

Sexualdimorphismus der Haftfähigkeit an rauen Oberflächen bei *Leptinotarsa decemlineata* SAY (Coleoptera, Chrysomelidae)

Dagmar Voigt, Jan M. Schuppert, Steffen Dattinger, Stanislav N. Gorb

Evolutionary Biomaterials Group, Abteilung für Dünnschicht- und Biosysteme,
Max-Planck-Institut für Metallforschung, Stuttgart

Abstract: Sexual Dimorphism in the Attachment Ability of *Leptinotarsa decemlineata* SAY (Coleoptera, Chrysomelidae) on Rough Substrata.

The remarkable attachment ability and the adaptability to different substrates of insects' hairy attachment systems have been experimentally demonstrated in representatives of Diptera and Coleoptera. Many representatives from the family Chrysomelidae exhibit a distinctive sexual dimorphism in the structure of adhesive tarsal hairs. Differences in attachment ability between sexes have been previously reported for smooth substrata. In *L. decemlineata*, a very strong attachment ability on smooth glass and plastic surfaces has been described in males, and explained by the action of specialised mushroom-like tarsal hairs. The present study demonstrates the influence of different surface roughnesses on the attachment forces of *L. decemlineata* males and females. The maximum attachment force of individual beetles was measured on epoxy resin surfaces (0-12 µm surface roughness) using a centrifugal force tester. On the smooth surface, no considerable differences between males and females were found, whereas, on rough surfaces, adherence of females was significantly stronger, up to twice that of males. The results indicate that the main functional trait of the adhesive system of females is its stronger specialization to rough plant surfaces.

Keys words: attachment, adhesion, dimorphism, tarsal hairs, centrifugal force test, surface roughness

Dr. D. Voigt, Dipl. Biol. J. M. Schuppert, S. Dattinger, Dr. S. N. Gorb,
Evolutionary Biomaterials Group, Abteilung für Dünnschicht- und Biosysteme,
Max-Planck-Institut für Metallforschung, Heisenbergstraße 3, D-70569 Stuttgart,
Email: voigt@mf.mpg.de, s.gorb@mf.mpg.de

Leptinotarsa decemlineata lebt oligophag ausschließlich auf Vertretern der Solanaceae, insbesondere *Solanum* spp. (RADCLIFFE 1982). Die herbivore Spezies ist fähig, erfolgreich auf den unbehaarten, behaarten und glandulär behaarten Blattoberflächen der Nachtschattengewächse zu haften, sich fortzubewegen und zu leben. Dazu verhelfen paarige Krallen und Hafthaarkissen an den Tarsen (RIVNAY 1928). Das ausgesprochen gute Haftvermögen und die Substratanpassungsfähigkeit haariger Haftsysteme von Insekten sind für verschiedene Vertreter der Diptera und Coleoptera experimentell belegt (siehe Review von GORB 2001). STORK (1980 a, b) beobachtete insbesondere bei Käfern der Familien Chrysomelidae und Coccinellidae einen ausgeprägten Sexualdimorphismus der tarsalen Hafthaare. SCHANZ (1953) beschreibt für *L. decemlineata* drei verschiedene Hafthaartypen: (1) Haare mit sich asymmetrisch verjüngenden Spitzen, (2) spatelförmige Gebilde und (3) Haare mit Haftsohlen, welche nur die Männchen besitzen. Hinsichtlich der geschlechterspezifischen Unterschiede der Haftkraft auf verschiedenen rauen Oberflächen existieren bislang wenige quantitative Nachweise. PELLETIER & SMILOWITZ (1987) wiesen für Männchen von *L. decemlineata* in Inversionsexperimenten ein außerordentliches Haftvermögen auf Glas- und Kunststoffoberflächen nach, wobei sie dessen Gründe in den maskulin-spezifischen Hafthaaren mit scheibenförmig verbreiterten Enden vermuteten. Die Fähigkeit der Männchen, an glatten Oberflächen besonders gut zu haften, wurde als eine Anpassung an die Haftung auf den glatten Oberflächen der Weibchenelytren während der Kopulation erklärt. Die meisten natürlichen Oberflächen (insbesondere Pflanzenoberflächen) sind jedoch rau. Somit besteht die Frage, ob beide Geschlechter auch eine unterschiedliche Spezialisierung der Haftsysteme für die Haftung auf rauen Substraten

besitzen. Um den Einfluss unterschiedlicher Oberflächenrauigkeiten auf die Haftsystemfunktionalität der Weibchen und Männchen von *L. decemlineata* zu prüfen, wurden in der vorliegenden Studie Kraftmessungen mit einzelnen Individuen auf Oberflächen mit exakt definierter Rauheit durchgeführt.

Material und Methoden

Die Käfer entstammten dem Solanaceae-Bestand des Einjährigensystems im Freiland des Botanischen Gartens der TU Dresden (Sachsen, Deutschland).

