

Ontogenetische Aspekte der Giftdrüsen und des Giftes von *Cupiennius salei* (Araneae: Ctenidae)

par

Heinz Malli & Wolfgang Nentwig

Summary: The protein content of the venom of *Cupiennius salei* increases from instar 6 to instar 11 (adults) continuously. Juvenile and adult spiders have a very active venom (LD-50 biotest with crickets), its toxicity, however, decreases from instar 6 to 10 by 60 %. After injections of sublethal venom doses into crickets, respirometric analyses of the venomous effect show different physiological responses for venoms from different spider instars and from both sexes. This leads to the assumption of instar-specific and sex-specific components in the venom of *Cupiennius salei*.

1. EINLEITUNG

Vor allem in der pharmakologischen und neurophysiologischen Forschung erfährt Spinnengift ein zunehmendes Interesse, dass sich allerdings weitgehend auf wenige Arten beschränkt. Meist wird das Gift adulter Tiere untersucht und mögliche Veränderungen während der Ontogenese der Spinnen bleiben ausser Betracht. Die mit Gift in Zusammenhang stehenden ontogenetischen Untersuchungen bleiben bis heute auf einige histologische Vergleiche des Giftdrüsenapparates (z.B. MILLOT 1931) beschränkt. Kenntnisse über die Entwicklung des eigentlichen Giftes fehlen hingegen fast vollständig. Mit der vorliegenden Arbeit soll am Beispiel der mittelamerikanischen Ctenide *Cupiennius salei* die Ontogenese des Giftes und des Giftdrüsen näher beschrieben werden.

2. MATERIAL UND METHODE

Cupiennius salei (Ctenidae) ist eine Kammspinne, die mit den Untersuchungen von MELCHERS (1963) als Labortier eingeführt wurde und inzwischen sehr gut untersucht ist. Unsere Tiere werden in einer Dauerzucht bei 25°C je nach Grösse in Kunststoffbehältern oder Gläsern einzeln gehalten. Regelmässiges Befeuchten des Gipsbodens führt zu einer relativen Luftfeuchtigkeit von ca. 70%. Bei wöchentlicher Fütterung mit Heimchen (*Acheta domestica*) wurden etwa 95 % der Tiere im 11. Stadium adult, 5 % im 12. Stadium. Insgesamt stand eine Versuchsgruppe von mehreren 100 Tieren zur Verfügung, der regelmässig Individuen zur Sektion oder Giftgewinnung entnommen wurden.

Bedingt durch die Grösse der Spinnen, konnte erst ab dem 6. Stadium Gift gewonnen werden. Hierzu wurde das Tier mit CO₂ betäubt und elektrisch gemolken. Die Giftabgabe erfolgte in Mikrokapillaren, die zuvor über die Chelicerenklaue gestülpt wurden. Die Giftaufbewahrung geschah bei -80°C. Jedes Tier wurde nur einmal pro Stadium gemolken, adulte Tiere nur bis 3 Monate nach der Adulthäutung. Die Proteinbestimmung erfolgte mit gepooltem Gift.

Für die Bestimmung der Giftwirkung wurde das Gift mit Insektenringer in verschiedene Konzentrationen verdünnt und bei CO₂-betäubten Heimchen von 110±10 mg Körpergewicht in die Gelenkmembran zwischen Coxa und Trochanter des rechten Vorderbeines injiziert. Der Berechnung der LD-50 liegen Versuchsserien in 4 Giftkonzentrationen (je 0,6 µl Volumen, je 60-80 Heimchen) während 24 h zugrunde, der Kontrollgruppe wurde Insektenringer gespritzt. Diese Methode wurde durch eine respirometrische Untersuchung ergänzt, bei der deutlich subletale Dosen von Gift injiziert wurden und die CO₂-Produktion über 640 Minuten optoakustisch gemessen wurde. Diese Methode und die Verrechnung ihrer Ergebnisse sind ausführlich bei STUDER & NENTWIG (dieser Band) und STUDER (1991) beschrieben.

