb. 6. *Bombyx* ♂. Elektrophysiologie. Abhängigkeit der EAG-Amplitude von der Konzentration der 4 möglichen Isomeren des Hexadecadienols. Zusammenfassung der Meßwerte aus den Abb. 4 und 5

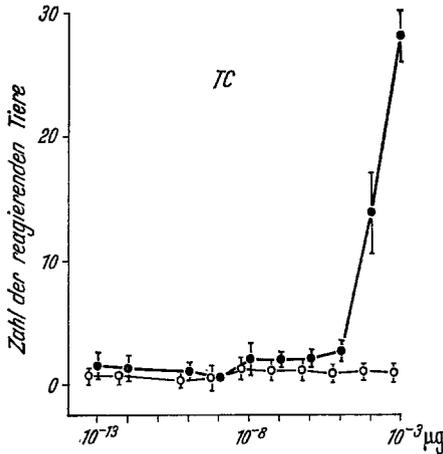


Abb. 7. *Bombyx* ♂ Verhalten. Variation der Reizschwelle (Schwirr-Reaktion) eines Kollektivs von 30 gleichzeitig gereizten ♂♂ in Abhängigkeit von Bombykol steigender Konzentration. Die ausgefüllten Kreise geben die Zahl der auf den Bombykol-Reiz reagierenden Tiere (Ordinate) an, die offenen Kreise gelten für die Reaktion auf den Kontrollreiz (nur Lösungsmittel). Die Meßpunkte sind Mittelwerte ± 3 m (vgl. Abb. 4)

2. Verhaltensreaktionen

Die Kurve der Verhaltensreaktionen auf Bombykol (TC) ist auf der Abb. 7 dargestellt. Von TC 10^{-13} μg aufsteigend findet sich bis zu 10^{-6} μg

keine statistisch gesicherte Differenz der Testreaktion von den vorhergehenden Kontrollreaktionen. Erstmals ist bei $TC = 10^{-5} \mu\text{g}$ die Zahl der Reaktionen von der vorhergehenden Kontrolle gesichert verschieden. Anschließend nimmt die Zahl der reagierenden Tiere schnell zu und erreicht bei $TC = 10^{-4} \mu\text{g}$ etwa 50% und bei $TC = 10^{-3} \mu\text{g}$ fast 100%, d. h. fast alle der 30 Tiere schwirren. In den Versuchen wurden stets alle Tiere gewertet, so daß auch die schon den Kontrollreiz beantwortenden und auch die auf starke Reize nicht reagierenden Tiere in die Auswertung eingehen. Obwohl also bereits auf ein TC-Papier mit $10^{-5} \mu\text{g}$ gesichert mehr Tiere ansprechen als auf das Kontrollpapier, schließen wir uns hier

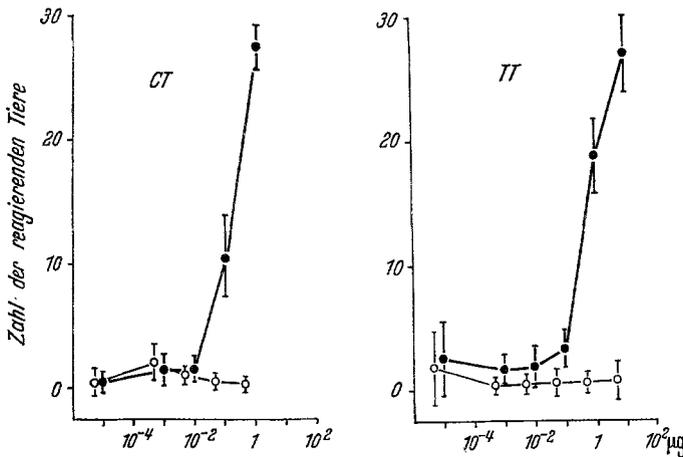


Abb. 8. *Bombyx* ♂ Verhalten. Variation der Reizschwelle (Schwirr-Reaktion) in Abhängigkeit von der Konzentration zweier geometrischer Isomeren des Bombykols (cis-trans und trans-trans, vgl. Abb. 5). Darstellung und Versuchsbedingungen wie in Abb. 7

