

Das Sterilitätsverhalten von *Forsythia* besteht nun darin, daß alle Kurzgriffel-Blüten untereinander steril sind. Das gleiche gilt von allen Langgriffel-Blüten. Samen werden nur gebildet, wenn eine Kreuzung von Langgriffel-Blüten \times Kurzgriffel-Blüten zustande kommt. Es gelang, die physiologischen Ursachen aufzuklären²³).

- 1) Der gelb gefärbte reife Pollen von L- und K-Blüten keimt in 30proz. Rohrzuckerlösung, wenn 0,1% Borsäure zugesetzt wird. Der weißliche unreife Pollen (aus Knospen) von L- und K-Blüten keimt dagegen ohne Borsäure-Zusatz. Reifer und unreifer Pollen sind also nicht nur in der Farbe, sondern auch physiologisch verschieden.
- 2) Verwendet man für Selbstbestäubungen unreifen Pollen, dann werden Samen gebildet.
- 3) Wäßrige Extrakte aus zerriebenen, reifen Pollen verhindern unreifen Pollen am Auskeimen. Im reifen Pollen müssen also Hemmstoffe enthalten sein. Unreifer Pollen enthält diese Hemmstoffe nicht.
- 4) Im eigenen, wäßrigen Narbenextrakt keimt reifer Pollen nicht aus. Dagegen ist reifer Pollen zur Keimung zu bringen, wenn man ihn in den Narbenextrakt des anderen Blütentyps bringt. Durch die fremden Narbenextrakte werden offenbar die Hemmstoffe des Pollens enzymatisch inaktiviert.

In den oben beschriebenen *Chlamydomonas*-Mutanten standen Testzellen zur Verfügung, die auf kleinste Mengen bestimmter Flavonole in ganz bestimmter Weise reagieren. Durch diese mikrobiologische Methode konnte nachgewiesen werden, daß die Pollenkörner Flavonole enthalten. Extrakte aus unreifen Pollen von L- und K-Blüten enthalten Quercetin, wie mit *qu⁰*-Mutanten (vgl. Übersicht S. 501) festgestellt werden konnte. In Extrakten von reifen Pollen von K-Blüten verlieren normale *Chlamydomonas*-Gameten ihr Kopulationsvermögen. Der Pollen enthält demnach Rutin. Der Hemmstoff des Pollens von L-Blüten hat dagegen keine Wirkung auf irgendeine der bisher bekannten *Chlamydomonas*-Mutanten. Weiter wurde gefunden, daß durch die Einwirkung von Narbenextrakten des fremden Blütentyps auf zerriebenen K-Pollen und auf zerriebenen L-Pollen in beiden Fällen Quercetin enzymatisch entsteht. (Nachweis durch *qu⁰*-Mutante). Es muß also auch der Pollen von L-Blüten ein Quercetin-Derivat enthalten. Nur ist es nicht mit Rutin identisch.

²³) F. Moewus, *Biolog. Zbl.* 69, 181 [1950]; R. Kuhn, I. Löw, *Chem. Ber.* 82, 474 [1949].

Daraufhin wurden Keimversuche mit unreifen Pollen in Lösungen von verschiedenen Flavonolen angestellt. Es ergab sich, daß von 14 geprüften Flavonolen nur 2 die Keimung unterdrückten: Rutin und Quercitrin. Mit großer Sicherheit war daraus zu schließen, daß der Hemmstoff der K-Pollenkörner Rutin, der Hemmstoff der L-Pollenkörner Quercitrin ist. Bei der chemischen Aufarbeitung wurden aus 3,8 g Pollen von K-Blüten 400 mg Rutin isoliert. Aus 4,2 g Pollen von L-Blüten wurden 370 mg Quercitrin gewonnen²³).

Damit ist die Selbststerilität von *Forsythia* physiologisch und biochemisch aufgeklärt: Kurzgriffel-Blüten haben Rutin-haltigen Pollen und in den Narben ein Quercitrin-spaltendes Ferment. Bei Selbstbestäubung unterbleibt die Pollenkeimung, weil Hemmstoff und Ferment nicht zueinander passen. Langgriffel-Blüten haben Quercitrin-haltigen Pollen und in den Narben ein Rutin-spaltendes Ferment. Wieder passen Hemmstoff und inaktivierendes Ferment nicht zueinander. Nur bei den Kreuzbestäubungen (Bild 6) werden die Hemmstoffe, Rutin bzw.

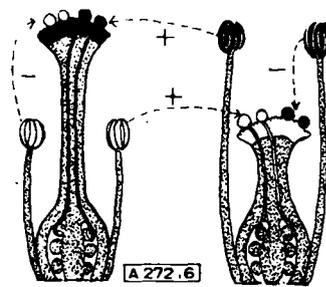


Bild 6. Die Befruchtungsverhältnisse bei *Forsythia intermedia*

Quercitrin, durch die dazugehörigen Fermente inaktiviert. Jetzt können die Pollenkörner auskeimen und die Eizellen befruchten. Unreifer Pollen ist deshalb nicht gehemmt in seiner Keimung, weil er die Vorstufe der beiden Hemmstoffe, nämlich Quercetin, enthält. Die Hemmstoffe werden erst während des Aufblühens synthetisiert. Im Keimversuch, der unter 1) beschrieben ist, hat die Borsäure die Rolle der inaktivierenden Fermente übernommen.

