

Blutuntersuchungen bei Bienen

Autor(en): **Morgenthaler, Peter W.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft =
Bulletin de la Société Entomologique Suisse = Journal of the
Swiss Entomological Society**

Band (Jahr): **26 (1953)**

Heft 4

PDF erstellt am: **17.04.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-401187>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Blutuntersuchungen bei Bienen

von

PETER W. MORGENTHALER

Bienenabteilung der Eidg. Milchwirtschaftlichen
und Bakteriologischen Versuchsanstalt, Liebefeld-Bern

I

Nachdem durch K. MÜLLER (1925), METALNIKOFF und TOUMANOFF (1930) und W. FYG (1942) bereits einiges über das normale, gesunde Bienenblut berichtet worden ist, wäre es wohl interessant zu erfahren, ob und inwiefern uns das Blutbild Aufschluss gibt über krankhafte Zustände der Biene, ähnlich wie wir es von der Medizin für den Menschen kennen. Und zwar sollen bei diesen Untersuchungen nicht die beiden Hauptfeinde der Biene, Milbe und Nosema, im Vordergrund stehen, da ihre sichere Diagnose mithilfe des Mikroskops ja längst gewährleistet ist. Vielmehr bestand die Absicht, jene weniger häufig beobachteten und daher auch weniger abgeklärten Erscheinungen etwas zu beleuchten, die ins Gebiet der chemischen Vergiftungen und der bakteriellen Infektionskrankheiten gehören. Es bestand zudem die begründete Vermutung, dass in erster Linie Krankheiten mit derartigen Ursachen sich im Aussehen und in der Beschaffenheit des Bienenblutes widerspiegeln würden.

Es ist indessen unerlässlich, zuerst das gesunde Blut richtig kennen zu lernen, um erst dann etwaige Veränderungen und Abweichungen vom Normalen überhaupt als solche erkennen zu können. Es erscheint mir deshalb zweckmässig, zunächst kurz einiges auszuführen über die Technik von der Blutentnahme bis zum fertigen, gefärbten Präparat. Alsdann sollen die verschiedenen Zellen, die das mikroskopische Bild zeigt, genauer untersucht und klassiert werden, um von dieser Grundlage aus — im zweiten Teil der Arbeit — ein paar pathologische Erscheinungen zu betrachten. Dabei möchte ich betonen, dass naturgemäss die Kenntnisse über Bienenblut ganz wesentlich spärlicher sind als etwa die über das Menschenblut, bei dem jede in der Entwicklung

dieses « flüssigen Gewebes » überhaupt vorkommende Zelle ihren speziellen, allgemein gültigen Namen trägt. Es ist daher auch begreiflich, dass man aus der wenigen Literatur über das Blut der Biene nur mit Mühe übereinstimmende Ergebnisse erhält, betreffe es die Nomenklatur, die Grösse oder gar die Entwicklung der Hämocyten.

Die adulten Bienen wurden in der Regel kurz mit Ätherdämpfen betäubt und alsdann für ca. zehn Minuten in heisses Wasser von 60° C eingetaucht. Diese einfache Methode der « heissen Fixierung » wurde von J. F. YEAGER (1945) angegeben und bezweckt, eine Formveränderung der Hämocyten bei ihrer Entnahme zu vermeiden. Auf diese Weise wird eine Gewährleistung dafür erreicht, dass die Körperchen im Ausstrich in derselben Gestalt erscheinen, die sie in der zirkulierenden Blutflüssigkeit haben. (Für Untersuchungen im hängenden Tropfen über die Eigenbewegung der Blutzellen musste natürlich diese Vorbehandlung unterbleiben.)

Nach kurzem Trocknen auf Filtrierpapier werden die Bienen unter der Binokularlupe auf den Rücken gelegt und mit Insektennadeln derart fixiert, dass auf keinen Fall das Abdomen verletzt wird. Nun kann mit einer sterilen Kapillarpipette die Blutentnahme vorgenommen werden. Als geeignetsten Ort zur Entnahme betrachte ich den mir von W. FYG angegebenen, durch eine Intersegmentalhaut leicht anzu-

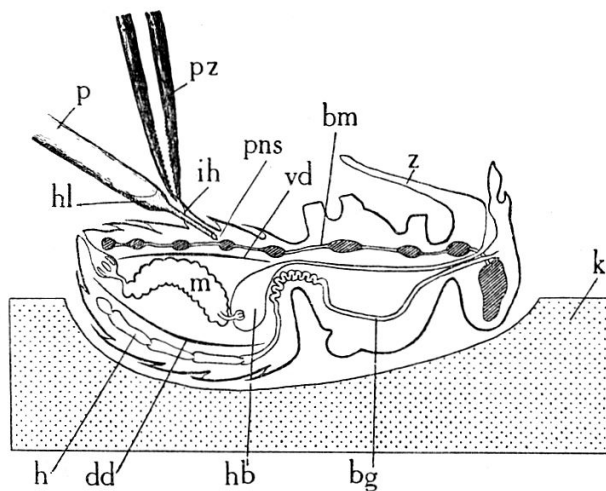


Abb. 1. — Blutentnahme bei der Honigbiene (schematisiert nach LEUENBERGER). — bg, Blutgefäss (dorsal gelegen). — bm, Bauchmark. — dd, dorsales Diaphragma. — h, Herz (mit mehreren Kammern). — hb, Honigblase. — hl, Hämolymphe. — ih, Intersegmentalhaut. — k, Korkplatte. — m, Mitteldarm. — p, Pipette. — pns, Perineuralsinus (Raum ums Bauchmark herum, begrenzt durch Bauchschuppen und ventrales Diaphragma). — pz, Pinzette. — vd, ventrales Diaphragma. — z, Zunge.