der bisher üblichen Definition der Verhaltensschwelle als dem Punkt, bei dem 50% aller Tiere antworten, an (BUTENANDT, BECKMANN und HECKER, 1961; BOECKH, KAISLING und SCHNEIDER, 1965). Dieser Punkt ist der Wendepunkt der Kurve (Abb. 7), d. h. das Maximum der Variation der Schwellen aller Tiere, deren Integral hier abgebildet ist. Im Gegensatz zu dieser Darstellung der Variation der Verhaltensschwellen zeigte die Abb. 4 die Zunahme der elektrischen Antwort des Rezeptorsystems bei steigender Reizintensität. Eine dem EAG-Zuwachs vergleichbare Abstufung der Verhaltensreaktionen der einzelnen Tiere wurde von uns nicht untersucht. Direkt vergleichbar sind in den Abb. 4 und 7 nur die Punkte, wo mit Sicherheit die jeweiligen Reizschwellen überschritten sind: $EAG = 10^{-2} \mu\text{g TC}$ (vgl. S. 198); Verhalten = $10^{-4} \mu\text{g TC}$. Wegen der unterschiedlichen Reizgeometrie liegen diese Punkte über einer absoluten Skala jedoch fünf Zehnerpotenzen auseinander (s. Diskussion, Abb. 10).

Die Verhaltensreaktionen auf die Bombykol-Isomeren CT und TT zeigen ein der TC-Kurve entsprechendes Bild (Abb. 8). Die Kurve steigt bei CT zwischen 10^{-2} und $1 \mu\text{g}$ und bei TT zwischen 10^{-1} und $10 \mu\text{g}$ von einem niedrigen Wert auf einen Maximalwert an. Bei TT lassen sich dann noch die 10^{-2} und $10^{-3} \mu\text{g}$ Testwerte von ihren vorhergehenden Kontrollen sichern, wenn sie jeweils zusammengefaßt werden.

Die bisherigen Messungen für CC sind widerspruchsvoll, da sie keine der theoretisch zu erwartenden Integralkurven ergeben. Alle Werte für diese Isomere liegen jedoch im Bereich von CT und TT.

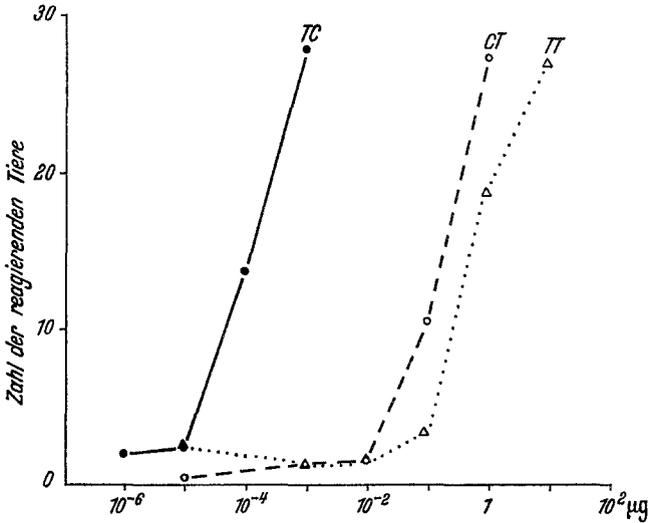


Abb. 9. *Bombyx* ♂ Verhalten. Schwellen der Schwirr-Reaktion bei Reizung mit den 4 Isomeren des Hexadecadienols. Zusammenstellung der Werte aus den Abb. 7 und 8

Die Abb. 9 entspricht der Abb. 6. Hier sind die Verhaltenskurven zusammengefaßt.

Diskussion

Die bisherigen Experimente an *Bombyx* konzentrierten sich auf die Abhängigkeit der Summenreaktion von der Reizintensität im Elektroantennogramm (SCHNEIDER, 1955, 1957, 1962, 1963a und b, 1964; SCHNEIDER u. HECKER, 1956) und im Verhaltensversuch. Die jetzt vorgelegte Arbeit schließt diese Untersuchung an der männlichen Antenne von *Bombyx* ab. Weitere Veröffentlichungen werden sich mit der Funktion einzelner Lockstoffrezeptorzellen befassen (PRIESNER in Vorber.).