3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Länge von Tibia I und des Prosomas nimmt bei *Cupiennius salei* über alle Entwicklungsstadien kontinuierlich zu. Die Überlappung ist so gering, dass fast alle Individuen aufgrund dieser Masse eindeutig einem Stadium zugeordnet werden können. Erst in den letzten Stadien unterscheiden sich die beiden Geschlechter (Abbildung 1). Die Giftdrüsen bestehen aus drei Abschnitten: der Ampulle (einer karottenförmigen Verbreiterung des Ausführkanales in der Giftklaue), einem Verbindungskanal und der Hauptdrüse (Abbildung 2). Während in der Hauptdrüse das Gift sekretiert wird, könnte es sich bei der Ampulle um einen Speicher handeln, in dem sich die jeweils einspritzbereite Giftmenge befindet. Ein Vergleich der benötigten Giftmengen für Heimchen oder andere Insekten (FRIEDEL & NENTWIG 1989) zeigt denn auch stadienspezifisch eine gute Übereinstimmung mit dem Volumen der Ampulle.

Die Morphologie der Giftdrüse bleibt im Verlauf der Ontogenie der Spinnen im wesentlichen unverändert, die anatomische Lage der Drüse verändert sich jedoch (Abbildung 2). Die Hauptdrüse wächst tiefer in das Prosoma und nimmt hier schliesslich einen grossen Teil ein. Im Unterschied zu Angaben bei MILLOT (1931) reicht jedoch auch beim 1. Stadium die Hauptdrüse schon zur Hälfte aus den Cheliceren heraus und dringt in das Prosoma vor. Die Giftdrüsenentwicklung innerhalb der labidognathen Spinnen ist also offensichtlich nicht so einheitlich, wie sie MILLOT aufgrund seiner Untersuchungen an Scytodidae und Thomisidae annahm.

Während der Ontogenese findet mit jeder Häutung bis zum 11. Stadium jeweils fast eine Verdoppelung des Drüsenvolumens statt (Abbildung 3). Männchen haben durchwegs ein kleineres Drüsenvolumen (max. 8,7 μl) als Weibchen (12,3 μl). Die Menge gemolkenen Giftes lag durchschnittlich (N=80) für das 6. Stadium bei 0,25 $\mu\text{l}/\text{Drüse}$, für das 9. Stadium bei 1,7 μl und für adulte Tiere bei 3,0 (Männchen) bzw. 5,6 μl (Weibchen). Dieser Melkertrag machte für die Stadien 6-8 70-90% des Drüsenvolumens aus, für die Stadien 9-10 40-50% und für adulte Tiere um 40 %.

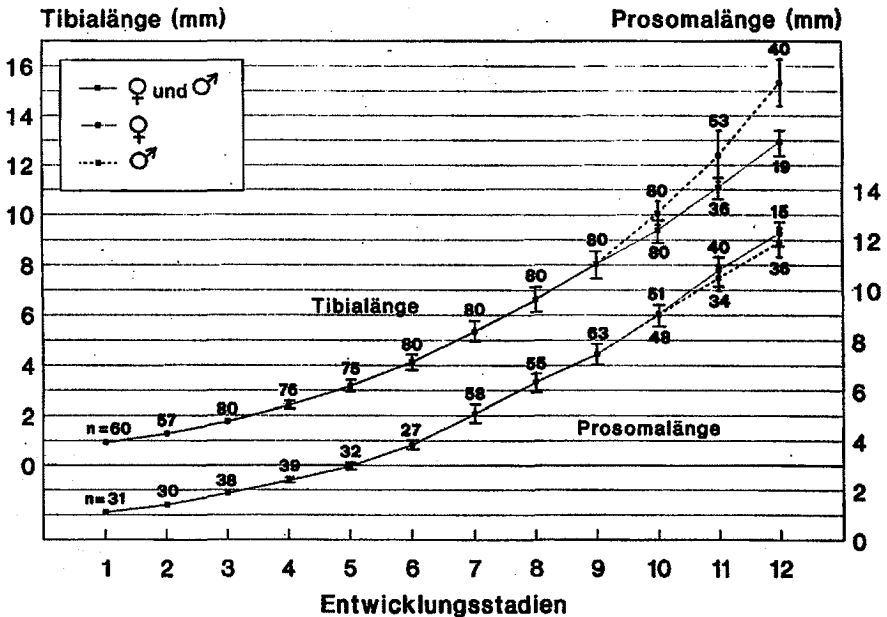


Abb. 1. - Morphologische Entwicklung von Tibia und Prosoma im Verlauf der Ontogenese.

