

thelial cells; these particles were usually located in the buddings of the cytoplasm or the slender projections protruding into the lumen of the capillary. These projections were covered by the plasma membrane of high electron opacity. Although in the lumen of the capillary no leukemic infiltrates were visible in semi-serial sections, many characteristic particles of spherical shape with centrally located optically dense core were present close to the buddings described above. The majority of these particles possessed a single limiting membrane<sup>3</sup> and their diameter ranged from 600–1200 Å; they correspond to type C in the classification of BERNHARD and GUÉRIN<sup>4</sup>. Coreless vesicles, parts of membranes, and granular masses of high electron opacity were observed in the vicinity of the spherical particles. The endoplasmic reticulum of endothelial cells of infected animals showed a variable degree of dilatation; mitochondria, however, seemed to be normal in appearance.

These data suggest strongly an active participation of the glomerular endothelia in the propagation of Gross virus. 2 possibilities must be taken into account. Changes in the fine structure of the glomerular endothelia may be connected with the phagocytosis of viral particles brought into the blood from other organs specific for virus development. In this respect the images of dense, spherical particles located in the cytoplasmic vacuoles of endothelia are very suggestive. On the other hand, the buddings and especially the long slender projections, containing dense spherical masses without a limiting membrane, present another line of evidence that viral particles could actually

develop in the endothelial cytoplasm. Independent of the real mechanism of the participation of glomerular endothelia in infected mice in virus propagation, the changes existing in these cells might be implicated in the transfer of the pathogenic factor from the lumen of the capillary to the epithelial cells of renal tubules. Moreover, our data indicate that cell systems not directly involved in the leukemic changes could participate in some processes connected with virus propagation<sup>5,6</sup>.

**Riassunto.** Gli autori hanno studiato al microscopio elettronico cellule dell'endotelio glomerulare di topo infettato con virus della leucemia murina (GROSS virus) e hanno dimostrata la esistenza di particelle virali all'interno di esse.

W. DJACZENKO, J. GRABSKA,  
F. FILADORO, R. PEZZI  
and A. BENEDETTO

*Institute of Microbiology of the University and Centre of Virology, Roma (Italy), 6 June 1968.*

<sup>3</sup> L. GROSS, Proc. Symp. fundam. Cancer Res. 17, 403 (1963).

<sup>4</sup> W. BERNHARD and M. GUÉRIN, C.R. Acad. Sci. (Paris) 247, 1802 (1958).

<sup>5</sup> We wish to express our sincere thanks to Dr. J. LEVINTHAL for providing infected mice for this study.

<sup>6</sup> This work was supported in part by a grant from C.N.R. Italy.

## Stimulation der Eiablage unbegatteter Weibchen des Mondspinners *Actias selene* durch ein Männchen-Pheromon

Virgine Insektenweibchen legen gewöhnlich keine oder weniger Eier als begattete Weibchen. In selteneren Fällen legen zwar auch virgine Weibchen eine normale Anzahl Eier ab, aber die Ablage erfolgt verspätet oder unregelmässig. Die Steuerung des Ovipositionsverhaltens ist bisher in mehreren Insektengruppen untersucht worden, wobei sich zeigte, dass recht verschiedene Faktoren verantwortlich gemacht werden können. Über die Verhältnisse bei Lepidopteren liegen verschiedene Arbeiten vor, doch scheinen in dieser Ordnung die Steuerungsmechanismen nicht einheitlich zu sein<sup>1</sup>. Neuere Versuche mit *Carpocapsa pomonella* haben zudem gezeigt, dass selbst innerhalb einer Art unterschiedliche Reaktionsnormen vorkommen, was eine genaue Analyse der Steuerungsmechanismen sehr erschweren kann<sup>2</sup>.