Ein wesentliches Ergebnis der vorliegenden Untersuchung ist die Feststellung der Reaktionsschwellen, die auch den Hauptgegenstand der folgenden Diskussion bilden. Um die wahre Lage der Verhaltensschwelle (Abb. 7, Mittel- bzw. Wendepunkt des Kurvenanstiegs: $10^{-4} \mu\text{g}$ TC Papier) mit der wahren Lage der EAG-Schwelle ($10^{-2} \mu\text{g}$ TC Papier) ver-

gleichem zu können, muß man schrittweise vorgehen. Zuerst ist diese zwei Zehnerpotenzen der TC-Konzentration betragende Differenz der TC-Quellen zu beachten. Zusätzlich muß man jedoch folgende Unterschiede in den Reizbedingungen in Rechnung stellen: 1. Reizzeit von 1 sec im EAG, 30 sec im Verhalten; 2. Reizabstand der Lockstoffquelle im EAG 5 cm, im Verhalten 50 cm; 3. Luftmenge pro sec im EAG 0,05 l, im Verhalten 40 l. Aus den unterschiedlichen Werten in (2) und (3) errechneten BOECKH, KAISLING und SCHNEIDER (1965), daß bei gleichem Bombykolgehalt der Reizquelle (Lockstoffgehalt des Papiers) die Bombykolkonzentration der Reizluft am Rezeptor im Verhaltensversuch 1000fach geringer ist als im EAG-Experiment. Diese drei Zehnerpotenzen addieren sich zu den oben genannten zwei Zehnerpotenzen, so daß die gesamte Schwellendifferenz (Verhalten — EAG) am Rezeptor fünf Zehnerpotenzen der Lockstoffkonzentration beträgt.

In unseren Verhaltensversuchen war die Reizschwelle der Tiere bei einer Beladung des Filterpapiers mit 10^{-4} μg TC überschritten. Dieser Wert liegt mindestens 10^4 fach über dem durch BUTENANDT u. Mitarb. ermittelten Schwellenwert. Dort löste noch ein Glasstab, der in eine weniger als 10^{-10} μg TC enthaltende Lösung getaucht und in stehender Luft vor die Antenne gehalten wurde, bei mehr als 50% der männlichen Tiere eine Schwirr-Reaktion aus. Ein Vergleich zwischen den beiden so unterschiedlichen Schwellenwerten wird erst möglich sein, wenn folgende bei der Glasstabmethode bisher unbekannte Größen bestimmt sind: 1. wieviel Bombykol beim Eintauchen des Glasstabes aus der Duftstofflösung aufgenommen wird; 2. wieviel Bombykol während der nicht näher bestimmten Reizzeit vom Glasstab abdiffundiert; 3. welche Auswirkung der sehr geringe Reizabstand in der ruhenden Luft hat; 4. ob die Reizsituation des Tieres in einem abgeschlossenen Glasgefäß von Bedeutung ist. — Schließlich bleibt offen, ob in beiden Arbeitsgruppen identische Verhaltensreaktionen gewertet wurden.

Noch schwieriger als eine Deutung der TC-Schwellenunterschiede in den verschieden angelegten Versuchsserien ist die Deutung der relativen Schwellenunterschiede von TC einerseits und den Isomeren andererseits. Bei Verwendung der Glasstabmethode (BUTENANDT u. Mitarb.) lagen die Isomerenschwellen mindestens um den Faktor 10^8 , in unseren Verhaltens- und EAG-Versuchen nur um den Faktor 10 bis 10^3 über den TC-Schwellen. Das letztere gilt auch für die inzwischen gelungenen Einzelzelleableitungen (PRIESNER, in Vorber.).

Die hier erstmals veröffentlichten Ergebnisse orientierender Abblaseversuche (s. S. 195) ermöglichten auf Grund des Gewichts- und Wirksamkeitsverlustes von Bombykolpapieren eine vorläufige Bestimmung der Anzahl von Molekülen, welche die Reizquelle während der Reizzeit verlassen, und damit eine Berechnung der absoluten Konzentrationen am

Rezeptor. Danach wurde von BOECKH, KAISLING und SCHNEIDER (1965) die absolute Schwellenkonzentration für das Verhalten mit 2×10^2 , für das EAG mit 1×10^7 Molekülen/cm³ Reizluft an der Antenne angegeben (Abb. 10).