und in relativ reichlicher Menge zirkuliert. Es ist danach unschwer zu verstehen, weshalb beim Fixieren auf die Korkunterlage das Abdomen der Bienen nicht von Nadeln durchstossen werden darf: Allzu leicht könnten sonst Bakterien aus der Darmflora in die Hämolymphe übertreten und, im Blutaussstrich betrachtet, eine Septikämie vortäuschen. Aber auch aus dem unverletzten Darm erscheinen bisweilen — besonders bei Winterbienen — Bakterien im Blut, da offenbar mit zunehmendem Alter die Darmwand von ihrer Elastizität einbüsst und für diese Mikroorganismen mehr oder weniger durchlässig wird.

Um dieser Unannehmlichkeit zu entgehen, wurden zwei weitere Methoden der Blutentnahme auf ihre Brauchbarkeit geprüft. Die direkte Punktion des Herzens stösst auf erhebliche Schwierigkeiten: Unter dem Binokular wird die Glaskapillare viel zu grob im Verhältnis zum sehr dünnen Herzschauch. Alsdann ist sie rasch verstopft durch die Massen der Perikardialzellen und vor allem durch das dichte Tracheensystem, welches die Herzkammern umspinnt. — Die Blutentnahme am Bein (durch Abschneiden eines Gliedes) liefert vor allem quantitativ unbefriedigende Resultate; wird ausserdem das zu erhaltende Tröpfchen durch Pressen des Beines vergrössert, so zeigen sich nachher im Präparat Verunreinigungen, die auf andere Gewebe zurückzuführen sind. — Dem gegenüber ergibt der Perineuralsinus genügend reichliche Mengen Hämolymphe, und eine allfällige Bakterienflora aus dem Enddarm ist hinreichend typisch, um als solche festgestellt zu werden.

Das gewonnene Tröpfchen Blutflüssigkeit, das nach der Erhitzung auf 60° nicht mehr klar und farblos, sondern meist leicht getrübt erscheint, wird aus der Kapillare auf ein gut gereinigtes und entfettetes Deckglas gebracht und darauf mit einer Platinnadel fein verteilt. Sodann werden die luftgetrockneten Ausstriche nach MAY-GRÜNWARD - GIEMSA gefärbt. Diese panoptische Färbung mit Eosin-Methylenblau und Azur-Eosin ist in der Medizin gebräuchlich für Blutausstriche, und sie hat sich auch für Insekten als die beste erwiesen (Chromatin leuchtend rot, Cytoplasma blass blau bis blauviolett). Schliesslich werden die Deckgläser mit Kanadabalsam auf Objektträger geklebt.

Und was zeigt nun das mikroskopische Bild? Abb. 2 ist nach einem solchen Blutausstrich einer gesunden, adulten Biene gezeichnet. Trotz der Verschiedenheit der einzelnen Formen lassen sich diese Zellelemente unschwer in eine Gruppe fassen: Sie besitzen alle einen deutlich umgrenzten, mehr oder weniger körnigen, bisweilen eher homogenen Kern und darum einen ziemlich breiten Protoplasmasaum. Ihre Grösse (gemessen im fixierten und gefärbten Ausstrich!) schwankt in der Länge zwischen 7 und 9,5 μ (1 μ = 0,001 mm), in der Breite zwischen 5,5 und 8 μ , je nachdem, ob es sich um runde, ovoide oder spindelige Formen handelt. Sie bilden bei der erwachsenen Biene den Hauptanteil der Blutkörperchen. Wir wollen sie, in Anlehnung an S. METALNIKOFF (1930), *Leukocyten* (= weisse Blutzellen) nennen.

Daneben findet sich aber, wie Abb. 3 veranschaulicht, noch eine andere Art Hämocyten, die vorwiegend in den jüngeren Entwicklungsstadien der Biene auftreten. METALNIKOFF nennt diese protoplasmaarmen Zellen mit regelmässigem, meist kreisrundem Kern *Proleukocyten*. Der Name besagt, dass es sich wohl um Vorstadien der Leukocyten handelt, d. h. um junge Leukocyten, die im Alter allmählich verschwinden. Sie sind wesentlich kleiner als die Leukocyten und messen in der Länge 4,5–6,5 μ , in der Breite 3,5–5 μ . Über ihr prozentuales Vorhandensein im Bienenblut machen METALNIKOFF und

TOUMANOFF (1930) folgende Angaben: Bei normalen kleinen Rundmaden fanden sie 85 und mehr % Proleukocyten gegenüber rund 15 % Leukocyten. Und K. MÜLLER (1925) stellt in seinen Untersuchungen fest, dass die protoplasmaarmen Zellen in der Hämolymphe von Flugbienen nur in einer äusserst spärlichen Menge zu sehen sind, dass sie

