Eine außergewöhnliche Klebzunge bei Insekten als Vorbild für die Entwicklung biphasischer viskoser Klebstoffe

Zuwendungsempfänger: **Max-Planck-Institut für Metallforschung**
Zoologisches Institut der Universität Tübingen

Förderkennzeichen: **BNK2-052**

Laufzeit des Vorhabens: **01. Juli 2006 − 31. März 2007**

Berichtszeitraum: **01. Juli 2006 − 31. März 2007**

Autoren: **Prof. Dr. Oliver Betz[1], PD Dr. Stanislav Gorb[2] & Dipl.-Biol. Lars Koerner[1]**

[1]**Zoologisches Institut der Universität Tübingen**,
Abteilung Evolutionsbiologie der Invertebraten,
Auf der Morgenstelle 28E, 72076 Tübingen,
Tel: 07071-29-72995, Fax: 07071-29-4634,
Email: oliver.betz@uni-tuebingen.de

[2]**Max-Planck-Institut für Metallforschung,**
Heisenbergstr. 3, 70569 Stuttgart,
Tel: 0711-689-3414, Fax: 0711-689-3412
Email: s.gorb@mf.mpg.de

Inhaltsverzeichnis:

I. Kurze Darstellung
1. Aufgabenstellung
2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde
3. Planung und Ablauf des Vorhabens
4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde
5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

II. Eingehende Darstellung
1. Erzielte Ergebnisse
2. Voraussichtlicher Nutzen
3. Während der Durchführung des Vorhabens dem ZE bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen
4. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

III. Anlage: Erfolgskontrollbericht

I. Kurze Darstellung

I.1 Aufgabenstellung

Ziel der Machbarkeitsstudie war die Erarbeitung biomechanischer Eckdaten für die Verbesserung von Haftsystemen, die unter Vermittlung (biphasischer) viskoser Klebstoffe arbeiten. Diese Daten sollten am Beispiel des Fangapparates bei der Kurzflügelkäfergattung *Stenus* untersucht werden, dessen terminale Haftpolster beim Fangschlag unter Vermittlung eines (biphasischen) Haftsekretes auf das Beuteobjekt angepresst werden.
Im Rahmen dieser Studie sollten folgende Detailaspekte untersucht werden:

(i) die Haftwirkung der Klebpolster an verschiedenen physikalisch definierten synthetischen und natürlichen Oberflächen
(ii) der Einfluss der Struktur der Klebpolster (Anzahl und Dichte der Haftkontakte, Haftpolsterfläche) auf die erzielbaren Klebkräfte
(iii) die kryo-rasterelektronenmikroskopische Visualisierung der Haftpolster und des ihnen aufliegenden Haftsekretes
(iv) die strukturelle und chemische Analyse des Haftsekretes selber

Die gewonnenen Ergebnisse verbessern unser Verständnis darüber, welche Kombination aus strukturellen, chemischen und physikochemischen Eigenschaften für die exzellente Haft-Performanz dieses biologischen Systems verantwortlich ist. Diese Erkenntnisse sollen helfen, neue Ideen für die Herstellung von Klebstoffen zu entwickeln, die in Verbindung mit hierarchisch terminal verzweigten (Mikro-)Strukturen eingesetzt werden können.

I.2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Vorhaben wurde am Zoologischen Institut der Universität Tübingen, Abteilung Evolutionsbiologie der Invertebraten und am Max-Planck-Institut für Metallforschung, Abteilung Arzt, Stuttgart, durchgeführt.

Die Projektleitung oblag Prof. Dr. Oliver Betz, Zoologisches Institut der Universität Tübingen, Abteilung Evolutionsbiologie der Invertebraten.
Personal: Die Machbarkeitsstudie wurde in Kooperation mit PD Dr. Stanislav Gorb vom Max-Planck-Institut für Metallforschung (Biomaterials Group) durchgeführt. Die wissenschaftlichen Arbeiten an der Universität Tübingen in der Abteilung Evolutionsbiologie der Invertebraten wurden vom Dipl.-Biol. Lars Koerner durchgeführt (Vergütungsgruppe IIa BAT).
Die GC/MS-Analysen sowie erste Proteinanalysen wurden von Prof. Dr. Konrad Dettner sowie Dipl.-Biol. Inka Lusebrink an der Universität Bayreuth, Lehrstuhl für Tierökologie durchgeführt.
Auch wenn nicht durch die BMBF-Förderung finanziert, danken die Autoren für die Assistenz bei der Versuchsdurchführung und wertvolle Diskussionen: Conny Miksch, MPI für Metallforschung, Dr. Heinz Schwarz, MPI für Entwicklungsbiologie, Dr. York-Dieter Stierhof, Dr. Graeme Nicholson, Dr. Klaus Eisler, Julia Straube, Karl-Heinz Hellmer und Maria Isabel Koerner, alle Universität Tübingen sowie Dr. Helmut Schäfer, Fraunhofer Institut für Fertigungstechnik und Angewandte Materialforschung Bremen.