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Dünnschnitten durch die als Lockstoffrezeptoren identifizierten Sensilla trichodea von *Bombyx* zeigen zahlreiche Poren von etwa 150 Å Ø in der Haarwand (STEINBRECHT, unveröff.). An diesen Stellen steht vermutlich die Membran der

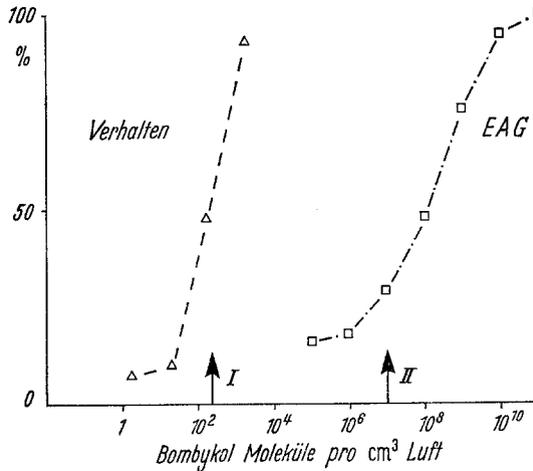


Abb. 10. *Bombyx* ♂. Reizung mit Bombykol. Lage der Verhaltensschwelen-Variation (Integral der reagierenden Tiere) und der EAG-Intensitäts-Kennlinie über einer absoluten Abszisse (vgl. dazu Abb. 4 u. 7). Die Ordinate gibt die Zahl der reagierenden Tiere in Prozent des Kollektivs, bzw. die EAG-Amplitude in Prozent des Maximums an. Der Wendepunkt der Verhaltenskurve (Pfeil I) zeigt an, daß hier mit größter Wahrscheinlichkeit die wahre Reaktionsschwelle überschritten ist. Bei fast 100% der Tiere war das EAG an der mit dem Pfeil II markierten Stelle überschwellig

Rezeptordendriten durch ein System von Microtubuli mit dem Außenmedium in Kontakt. Aus der Summe der Fläche aller Poren auf einem Haar wurde die „rezeptorische Oberfläche“ für eine Bombykolrezeptorzelle von BOECKH, KAISLING und SCHNEIDER (1965) mit $0,27 \mu^2$ errechnet.

Unter Berücksichtigung dieses Wertes, der oben genannten molekularen Konzentration der Reizluft an der Antenne, und der mittleren Geschwindigkeit der Molekülbewegungen ließ sich weiter errechnen, daß bei dem Schwellenreiz (10^7 Moleküle TC/cm³ Luft) im EAG alle Bombykol-Rezeptorzellen jeweils maximal 90 Molekülstöße in dieser sec erfahren. Dabei wurde angenommen, daß die ankommenden Moleküle nicht bereits beim ersten Kontakt mit der ja zum größten Teil nicht aus Poren bestehenden Antennencuticula adsorbiert werden. Im Verhaltensversuch gingen wir von demjenigen Meßwert aus, der an den Wendepunkt fast

heranreicht (s. Abb. 7). Hier beträgt die Molekülkonzentration an der Antenne 2×10^2 Moleküle TC/cm³ Luft. Das bedeutet in der Reizzeit von 30 sec, daß im Durchschnitt auf jede der 40000 Bombykolrezeptorzellen der Sensilla trichodea (SCHNEIDER und KAISLING, 1957) 3×10^{-2} Molekülstöße treffen. So erhalten an der Verhaltensschwelle also nur 1200 der 40000 Zellen je einen Molekülstoß in den 30 sec.

Die Ausgangswerte und der genaue Gang der Berechnungen finden sich bei BOECKH, KAISLING und SCHNEIDER (1965). Die errechneten Größen sind als Näherungswerte zu betrachten, die erstmals einen Aufschluß geben sollen, in welcher Größenordnung von Absolutkonzentrationen der Arbeitsbereich derartiger Lockstoffrezeptoren liegt. Eine Sicherung der absoluten Molekülzahlen durch weitere Abblaseversuche, z. T. unter Verwendung radioaktiv markierten Bombykols, ist in Vorbereitung.

Wie von BOECKH, KAISLING und SCHNEIDER (1965) ausgeführt wurde, sind die Queensubstance-Rezeptoren der Drohne und die Gras-Rezeptoren von *Locusta* im elektrophysiologischen Versuch ähnlich empfindlich wie die Bombykol-Rezeptoren von *Bombyx*. Die dort mit teilweise verschiedenen Methoden ermittelten Zahlen der Molekülstöße bei der Schwellenreaktion sind ungefähr gleich.