Damit konnte der erste Fall von Selbststerilität aufgeklärt werden. Wieder sind es Farbstoffe und Fermente, die hier regulierend eingreifen. Es ist bekannt, daß die Selbststerilität durch Gene bedingt ist. Die genetische Seite des Problems ist bei vielen selbststerilen Pflanzen (Roggen, Stein- und Kernobst, Klee, Löwenmäulchen, Petunien) bereits eingehend untersucht worden. Es ist anzunehmen, daß auch bei diesen Pflanzen derartige biochemische Prozesse ablaufen, wie sie bei *Forsythia* gefunden wurden. Den Farbstoffen, die überall in den Sexualorganen der Blütenpflanzen vorkommen, muß eine wichtige physiologische Bedeutung für den Sexualakt zugesprochen werden.

Eingeg. am 8. Mai 1950.

[A 272]

Über einen Stoff, der bei der Futterwahl des Kartoffelkäfers eine Rolle spielt

Lockstoffe bei Insekten, I. Mitteilung

Von Prof. Dr. G. HESSE und Dr. R. MEIER. Aus dem chem. Laboratorium der Universität Freiburg/Br.

Es wurde gefunden, daß der Kartoffelkäfer und seine Larve nur das Laub derjenigen Kartoffelsorten fressen, die Acetaldehyd enthalten; dabei scheint es sich vor allem um eine Geschmackswirkung zu handeln. Nach einer besonders entwickelten Untersuchungsmethode wurden die genaueren Einzelheiten bestimmt und auch verwandte Aldehyde systematisch untersucht.

Es gehört zu den merkwürdigsten Erscheinungen in der Lebensweise vieler Insekten, daß sie entweder nur eine einzige (Monophagie), oder nur einige wenige und dann meist nahe miteinander verwandte Pflanzen (Oligophagie) als Nahrung annehmen und eher an Hunger zugrunde gehen, als anderes zu fressen. Der Kartoffelkäfer und seine Larve sind oligophag; nur vier Arten der Gattung *Solanum* bringen ihnen normales Gedeihen vom Ei bis zum fertigen Tier (*S. tuberosum*, *S. marginatum*, *S. rostratum*, *S. melongena*¹). Einige andere *Solanaceen* werden zwar gefressen, aber die Tiere sterben teils an Hunger (*S. demissum*), teils an einer Giftwirkung (*Atropa belladonna*) früher

oder später. Die größte Auswahl grüner Blätter aus anderen Gattungen oder Familien, teils dem Kartoffelkraut zum Verwechseln ähnlich, werden auch von hungernden Tieren nicht angenommen.

Man kann sich kaum vorstellen, daß zum Beispiel die Tomate oder der Klee in ihren Blättern nicht auch alle jene Nahrungstoffe enthalten sollten, die zum normalen Gedeihen notwendig sind. Was aber die Vitamine oder unentbehrlichen Aminosäuren angeht, so gilt in der Ernährungslehre von den höheren Tieren und vom Menschen eine vielseitige Kost als sicherste Garantie der ausreichenden Versorgung. Zudem ist es nicht sehr wahrscheinlich, daß die eine Kartoffelrasse *Solanum tuberosum* sie alle enthalten, die nahe verwandte Wildkartoffel *S. chacoense* aber unvollständig damit versehen sein sollte, denn gerade diese

¹) Diese und einige weitere Angaben entnehmen wir der interessanten Dissertation von Chun-The Chin, *Studies on the physiological relations between the larvae of Leptinotarsa decemlineata Say and some solanaceous plants*. Dissert. Amsterdam; H. Veemann u. Zonen, Wageningen 1950.

Stoffe pflegen weitverbreitet zu sein. Deshalb glauben wir, daß noch viele Pflanzen zur Ernährung des Kartoffelkäfers ausreichend sein müßten, daß ihnen aber etwas fehlt, woran er sie als Nahrung erkennt.

Das Problem der Nahrungsspezialisten ist unlösbar verbunden mit der Frage nach dem Erkennen der richtigen Futterpflanze. Unser Fuchsschmetterling (*Vanessa urticae*), dessen Raupen fast ausschließlich Brennesselblätter fressen, ist weder mit Taubnessel noch mit Erdbeerblättern zu täuschen, die beide seiner Nahrung zum Verwechseln ähnlich sehen. Ein optischer Eindruck kann seine Wahl nicht leiten. Ebenso verschmäht der Kartoffelkäfer die Blätter von *Solanum demissum* oder *S. cha-coense*, die auch ein botanisch gebildeter Mensch von Kartoffelblättern kaum unterscheiden kann. Er nimmt andererseits die ganz anders aussehenden Kartoffelknollen, zu Scheiben geschnitten, als Nahrung an. Diese Beobachtung schließt auch Farbe, Feuchtigkeit und die Beschaffenheit der Oberfläche als leitende Prinzipien aus. Es bleibt nur noch übrig, einen chemischen Sinn (Geruch oder Geschmack) anzunehmen, was auch schon frühzeitig vermutet wurde.

Wir glaubten nach den zunächst noch spärlichen biologischen Beobachtungen, daß ein und derselbe chemische Reiz die Käfer zum Anfliegen der Futterpflanze, zum Fressen und zur Eiablage lockt. Unter dieser Voraussetzung wurde die Arbeit begonnen.

Beweise für die Existenz eines chemischen Reizes

Zum Nachweis der Lockwirkung wurde Preß- oder Kochsaft von Kartoffellaub verwendet. Ein wesentlicher Unterschied zwischen kalt gewonnenen oder kurz aufgekochten Auszügen wurde nicht bemerkt. Ein flaches Holzkästchen (20:40 cm), das mit einer Glasplatte abgedeckt war, wurde durch 2 Scheidewände in 3 gleichgroße Kammern unterteilt; in jeder Wand blieb aber ein Loch von 1 cm Durchmesser als Durchschluß für die Käfer. Wurden in die mittlere Kammer 10 Käfer, in eine der seitlichen Abteile ein Uhrglas mit einigen Tropfen Kartoffelsaft gebracht, so befanden sich nach etwa einer Stunde 9 Käfer beim Lockstoff, einer war im mittleren Abteil zurückgeblieben. In der leeren dritten Kammer fand sich aber kein einziger Käfer.

