

Pheromone 92 [1]. Duftstoffe aus den abdominalen Haarbüscheln des männlichen Totenkopfschwärmers *Acherontia atropos* L. (Lepidoptera: Sphingidae)

Pheromones 92 [1]. Odorous Substances from the Abdominal Hair Brushes of the Male Sphingid Moth *Acherontia atropos* L. (Lepidoptera: Sphingidae)

Hans Jürgen Bestmann, Joachim Erler, Otto Vostrowsky

Institut für Organische Chemie der FAU-Universität Erlangen-Nürnberg, Henkestraße 42, D-W-8520 Erlangen, Bundesrepublik Deutschland

und

Lutz Th. Wasserthal

Zoologisches Institut der FAU-Universität Erlangen-Nürnberg, Staudtstraße 5, D-W-8520 Erlangen, Bundesrepublik Deutschland

Z. Naturforsch. **48c**, 510–514 (1993); eingegangen am 28. Januar/16. April 1993

Acherontia atropos, Hawk Moth, Odorous Substances, Linalool

From abdominal hair brushes of male hawk moths *Acherontia atropos* (Lepidoptera: Sphingidae) 24 volatiles have been detected and identified by GC-MS analysis, caryophyllene (**17**), humulene (**18**), linalool (**6**), linalyl propionate (**12**) and geranic acid methylester (**9**) comprising the main constituents. Analyzing the terpenoid composition of volatiles from insects reared on different host plants as well as that of the essential oils from these plants it could be demonstrated, that most components of the odour blend are not derived from the food plants but can be *de novo* synthesized by the insects.

Der Totenkopfschwärmer *Acherontia atropos* (Lepidoptera: Sphingidae) ist eine in Afrika heimische Schwärmerart, die als überaus guter Flieger in wechselnder Anzahl jedes Jahr von Juli bis Oktober auch nach Europa zuwandert. Der stark behaarte Körper trägt auf dem Rücken eine helle Musterung, die wie ein Totenkopf aussieht und der die Art den Namen verdankt. Der Falter dringt zur Nahrungssuche auch in seiner afrikanischen Heimat in Bienenstöcke ein, wo er als Nahrungsparasit mit seinem kurzen kräftigen Rüssel Honig aus den Waben saugt [2]. Die Männchen besitzen in den Seiten des zweiten Abdominalsegments Duftdrüsen, die ihr Sekret in Haarbüschel abgeben. In der Ruhe liegen diese Haarbüschel zusammengelegt in einer Falte [3]. Sie werden bei Berührung mit der Hand ausgestülpt und gespreizt [4, 5]. Der Duft ist auch vom Menschen wahrnehmbar. Die chemische Natur und die Bedeutung des Geruchs sind unbekannt, so, wie die Funktion der entsprechenden Büscheldrüsensekrete der übrigen Schwärmer-Arten [6]. Ziel der Untersuchung war daher, die Zusammensetzung der Duftkomponen-

ten zu bestimmen und diesen möglicherweise eine biologische Bedeutung zuzuordnen.

Material und Methoden

Insektenmaterial

Die Falter werden seit Jahren im Zoologischen Institut I gezüchtet. Die Stammeltern und nachgelieferte Tiere zur Zuchtauffrischung stammen von Gran Canaria. Die adulten Falter wurden mit Hilfe einer gestutzten Pasteurpipette täglich einmal mit Honigwasser (1 : 2 = H/W) gefüttert und damit bis zu 8 Wochen am Leben erhalten. Die Tiere waren sowohl während des Raupen-, Puppen- als auch des Imaginal-Stadiums einem Tag/Nacht-Rhythmus von 13/11 h unterworfen.

Futterpflanzen

Die Raupen wurden jeweils stets vom ersten Larvenstadium bis zur Verpuppung auf derselben Wirtspflanze – gewässerte Zweige des Ligusters (*Ligustrum ovalifolium*, klein- und großblättrige Varietät) oder auf eingetopften Pflanzen der Kartoffel (*Solanum tuberosum*) – aufgezogen.

Closed Loop Stripping

Die bei Bestmann *et al.* [7] beschriebene Closed Loop Stripping Apparatur (CLSA) bestand aus

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. J. Bestmann.