Wir haben an der genannten Stelle vermutet, daß für die einzelne Rezeptorzelle mit Wahrscheinlichkeit eine Eintreffer-Reaktion anzunehmen ist. Für die einzelne Pore steht dies schon auf Grund der Größenordnung der von uns festgestellten Molekülzahlen außer Zweifel: selbst wenn, entgegen unseren Berechnungen, an der Verhaltensschwelle mehr als nur ein Einschlag einer TC-Partikel pro Zelle und Sekunde erfolgt, würde ein solches Doppelereignis verschiedene der etwa 1000 Poren des Sinneshaares treffen. Ob auf der anderen Seite die Aktivierung einer Pore genügt, um ein für die Impulsausbildung überschwelliges Rezeptorpotential der Sinneszelle auszulösen, oder ob eine rezeptorische Summation dafür erforderlich ist, läßt sich noch nicht schlüssig beweisen. Auf Grund der von uns an der Verhaltensschwelle ermittelten Zahl von 1×10^{-3} Molekülstößen pro Zelle und Sekunde ist eine Eintreffer-Reaktion auch für die Zelle wahrscheinlich.

Theoretisch sollte es auch möglich sein, diese von uns geforderte und auf nur einen Molekülkontakt mit dem Rezeptor zurückgehende Impulsmeldung oder das dieser vorausgehende Rezeptorpotential an einer einzelnen Zelle elektrophysiologisch zu erfassen. Es bleibt abzuwarten, ob mit verfeinerten Ableitmethoden auch an Chemorezeptoren Ereignisse registriert werden können, die den Miniaturpotentialen an Retinulazellen beim Einschlag einzelner Quanten (SCHOLLES, 1965) vergleichbar sind.

Abschließend ist es nötig darauf hinzuweisen, daß nach den Untersuchungen von NEUHAUS (1953—57) am Hund und von TEICHMANN

(1959) beim Aal der Einschlag einiger Duftmoleküle pro Sekunde und Rezeptorpopulation genügt, um eine Verhaltensreaktion auszulösen. Auch für den Menschen ist, entgegen früheren Annahmen, von STUIVER (1958) eine bis in diesen Grenzbereich reichende Empfindlichkeit postuliert worden.

Zusammenfassung

1. Der Arbeitsbereich des Lockstoff-Rezeptorsystems von *Bombyx mori* ♂♂ wurde in umfangreichen Messungen unter kritischer Bewertung von Kontrollexperimenten bestimmt. Als Reize dienten synthetisches Bombykol sowie dessen geometrische Isomeren.

2. In elektrophysiologischen Versuchen wurde die Amplitude des Antennogrammes (EAG) zum Lockstoffgehalt der Reizquelle in Beziehung gesetzt. Die Reaktion steigt von 10^{-3} bis $100 \mu\text{g}$ an und erreicht hier ein Plateau. EAG-Amplituden auf Reize unter $10^{-2} \mu\text{g}$ waren von Kontroll-EAGs statistisch nicht verschieden.

3. Die ersten, von Kontrollen unterscheidbaren EAG-Reaktionen auf die geometrischen Isomeren des Bombykols lagen für den cis-trans-Stoff bei $10^{-1} \mu\text{g}$, für cis-cis und trans-trans jeweils bei $1 \mu\text{g}$. Die Kennlinien der drei Isomeren zeigen eine flachere Steigung als die des Bombykols. Isomeren-EAGs erreichten auch bei den höchsten von uns benutzten Reizstärken nie die maximale Amplitude des Bombykol-EAGs.

4. Im Verhaltensversuch wurde mit einer gegenüber dem EAG-Experiment veränderten Reizanordnung die Reaktionsschwelle bestimmt. Auf $10^{-5} \mu\text{g}$ Bombykol reagierten bereits mehr Tiere mit Flügelschwirren als auf den Kontrollreiz. Bei $10^{-4} \mu\text{g}$ Bombykol war für die Hälfte, bei $10^{-3} \mu\text{g}$ für fast 100% der Tiere die Schwelle überschritten. Die Verhaltensschwellen für die Isomeren lagen in der gleichen Reihenfolge und in etwa gleichem Abstand über der Bombykol-Verhaltensschwelle wie im elektrophysiologischen Versuch.