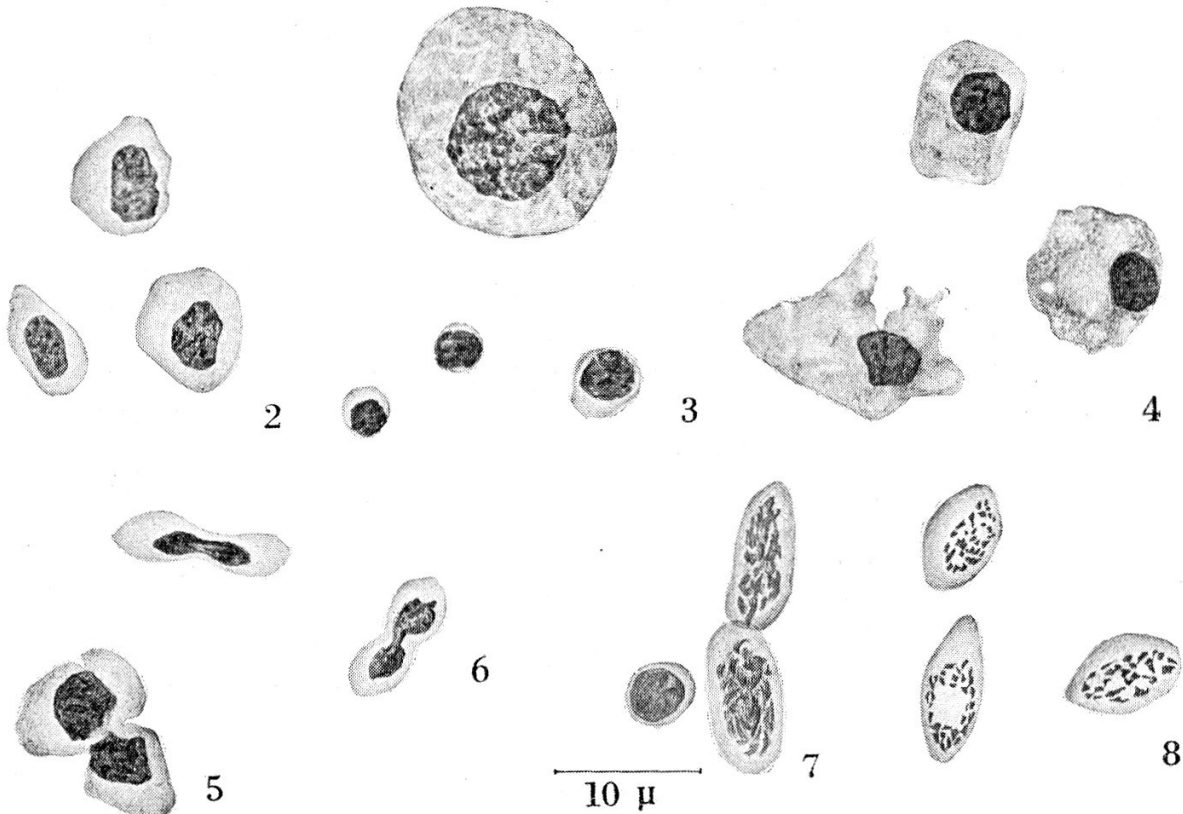


Abb. 2—8. — 2. Normale Leukocyten. — 3. Proleukocyten und ein Oenocyt (frisch geschlüpfte Biene). — 4. Pyknonucleocyten. — 5. Pyknonucleocyt: Amitose. — 6. Leukocyten: Amitose. — 7. Durch Cibazol-Lösung krankhaft veränderte Leukocyten und ein Proleukocyt. — 8. Durch Saponin-Lösung krankhaft veränderte Leukocyten. — Massstab 10 μ .

aber im Blut junger Bienen weitaus stärker auftreten. In ganz besonders grosser Zahl konnte er diese Proleukocyten bei schlüpfenden Bienen finden.

Als dritte und letzte möchte ich eine Hämocytenart beschreiben, die ich zwar in der Literatur nicht angegeben fand, die mir aber doch regelmässig — wenn auch in geringerer Anzahl — in den Ausstrichen begegnete. Es handelt sich dabei um grössere Zellen von ziemlich variabler Form; sie messen in der Länge 12—18 μ (gelegentlich sogar mehr) und in der Breite 7,5—12 μ . Für die Identifizierung dieser Zellen scheint mir der Kern charakteristisch zu sein: Er ist exzentrisch und, im Verhältnis zum reichlich vorhandenen Cytoplasma, klein (in der Regel kleiner als die Leukocytenkerne). Er ist stets kompakt und

von auffallend konstanter, runder Form, die sogar in länglichen Zellen nie entsprechend verändert wird. Freilich trifft man gelegentlich Kerne, die an Stelle der glatten Peripherie zum Teil recht ausgeprägte Spitzen aufweisen und so eher die Form eines regelmässigen Vielecks annehmen. Der Beschaffenheit der Kerne Rechnung tragend, will ich diese Art Blutzellen *Pyknonucleocyten* nennen (pyknós = dicht, zusammengedrängt). S. Abb. 4.