Schon bei diesem Versuch wurden wir darauf aufmerksam, daß sich die Ergebnisse nur unter saubersten Bedingungen reproduzieren lassen. Als bei der Wiederholung die seitlichen Kammern vertauscht wurden, verteilten sich die Käfer gleichmäßig über alle 3 Räume. Es war offenbar so viel Lockstoff vom ersten Versuch zurückgeblieben, daß nun das ganze Kästchen damit „infiiziert“ war. Es gelingt auch nicht, den Geruch aus dem Holz in kurzer Zeit wieder zu entfernen. Wir haben deshalb später nur noch in Glasgefäßen getestet, die nach jedem Versuch mit Permanganat-Lösung sorgfältig abgewaschen wurden.

Erwartungsgemäß frißt der Kartoffelkäfer andere Blätter, die er sonst unbeachtet läßt, wenn sie entweder einige Zeit in Kartoffelsaft eingestellt (Infiltration) oder damit bestrichen wurden. Sein Wahlvermögen, nur durch den Duft oder Geschmack der Kartoffel geleitet, wird dadurch getäuscht und er wird polyphag. Wie weit so behandeltes fremdes Material zu seiner Ernährung ausreicht, ob es insbes. die gesamte Entwicklung vom Ei bis zum fertigen Tier ermöglicht, soll Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Der Test

Als Test bei der Isolierung der chemischen Substanz, von der die spezifische Wirkung ausgeht, ist die Anlockung wenig geeignet. Da Fernwirkung in ihrem Wesen liegt, verlangt sie große Gefäße; diese benötigen viel Raum und sind schwer sauber zu halten. Nachdem wir gefunden hatten, daß das Wahlvermögen des Kartoffelkäfers ebenso klar darin zum Ausdruck kommt, ob er ein vorgelegtes Futter frißt oder ablehnt, haben wir dieses Verhalten zur Grundlage unserer Untersuchung gemacht. Man brauchte nur geeignete Blätter, die normalerweise nicht befressen werden, mit den Lösungen zu tränken oder zu bestreichen und nach einer bestimmten Zeit den Erfolg durch Auszählen der Fraßstellen abzulesen. Es ließ sich leicht zeigen, daß selbst Hunger die Tiere nicht dazu bringt, in ein fremdes Material sichtbare Löcher zu fressen, wenn der spezifische „Fraßstoff“ darin fehlt.

Bei der Durchführung²⁾ ergaben sich aber noch viele Schwierigkeiten. Die Infiltration ist zeitraubend und für eine quantitative Verwertung ungeeignet, denn ihr Erfolg hängt zu stark von der Transpiration und damit von vielen äußeren Umständen wie Temperatur, Dauer, Luftfeuchtigkeit, Belichtung, Zustand der Schnittstelle ab. Das Bestreichen wird dadurch problematisch, daß die Oberfläche von Blättern nie gleichmäßig benetzbar ist, die Lösung daher zu Tropfen zusammenfließt und andere Stellen unbenetzt bleiben. Abhilfe brachte die Verdickung der Lösungen mit Gelatine. Schließlich wurde gefunden, daß man auf ein pflanzliches Trägermaterial ganz verzichten kann, wenn man einfach dünne Blattgelatine mit den Lösungen tränkt. Verwendet man hierzu Kartoffelsaft, so wird sie von den Käfern reichlich gefressen. Mit Wasser angefeuchtete Gelatine wird wie jedes andere fremde Material gelegentlich „probiert“, es kommt aber nur in seltenen Fällen zu einer sichtbaren Fraßstelle. Wir haben Ursache, selbst diese Ausnahmen noch mit versehentlich verschlepptem Fraßstoff in Zusammenhang zu bringen. Die Gelatine ließ sich nicht durch Papier ersetzen.

In bedeckte Petrischalen von 9 cm Durchmesser brachten wir je 3 Streifen dünne Blattgelatine (3:15 mm), die in der Lösung angequollen war. Da die Käfer nur an freien Rändern fressen, wurden diese Streifen so übergeschlagen, daß ihre Enden aufeinanderliegen und sich in der Mitte ein Bogen mit freiliegendem Rand bildet. In jede Schale kamen 6 Käfer, die vorher 1 bis 2 Tage gehungert hatten. Die Tiere waren kurz vorher im Freiland gesammelt worden; nur lebhaftere Käfer wurden verwendet, und jeder nur einmal, um eine Gewöhnung auszuschließen. Die Temperatur muß mindestens 19° C betragen; über 25° sind wir nicht gegangen. Verschiedene Konzentrationen wurden stets in getrennten Schalen geprüft. Eine vollständige Testserie bestand meist aus 60 Schalen mit 360 Käfern; von diesen waren 10 als Kontrollen mit dest. Wasser, die übrigen mit nach Zehnerpotenzen abgestuften verschiedenen Konzentrationen versehen.