Verlag der Zeitschrift für Naturforschung,
D-W-7400 Tübingen
0939–5075/93/0500–0510 \$ 01.30/0

einer Stahlmembranpumpe (Metal Bellows, MB-41-E, USA), für die Rohrverbindungen wurden Stahlkapillaren mit ID 2 mm verwendet. Als Grobfilter zum Abhalten von Staub und Schuppen diente ein Edelstahl-Maschengitter mit einer Maschenweite von 0,5 mm. Die Mikroaktivkohle-Filtereinheit (Fa. Brechbühler AG, Schweiz) ist in einem 110 × 10 mm-Glasrohr eingeschmolzen. Jeweils ein *A. atropos*-Männchen wurde in die Apparatur eingebracht, mit einem kleinen Magnetrührstäbchen durch einen Magneten von außen durch Anstoßen gereizt und damit zum Spreizen des Duftpinsels veranlaßt. Die abgegebenen flüchtigen Verbindungen wurden über eine Dauer von 15 min adsorbiert (Luftstrom 300 ml/min).

Filterextraktion

Das Filter wurde zur Desorption der flüchtigen Duftstoffe mit jeweils 15 µl CS₂ extrahiert. Die Filtereinheit war auf einem Schlenkrohr aufgesetzt und durch Eintauchen in ein Wasserbad (Abkühlen) bzw. Erwärmen mit der Hand wurde die CS₂-Phase wiederholt zur Extraktion durch die Aktivkohle bewegt [7, 8]. Die Extrakte ließen sich im Stickstoffstrom einengen und direkt für GC-Analysen verwenden.

Wasserdampfdestillation: Jeweils 50 g Ligusterblätter bzw. Kartoffelkraut wurden grob zerkleinert, in einer Destillationsapparatur nach Lit. [9] 90 Minuten einer Wasserdampfdestillation unterworfen und das Destillat kontinuierlich mit 2 ml Hexan extrahiert. Der Hexanextrakt wurde mit wenig Na₂SO₄ getrocknet und anschließend gaschromatographisch analysiert.

GC-Analysen: a) Packard-United-Technologies-438 A-Gaschromatograph mit FSCC SP-2340 (25 m × 0,22 mm), Temp. Progr. 2 min 60 °C, 60–195 °C mit 6 °C/min, hold. Inj. 220 °C, FID 240 °C, Trägergas N₂. b) Perkin-Elmer-Gaschromatograph PE 8320 mit FSCC SE 54 (50 m × 0,22 mm), Temp. Progr. 2 min 60 °C, 60–260 °C mit 6 °C/min, hold. Inj. 240 °C, FID 270 °C, Trägergas N₂. Kovats-Retentionsindizes wurden mit einem Temperaturprogramm erstellt und mit authentischen Verbindungen bzw. mit Werten aus eigenen Arbeiten verglichen.

GC-MS-Analysen: Doppelfokussierendes Massenspektrometer MAT-90, GC-Kopplung mit FSCC SE 52, 2 min 60 °C, 60–240 °C mit 6 °C/min. Inj. 240 °C, transfer line 220 °C, 1 ml He/min.

70-eV-EI-Spektren mit 1 sec/scan. Zum Vergleich der Massenspektren dienten Spektren authentischer Substanzen, solche aus der Literatur [10] bzw. aus eigenen früheren Arbeiten.

Resultate und Diskussion

Die Chromatogramme der von den Faltermännchen abgegebenen flüchtigen Stoffe zeigten Signale für über 20 Duftstoffe (Abb. 1), deren Strukturen aufgrund von Retentionsindizes, Massenspektren und Kochromatographie mit authentischen Verbindungen aufgeklärt werden konnten (Tab. I zeigt die identifizierten Substanzen, ihre Relativmengen und die Nachweismethode; die Substanznummern beziehen sich auf das Chromatogramm in Abb. 1). Die Hauptmengen mit 15,9 und 14,8% waren die Sesquiterpenkohlenwasserstoffe Caryophyllen (**17**) und Humulen (**18**), gefolgt von Linalool (**3**) (12,6%), Linalylpropionat (**12**) (12,4%) und Geraniumsäuremethylester (**9**) (10,3%) (Formel 1). Zusätzlich nachgewiesen wurden Linalylacetat (**6**) (1,0%), sieben weitere Sesquiterpenkoh-

Tab. I. Flüchtige Inhaltsstoffe aus den Haarbüscheln der Männchen von *Acherontia atropos* (Lepidoptera: Sphingidae).