Die Morphologie der Tarsen wurde mithilfe eines Hitachi S-4800 Kryo-Rasterelektronenmikroskops (Hitachi High-Technologies Corp., Tokyo, Japan) mit Gatan ALTO 2500 Kryo-Präparationssystem (Gatan Inc., Abingdon, UK) untersucht. Das Gerät erlaubt die Untersuchung nativer biologischer Proben mit einer hohen Auflösung. Hierzu wurden einzelne Tarsen von betäubten Tieren mit einer Rasierklinge abgeschnitten, auf Probehaltern montiert, bei $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$ in der Präparationskammer gefroren, mit 3 nm Goldpalladium beschichtet und bei $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$ und 3 kV Beschleunigungsspannung betrachtet.

Die Insekten wurden auf sechs verschiedenen Substraten getestet: Epoxidharzabdrücke einer Glasoberfläche und von Polierpapieren der Partikelgrößen 0,3 μm , 1 μm , 3 μm , 9 μm und 12 μm (zur Präparationsmethode der positiven Epoxidharzabdrücke siehe SCHERGE & GORB 2001). Die nominale Partikelgröße des Substrats wurde hier als Maß der Oberflächenrauheit verwendet. Die maximalen Haftkräfte auf den genannten Oberflächen wurden mit der Zentrifugaleinrichtung BIOSPIN-01 (Tetra GmbH, Ilmenau, Deutschland) ermittelt. Das computergesteuerte Messgerät ist mit zwei faseroptischen Sensoren ausgestattet und erlaubt es, Insekten ohne Vorbehandlung zu testen. Die vitalen Individuen wurden zunächst gewogen (Präzisionswaage AG 204 Delta Range, Mettler Toledo GmbH, Greifensee, Schweiz), anschließend horizontal auf die mit den Kunstharzoberflächen bestückte Zentrifugentrommel gesetzt und kontinuierlich innerhalb von 20 Sekunden bis maximal 3000 Umdrehungen pro Minute beschleunigt. Glitt das Tier von der Trommel, wurden seine Position (Trommelradius) und Endgeschwindigkeit (Umdrehungen pro Minute) automatisch festgehalten und mit der gerätespezifischen Software PC Fly auf dem Monitor dargestellt. Aus diesen Daten wurde zusammen mit dem ermittelten Körpergewicht nach der Methode von GORB et al. (2001) die maximale Haftkraft [mN] errechnet und für die verschiedenen Oberflächenrauigkeiten und Geschlechter statistisch verglichen (Software SigmaStat 3.1.1[®], Systat Software Inc., Richmond, California, USA). Fünf Männchen und fünf Weibchen wurden in zehn Zentrifugalläufen je Individuum getestet (♀ und ♂ je $N = 5$, $n = 10$).

Ergebnisse und Diskussion

Die rasterelektronenmikroskopischen Studien bestätigen den sexuellen Dimorphismus der tarsalen Hafthaare (Setae), wie ihn SCHANZ (1953), STORK (1980a), PELLETIER & SMILOWITZ (1987) und GORB (2001) beschrieben. Abbildung 1 lässt deutlich zwei Haartypen an den weiblichen und drei Haartypen an den männlichen ersten drei Tarsomeren erkennen.

Die in den Zentrifugalexperimenten gemessene maximale Haftkraft resultiert aus der Reibungskraft, die die *L. decemlineata* auf den Kunstharzflächen aufbrachten. Sie unterscheidet sich signifikant zwischen den verschiedenen Oberflächenrauigkeiten (Abb. 2). Auf dem glatten Substrat erreichten die Käfer die statistisch abgesicherte höchste Haftkraft. Sie entspricht dem ca. Siebenfachen der für die kleinere verwandte Art *Gastrophysa viridula* DE GEER ermittelten Werte (PERESSADKO & GORB 2004) und dem 63,7-fachen des eigenen Körpergewichtes von *L. decemlineata*. Auf den Oberflächen mit den Rauheiten 0,3 μm und 1,0 μm war der Hafterfolg deutlich minimiert. Ein derartiger Bereich einer so genannten kritischen Rauheit wurde in früheren Studien ebenso für *Musca domestica* L. (Muscidae) und *G. viridula* nachgewiesen (GORB 2001, PERESSADKO & GORB 2004). Den Effekt erklärten die Autoren durch die Reduzierung des Kontakts zwischen den kleinen Oberflächenunebenheiten und den tarsalen Haarspitzen, den terminalen Elementen der Hafthaare.

Das Körpergewicht der Weibchen (168,3 mg) war signifikant höher als das der Männchen (121,6 mg), was durch die zusätzliche Last der Eier zustande kommt. Die Haftkraft der Männchen und Weibchen unterschied sich auf der glatten Oberfläche statistisch nicht, während die Weibchen auf den rauen Substraten einen signifikant höheren, bis zu doppelt so großen Hafterfolg erzielten.