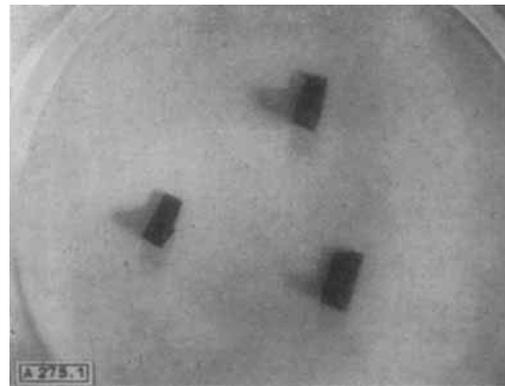


Bild 1
Schale vor dem Versuch
Beleuchtung von rechts. Am Schattenwurf erkennt man, daß die Gelatinestreifen übergeschlagen sind

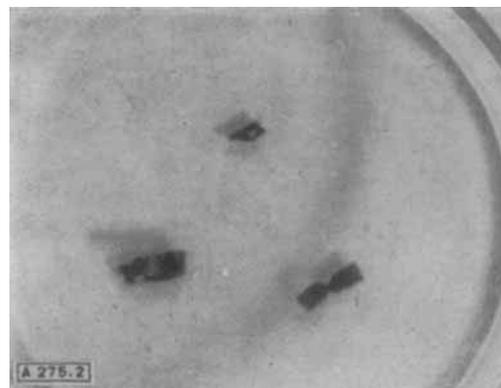


Bild 2
Schale mit Fraßspuren
Der obere Streifen ist fast vollständig gefressen. Der Streifen rechts unten ist aufgebogen, damit die Fraßstelle, die genau im Bogen liegt, besser zu sehen ist

Gewertet wurde die Zahl der nach 4 Stunden angefressenen Streifen. Die höchste Ziffer, die für eine bestimmte Konzentration denkbar ist, ist also 30 (10 Schalen mit je 3 Streifen).

²⁾ Bei der Ausarbeitung des Testes hatten wir uns anfänglich der Beratung und Hilfe von Herrn Dr. H. Mörcke zu erfreuen, dem wir herzlich danken möchten.

Häufig wird allerdings ein Teil der Proben von den herumlaufenden Käfern aufgebogen und flach gelegt; sie scheiden damit aus der Konkurrenz aus. Nicht berücksichtigt wurde auch, daß gerade bei den erfolgreichen Versuchen viele Streifen mehrfach angefressen worden sind; sie wurden bei der Beurteilung doch nur mit 1 gewertet, denn in den meisten Fällen läßt sich die Zahl der Angriffe nachher nicht mehr sicher feststellen.

Es wäre zweifellos korrekter und auch viel eindrucksvoller, wenn die gefressene Fläche oder Substanzmenge bei der Auswertung berücksichtigt würde. Diese ist aber viel schwieriger festzustellen. Da unser einfaches Verfahren, obwohl es stark zu unseren Ungunsten arbeitet, sehr eindeutige Ergebnisse liefert, haben wir uns vorerst damit begnügt.

Extrakte aus *Solanum tuberosum* (Speisekartoffel)

Aus der Beobachtung, daß sowohl Preßsäfte als auch Kochsäfte aus dem Laub der Speisekartoffel den „Fraßstoff“ enthalten, geht bereits hervor, daß er kochbeständig ist. Es zeigte sich weiter, daß der Wasserdampf beim Destillieren einen großen Teil der wirksamen Substanz mitnimmt. Dampft man einen Preßsaft, zuletzt im Unterdruck, bis fast zur Trockne, so ist der größere Teil der Wirksamkeit in dem farblosen Destillat enthalten.

Der Rückstand zeigt dann immer noch positive Fraßwirkung im Gelatinetest. Seine wirksame Substanz läßt sich aus der filtrierten wäßrigen Lösung mit Bleiacetat ausfällen und nach dem Zerlegen der Bleifällung mit Schwefelwasserstoff in Äther aufnehmen. Da es sich hier aber um eine nicht flüchtige Substanz handelt, die für eine Fernwirkung kaum in Frage kommt, da ferner die Tests weniger stark positiv waren wie in den Wasserdampfdestillaten, haben wir in dieser Richtung nur orientierende Versuche unternommen. Auf *Solanin-t* geht die Wirkung jedenfalls nicht zurück, wovon wir uns überzeugt haben.

Das Wasserdampfdestillat gibt mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin eine orangefarbene Fällung von Carbonyl-Verbindungen. Ob sie den wirksamen Stoff enthält, läßt sich allerdings nicht prüfen, da sich Dinitro-phenylhydrazon selbst durch halbkonzentrierte Mineralsäuren nicht wieder spalten lassen. Wir stellten deshalb aus neuem Destillat ein rohes Semicarbazon her, trennten es von anderen organischen Stoffen und zerlegten es wieder mit verdünnter Schwefelsäure. Als wir nun die regenerierten Carbonyl-Verbindungen mit Wasserdampf überdestillierten, hatte das Destillat im Fraßtest eine sehr hohe Wirksamkeit. Es gelang sogar, damit die Blätter einer sonst stets verschmähten *Solanum demissum*-Linie anfällig gegen den Kartoffelkäfer zu machen (s. unten). Zur Reindarstellung und Charakterisierung der Carbonyl-Verbindungen war das Semicarbazon wiederum nicht brauchbar, weil unter den vorliegenden Bedingungen höchster Verdünnung die Verluste zu hoch sind und sich nebenbei stets eine erhebliche Menge Acetyl-semicarbazid bildet.

Im Sommer 1947 arbeiteten wir etwa 15 kg frisches Kartoffelkraut auf. Es wurde im Wolf zerkleinert, abgepreßt und der Saft so lange destilliert, bis eine Probe des Destillats mit Dinitrophenylhydrazin keine Trübung mehr gab (300 cm³). Dann wurde das gesamte Destillat mit diesem Reagens (0,6-proz. Lösung in 1 n Salzsäure) gefällt und die erhaltenen Hydrazone abfiltriert (310 mg).