Das Cytoplasma variiert ziemlich stark, sowohl in der Form wie in der Beschaffenheit: Es kann recht homogen sein, ist öfter aber leicht bis sehr stark vakuolisiert und weist nicht selten eine äusserst zerrissene, zerklüftete und nicht mehr zusammenhängende Gestalt auf. Beim Betrachten dieser Zellen stellt sich unweigerlich die Frage, ob es sich dabei nicht um alternde Hämocyten, gewissermassen also um Zelldegenerate, handeln könnte. Und diese Vermutung wird sicher noch bestärkt durch die Feststellung, dass die Pyknonucleocyten bei älteren Bienen prozentual häufiger auftreten (bei Winterbienen bis zu 4 %). Es ist nun allzu verlockend, auf Grund der beschriebenen Tatsachen die drei Zellarten, die ich in der normalen Bienen-Hämolymphe nachwies (Proleukocyten, Leukocyten, Pyknonucleocyten), in eine direkte Abhängigkeit zu bringen, d. h., sie entwicklungsgeschichtlich von einander abzuleiten. Jedenfalls möchte ich die Möglichkeit einer solchen Entwicklungsreihe nicht von der Hand weisen. Indessen möge der Name dieser zuletzt beschriebenen Hämocyten ja nicht zur Annahme verleiten, es handle sich hier um pyknotische, also abgestorbene Kernmassen. Abb. 5 beweist im Gegenteil, dass diese Zellen auch imstande sind, sich zu teilen (was freilich sehr selten zu beobachten ist), dass sie folglich sicher leben.

Die interessanten Angaben METALNIKOFFS und MÜLLERS, mit denen die Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen im wesentlichen übereinstimmen, zeigen nun eines mit aller Deutlichkeit: Das Insektenblut und insbesondere die Hämocyten scheinen aktiv an der Entwicklung des Insekts teilzunehmen und einen eigenen Zyklus aufzuweisen. Sie besitzen die Fähigkeit, ihre Gestalt mit dem Entwicklungszustand des betreffenden Insekts zu verändern. Es besteht demnach eine direkte Beziehung zwischen dem Alter des Tieres und der prozentualen Zusammensetzung seiner zelligen Blutelemente.

YEAGER hat diese Erkenntnis sehr weit verfolgt: In seiner ausführlichen Arbeit hat er für *Prodenia eridania* (Raupe der Baumwollmotte) zehn Klassen mit zusammen zweiunddreissig verschiedenen Typen von Blutzellen ermittelt. Für acht dieser Klassen hat er in graphischen Darstellungen genaue Kurven ausgearbeitet, welche die prozentuale Verteilung der betreffenden Hämocyten auf den gesamten Lebenszyklus von *Prodenia eridania* angeben (6 Larvenstadien, 2 Puppenstadien, adultes Stadium). Dadurch hat nun aber YEAGER ein Mittel in der Hand, welches ihn befähigt, das unbekannte Alter eines Insekts auf Grund der mikroskopischen Untersuchung und Auszählung seines Blutausriches zu bestimmen. Und er hat die Brauchbarkeit dieser Methode denn auch selbst geprüft, indem ein Mitarbeiter ihm die zu untersuchenden Präparate so einstellte, dass er ausser dem Ausstrich gar keine Anhaltspunkte hatte.

In hundert Versuchen erreichte er dabei eine überraschend grosse Genauigkeit: In 76 der 100 Fälle wurde die Entwicklungsstufe richtig identifiziert, wobei von diesen 76 Fällen 82 % auf 24 Stunden genau und 88 % noch auf 48 Stunden genau bestimmt wurden. Immerhin ein beachtenswertes Resultat!

Ich selbst hatte leider nie Gelegenheit, mir einen Blutaussstrich von *Prodenia eridania* anzuschauen und ihn mit dem einer Honigbiene zu vergleichen. Indessen macht YEAGER bei der Aufzählung und Beschreibung seiner zweiunddreissig Typen mehrmals selbst die Einschränkung, dass der eine oder andere Zelltypus nicht scharf von verschiedenen weiteren getrennt werden kann. Daher und in der Erwägung, es könne bei *Prodenia eridania* sehr wohl eine grössere Mannigfaltigkeit der korpuskulären Blutelemente herrschen, erscheint es mir durchaus gerechtfertigt, mich für die Biene vorläufig auf die Angabe der Proleukocyten, Leukocyten und Pyknonucleocyten zu beschränken, deren zwei erste ja auch von METALNIKOFF und TOUMANOFF bei der Larve als einzige Arten gefunden wurden.

MÜLLER beschreibt freilich noch zwei weitere zellige Bestandteile, die er in der Hämolymphe feststellen konnte, die ich aber hier absichtlich vernachlässige. Es sind dies einmal sogenannte Kleine Rundzellen (Grösse 1,5—2,8 μ), die sowohl bei jungen wie bei alten Bienen auftreten sollen, jedoch nur in ausserordentlich seltenen Fällen. Da MÜLLER die Frage nach ihrer Natur oder gar ihrer Vermehrung offen lässt, scheint es mir zu wenig abgeklärt, ob es sich bei diesen Zellen — wenn der zellige Charakter sichergestellt ist — wirklich um Hämocyten handelt oder ob sie eher zufällig ebenfalls in der Hämolymphe zirkulieren.

Sodann erwähnt MÜLLER der Vollständigkeit halber noch die Oenocyten, die freilich gelegentlich — vor allem bei der Brut und bei frisch geschlüpften Bienen — in einem Ausstrich auftreten, die aber keinen eigentlichen Bestandteil der Blutflüssigkeit darstellen. Diese Zellen sind vielmehr ektodermalen Ursprungs; sie bilden sich in der Hypodermis und gelangen von hier in die Hämolymphe. — Abb. 3 zeigt, neben den Proleukocyten, einen dieser Oenocyten, der z. B. 16,5/14,5 μ misst. Sie liegen also in der Grössenordnung wesentlich oberhalb derjenigen der Proleukocyten und Leukocyten.