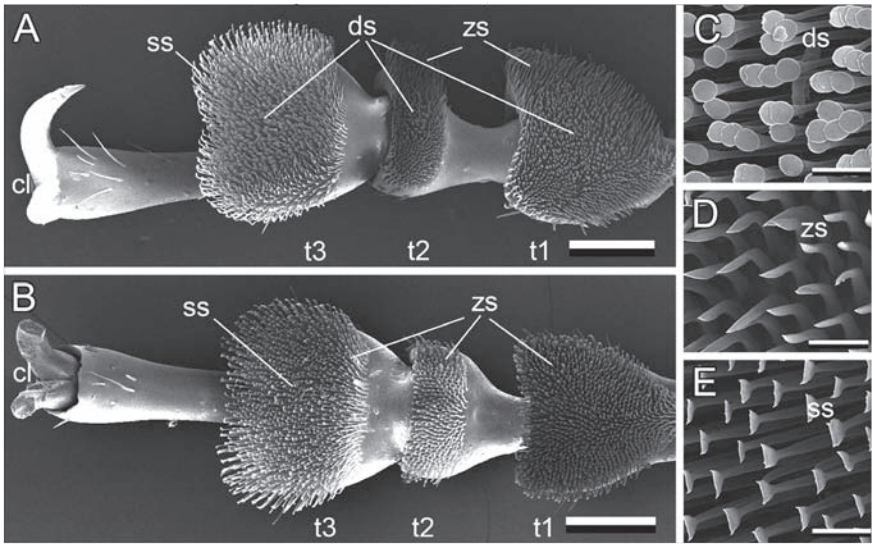


Abb. 1: Kryo-rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des Tarsus von *L. decemlineata*. (A) männlich, (B) weiblich, (C-E) Detailansichten der adhäsiven Setae. *cl*, Krallen; *t1-t3*, mit adhäsiven Setae besetzte Tarsomeren; *ss*, Setae mit spatulaförmigen Enden; *ds*, Setae mit discusförmigen Enden; *zs*, Setae mit zugespitzten Enden; Maßbalken: A, B = 250 µm; C-E = 25 µm.

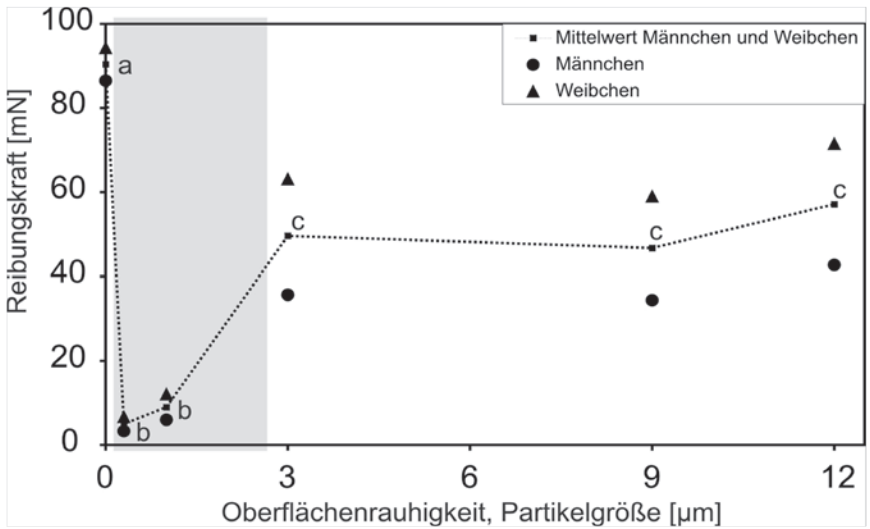


Abb. 2: Maximale Haftkraft von *L. decemlineata* im Zentrifugalexperiment auf verschiedenen rauen Kunstharzoberflächen (Mittelwerte). Grau hinterlegt ist der Bereich kritischer Rauheit. Unterschiedliche kleine Buchstaben zeigen signifikante Unterschiede für die gemittelten Werte von Männchen und Weibchen zwischen den Rauigkeiten (Kruskal-Wallis-Rangsummen-ANOVA und anschließender paarweise Mittelwertvergleiche/Tukey-Test, $p \leq 0,001$, $H = 415,429$). Statistische Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen (Mann-Whitney-Rangsummentest): nicht signifikant bei 0 µm Rauigkeit, $p = 0,346$; signifikant mit $p \leq 0,001$ bei 0,3 µm ($T = 1776,0$), bei 1,0 µm ($T = 1674,0$), bei 3 µm ($T = 1676,0$), bei 9 µm ($T = 1664,0$) und bei 12 µm ($T = 1661,0$).