5. Unter zum physiologischen Experiment identischen Bedingungen wurden die Bombykol-Reizquellen über Stunden und Tage einem Dauerluftstrom ausgesetzt, und sowohl aus der Gewichts- als auch aus der Wirksamkeitsabnahme die pro Reizezeit (1 sec) abgehende absolute Bombykolmenge extrapoliert. Bei Berücksichtigung der in die Versuchsbedingungen eingehenden physikalischen Größen wurde daraus die Bombykolkonzentration am Rezeptor ermittelt. Sie beträgt an der EAG-Schwelle 1×10^7 Moleküle/cm³ Luft, an der Verhaltensschwelle 2×10^2 Moleküle/cm³ Luft.

Summary

1. The activity-range of the *Bombyx mori* sex-attractant receptors was determined in numerous experiments with critical consideration of con-

trols. The attractants used were synthetic Bombykol and its geometrical isomers.

2. In electrophysiological experiments, antennogram (EAG)-amplitudes were related to the amount of attractant per stimulus source. The reaction increases from 10^{-3} to $100 \mu\text{g}$, where it reaches a plateau. EAGs elicited by an odor source containing less than $10^{-2} \mu\text{g}$ were not significantly different from control-EAGs.

3. Significant EAGs elicited by the Bombykol isomers (cis-trans; cis-cis; trans-trans) began at $10^{-1} \mu\text{g}$; $1 \mu\text{g}$ and $1 \mu\text{g}$, respectively. The isomer-reaction curves rise less steeply than the Bombykol-curve. Isomer-EAGs with the maximum stimulus intensity used by us, never reached the maximum Bombykol amplitude level.

4. The experimental arrangement (geometry) was changed in the behaviour tests. We determined the reaction threshold in these experiments. Fifty percent of the animals reacted at $10^{-4} \mu\text{g}$ of Bombykol. Significant reactions were observed with $10^{-5} \mu\text{g}$, and nearly 100% of the animals reacted with $10^{-3} \mu\text{g}$. The behaviour-threshold elicited by the Bombykol-isomers followed at approx. the same concentration differences and in the same order as in the EAG-experiments.

5. Bombykol sources were exposed to a continuous air stream under conditions simulating the physiological experiments. We determined the loss of weight and physiological efficiency of the sources as a function of time. From these loss values calculations yielded the absolute amount of Bombykol leaving the source per sec. The number of Bombykol molecules at the receptor could then be extrapolated from these figures taking the physical data (geometry of the experiment) into consideration. At the EAG and behaviour thresholds, the air stream contains 1×10^7 and 2×10^2 molecules per cm^3 , respectively.

Literatur

- BLOCK, B. C.: Laboratory method for screening compounds as attractants to gypsy moth males. *J. econ. Entomol.* **53**, 172—173 (1960).
- BOECKH, J., K. E. KAISLING, and D. SCHNEIDER: Insect olfactory receptors. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **30**, 263—280 (1965).
- BUTENANDT, A.: Fettalkohole als Sexual-Lockstoffe der Schmetterlinge. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* Nr. **3**, 187—192 (1962).
- R. BECKMANN u. E. HECKER: Über den Sexuallockstoff des Seidenspinner. I. Der biologische Test und die Isolierung des reinen Sexuallockstoffes Bombykol. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **324**, 71—83 (1961).
- — u. D. STAMM: Über den Sexuallockstoff des Seidenspinner II. Konstitution und Konfiguration des Bombykols. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **324**, 84—87 (1961).
- — — u. E. HECKER: Über den Sexual-Lockstoff des Seidenspinner *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. *Z. Naturforsch.* **14b**, 283/284 (1959).