Im Zusammenhang mit solchen Untersuchungen stellten wir fest, dass die Eiablagerate virginer Weibchen von *Actias selene* durch die blosse Gegenwart von Männchen im gleichen Zimmer stimuliert wird. Da die Falter in Kartonschachteln gehalten wurden, fielen optische Stimuli außer Betracht. Wir vermuteten daher, dass die stimulierende Wirkung der Männchen auf einem olfaktorisch wahrgenommenen Pheromon beruhen könnte. Olfaktorisch wirksame Männchen-Pheromone stimulieren in virginen *Schistocerca*-Weibchen die Oogenese<sup>3</sup> und spielen bei der Begattung verschiedener Lepidopteren eine Rolle<sup>4,5</sup>. Eine ovipositionsstimulierende Wirkung solcher Pheromone ist aber unseres Wissens noch nie beschrieben worden. Obwohl es sich bei den nachfolgend beschriebenen

Effekten um nur geringe zeitliche Verschiebungen handelt, finden wir sie doch theoretisch interessant.

Wie bei vielen anderen Insekten ist die Zahl der Eier je *Actias*-Weibchen stark vom Körpergewicht abhängig. Vor allem legen Weibchen, die weniger als 3 g schwer sind, unverhältnismässig wenig Eier. Wir verwendeten deshalb für unsere Versuche nur mindestens 3 g und höchstens 4,5 g schwere Weibchen. Die Raupen wurden bei 25°C Tagestemperatur und 20°C Nachttemperatur sowie 70% rF auf Blättern von *Rhododendron grandiflora* (in einer Zucht auch auf Blättern von *Juglans regia*) gezüchtet. Die Eiablage der Weibchen erfolgte in Kartonschachteln (etwa 40 × 30 × 30 cm), die oben mit lockerem Vorhangstüll verschlossen waren. Die abgelegten Eier wurden täglich gezählt. Sogenannte isolierte virgine Weibchen (IV) wurden spätestens 3 h nach dem Schlüpfen aus den Puppen in einen separaten Raum gebracht, in dem sich nur virgine Weibchen befanden. Dagegen wurden sogenannte nicht isolierte virgine Weibchen (NIV) im gleichen Raum gehalten wie die gepaarten, begatteten Weibchen (BW) und die Männchen.

<sup>1</sup> G. BENZ, J. Insect Physiol., im Druck.

<sup>2</sup> K. SCHMID, Diplomarbeit, Entomol. Inst. ETH (1968).

<sup>3</sup> K. C. HIGHNAM und O. LUSIS, Q. J. microsc. Sci. 103, 73 (1962).

<sup>4</sup> N. TINBERGEN, B. J. D. MEEUSE, L. K. BOEREMA und W. W. VAROSSIEAU, Z. Tierpsychol. 5, 182 (1942).

<sup>5</sup> D. MAGNUS, Z. Tierpsychol. 7, 435 (1950).

Unsere Versuche zeigten, dass auf *Rhododendron* gezüchtete virgine Weibchen (NIV und IV) ebenso viele Eier ablegen wie begattete Weibchen (Tabelle I). Dagegen legten die IV aus «Walnusszuchten» etwas weniger Eier (Tabelle II, e), wobei aber die Differenz zu den BW statistisch nicht signifikant ist ( $P = 0,1$ ).

Figur 1 zeigt die durchschnittliche tägliche Eiablage der BW, NIV und IV aus 2 unabhängigen Versuchen mit «Rhododendrontieren» vom Herbst und Winter 1966. Die BW begannen am 2. Schlüpfstag mit der Eiablage, wobei die Ovipositionsrate relativ steil anstieg und bereits am 5.–6. Tag das Maximum erreichte. Bis zu dieser Zeit wurden 50% der Eier abgelegt. Die IV begannen zwar auch schon am 3. Tag mit der Eiablage. Sie legten 50% der Eier bis zum 9. Tag, erreichten die Maximalrate aber erst am 10.–11. Tag. Interessant ist nun, dass die Eiablagekurve der zwar unbegatteten, aber mit Männchen im gleichen Raum lebenden NIV zwischen die BW- und die IV-Kurve zu liegen kommt. Die maximale Ablagerate der NIV wurde am 7.–8. Tag erreicht. Der Unterschied zwischen der BW- und der NIV-Kurve ist mit  $X^2 = 111,74$  bei 11 Freiheitsgraden mit  $P < 0,001$  statistisch sehr gut gesichert. Die Differenz zwischen NIV- und IV-Kurve ist

noch grösser. Aus diesen Resultaten schliessen wir, dass die frühere Eiablage der BW gegenüber derjenigen der NIV durch die Begattung bewirkt wird, während die Differenz zwischen NIV und IV offenbar ein Mass für die ovipositionsstimulierende Wirkung der Männchengegenwart darstellt.