Man ersieht aus allen bisherigen Angaben der Literatur deutlich, dass über das noch viel zu wenig untersuchte Insektenblut — und ganz speziell über das Bienenblut — vorläufig keine einheitliche Ansicht herrscht. Wenn wir daher mit jedem Vorbehalt das zusammenfassen wollen, was aus allen Widersprüchen heraus als gemeinsam festzustehen scheint, so glaube ich dies am besten zu erreichen, indem ich H. WINTERSTEIN (1925) zitiere:

« ... Bei vielen Dipteren fehlen die Blutzellen. Im übrigen lassen sich bei allen Insekten annähernd dieselben Elemente unterscheiden. Die einfachsten und ontogenetisch jüngsten Formen sind kleine, nicht phagocytäre, protoplasmaarme Amöbocyten mit reichlich mitotischen Zellteilungen. Diese Zellen wachsen unter Zunahme des Protoplasma, die mitotischen Zellteilungen hören auf und werden ersetzt durch vereinzelte direkte Teilungen, die sich zum Teil auf den Kern beschränken... »

Ebenfalls von sehr allgemeiner Gültigkeit sind die Angaben von WIGGLESWORTH (1939) über das Insektenblut: Die bei der Entnahme immer wieder auffallenden grossen quantitativen Schwankungen der Hämocyten erklärt er mit der Tatsache, dass viele Körperchen den Organen angelagert sind, während hauptsächlich die Hämolymphe im Körper zirkuliert. Die frei zirkulierenden Zellen seien rund oder oval, die an Gewebsoberflächen haftenden jedoch fusiform (= spindelförmig). Die Hämocyten gehen in der Embryonalentwicklung des Insekts aus mesodermalem, undifferenziertem Gewebe hervor, und die Vermehrung der Zellen durch Mitose ist nach WIGGLESWORTH während des ganzen Lebens möglich.

Zum Abschluss dieses ersten, allgemeinen Teiles sei noch kurz etwas gesagt über die oben erwähnten Zellteilungen und über ihr Auftreten bei der Honigbiene. Da ist vorzuschicken, dass mir in all meinen Untersuchungen nie eine echte Mitose, d. h. eine indirekte Zellteilung, begegnet ist, weder bei den Proleukocyten, noch bei den Leukocyten oder gar bei den Pyknonucleocyten. Teilungsstadien konnte ich überhaupt nur bei den Leukocyten und den Pyknonucleocyten beobachten; bei diesem durchwegs amitotischen Vorgang schnüren sich Kern und Cytoplasma ein und führen auf solche Weise die Vermehrung durch direkte Teilung herbei (s. Abb. 5, 6), wobei freilich bisweilen nur der Kern von Einschnürung und Teilung berührt zu werden scheint. In dieser Hinsicht stimmen meine eigenen Feststellungen mit denen MÜLLERS überein. Es sei hier noch darauf hingewiesen, dass auch bei den höher differenzierten Tieren die Blutkörperchen als kurzlebige Zellen sich amitotisch vermehren¹.

II

Inwiefern ändert sich nun das normale Blutbild bei krankhaften Zuständen der Biene? Die ersten anormalen Blutkörperchen kamen mir eigentlich fast zufällig zu Gesicht: Bei den Heilmittelversuchen gegen *Nosema* wurde unter anderem auch Cibazol — ein Sulfanilamidpräparat — geprüft (vergl. d. Schweiz. Bienenzeitung Nr. 6, 1948, S. 254). In einer solchen Versuchsserie mit zunehmender Cibazol-Konzentration wiesen nach 36 Stunden die Bienen mit der stärksten Konzentration deutliche Vergiftungserscheinungen auf: Sie kauerten sämtliche wie gelähmt auf dem Kästchenboden, einige führten Putzbewegungen aus, andere lagen auf dem Rücken, mit Zuckungen in Körper und Beinen. Das mikroskopische Bild eines Blutausrisses

¹ Meine eigenen Untersuchungen beschränkten sich auf das Blut erwachsener Bienen. R. LOTMAR (1945) konnte bei Streckmaden und Puppen mitotische Teilungen von Blutzellen feststellen. Laut mündlicher Mitteilung fand W. FYG in Schnittpräparaten durch Larven und Puppen von Königinnen und Arbeiterinnen nicht selten deutliche Mitosen.

solcher Bienen zeigt nun Abb. 7. Die Leukocyten sind offensichtlich durch die chemische Vergiftung der Bienen in Mitleidenschaft gezogen: Sie sind grösser geworden als normal, ihre Länge beträgt durchschnittlich 10–13 μ . Der zentral gelegene Kern ist nicht mehr fest begrenzt, sein Chromatin ist im Gegenteil fein, aber deutlich aufgelockert, bisweilen fast faserig auseinander gerissen. Die Form der Zellen ist mehr oval bis spindelig.

Diese auffallende Veränderung konnte nun mit solcher Regelmässigkeit bei allen daraufhin untersuchten, mit Cibazol vergifteten Bienen nachgewiesen werden, dass man wohl füglich von einer charakteristischen Reaktion der Leukocyten auf diese chemische Substanz sprechen darf. Damit war bewiesen, dass die Hämocyten also auch die Fähigkeit besitzen, sich innerhalb einer gegebenen Entwicklungsstufe des Insekts auf toxische Einwirkung hin pathologisch zu verändern.