Die chromatographische Reinigung aus Essigester an gesäuertem Aluminiumoxyd gab folgende Bilanz:

Unlöslicher Rückstand	7,0 mg
1. Zone	13,8 mg
2. Zone	7,4 mg
3. Zone	4,0 mg
4. Zone	7,8 mg
Durchlauf	263,0 mg
	<u>303,0 mg</u>

Die unterste Zone und der Durchlauf (87% der Gesamtmenge) wurden zweimal aus Essigester und zweimal aus Alkohol umkrystallisiert. So wurden hellgelbe Blättchen erhalten, Schmp. 165°. Zur Analyse wurden sie nochmals bei 100–110° unter 0,001 mm Druck sublimiert und stimmten dann auf das Derivat von Acetaldehyd.

$C_8H_8O_4N_4$	Ber. C 42,80	H 3,58	N 24,99
	Gef. 43,60	3,70	25,67; 25,69

Die Identität konnte überzeugend durch das Studium der allotropen Umwandlungen unter dem Heizmikroskop nach

Kofler gesichert werden, die genau einem synthetischen Präparat von Acetaldehyd-dinitrophenylhydrazon entsprachen.

Die Krystallisation der kleinen Nebenfraktionen aus dem Chromatogramm war so verlustreich, daß wir bei ihnen nicht zu reinen Stoffen vordringen konnten.

Versuche mit *Sol. chacoense* und *Sol. acaule*

In den Anden und im Gebiete des Gran Chaco in Südamerika, wo die Stamm-pflanze unserer Kartoffeln wuchs und wo auch der Kartoffelkäfer zu Hause ist, gibt es eine Reihe von wilden Kartoffelarten und -Rassen. Sie unterscheiden sich sehr stark in ihrer Anfälligkeit gegen diesen Schädling. Die Züchtungsforschung hat nun wiederum aus diesen Wildformen besonders resistente und besonders anfällige Stämme ausgelesen, um dem Problem der wechselnden Resistenz so überaus ähnlicher Pflanzen von dieser Seite her näherzukommen. Mit zwei in dieser Hinsicht extremen Formen konnten wir einige Versuche anstellen³⁾.

Von der resistenten Wildkartoffel *Solanum chacoense* haben wir 15 kg frisches Kraut verarbeitet. Die Menge und das Verfahren entsprachen vollkommen dem Versuch mit *Solanum tuberosum*. Aber noch nicht einmal die ersten Tropfen des Destillates gaben mit dem Dinitro-phenylhydrazin-Reagens eine Trübung, und damit war die Gegenwart von Acetaldehyd (und anderer Carbonyl-Verbindungen) in diesem Material ausgeschlossen. Im Gegensatz dazu gaben Blätter der stark anfälligen *Solanum acaule*, die uns nur in geringer Menge zugänglich waren, eine auffallend starke Fällung von Dinitro-phenylhydrazonen im Wasserdampf-Destillat. Auch diese Versuche sprechen dafür, daß die Anfälligkeit an das Vorhandensein flüchtiger Carbonyl-Verbindungen im Blatt gebunden ist.

Die Resistenz von *Solanum demissum*

In ihren Arbeiten über die Resistenz der Wildkartoffel *Solanum demissum* haben *R. Kuhn* und Mitarbeiter⁴⁾ als Ursache das reichliche Vorkommen eines Alkaloids in den Blättern und Trieben festgestellt, das durch seinen schlechten Geschmack den Käfer und seine Larve vom Befraß abhält. Durch Infiltration mit diesem Alkaloid *Solanin d* konnten auch gewöhnliche Kartoffelblätter geschützt werden. Das gewöhnliche *Solanin t* hat auch in der gleichen hohen Konzentration diese Wirkung nicht.

Es gibt also zweifellos eine Resistenz, die auf „Vergällung“ beruht, wie *Kuhn* sich ausdrückt. Natürlich war es denkbar, daß auch die von uns untersuchte *Sol. chacoense* nicht wegen der Abwesenheit eines Fraßstoffs verschont wird, sondern einfach, weil sie schlecht schmeckt. Diese Annahme liegt sogar nahe, denn verschieden anfällige Stämme von *Sol. chacoense* sind am Geschmack durchaus zu unterscheiden⁵⁾. Sie ist aber widerlegt, wenn es gelingt, resistente *chacoense*-Blätter durch Infiltrieren mit einem Fraßstoff anfällig zu machen.

Wir haben diesen Versuch mit der Lösung unternommen, die aus gewöhnlichem Kartoffellaub über die Semicarbazone erhalten worden war (s. oben). Ein Blatt von einer hochresistenten *chacoense*-Pflanze wurde in diese Lösung eingestellt und das Aufsaugen durch mäßiges Abpumpen der Luft im Exsikkator beschleunigt. Dann wurden 2 Fiederblättchen davon zusammen mit einem unbehandelten Fiederblatt der gleichen Pflanze den Käfern angeboten. Aus Bild 3 geht hervor, daß die infiltrierten Blätter jetzt stark gefressen werden, während das unbehandelte (rechts) gleichzeitig ganz unbeachtet blieb.

Resistenz kann also 2 ganz verschiedene Gründe haben: das Fehlen eines Fraßstoffes (*Sol. chacoense*) oder die Gegenwart eines abwehrenden Stoffes, der zudem für die Tiere giftig sein kann (*Sol. demissum*).