Eine Wiederholung dieser Versuche im Sommer 1967, mit grösstenteils auf Walnussblättern gezüchteten Tieren, ergab zwar keine genaue Reproduktion der früheren Versuche, doch waren die Ergebnisse tendenzmäßig gleich. In dieser dritten Versuchsserie legten alle Weibchen relativ rascher ab, wobei die normalen BW, NIV und IV 50% ihrer Eier innerhalb von 4, 5 bzw. 6 Tagen ablegten

Tabelle I. Mittlere Eiablage begatteter (BW), nicht isolierter virginer (NIV) und isolierter virginer (IV) Weibchen von *Actias selene* (vgl. Text)

	BW	NIV	IV
N	9	11	9
mittlere Eizahl	218,7	217,5	212,2
mittlerer Fehler	± 21,6	± 15,0	± 17,6

Versuche 1966: Alle Raupen wurden auf *Rhododendron* gezüchtet. N, Anzahl weiblicher Falter, alle mit Antennen.

Tabelle II. Wie Tabelle I, aber BW und NIV mit und ohne Antennen

	BW			NIV	
	a, mit An- tennen	b, ohne An- tennen	c, mit An- tennen	d, ohne An- tennen	e, mit An- tennen
N	6	9	6	7	7
mittleres Gewicht	3,4 g	3,5 g	3,3 g	3,6 g	3,5 g
mittlere Lebensdauer	9,5 d	8,7 d	10,8 d	11,3 d	10,8 d
mittlere Eiablagezeit	4,6 d	4,9 d	5,5 d	6,5 d	6,4 d
mittlere Eizahl	191,7	189,3	190,3	145,0	138,9
mittlerer Fehler	± 7,3	± 8,8	± 11,2	± 31,1	± 26,8

Versuche 1967: Die meisten Raupen wurden auf Walnussblättern gezüchtet. Das Durchschnittsgewicht, die mittlere Lebensdauer und die mittlere Eiablagezeit jeder Faltergruppe sind ebenfalls einge- tragen.

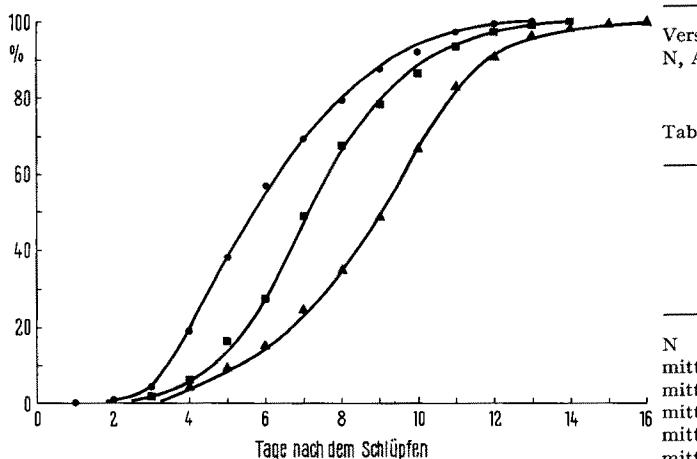


Fig. 1. Eiablagekurven von auf *Rhododendron* gezüchteten, begatteten Weibchen (Kreise), von im gleichen Raum mit Männchen gehaltenen, virginen Weibchen (Quadrate) und von isoliert gehaltenen, virginen Weibchen (Dreiecke). Ordinate: Prozentwerte der fortlaufend kumulierten Eiablagen.