Die Laufzeit der Machbarkeitsstudie betrug neun Monate vom 01. Juli 2006 bis zum 31. März 2007.

I.3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Mit mikroskopischen, chemisch-analytischen sowie biomechanischen Methoden wurden die Grundprinzipien herausgearbeitet, die der Funktionalität dieses einzigartigen Fangapparates zugrunde liegen. Hierbei interessierten uns vor allem Eigenschaften, welche die (i) Dimension und Dichte von Haftelementen, (ii) die chemische Zusammensetzung und physikalische Struktur (biphasischer) Haftsekrete sowie (iii) die physikalischen Wirkmechanismen betreffen.
Die beim Klebfang auftretenden Haftkräfte konnten mittels eines von uns entwickelten Versuchsaufbaues erstmalig *in vivo* bestimmt werden. Diese Kraftmessungen wurden bis jetzt bei 10 Arten der Gattung *Stenus* durchgeführt. Des Weiteren wurde die Haftleistung der Klebzunge auf standardisierten Oberflächen mit unterschiedlichen Rauigkeiten und Oberflächenenergien getestet. Die Bewegungsabläufe während dieser Fangschläge wurden gleichzeitig mit einer auf einem Binokularmikroskop montierten Hochgeschwindigkeitskamera aufgezeichnet.
Mit dem Verfahren der Kryo-Rasterelektronenmikroskopie war es möglich, die Größe und Form der Haftpolster sowie die Verteilung des Haftsekretes über den Hafttrichomen darzustellen. Die Schichtdicke des Haftsekretes wurde mittels Weisslichtinterferometrie bestimmt. Ultrastrukturelle, chemische und physikochemische Studien erbrachten erste Hinweise auf die Zusammensetzung und Verteilung der chemischen Komponenten des Haftsekretes.
Die Übertragbarkeit der entdeckten Prinzipien auf synthetische Systeme sollte getestet werden.

Die zeitliche Planung wurde in der Vorhabensbeschreibung des Förderantrags detailliert dargestellt. Der Ablauf des Vorhabens entsprach der Planung.

Die Gesamtkosten des Projektes betrugen, wie im Finanzierungsplan vorgesehen, 50 000 €

(30 000 € Universität Tübingen, 20 000 € MPI Stuttgart).
Die Finanzberichte (Verwendungsnachweise) wurden separat angefertigt und dem Projektträger übersandt.

Ein Kurzbericht, der alle wesentlichen wissenschaftlich-technischen Ergebnisse dieser Machbarkeitsstudie enthält, wurde im Mai 2007 beim Projektträger eingereicht. Alle aus dieser Machbarkeitsstudie resultierenden Publikationen werden nach Veröffentlichung ebenfalls eingereicht.

I.4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Thematik der Haftsysteme ist in jüngster Zeit dank der Einführung neuer experimenteller und mikroskopischer Techniken wieder verstärkt aufgegriffen worden (z.B. Attygalle et al. 2000, Federle et al. 2000, Jiao et al. 2000, Scherge & Gorb 2001). Dabei wurden sehr unterschiedliche Aspekte wie die generelle Morphologie, die chemische Beschaffenheit der Haftsekrete, die Adhäsionsleistung von Haftstrukturen sowie die den Haftvorgängen zugrunde liegenden physikalischen Mechanismen untersucht. Generell existieren bei Insekten zwei verschiedene Haftsysteme; entweder solche mit glatten oder solche mit behaarten Oberflächen (Beutel & Gorb, 2001). Beide Systeme zeichnen sich durch ihre enorme Flexibilität aus, sodass die Kontaktfläche zum Substrat unabhängig von dessen Rauigkeit maximiert werden kann. In beiden Systemen sind die erzielten Haftkräfte abhängig von verschiedenen morphologischen Parametern (z.B. Anzahl, Fläche und Dichte der Haftelemente) (Gorb 2001, Gorb et al. 2001, Arzt et al. 2003). Die den verschiedenen Haftsystemen zugrunde liegenden Mechanismen können von Fall zu Fall sehr unterschiedlich sein und werden in unterschiedlichem Ausmaß von van der Waals-, Kapillar-, Viskositäts- und Reibungskräften generiert (z.B. Israelachvii 1991, Scherge & Gorb 2001).