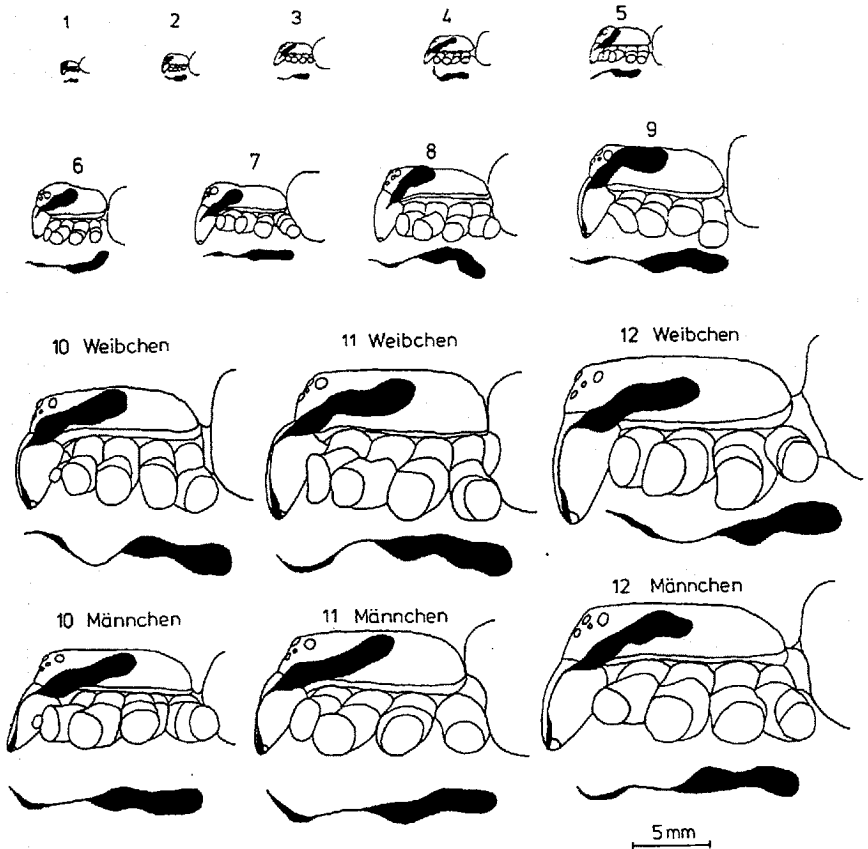


Abb. 2. - Relative Grösse und Lage der Giftdrüsen für die Entwicklungsstadien 1 - 12.

Der Proteingehalt des Spinnengiftes steigt im Verlauf der Ontogenese stetig an (Abbildung 4). Er beträgt im 6. Stadium ca. $100 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ und ist bei adulten Tieren rund 50 % höher. Männchen haben im allgemeinen einen geringfügig niedrigeren Proteingehalt als Weibchen. Die Toxizität des Giftes verändert sich ähnlich stark, jedoch nicht gleichmässig. Juvenile Tiere im 6. Stadium und adulte Tiere (11. Stadium) haben ein sehr stark wirkendes Gift (niedrige LD-50). Während der Entwicklung der Tiere erhöht sich jedoch die LD-50 um fast 60 %, so dass subadulte Spinnen im 10. Stadium ein relativ wenig toxisches Gift haben. Das Gift von Weibchen ist stets wirksamer als das von Männchen (im 12. Stadium 35 %). Von Spinnen der ersten 5 Entwicklungsstadien konnte kein Gift gewonnen werden. Die vorliegenden Ergebnisse lassen jedoch die Annahme zu, dass ihr Gift noch toxischer als das der älteren Stadien