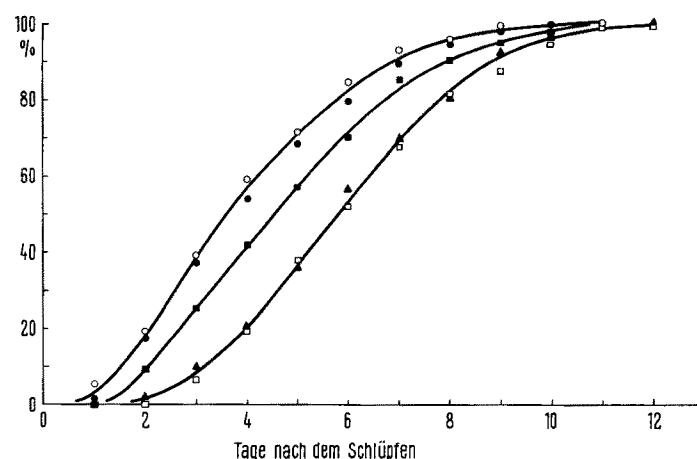


Fig. 2. Ausgefüllte Zeichen wie Figur 1, doch wurden fast alle Tiere dieser Versuchsserie auf Walnussblättern gezüchtet. Offene Zeichen bedeuten entsprechende Weibchen ohne Antennen.

(Figur 2). Die maximalen Eiablageraten der 3 Gruppen wurden am 2., 4. bzw. 6. Tag erreicht (Figur 3).

In allen Versuchsserien scheint der Einfluss der Männchengegenwart auf die Eiablage ähnlich gross zu sein wie der Einfluss der Begattung. Für die BW wird die Wirkung der einzelnen Komponenten in Figur 3 durch die Flächen A, B und C repräsentiert. Dabei bedeuten A = in diesem Zeitraum grundsätzlich abgelegte Eier, B = ovipositionsstimulierenden Einfluss der Männchengegenwart und

C = stimulierenden Einfluss der Begattung. Die Flächen B und C sind ähnlich gross.

Zur Prüfung der Frage, ob die Männchen ein Pheromon ausscheiden, das von den Weibchen olfaktorisch wahrgenommen wird, machten wir innerhalb der dritten Versuchsserie noch Experimente mit Weibchen, denen wir die Antennen sofort nach dem Schlüpfen amputierten. Gepaarte antennenlose Weibchen wurden ebenso rasch begattet wie normale Weibchen und legten ebenso viele Eier (Tabelle II, b) wie normale BW und normale NIV (Tabelle II, a, c). Dagegen legten antennenlose NIV tendenziell ähnlich wenig Eier wie IV (Tabelle II, d, e). Desgleichen sehen sich die Eiablagekurven der antennenlosen NIV und der normalen IV verblüffend ähnlich (Figur 2). Diese Versuche zeigen, dass von den Männchen ein Ovipositionsstimulus ausgeht, der von den Weibchen mit Hilfe der Antennen wahrgenommen wird. Es dürfte sich also mit grösster Wahrscheinlichkeit um einen olfaktorischen Stimulus handeln.

In Figur 4 werden die Eiablagekurven antennenloser BW und antennenloser NIV verglichen. In diesem Fall sollte der Unterschied in den Kurven einzig auf der stimulierenden Wirkung der Begattung beruhen, die durch die Fläche C repräsentiert wird. Sie ist ungefähr gleich gross wie die Fläche C in Figur 3.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Eiablage von *A. selene* auch ohne äussere Stimuli erfolgt. Sie wird aber beschleunigt durch einen mit der Begattung gekoppelten Reiz einerseits und einen vom Männchen ausgehenden, wahrscheinlich olfaktorischen Reiz anderseits. Keiner der beiden Reize kann allein die Eiablagerate maximal stimulieren.

Die ovipositionsstimulierende Wirkung eines olfaktorisch wahrgenommenen Männchen-Pheromons scheint biologisch wenig sinnvoll zu sein. Wir nehmen deshalb an, dass dieses Pheromon primär das Weibchen zur Kopulation stimulieren soll. Das Verhalten der Weibchen während der Balz zeigt, dass nicht nur die Männchen durch den Sexualduft der Weibchen angelockt werden, sondern dass auch die Weibchen den Männchen folgen und ihnen die Genitalien entgegenstrecken. Diese Reaktion dürfte durch den Sexualduft der Männchen ausgelöst werden. Tatsächlich scheinen die Antennen der Weibchen von *A. selene* für eine relativ gute Geruchspерzeption eingerichtet zu sein. Die Weibchenantennen sind zwar schwächer entwickelt als die Männchenantennen, weisen aber doch noch eine ziemlich starke Fiederung auf. In der freien Natur dürfte ein virgines Weibchen kaum je dem Männchenduft ausgesetzt sein, ohne dass eine Begattung stattfindet. Der Ovipositionsstimulus des Pheromons kann sich daher kaum negativ auswirken. Wahrscheinlich hat sich deshalb kein Mechanismus zur Unterdrückung dieses «Nebeneffektes» entwickelt.