Adhäsionsvorgänge bei Insekten wurden in der Vergangenheit in erster Linie im Kontext von Lokomotionsvorgängen untersucht. Ein wenig beachteter Aspekt, bei dem Haftstrukturen eine Rolle spielen, ist der Beutefang (Betz & Kölsch 2004). Dabei muss die Haftstruktur eine extrem rasche Verbindung eingehen können, damit die Fluchtbewegungen der Beute unwirksam bleiben.
In unserer Machbarkeitsstudie beschäftigten wir uns mit der Klebzunge der Vertreter der Kurzflügelkäfergattung *Stenus*. Die Vertreter dieser Gruppe zeichnen sich durch eine vorschnellbare, stabförmig verlängerte Unterlippe (Labium) aus, mit dem sie selbst ausgesprochen fluchtfähige Beutetiere sehr effektiv erbeuten können (Betz 1996). Die grundsätzliche Struktur und Funktion dieses Fangapparates wurde im Verlauf mehrerer Studien geklärt (z.B. Schmitz 1943, Weinreich 1968, Betz 1996, 1998, Kölsch & Betz 1998, Kölsch 2000).
An der Haftwirkung der Klebzunge ist ein Sekret beteiligt, welches vor dem Fangakt über die Oberfläche der Hafthaare verteilt wird. Die Wirkung dieses Haftsekretes beruht vermutlich auf dem Mechanismus der Viskosität. Ultrastrukturelle Untersuchungen legten nahe, dass es sich bei dem Sekret um ein disperses System handelt, bei dem Lipidtröpfchen in einer mächtigeren proteinhaltigen Fraktion emulgiert vorliegen (Kölsch 2000, Betz & Kölsch 2004). Emulsionen sind sogenannte metastabile Kolloide aus zwei nicht mischbaren Flüssigkeiten (eine polare und eine weniger polare), wobei die eine Phase in der anderen dispergiert vorliegt. Hierbei fungieren oberflächenaktive Emulgatoren in der Regel als Stabilisatoren, indem sie die Energie der Phasengrenzen senken und dadurch einer Entmischung beider Phasen entgegenwirken. Als stabilisierende Emulgatoren könnten hierbei ebenfalls im Tarsalsekret von Insekten nachgewiesene Komponenten wie zum Beispiel Cholesterol, freie Fettsäuren oder Saccharide fungieren (Vötsch et al. 2002). Der Vorteil solcher Emulsionen könnte zum einen in verbesserten Benetzungseigenschaften gegenüber verschiedenen Substraten liegen, da sie sich sowohl mit hydrophilen als auch hydrophoben Oberflächen verbinden können. Zum anderen ließe sich darüber auch die Viskosität des Haftsekretes und damit seine Haftwirkung erhöhen.
Für Emulsionen finden sich eine Vielzahl technischen Anwendungen, angefangen bei der Lösung und dem Transport hydrophober Substanzen in einer wässrigen Phase (ohne die Notwendigkeit der Anwendung organischer Lösungsmittel) bis hin zu verschiedenen Oberflächenbehandlungen wie Farbanstrichen oder Schmiermitteln (Bibette et al. 1999). Auch im Bereich der Klebetechnik können Emulsionen von großer Bedeutung sein, zum Beispiel in Form der so genannten Dispersionsklebstoffe, bei denen Monomere in einer Wasserphase dispergiert vorliegen, um nach Applikation auf den zu verklebenden Bauteilen unter Verlust der Wasserphase zu polymerisieren (Lagaly et al. 1997).

I.5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die chemischen Analysen (GC/MS, Proteine) wurden in Kooperation mit Prof. Konrad Dettner (Universität Bayreuth) durchgeführt, die Kryofixierung der Klebpolster von Dr. Heinz Schwarz und Dr. York-Dieter Stierhof am Max-Planck-Institut für Entwicklungsbiologie.

Alle anderen Untersuchungen (Mikrotomie, REM, Kryo-REM, TEM, Kraftmessungen, Weisslichtinterferometrie, Hochgeschwindigkeitsaufnahmen, Schrägbedampfung) konnten unabhängig von diesen Kooperationen an der Universität Tübingen und am Max-Planck-Institut für Metallforschung in Stuttgart durchgeführt werden.

II. Eingehende Darstellung

II.1 Erzielte Ergebnisse

Die Klebzunge der Vertreter der Kurzflügelkäfergattung *Stenus* stellt ein einzigartiges Beispiel biologischer Haftsysteme dar. Dabei wird die Haftwirkung dieses Kleborgans durch ein Sekret gewährleistet, welches in speziellen Kopfdrüsen produziert und über die Haftpolster verteilt wird. Im Rahmen der Machbarkeitsstudie wurde in den neun Monaten von Juli 2006 bis Ende März 2007 untersucht, welche Klebkräfte aus diesem biologischen System resultieren und welche strukturellen, chemischen und physikochemischen Eigenschaften für die exzellente Haftperformanz verantwortlich sind. Unsere Ergebnisse zeigen das hohe bionische Potenzial hierarchisch organisierter, sekretvermittelter, biologischer Haftsysteme.