³⁾ Dem Max Planck-Institut für Züchtungsforschung, Zweigstelle Ladenburg, insbes. Frl. Dr. M. Torka danken wir für die Überlassung des wertvollen Materials.

⁴⁾ *R. Kuhn* u. *I. Löw*, Chem. Ber. 80, 406 [1947], vgl. diese Ztschr. 60, 83 [1948]; *R. Kuhn* u. *A. Gauhe*, Z. Naturforsch. 2B, 407 [1947].

⁵⁾ Nach Mitteilung von Frl. Dr. M. Torka.

Acetaldehyd und seine Derivate

Der Hauptbestandteil der wirksamen Fraktion gewöhnlicher Kartoffelblätter ist Acetaldehyd. Es bleibt noch festzustellen, ob dieser der Träger der Wirkung ist oder ob sie etwa einem der anderen Stoffe zukommt, die zusammen 12–13% der flüchtigen Carbonyl-Verbindungen ausmachen.

Gleich der erste Versuch, den wir mit unserer Testmethode mit Lösungen von reinem Acetaldehyd (Kp 22°, Mittelfraktion) anstellten, ergab eine eindeutige Bevorzugung vor der Kontrolle

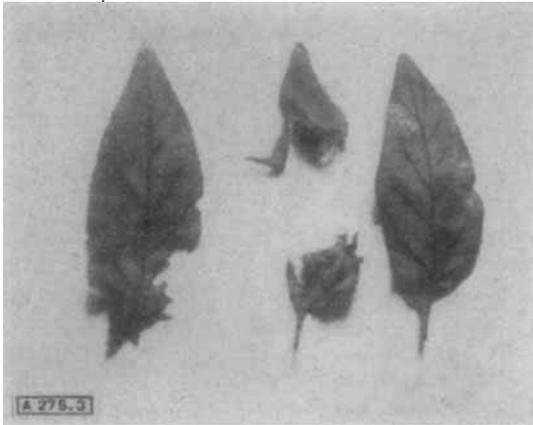


Bild 3
Fraßspuren an *Solanum chacoense*
nach Infiltration mit „Fraßstoff“ aus *Solanum tuberosum*. Das rechte Blatt ist unbehandelt

mit destilliertem Wasser. Zugleich zeigte sich eine starke Abhängigkeit von der Verdünnung in dem Sinne, daß starke (ca. 1proz.) Lösungen eher abschreckend wirken, etwa bei 0,01 bis 0,001% die positive Wirkung anfängt und bei weiterer Verdünnung stark ansteigt. Ähnliches hatten wir auch am Kartoffelpreßsaft beobachtet, da die aus dem Semicarbazon regenerierte Lösung sich kräftiger zeigte als die Ausgangslösung, aus der sie erhalten war. Ihre Volumina waren von gleicher Größenordnung, aber wegen der Reinigungsverluste mußte die gereinigte Lösung wesentlich weniger Fraßstoff enthalten. Fortan wurden daher von jedem Stoff ganze Verdünnungsreihen zur Prüfung angesetzt.

Acetaldehyd

Nr.	t	p	Kontrolle	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
1	23°	741	2	7			16						
2	23°	733	1		8	12	17	12	13				
3	23°	744	4				16	20	12	13	11		

Trotz der Auswertung der Teste zu unseren Ungunsten ergibt sich klar eine starke Bevorzugung der mittleren Verdünnungen, die bei 10⁻⁶ bis 10⁻⁷ g/l ein flaches Maximum erreicht und dann sehr langsam abfällt. Da ein zehnmilliardstel Gramm im Liter noch eindeutig empfunden wird, erklärt sich die Beobachtung, daß auch die Mutterlaugen aus der Hydrazon-Fällung noch Fraßwirkung zeigen. Ebenso mußte man von allen Derivaten des Acetaldehyds, die mit diesem im Gleichgewicht stehen oder durch Hydrolyse gespalten werden können, Fraßstoffwirkungen erwarten.

Als erstes prüften wir den Paraldehyd. Um ihn frei von Acetaldehyd zu erhalten, wurde das Handelspräparat zweimal mit Wasser ausgeschüttelt und nach dem Trocknen durch eine gute Kolonne destilliert. Mit der Mittelfraktion (Sp. 121,5°) wurde die Reinigung wiederholt und dann die Lösungen frisch angesetzt.

Es ergibt sich die erwartete Fraßstoffwirkung in der gleichen Größenordnung wie beim Acetaldehyd, nur ist das Maximum

Paraldehyd

Nr.	t	p	Kontrolle	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹²	10 ⁻¹³	10 ⁻¹⁴	10 ⁻¹⁵
4	24°	740	2		18		15		6		13						5	
5	25°	739	3	14		20		13		8		12						

deutlich nach höheren Konzentrationen hin verschoben (10⁻³ bis 10⁻⁴ g/l). Dies ist zu erwarten, wenn nicht der Paraldehyd selber, sondern erst der daraus gebildete Acetaldehyd der wirksame Stoff ist.

Die hohen Werte bei 10⁻¹² und 10⁻¹³ könnten auf einer Unsauberkeit beim Ansetzen der Lösungen beruhen, da in der Anfangszeit unsere Vorichtsmaßnahmen noch nicht so durchgebildet waren wie später. Es ist außerordentlich schwer, die hier in Betracht kommenden Spuren auszuschließen, wo mit Acetaldehyd gearbeitet wird.

Metalddehyd wurde in der käuflichen Form, als Meta-brennstoff, verwendet. Da er in Wasser kaum löslich ist, wurde er fein gepulvert mit Wasser geschüttelt. Von dieser Stammlösung wurden die angegebenen Verdünnungen hergestellt. Sie sind also mit den anderen Tabellen, die sich alle auf Gramm im Liter beziehen, nicht ohne weiteres vergleichbar.