Nr.	Substanz	Summenformel	%	Identifiziert durch
1	Nonenal	C ₉ H ₁₆ O	0,7	MS
2	Nonenol	C ₉ H ₁₈ O	1,5	MS
3	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	12,6	MS, CC, RI
4	Naphthalin	C ₁₀ H ₈	0,6	MS, RI
5	verz. Dodecan	C ₁₂ H ₂₆	0,7	MS
6	Linalylacetat	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1,0	MS, RI
7	–	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0,6	MS
8	–	–	0,7	
9	Geraniumsäuremethylester	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	10,3	MS, CC
10	–	–	1,2	
11	–	–	3,9	
12	Linalylpropionat	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	12,4	MS, RI
13	α-Element	C ₁₅ H ₂₄	0,5	MS, RI
14	α-Copaen	C ₁₅ H ₂₄	0,5	MS, RI
15	–	C ₁₅ H ₂₄	0,8	MS
16	α-Gurjunen	C ₁₅ H ₂₄	2,9	MS, CC
17	Caryophyllen	C ₁₅ H ₂₄	15,9	MS, RI, CC
18	Humulen	C ₁₅ H ₂₄	14,8	MS, RI, CC
19	Alloaromadendren	C ₁₅ H ₂₄	3,1	MS, RI
20	β-Cubeben	C ₁₅ H ₂₄	3,7	MS
21	–	–	0,8	
22	–	C ₁₅ H ₂₄ O	1,7	MS
23	γ-Cadinen	C ₁₅ H ₂₄	4,6	MS, RI, CC
24	δ-Cadinen	C ₁₅ H ₂₄	1,1	MS, CC

MS = Massenspektrum, CC = Co-Chromatographie, RI = Retentionszeit.

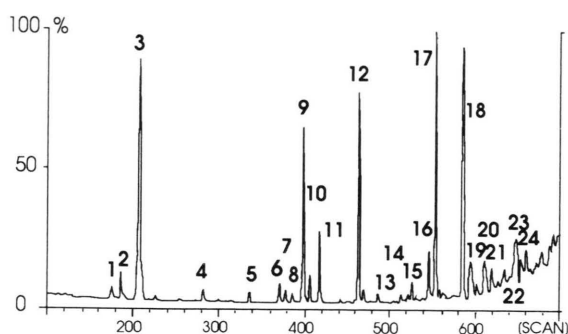
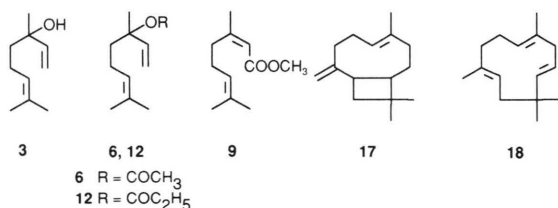


Abb. 1. RIC-Chromatogramm des CLSA-Extraktes eines *Acherontia-atropos*-Männchens nach 15minütigem „Trappen“. (Die Nummern der Signale beziehen sich auf Tab. I.)

lenwasserstoffe im Bereich von 0,5–5% und einige aliphatische Verbindungen in geringen Konzentrationen. Eine quantitative Aussage über die gefundenen Absolutmengen der Stoffe läßt sich nur schwer treffen, da es mit der CLSA-Methode nicht möglich ist, ein *A.-atropos*-Männchen „erschöpfend“ zu extrahieren. Als Träger des bergamottähnlichen Geruchs ließen sich eindeutig das Linalool (**3**), Linalylacetat (**6**) und Linalylpropionat (**12**) zuordnen, die Geruchsintensität der Sesquiterpene ist erwartungsgemäß eher schwach.



Formel 1. Duftstoffe aus den abdominalen Haarbüschen männlicher Totenkopfschwärmer *Acherontia atropos*: **3** Linalool, **6** Linalylacetat, **9** Geraniumsäuremethylester, **12** Linalylpropionat, **17** Caryophyllen, **18** Humulen.