Die Struktur der Haftpolster und des ihnen aufliegenden Klebsekretes wurde mit Methoden der Kryo-Raster- sowie Transmissions-Elektronenmikroskopie untersucht. Dabei zeigte sich, dass die abgegebene Sekretmenge relativ groß ist, sodass die Hafthaare fast vollständig mit Sekret bedeckt sind und nur deren terminale Verzweigungen aus dem Sekret ragen (Abb. 1).

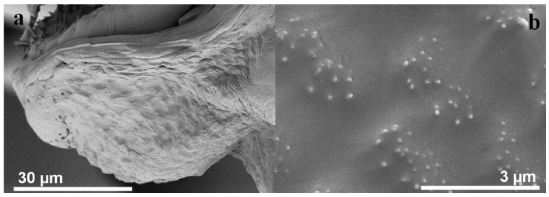

Abb. 1: Kryo-Rasterelektronenmkroskopische Aufnahmen der Klebpolster (von lateral) mit aufliegendem Klebsekret. (a) Die Hafthaare sind vollständig mit dem Klebsekret benetzt, während die lateralen Flankenhäute unbenetzt bleiben. (b) Lediglich die terminalen Verzweigungen der Hafthaare ragen aus dem Klebsekret heraus.

Durch den von uns entwickelten Versuchsaufbau war es erstmals möglich, die während des Fangschlages auftretenden Kräfte zu bestimmen. Dabei zeigten sich interessante Korrelationen zwischen den Adhäsionskräften und verschiedenen morphologischen Parametern der Klebpolster (Fläche der Klebpolster, Anzahl der Hafthaare und Haftkontakte pro Klebpolster) verschiedener *Stenus*-Arten (Abb. 2). Außerdem konnte gezeigt werden, dass sich die Haftleistung der Klebpolster selbst auf sehr rauen Oberflächen nicht ändert. Diese Beobachtung weist darauf hin, dass es sich bei dem Klebsekret dieser Käfer um einen echten Klebstoff handelt, da auch bei diesen die Haftwirkung auf rauen Oberflächen nicht vermindert ist. Da das Haftsekret wahrscheinlich eine Emulsion aus hydrophilen und hydrophoben Komponenten darstellt, unterscheidet sich die Haftkraft auf Oberflächen mit unterschiedlichen Oberflächenenergien nur unwesentlich voneinander. Das Sekret haftet selbst auf relativ feuchten, weichen Materialien (z.B. Muskel- und Fettgewebe). Diese Eigenschaft könnte für die Medizinklebetechnik von Interesse sein.

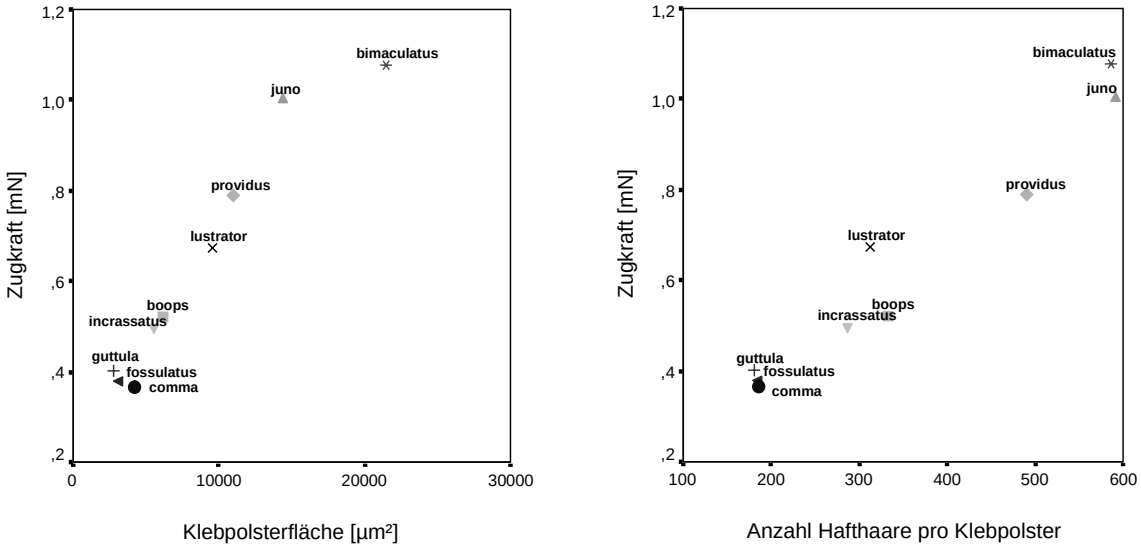

Abb. 2: Abhängigkeit der Adhäsionskräfte [mN] von der Morphologie der Klebpolster. Die Adhäsionskräfte sind positiv mit der Fläche der Klebpolster (a) sowie der Anzahl der Hafthaare auf dieser Fläche (b) korreliert.