Für die verwandte Art *Chrysolina polita* L. fand STORK (1980 b) in Zugexperimenten auf Glas, Plexiglas und Textil keine statistisch abgesicherten sexuellen Unterschiede in der Zugkraft. Obwohl der Autor seine Resultate diesbezüglich nicht näher diskutierte, war doch eine deutlich höhere Zugkraft der Weibchen auf dem textilen Substrat zu erkennen und somit ein vergleichbarer Trend wie in den für *L. decemlineata* gewonnenen Resultaten.

Zusammenfassung

Im Rahmen der Untersuchungen wurden Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen in der Morphologie der tarsalen Setae und der auf verschiedenen rauen Oberflächen generierten Haftkraft herausgestellt. Die Ergebnisse deuten auf eine geschlechtspezifische Spezialisierung der Hafthaare hin, wie sie SCHANZ (1953), STORK (1980a, b) und PELLETIER & SMILOWITZ (1987) vermuteten. Die unterschiedlich ausgeformten Enden der tarsalen Hafthaare zeigen Anpassungen an verschiedenen rauen Oberflächen (PERSSON & GORB 2003). Die maskulin spezifischen, besonders auf glatten Flächen adhäsiven Setae mit scheibenförmig verbreiterten Enden verhelfen den Männchen insbesondere, einen optimalen Halt auf den Elytren der Weibchen während der Kopulation zu finden. Den Weibchen muss es gelingen, ihren schweren Körper sicher an den rauen, häufig behaarten Pflanzen festzuhalten und kopfüber an den Blattunterseiten große Eipakete abzulegen (HARE 1990). Außerdem tragen sie während des ausgedehnten Paarungsaktes die Männchen auf ihrem Rücken, ohne von den Pflanzen zu fallen. Dabei müssen sie proportional größeren Ablösekraften widerstehen, wie STORK (1980b) für *C. polita* feststellte. Die besonders gute Haftung der Weibchen an rauen Oberflächen lässt sich durch die dünnen spatelförmigen Spitzen der Hafthaare, welche im Längsschnitt keilförmig erscheinen, erklären. Diese Geometrie, die im Laufe der Evolution unabhängig voneinander in mehreren Tiergruppen entstanden ist, verschafft eine besonders hohe Anpassungsfähigkeit an das Profil des Substrates (PERSSON & GORB 2003).

Danksagung

Die Arbeiten wurden im Rahmen der *BIOKON* Phase II des BMBF Deutschland (Projektnummer 01RS0411) finanziell unterstützt. Der Leitung und den Mitarbeitern des Botanischen Gartens der TU Dresden sei für die Bereitstellung der Insekten gedankt.

Literatur

- GORB, S. (2001): Attachment devices of insect cuticle. – Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 305 pp.
- GORB, S., GORB, E. & KASTNER, V. (2001): Scale effects on the attachment pads and friction forces in syrphid flies (Diptera, Syrphidae). – J. Exp. Biol. **204**: 1421-1431.
- HARE, J.D. (1990): Ecology and management of the Colorado potato beetle. – Ann. Rev. Entomol. **35**: 81-100.
- PELLETIER, Y. & SMILOWITZ, Z. (1987): Specialized tarsal hairs on adult male Colorado potato beetles, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), hamper its locomotion on smooth surfaces. – Can. Ent. **119**: 1139-1142.
- PERESSADKO, A. & GORB, S.N. (2004): Surface profile and friction force generated by insects. In: BOBLAN, I.; BANNASCH, R. (eds.) First International Industrial Conference Bionik 2004. – Fortschr.-Ber. VDI Reihe **15**, 249: 257-261.
- PERSSON, B.N.J. & GORB, S.N. (2003): The effect of surface roughness on the adhesion of elastic plates with application to biological systems. – J. Chem. Phys. **119**: 11437-11444.
- RADECLIFFE, E.B. (1982): Insect pests of potato. – Ann. Rev. Entomol. **27**: 173-204.
- RIVNAY, E. (1928) External morphology of the colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). – J. New York Entomol. Soc. **26**: 125-145.
- SCHANZ, M. (1953): Der Geruchssinn des Kartoffelkäfers (*Leptinotarsa decemlineata* Say). – Z. vergl. Physiol. **35**: 353-379.
- SCHERGE, M. & GORB, S.N. (2001) Biological micro- and nanotribology. Berlin et al.: Springer, 300 pp.
- STORK, N.E. (1980a): A scanning electron microscope study of tarsal adhesive setae in the Coleoptera. – Zool. J. Linn. Soc. **68**: 173-306.
- STORK, N.E. (1980b): Experimental analysis of adhesion of *Chrysolina polita* (Chrysomelidae: Coleoptera) on a variety of surfaces. – J. Exp. Biol. **88**: 91-107.