Mit den beiden häufigst in etherischen Pflanzenölen vorkommenden Sesquiterpenen **17** und **18** und dem ebenfalls weitverbreiteten, für manche Pflanzenarten charakteristischen Linalool (**3**) und dessen Estern als Duftstoffe der Faltermännchen lag die Vermutung nahe, daß die Substanzen nicht *de novo* von den Insekten biosynthetisiert werden, sondern bereits über die Pflanzennahrung in die Raupe gelangen. Die Geruchsintensität war bei Faltern in den ersten Tagen (1–5) nach dem

Schlüpfen am größten und nahm mit zunehmendem Alter (mehrere Wochen) deutlich ab. Auch dies könnte bedeuten, daß die Duftstoffaufnahme bzw. Aufnahme eines Precursors mit der Verpuppung abgeschlossen ist und keine Neuproduktion in den Imagines stattfindet. Außerdem hängt die Abgabemenge des Duftstoffs vom Grad der Erregung des Insekts ab.

Zur Untersuchung der für die Duftstoff-Genese relevanten Inhaltsstoffe in den Futterpflanzen wurden die beiden Ligustervarietäten jeweils zu zwei verschiedenen Erntezeiten (Mai und Juli) geerntet und daraus durch Wasserdampfdestillation ein etherisches Öl hergestellt. Vorherrschende Komponente in den Ligusterölen war Nonan-

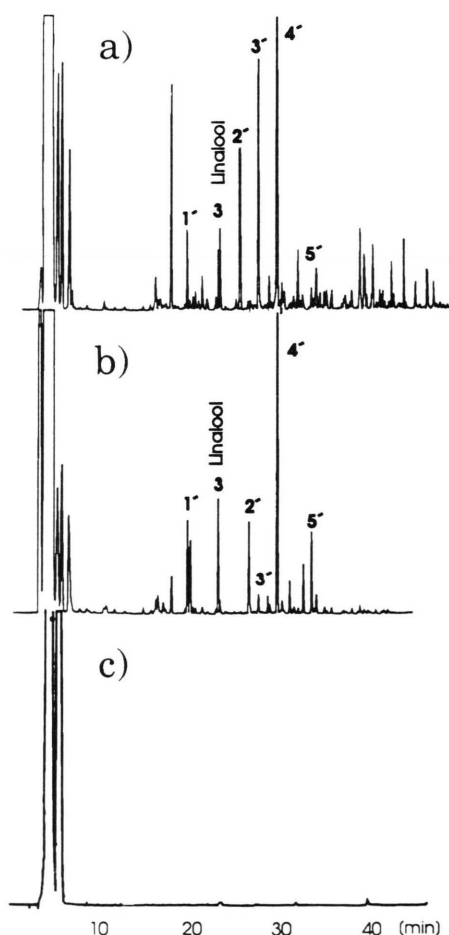
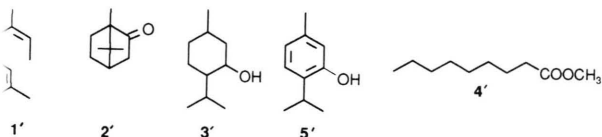


Abb. 2. Gaschromatogramme der Wasserdampfdestillate der Juli-Proben von a) kleinblättrigem, b) großblättrigem Liguster *Ligustrum ovalifolium* und c) des Krauts von Kartoffeln: **1'** Limonen, **3** Linalool, **2'** Campher, **3'** Menthol, **4'** Nonansäuremethylester, **5'** Thymol.

säuremethylester (4'), der in den Tieren nicht gefunden wurde; in allen vier Proben konnte jedoch auch Linalool (3) [2,4% (Mai) und 1,9% (Juli) in der kleinblättrigen Varietät, 1,6% und 10,8% (Mai, Juli) in der großblättrigen Varietät] gefunden werden (Abb. 2a und b zeigt beispielhaft die Chromatogramme der beiden Juli-Proben mit den markierten Linaloolsignalen). In allen Destillaten war der häufig in Pflanzen vorkommende Monoterpenkohlenwasserstoff Limonen (1') als eine Hauptmenge zu finden, auch die Sesquiterpene Caryophyllen (17) und Humulen (18) waren, wenn auch nur in Spuren, nachweisbar. Zusätzlich ließen sich die terpenoiden Verbindungen Campher (2'), Menthol (3') und Thymol (5') (Formel 2) identifizieren, deren Strukturen jedoch von denen der Duftstoffmoleküle deutlich verschieden sind und die als Precursor unwahrscheinlich sind.