**Summary.** Mated females of *Actias selene* lay their eggs quicker than virgin females. Of the latter, virgins kept isolated in a separate room lay their eggs later than virgins kept in a room where males are present. Antennenless virgin females kept in the same room as males behave like isolated virgin females. It is concluded that the males produce an olfactory active sex pheromone that stimulates oviposition in females.

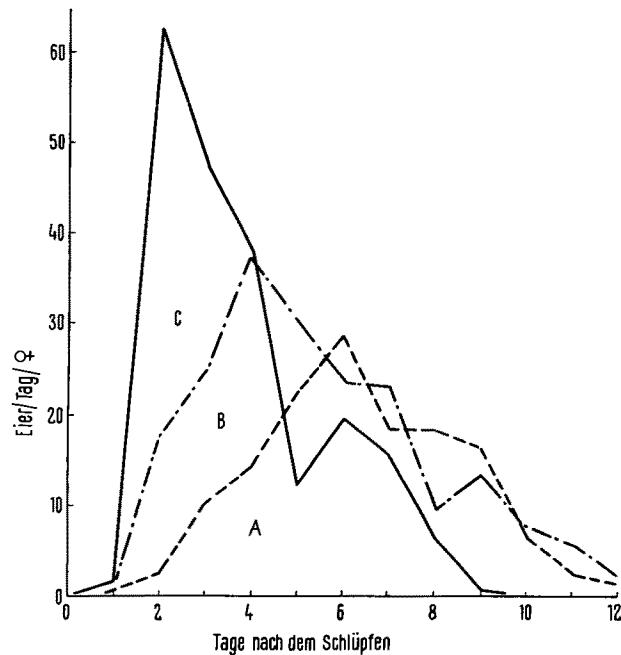


Fig. 3. Durchschnittliche tägliche Eiablageraten der normalen BW (—), NIV (---) und IV (---) aus Walnussblätterzuchten. Die Flächen B und C repräsentieren den Einfluss der Männchengegenwart (Pheromon) bzw. der eigentlichen Begattung auf die Eiablagerate begatteter Weibchen. Die Fläche A repräsentiert den Anteil der Eier, der ohne fremde Stimuli im entsprechenden Zeitraum abgelegt worden wäre.

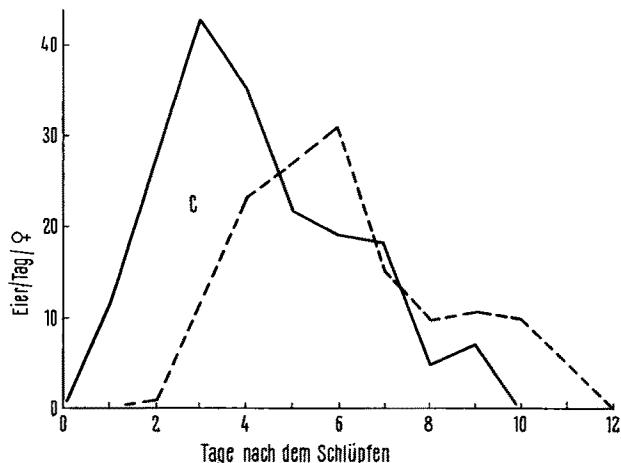


Fig. 4. Eiablageraten antennenloser, begatteter Weibchen (ausgezogene Kurve) und antennenloser, nicht isolierter virginaler Weibchen (gestrichelte Kurve). Die Fläche C repräsentiert den Einfluss der eigentlichen Begattung auf die Ovipositionsraten.

G. BENZ und KAETHE SCHMID

Entomologisches Institut, Eidg. Technische Hochschule, 8006 Zürich (Schweiz), 19. Juni 1968.