ist. Möglicherweise verfügen Jungspinnen im Verlauf der Ontogenese generell über das wirksamste Gift. Wegen der grossen technischen Schwierigkeiten ist es bis heute jedoch noch nicht gelungen, bei sehr kleinen Spinnen Gift durch Melken zu gewinnen. Die respirometrische Analyse der Giftwirkung zeigt in allen Fällen einen ausgeprägten Abfall der CO_2 -Produktion in den ersten 60 Minuten nach der Giftinjektion. Im weiteren Verlauf nehmen die Kurven annähernd linear ab. Die Kurvenverläufe des 8. und 9. Stadiums sind nahezu identisch, liegen aber tendenziell höher als die des 7. Stadiums. Das Gift des 10. Stadiums wirkt weniger stark als das adulter Tiere, welches den deutlichsten Respirationsabfall verursachte. Im 11. Stadium wirkt das Gift der Männchen anfangs sehr rasch, um nach 200 Minuten einen linearen Verlauf zu nehmen. Das Gift der Weibchen bewirkt hingegen einen langsameren, jedoch länger andauernden Abfall der CO_2 -Produktion, so dass diese Kurve nach 180 Minuten unter die der Männchen zu liegen kommt.

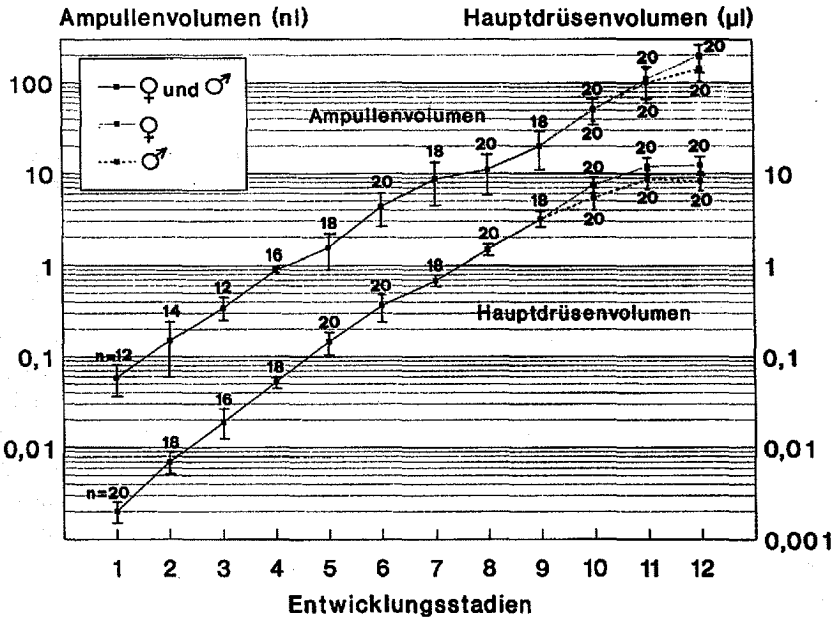
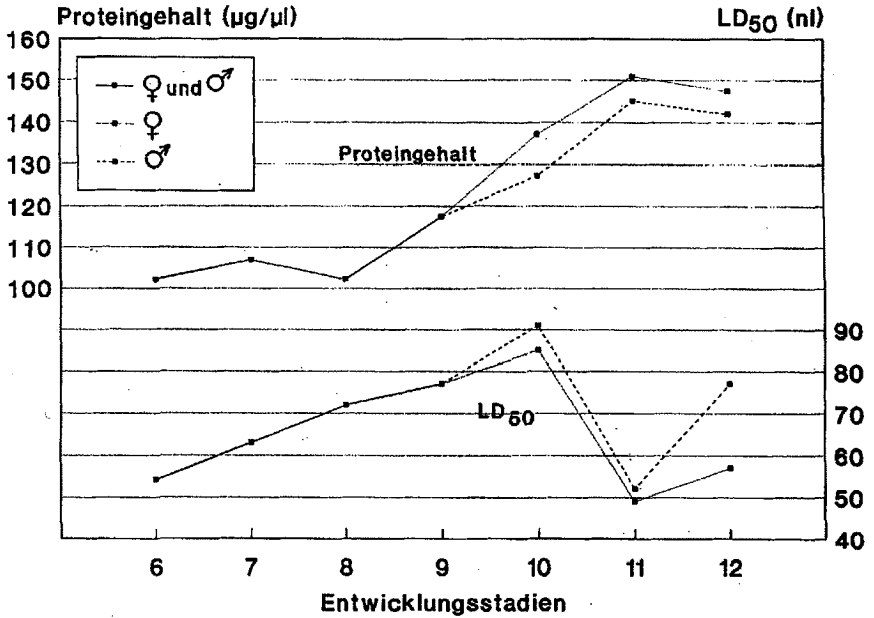