Formel 2. Inhaltsstoffe aus *Ligustrum ovalifolium*: 1' Limonen, 2' Campher, 3' Menthol, 4' Nonansäuremethylester, 5' Thymol.

Da sich bis auf Linalool (3) alle Hauptmengen der Pflanzenöle von den Inhaltsstoffen der Duftbüschel der *A. atropos*-Männchen unterscheiden und keine Verbindung als strukturell logischer Biosynthese-Precursor entdeckt wurde, läßt sich die Genese der Duftstoffe nicht zwingend auf die Futterpflanzen zurückführen.

In weiteren Experimenten wurde nun die Raupenzucht auf Kartoffelpflanzen *Solanum tuberosum* durchgeführt. Die Wasserdampfdestillat-Analyse ergab, daß diese keine Terpenoide enthielten (Abb. 2c). Dennoch ließen sich im Luftextrakt der männlichen Falter, die als Raupen Kartoffelkraut gefressen hatten, wiederum Linalool (3) neben Linalylpropionat (12) sowie Geraniumsäureester (6) nachweisen (Abb. 3).

Das Duftbouquet der Faltermännchen unterscheidet sich zwar deutlich in Abhängigkeit von dem im Raupenstadium aufgenommenen Wirtspflanzenfutter. Die Falter dürften wohl einzelne Komponenten der Pflanzeninhaltsstoffe über das

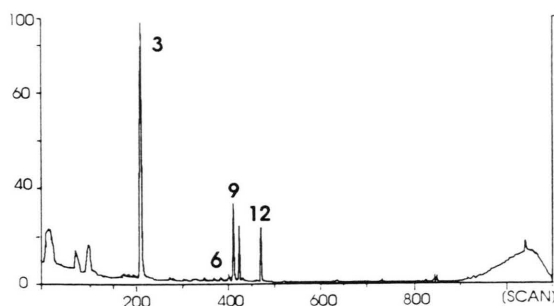


Abb. 3. RIC-Chromatogramm der Duftstoffe von *Ache-rontia-atropos*-Männchen, deren Raupen mit Kartoffelkraut aufgezogen wurden.

Raupenfutter übernommen, vielleicht angereichert oder zumindest als Vorstufen verwendet haben. Das reichhaltige Terpenspektrum, das bei Zucht auf Liguster in den Männchen-Drüsen vorkommt, reduziert sich jedoch auf wenige Komponenten nach Zucht auf *Solanum tuberosum*, das keine entsprechenden Terpene enthält. Dies bedeutet, daß die Totenkopf-Männchen die nach Kartoffelnahrung durchaus nachweisbaren terpenoiden Duftstoffe (Linalool (3), Geraniumsäuremethylester (6), Linalylacetat (9) und Linalylpropionat (12)) selbst synthetisiert haben müssen. Da die Solanaceen zu den bevorzugten Wirtspflanzen gehören, sollte man annehmen, daß das reduzierte Spektrum an Duftkomponenten durchaus die für das Männchen-Signal wesentlichen Komponenten, wenn auch z.T. in geringer Konzentration, enthält.

Über die Funktion der männlichen Pinselduftstoffe der Schwärmer gibt es keine gesicherten Daten. Da nur die Männchen solche abdominalen Duftpinsel besitzen, liegt zunächst die Annahme nahe, daß es sich hierbei um Sexualduftstoffe abgebende Strukturen handelt. Die GC-gekoppelten EAG-Ableitungen sowohl der männlichen wie auch der weiblichen Totenkopfschwärmer zeigten starke Effekte auf Haarbüschelextrakte. Eine Wahrnehmung des Männchen-Duftes ist demnach wohl wahrscheinlich. Auf *Manduca*-Pinselduft reagierten in EAGs sowohl *Manduca sexta*-Männchen wie auch -Weibchen. Beide Geschlechter antworteten aber auch auf Pinseldüfte von Vertretern anderer Nachtfalterfamilien [11].