Auf dieses im Grunde beiläufig erhaltene Resultat zu den Heilmittelversuchen folgten weitere Nachforschungen in der neu eingeschlagenen Richtung: In einem nächsten Vergiftungs-Versuch wurde den Bienen im Trinkwasser 0,5 % Saponin dargereicht, eine toxisch wirkende Substanz, die in der Natur in gewissen Blütenpflanzen vorkommt [vergl. A. MAURIZIO (1945)] und demnach eher von praktischem Interesse ist als Cibazol [dazu schreiben PONDER und HYMAN (1942), dass Saponin schon in geringer Konzentration einen als Cytolyse bezeichneten Zellzerfall herbeiführe]. Das äussere Krankheitsbild war dem des Cibazol-Versuchs sehr ähnlich und eigentlich kaum von ihm zu unterscheiden: Die Bienen wiesen wieder die bereits geschilderten, typischen Vergiftungserscheinungen auf. Aber auch ihre Hämocyten hatten auf die dem Organismus zugeführte Saponin-Lösung reagiert und zwar, wie Abb. 8 illustriert, nicht genau gleich wie bei Cibazol. Die Grösse verzeichnet gegenüber den normalen Leukocyten keine absolute Zunahme, bewegen sich doch die Längenwerte zwischen 7 und 11 μ , die der Breite nur zwischen 3,5 und 5,5 μ . (Aus diesen Zahlenangaben geht deutlich die Tendenz der Zellen hervor, eine mehr längliche Form anzunehmen.) Der Kern erscheint häufig gegen die Peripherie verschoben und zeigt durchwegs eine starke Auflockerung, z. T. fast eine Auflösung seiner Struktur. Er ist gröber aufgelockert als bei Cibazol und weist eine ausgeprochene Körnelung des Chromatins auf.

In einem dritten Versuch wurde — in Anbetracht seiner praktischen Bedeutung — ein Arsen-Präparat auf seine Wirkung geprüft. Zur Verwendung gelangte das leicht wasserlösliche Atoxyl, ein Na-Salz der p-Aminophenylarsinsäure. Nach kurzer Zeit, die sich natürlich wiederum nach der Konzentration der Lösungen richtete (0,5 und 0,1 %), traten denn auch die bekannten Vergiftungs-Erscheinungen auf, zudem zeigten die meisten Versuchsbienen ein deutlich aufgetriebenes Abdomen. Auch die Hämocyten waren wieder pathologisch verändert,

und zwar diesmal recht unterschiedlich zu den zwei vorangegangenen Fällen (Abb.9). Wir finden freilich auch hier noch eine gelegentliche Auflockerung der Kerne; viel auffallender indessen ist die starke Zunahme der spindelförmigen Elemente, selbstverständlich verbunden mit einer entsprechenden Zunahme der Längenwerte (bis zu $16,5\ \mu$), der eine Verminderung der Breite gegenübersteht ($3-4\ \mu$). Bisweilen bleibt auch die Breite, trotz vermehrter Länge, auf dem Normalwert, was dann zu einer Gesamtvergrößerung der Zelle führt.

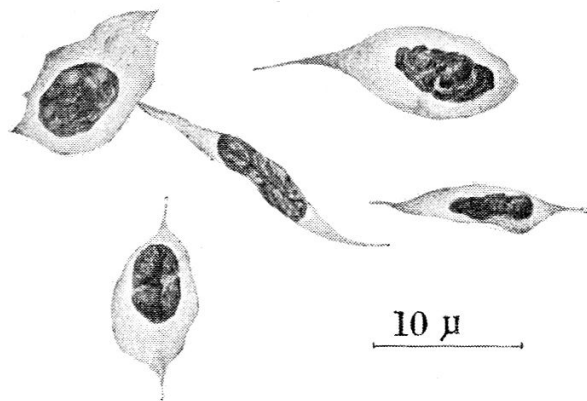


Abb. 9. — Durch Atoxyl-Lösung krankhaft veränderte Leukocyten.

Es scheint mir zweckmässig, bei dieser Gelegenheit auf die bereits angedeuteten Formveränderungen der Hämocyten etwas näher einzutreten. Wenn WIGGLESWORTH diesbezüglich aussagt, die frei in der Hämolymphe zirkulierenden Zellen seien rund bis oval, die den Geweben angelagerten aber spindelförmig, so steht er damit in Übereinstimmung mit YEAGER, der diese Frage bei *Prodenia eridania* eingehend geprüft hat und zum Schluss kam, die runde Form entspreche einem aktiven Zustand der Zelle, die spindelige dagegen einem passiven. Die Aktivität der Hämocyten kommt nun aber zum Ausdruck in den Funktionen, die sie ausüben: Transport der Nährstoffe, Abwehr und Bekämpfung von Krankheitskeimen, Teilnahme an der Blutgerinnung, kurz, alles Aufgaben, die nur von zirkulierenden Zellen gelöst werden können. YEAGER stellt indessen weiter fest, dass die Hämocyten durchaus in der Lage sind, ihre Form zu ändern, und er spricht dabei von passiv-aktiver Transformation, die immer dann eintritt, wenn die physiologische Notwendigkeit dazu besteht, so hauptsächlich während der larvalen Häutungen und der Metamorphose des Insekts, sowie bei der Anwesenheit von Bakterien in der Hämolymphe. Um das Vorhandensein passiver und aktiver Formen in der Blutflüssigkeit zahlenmässig erfassen zu können, hat YEAGER einen Index (F/N) eingeführt,