Metalddehyd

Nr.	t	p	Kontrolle	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
6	25°	738	0		3		3		6		5		4
7	24°	739	2	14		5		6		7		1	

Auch hier ist zweifellos eine Fraßwirkung vorhanden.

Acetaldehyd-semicarbazon wurde dreimal aus 96proz. Alkohol umkristallisiert und dann noch im Vakuum sublimiert:

Nr.	t	p	Kontrolle	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
8	23°	741	1	13		11		10		9		10	
9	22°	746	1		14		12		13		7		9

Das Maximum der Wirkung ist gegenüber dem Acetaldehyd wieder nach höheren Konzentrationen hin verschoben, zugleich aber flacher und breiter geworden. Das gleiche sieht man bei der Bisulfitverbindung:

Nr.	t	p	Kontrolle	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
10	21°	743	1		10		11		11		13		6
11	22°	741	2	7		13		10		7		7	

Acetaldehyd-diäthylacetal wurde über eine Kolonne destilliert, mit Wasser ausgewaschen und nach dem Trocknen fraktioniert. Von dem konstant bei 101,5° übergehenden reinen Acetal wurde eine Mittelfraktion verwendet:

Nr.	t	p	Kontrolle	1	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹¹	10 ⁻¹²	10 ⁻¹³	10 ⁻¹⁴
12	22°	743	1	1	4	7	7	8									
13	24°	741	1			15	13	16	14	12							

Die beiden Versuche dieser Serie, die an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt wurden, zeigen eine sehr verschiedene Reaktionsbereitschaft der Tiere. Dies mag zu einem Teil auf die höhere Temperatur bei Versuch 13 zurückgehen, aber wohl kaum ausschließlich. Im Einfluß des Luftdrucks, der auf allen Versuchsprotokollen vermerkt ist, läßt sich noch weniger eine Regel erkennen. Die Luftfeuchtigkeit konnten wir über die viele Stunden dauernden Versuche nicht konstant halten, sie wurde daher auch nicht bestimmt. Man muß sich wohl bei sinnesphysiologischen Versuchen mit solchen Unterschieden an verschiedenen Tagen abfinden und deshalb bewußt sein, daß nur die Zahlenwerte einer Versuchsserie streng miteinander vergleichbar sind. Trotz der großen „Fraßwut“ der Käfer wurden die Kontrollen in Versuch 13 aber nicht stärker befressen als sonst auch.

Das Acetal zeigt noch stärker als die anderen Derivate ein flaches und breites Maximum, das hier über 8 Zehnerpotenzen mit fast unverminderter Stärke anhält. Es ist möglich, daß dies mit der ständigen Bildung von Acetaldehyd während der Versuchszeit zusammenhängt. Seine Konzentration durchläuft daher in jeder Probe die verschiedensten Werte, die bei der einen Acetal-Verdünnung früher, bei der anderen später das Optimum erreichen und so nacheinander zu einem starken Befraß führen müssen.

Die Spezifität der Wirkung

Es schien uns wissenswert, ob die nachgewiesene Wirkung des Acetaldehyds auf die Geschmacksorgane des Käfers spezifisch ist, oder ob andere niedere Aldehyde oder Ketone sie

auch zeigen. Aus der großen Zahl der Möglichkeiten haben wir uns auf drei Beispiele beschränkt, die in ihren chemischen Eigenschaften am ehesten mit dem Acetaldehyd verwechselt werden könnten, um damit zugleich die analytische Arbeit weiter zu sichern.

Käuflicher Formaldehyd (Merck) wurde ohne weitere Reinigung verwendet:

Nr.	t	p	Kontrolle	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
14	23°	746	2	3		1		2		1		1	
15	21°	743	1		1		2		2		1		1

Propionaldehyd wurde durch zweimalige fraktionierte Destillation über eine Vigreux-Kolonne gereinigt. Beide Male ging er konstant bei 49° über. Für den Versuch wurde eine kleine Mittelfraktion der zweiten Destillation verwendet:

Nr.	t	p	Kontrolle	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
16	25°	738	4		5		5		4		3		3
17	24°	740	0	1		3		3		2		1	

Aceton wurde nur destilliert:

Nr.	t	p	Kontrolle	10	1	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸
18	21°	736	0	5		3		0		2		1	
19	21°	737	2		2		3		1		4		0

In keinem von diesen drei Beispielen wurde eine statistisch gesicherte Bevorzugung der Lösungen vor den Kontrollen beobachtet. Die geringe Erhöhung bei Versuch 17 und 18 könnte auf eine minimale Verunreinigung der Präparate mit Acetaldehyd zurückgehen.

Versuche zur Anlockung des Kartoffelkäfers mit Acetaldehyd und seinen Derivaten

In dem Wunsche, die Abwehr des Kartoffelkäfers mit Streu- oder Spritzgiften spezifischer und ökonomischer zu machen, haben wir die Anlockung der Tiere durch die im Fraßtest wirksamen Verbindungen untersucht. Es bestand der Plan, den Giften geeignete Derivate des Acetaldehyds zuzusetzen, um den Schädling an die vergifteten Stellen zu locken. Das Ergebnis war aber enttäuschend.