Da die Männchen von *A. atropos* wie die vieler Schwärmer-Arten bei Berührung mit der Hand oder auch bei Wirbeltierverfolgung die Duftpinsel

spreizen, wurde diskutiert, ob diese in Verbindung mit der Feindabwehr eine Rolle spielen könnten [6, 12]. Während der Duft einiger dieser Schwärmer [*Lophostethus demolini* (Angas) und *Acanthosphinx gussfeldti* (Dewitz)] an bittere Schokolade erinnern soll [12], riecht das Totenkopf-Männchen je nach Beobachter nach Jasmin [13], nach Pilz [14] oder für uns nach Bergamottöl. Wie andere große Schwärmer besitzt der Totenkopf wehrhafte Sporne an den Beinen, die durchaus die menschliche Haut durchstechen können. Der Duft stellt möglicherweise die olfaktorische Komponente einer beim Totenkopf festzustellenden, auch optisch und akustisch wirkenden Warntracht dar.

Da der Totenkopf bei dem Honigsaugen im Bienenstock durchaus von den Bienen nicht unbeheligt bleibt [15], wäre noch eine spezielle Anpassung des Geruchs an das (Über-)Leben im Bienenstock denkbar, der eine sedative oder sogar abschrek-

kende Wirkung auf die Bienen haben könnte. Für letzteres könnte sprechen, daß von Linalool wie von anderen Terpenen eine Repellent-Wirkung auf die Honigbiene ausgehen soll [16]. Diese Wirkung ist aber sicher konzentrationsabhängig! Denn Lavendel wird bekanntlich trotz seines linaloolhaltigen Duftes besonders gerne von den Bienen wegen des Nektars besucht. Und da die Totenkopf-Weibchen auch ohne entsprechende Linaloolsynthese im Bienenstock überleben, muß es noch andere, nicht an ein Geschlecht gebundene Mechanismen zum Schutz vor Bienenattacken geben.

Dank

Wir danken Frau Regina Walther, Frau Claudia Obermeier und Martin Grund für die Hilfe bei der Raupenzucht.

- [1] 91. Mitteilung: H. J. Bestmann, F. Kern, D. Schäfer und O. Vostrowsky, Naturwissenschaften, im Druck (1993).
- [2] E. Pinhey, Hawk Moths of Central and Southern Africa, Longmans, Amsterdam 1962.
- [3] G. G. Grant und L. J. Eaton, Ann. Ent. Soc. Am. **66**, 901 (1973).
- [4] F. Müller, Kosmos, Stuttgart **3**, 84 (1878).
- [5] M. C. Birch, in: The Moths and Butterflies of Great Britain and Ireland **9** (Health und A. Emmet, Hrsg.), S. 9, Curwen Books, London 1979.
- [6] M. C. Birch und A. Hefetz, Bull. Ent. Soc. Am. **33**, 222 (1987).
- [7] H. J. Bestmann, J. Erler und O. Vostrowsky, Experimentia **44**, 797 (1988).
- [8] H. J. Bestmann, J. Erler und O. Vostrowsky, Mitt. dtsch. Ges. allg. angew. Entomol. **7**, 161 (1989).
- [9] Europäisches Arzneibuch, **Bd. III**, 63, amtl. Ausgabe (1978).
- [10] W. Jennings und T. Shibamoto, Qualitative Analysis of Flavour and Fragrance Volatiles by Capillary Gas Chromatography, Academic Press, New York 1980; E. Stenhagen, S. Abrahamsson und F. W. McLafferty, Registry of Mass Spectral Data, J. Wiley and Sons Inc., New York 1974.
- [11] G. G. Grant, Ann. Ent. Soc. Am. **64**, 1428 (1971).
- [12] M. Rothschild, Entomologist **97**, 276 (1964).
- [13] A. H. Swinton, Societas ent. **23**, 99 (1964).
- [14] R. Reinhard und K. Harz, Die neue Brehme-Bücherei, S. 596, Ziemsen, Wittenberg 1989.
- [15] S. Heinig, Ent. Z. **88**, 237 (1978).
- [16] M. Gupta, Chem. Ind. (London) **5**, 162 (1987).