- BUTENANDT, A.: u. E. HECKER: Synthese des Bombykols, des Sexual-Lockstoffes des Seidenspinners, und seiner geometrischen Isomeren. *Angew. Chem.* **73**, 349—353 (1961).
- M. HOPP u. W. KOCH: Konstitutionsermittlung und Synthese des Bombykols, des Sexual-Lockstoffes des Seidenspinners *Bombyx mori*. S.-B. bayer. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., 5. Mai 1961.
- — — — Über den Sexuallockstoff des Seidenspinners IV. Die Synthese des Bombykols und der cis-trans-Isomeren Hexadecadien-(10.12)-ole-(1). *Justus Liebigs Ann. Chem.* **658**, 39—64 (1962).
- GILBERT, L. I.: *Physiology of growth and development: Endocrine aspects. Physiology of insecta*, vol. I, p. 149—225. New York: Academic Press 1964.
- HECKER, E.: Chemie und Biochemie des Sexuallockstoffes des Seidenspinners (*Bombyx mori* L.). XI. Int. Kongr. Entomol. Wien B **3**, 69—72 (1960).
- HODGSON, E. S.: Chemoreception. *Physiology of insecta*, vol. I, p. 363—396. New York: Academic Press 1964.
- The chemical senses and changing viewpoints in sensory physiology. *Viewpoints Biol.* **4**, 83—124 (1965).
- JACOBSON, M.: *Insect sex attractants*. New York and London: Intersci. Publ. John Wiley & Sons 1965.
- NEUBAUER, W.: Über die Riechschärfe des Hundes für Fettsäuren. *Z. vergl. Physiol.* **35**, 527—552 (1953).
- Die Riechschwelle von Duftgemischen beim Hund und ihr Verhältnis zu den Schwellen unvermischter Duftstoffe. *Z. vergl. Physiol.* **38**, 238—258 (1956a).
- Die Unterscheidungsfähigkeit des Hundes für Duftgemische. *Z. vergl. Physiol.* **39**, 25—43 (1956b).
- Wahrnehmungsschwelle und Erkennungsschwelle beim Riechen des Hundes im Vergleich zu den Riechwahrnehmungen des Menschen. *Z. vergl. Physiol.* **39**, 624—633 (1957).
- SCHNEIDER, D.: Mikro-Elektroden registrieren die elektrischen Impulse einzelner Sinnesnervenzellen der Schmetterlingsantenne. *Industrie-Elektronik (Hamburg)* **5**, 3—7 (1955).
- Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. *Z. vergl. Physiol.* **40**, 8—41 (1957a).
- Electrophysiological investigation on the antennal receptors of the silk moth during chemical and mechanical stimulation. *Experientia (Basel)* **13**, 89—91 (1957b).
- Untersuchungen zum Bau und zur Funktion der Riechorgane von Schmetterlingen und Käfern. *Ber. phys.-med. Ges. Würzb., N. F.* **70**, 158—168 (1961).
- Electrophysiological investigation on the olfactory specificity of sexual attracting substances in different species of moths. *J. Insect Physiol.* **8**, 15—30 (1962).
- Electrophysiological investigation of insect olfaction. *Proc. First Internat. Symposium on Olfaction and Taste*, p. 85—103. Oxford: Pergamon Press 1963a.
- Vergleichende Rezeptorphysiologie am Beispiel der Riechorgane von Insekten. *Jb. der Max-Planck-Ges. Göttingen* 1963b, S. 150—177.
- u. E. HECKER: Zur Elektrophysiologie der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* bei Reizung mit angereicherten Extrakten des Sexuallockstoffes. *Z. Naturforsch.* **11b**, 121—124 (1956).
- u. K. E. KAISLING: Der Bau der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. II. Sensillen, cuticuläre Bildungen und innerer Bau. *Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog.* **76**, 223—250 (1957).
- SCHOLES, J.: Discontinuity of the excitation process in Locust visual cells. *Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol.* **30**, 517—527 (1965).

- STEINBRECHT, R. A.: Die Abhängigkeit der Lockwirkung des Sexualduftorgans weiblicher Seidenspinner (*Bombyx mori*) von Alter und Kopulation. Z. vergl. Physiol. **48**, 341—356 (1964).
- STÜRCKOW, B.: The electroantennogram (EAG) as an essay for the reception of odours by the Gypsy Moth. J. Insect Physiol. **11**, 1573—1584 (1966).
- STUIVER, M.: Biophysics of the sense of smell. Diss. Math.-Nat. Fak. Groningen 1958
- TEICHMANN, H.: Über die Leistung des Geruchssinnes beim Aal (*Anguilla anguilla* L.). Z. vergl. Physiol. **42**, 206—254 (1959).

Prof. Dr. D. SCHNEIDER
MPI für Verhaltensphysiologie
8131 Seewiesen/Obb. über Starnberg