Abb. 3 - Volumenentwicklung von Hauptdrüse und Ampulle im Verlauf der Ontogenese.



3Abb. 4. - LD-50 Werte für das Gift von *Cupiennius salei* bei *Acheta domestica* und Proteingehalt des Giftes der Stadien 6 - 12. Bei den Stadien 6 - 9 wurde nicht zwischen Männchen und Weibchen unterschieden.

Eine weitergehende, regressionsanalytische Beurteilung verschiedener Koeffizienten der respirometrisch gewonnenen Kurvenverläufe zeigt vor allem im Zeitverlauf deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Stadien und Geschlechtern auf, die die LD-50 Werte sehr gut ergänzen (MALLI 1991). Biochemisch bedeutet dies, dass das Gift von *Cupiennius salei* aus mehreren Komponenten besteht, deren Mengen und relative Anteile ontogenetischen Veränderungen unterliegen. Die Annahme eines speziellen "Juveniltoxins" kann z.B. erklären, wieso trotz bedeutend niedrigerem Proteingehalt das 6. Stadium über ein viel wirkungsvolleres Gift verfügt als das 10. Stadiumen. Diese Annahme deckt sich auch mit neueren Arbeiten v.a. an Ageleniden und Araneiden, die (wenn auch von adulten Tieren) 2-3 unterschiedliche Klassen von Toxinen im Spinnengift nachwiesen (z.B. ADAMS et al. 1989).

Danksagung: Für vielfältige Unterstützung während der Durchführung dieser Arbeit danken wir E.Jutzi, S.Keller, A.Kirchofer, L.Kuhn-Nentwig, B.Neuenschwander, R.Riechsteiner, A.Studer und M.Zimmermann.

REFERENCES

- ADAMS, M.E., HEROLD, E.E., VENEMA, V.J. - (1989). Two classes of channel-specific toxins from funnel web spider venom. *J. Comp. Physiol. A.*, 165: 333-342.
- FRIEDEL, T., NENTWIG, W. - (1989). Immobilizing and lethal effects of spider venoms on the cockroach and the common mealbeetle. *Toxicon*, 27: 305-316.
- MALLI, H. - (1991). Ontogenetische Untersuchungen am Gift von *Cupiennius salei* Keyserling, einer mittelamerikanischen Ctenide (Araneae). *Diplomarbeit, Zoologisches Institut, Universität Bern.*
- MELCHERS, M. - (1963). Zur Biologie und zum Verhalten von *Cupiennius salei* Keyserling, einer mittelamerikanischen Ctenide. *Zool. Jb.*, 91: 1-90.
- MILLOT, J. - (1931). Les glandes venimeuses des aranéides. *Ann. Sc. Nat. Zool.*, 10: 113-145.
- STUDER, A. - (1991). Auswirkungen des Giftes von *Cupiennius salei* Keys. (Araneae; Ctenidae) auf verschiedene Insektenarten. *Diplomarbeit, Zoologisches Institut, Universität Bern.*