der das Verhältnis der fusiformen (spindelförmigen) zu den nonfusiformen (nicht spindeligen) Zellen pro Auszählung angibt. Beim Index F/N bedeutet der Quotient 1, dass die Anzahl fusiformer Körperchen gleich derjenigen der nonfusiformen ist; Werte über 1 entsprechen einer Zunahme der spindeligen, solche unter 1 einer Zunahme der abgerundeten Elemente. In einer graphischen Darstellung zeigt der Autor sodann die Schwankungen, denen dieser F/N -Index durch den Entwicklungszyklus von *Prodenia eridania* unterworfen ist. Bei jeder Häutung der Larve, vor der Verpuppung und anlässlich der Metamorphose fällt die Kurve steil ab, d. h., der Index strebt gegen null, es wird ein Maximum an runden, aktiven Zellen erreicht.

In unserem Atoxyl-Versuch ist nun aber der gegenteilige Vorgang erfolgt, die fusiformen Elemente dominieren im Präparat. Es scheint sich demnach hier unter der Gifteinwirkung eine pathologische aktiv-passive Transformation abzuspielen, ein Ausdruck dafür, dass die Hämocyten durch die toxische Substanz in ihrer Funktion lahmgelegt werden. Meine Auszählungen (je 200 Zellen) ergaben dabei folgende F/N -Werte:

Normales Bienenblut	0,06—0,38
Atoxyl-Versuch I	1,04
(Konzentration = 0,5 %)	
Atoxyl-Versuch II	2,23—4,00
(Konzentration = 0,1 %)	

Der Unterschied zwischen I und II dürfte damit zu erklären sein, dass bei der stärkeren Konzentration der Tod der Bienen zu plötzlich eintrat, um eine durchgreifende Veränderung der Leukocyten herbeizuführen; bei II dagegen konnte das Gift anhaltender einwirken. Ferner möchte ich präzisieren, dass als fusiform jede Zelle gerechnet wurde, die wenigstens ein deutlich spitz zulaufendes Ende aufwies.

Als Resultat der drei beschriebenen Versuche lässt sich zusammenfassen: Die Hämocyten der Honigbiene scheinen auf chemische Vergiftungen mit einer charakteristischen Veränderung ihres Aussehens zu reagieren. Es ist indessen notwendig, diese Versuche auf möglichst viele schädigende Substanzen auszudehnen, um die Frage nach der Spezifität solcher Veränderungen im Blutaussstrich abzuklären. Erst wenn das Auffinden gewisser morphologischer Merkmale der Hämocyten auf eine ganz bestimmte Vergiftung — und nur auf diese — schliessen lässt, kann die neue Untersuchungsmethode zu einer sicheren Diagnoserstellung gebraucht werden.

Zur Ergänzung und Bestätigung dieser Versuche dürften die Resultate interessieren, die von L. ARVY, M. GABE und J. LHOSTE (1950) beim Kartoffelkäfer (*Chrysomela decemlineata* Say) erreicht wurden. Diese Autoren stellen fest, dass verschiedene geprüfte Insektizide (darunter DDT und HCH) auch das Blutbild des Kartoffelkäfers deutlich verändern: Im Laufe der Vergiftung erhöht sich die Anzahl der Leukocyten

pro mm^3 erheblich (hauptsächlich durch eine Konzentration der Zellen infolge von Wasserverlust des Insekts, zum Teil aber auch durch Zellteilungen und das Auftreten von Elementen, die sonst nur bei jungen Larven anzutreffen sind). Diese Leukocytose ist begleitet von einer Cytolyse und Veränderungen an Kern und Plasma der Blutzellen.

Zum Abschluss dieses zweiten, speziellen Teiles soll nun noch eine Krankheit angeführt werden, deren Sitz direkt in der Hämolymphe ist. Es handelt sich dabei um die von C. E. BURNSIDE (1928) beschriebene und in der Schweiz auch von A. MAURIZIO (1946) nachgewiesene Septikämie der Honigbiene, eine durch den *Bacillus apisepcticus* verursachte Allgemeininfektion. Mir begegnete diese Erkrankung zum ersten Mal spontan im Verlauf eines Infektions-Versuches mit Nosema und Amöben-Cysten, und sie verunmöglichte prompt den Weitergang des begonnenen Versuches: 6 Tage nach Beginn lagen plötzlich 10 tote Bienen auf dem Kästchenboden, am 7. Tag 22 neue und am 8. Tag gar 25 (von ca. 100 Versuchsbienen). Die Leichen zerfielen bei der leisesten Berührung in ganz charakteristischer Weise; Extremitäten, Kopf, Thorax und Abdomen schienen nur noch ganz lose verbunden. Die Abdomina waren erfüllt von einer unkenntlichen, zerfallenen Masse, in der es von Bakterien wimmelte. Aber auch die überlebenden, jedoch bereits erkrankten Tiere zeigten bei mikroskopischer Untersuchung starke pathologische Erscheinungen. Abb. 10a stellt den Blutausstrich einer noch lebenden Biene dar, deren Hämolymphe von den stäbchenförmigen Bakterien geradezu überschwemmt ist.