So wurden in dem Trümmergelände rund um das chemische Institut 2 Bezirke von je 5 m² bezeichnet und in einem davon ein Filtrierpapierstreifen 3:20 cm aufgehängt, der mit seinem Ende in eine 10⁻⁶-prozentige Lösung von Acetaldehyd eintauchte. Der andere blieb frei. Dann wurden im Umkreis von 100 m² 40 Käfer verteilt. Innerhalb 6 Stunden fanden sich 2 Käfer in dem Bezirk mit dem Lockstoff ein, jedoch nicht am Papier, während in dem anderen Bezirk kein Käfer gefunden wurde. Wir halten dies Ergebnis nicht für gesichert. — Ähnlich verliefen andere Versuche mit imprägnierten Wattebäuschen am Rande eines Kartoffelbestandes.

Ist die Fernwirkung des Aldehyds schon dort schwach und zweifelhaft, wo eine Konkurrenz von *Solanaceen* nicht besteht, so ist sie in der Nähe von Kartoffelpflanzen praktisch Null. An eine wirksame Anlockung durch „parfümierte“ Giftbrühen am Feldrand oder im Feld ist kaum zu denken. Es ist noch nicht untersucht, ob sich das Verhalten der Tiere mit ihrem Alter oder der Jahreszeit ändert und sie etwa nur in einer begrenzten „Schwärmzeit“ dem Reiz nachgehen.

Lockwirkung und Fraßwirkung

Viel wahrscheinlicher scheint uns aber der Schluß, daß die Anlockung zur Eiablage, die den erwachsenen Käfer zum Anfliegen einer Kartoffelpflanze führt, und der Reiz zum fortge-

setzten Fressen über verschiedene Sinne gehen. Mit menschlichem Maß gemessen, würde man ersteren als Geruch, letzteres als Geschmacksempfindung bezeichnen. Zur Aufnahme eines Geschmacksreizes gehört allerdings, daß eine gewisse Menge der Substanz gefressen worden ist. Tatsächlich kann man beobachten, daß die Käfer an beinahe jedem Material „versuchsweise“ beißen: an Blättern, Stengeln, Gelatine, Papier, Holz — sogar an Glas und Metall. Aber nur, wenn dann der spezifische Reiz empfunden wird, setzen sie das Beißen fort: sie fressen. Acetaldehyd ist ein Fraßstoff. Es scheint uns sicher, daß daneben noch ein Lockstoff existiert, der als Geruch von weitem empfunden wird und das Auffinden der Futterpflanze erleichtert. Die beiden spezifischen Reize können durchaus auf verschiedene Stoffe zurückgehen. Hierfür spricht auch folgendes: an vielen Tomatenrassen findet man oft den Anflug von Käfern, selten aber einen wesentlichen Befraß.

Der Geschmack scheint bei diesen Tieren eine andere Rolle zu spielen, als wir es gewohnt sind. Die Beobachtung, daß sie durchaus zuträgliches Futter trotz Hunger verschmähen, wenn es den spezifischen Geschmacksstoff nicht enthält, kann man so verstehen, daß sie erst durch den Reiz dieses Stoffes zum Fressen angeregt werden müssen. Der Hunger wäre dann kein von innen heraus entstehendes Gefühl, sondern sie müssen durch einen Reiz von außen daran erinnert werden, daß sie fressen müssen — sonst unterbleibt es und sie gehen zugrunde. Monophage und oligophage Tiere sind solche, die nur durch einen bestimmten Geschmacksstoff zum Fressen gebracht werden.

Die Larve des Kartoffelkäfers

Wenn die Frage nach dem ersten Befall eines Bestandes geklärt werden soll, dann kann das Verhalten der Larven außer Betracht bleiben, denn sie wandern nicht. Andererseits richten sie den größeren Schaden an, und für die Massenvermehrung ist das Gedeihen der Larven von ausschlaggebender Bedeutung.

Die Fraßgewohnheiten der Larven waren in allen Fällen, in denen wir sie untersucht haben, denen der Käfer genau gleich. Auch sie fressen nur einige *Solanaceen*; sie nehmen unter den Kartoffelrassen die gleichen Sorten aus wie die Käfer und auch sie können durch Kartoffelsäfte oder unsere künstlichen Fraßstoffe dazu gebracht werden, alle möglichen Materialien einschließlich Gelatine reichlich zu fressen. Nach Abschluß dieser Arbeit erhielten wir durch die Dissertation von *Chun-The Chin*¹⁾ Kenntnis von ausgedehnten biologischen Untersuchungen über das Verhalten der Larven gegenüber verschiedenen Futterpflanzen. Wir entnehmen ihr, daß auch diese Untersuchungen dazu ausgeführt wurden, die chemischen Sinne bei der Nahrungswahl in den Vordergrund zu stellen und scharf zwischen Geruchssinn und Geschmackssinn zu unterscheiden, die in verschiedenen Organen lokalisiert werden können. Der Geruchssinn ist in diesem Stadium nur auf außerordentlich kleine Entfernungen (höchstens 5 mm) hin wirksam, was ihrer Lebensweise auch entspricht. So wird ihr Verhalten durch den Geschmacksstoff beherrscht, und wir nehmen an, daß es der gleiche ist wie beim erwachsenen Käfer. Interessanterweise sind Fälle bekannt, in denen dieser Geschmacksreiz die Tiere zum reichlichen Fressen an giftigen Pflanzen verleitet, an deren Giftwirkung sie nachher sterben. In der genannten Arbeit ist das für *Petunia hybrida* eingehend belegt¹⁾. Ähnlich scheint es sich mit *Ricinus communis* zu verhalten⁶⁾.

Wir danken dem Badischen Landwirtschaftsministerium ergebenst für die Unterstützung dieser Arbeit.

Eingeg. am 6. Mai 1950.

[A 275]

⁶⁾ Privatmitteilung von Dr. W. Bröker, Marburg/L.