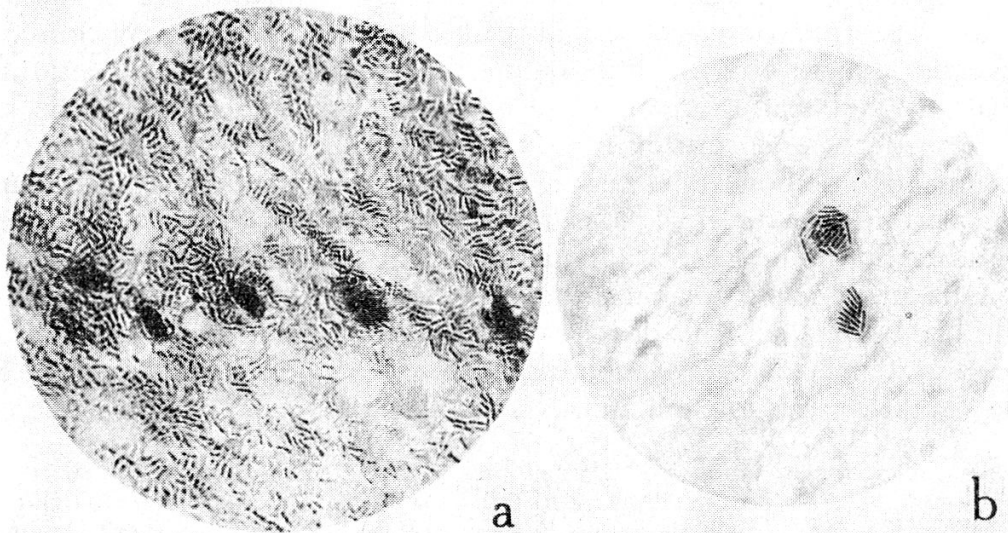


Abb. 10. — a, Septikämie, verursacht durch *Bacillus apisepcticus*. Mikrophotographie. Vergrößerung $610\times$. — b, Zwei junge Kolonien von *Bacillus apisepcticus* auf gewöhnlichem Agar. Mikrophotographie. Vergrößerung $610\times$.

Wie steht es aber mit der praktischen Bedeutung dieser bei uns doch kaum bekannten Krankheit? Über ihre effektive Verbreitung kann zur Zeit wenig oder nichts ausgesagt werden, solange nicht umfangreiche Beobachtungen draussen, unterstützt durch die mikroskopische Prüfung der Einsendungen während einer längeren Periode, unsere diesbezüglichen Kenntnisse mehren. BURNSIDE jedenfalls behauptet, in Amerika habe die Zahl der mit *Bacillus apisepcticus* infiziert gefundenen Bienen die Zahl der mit *Nosema apis* infizierten wesentlich überflügelt, seitdem die Blutuntersuchung in Laboratorien zur Diagnosestellung einbezogen worden sei. Er nimmt an, die Septikämie sei weit verbreitet in den Vereinigten Staaten, beurteilt aber die vom *Bacillus apisepcticus* verursachten Verluste als klein gegenüber den durch Faulbrut, Sauerbrut oder *Nosema* hervorgerufenen. Wegen der geringeren Ansteckungstendenz mögen Bienenvölker wohl geschwächt werden durch Septikämie, aber das Absterben eines ganzen Volkes ist selten.

Der Erreger dieser Krankheit lässt sich leicht auf den meisten gebräuchlichen Nährböden züchten; auf gewöhnlichem Agar entwickelt er eine intensive, fluoreszierende Grünfärbung. Abb. 10b zeigt zwei ganz junge Kolonien einer solchen Agar-Kultur. Der *Bacillus apisepcticus* ist ein Aërobier, d. h., er verlangt für sein Wachstum die Anwesenheit von Sauerstoff. Er ist aktiv beweglich mithilfe von Geisseln und gehört zu den peptonisierenden Bakterien, d. h. zu denen, die imstande sind, Gelatine zu verflüssigen. Er bildet keine Sporen, bleibt aber in feuchtem Milieu lange Zeit lebensfähig; dagegen ist er sehr empfindlich auf Erhitzung und direktes Sonnenlicht. Die Grösse eines einzelnen Stäbchens schwankt zwischen 0,6—0,7 μ auf 1,8—3,2 μ , und es scheinen mehrere Stämme des gleichen Organismus zu existieren.

Für den Infektionsweg macht BURNSIDE das Tracheensystem verantwortlich, nicht oder doch in viel geringerem Masse den Verdauungstraktus. In der Tat kann man im Versuch konstatieren, dass eine Bespritzung der Bienen mit einer wässrigen Suspension von *Bac. apisepcticus* im allgemeinen zu einem höheren Prozentsatz infizierter Bienen führt als eine Verfütterung des Infektionsmaterials (meines Erachtens wäre aber bei einer Bespritzung auch das durch gegenseitiges Belecken ebenfalls in den Darmkanal aufgenommene Material zu berücksichtigen). Im Freien scheint das Bakterium auf feuchtem Boden und in beschmutztem Wasser vorzukommen, Kontaktquellen, die eine natürliche Infektion der Bienen durchaus erklären.

Dem ehemaligen Leiter der Bienenabteilung, Herrn Dr. O. MORGENTHALER, sowie seinen Mitarbeitern Herrn W. FYG und Frl. Dr. A. MAURIZIO spreche ich meinen besten Dank aus für ihre Anregungen und Ratschläge, ebenso den Herren A. BRÜGGER und H. SCHNEIDER für wertvolle Mithilfe bei der Beschaffung der Versuchsbienen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden an der Jahresversammlung der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft im März 1951 in Lausanne vorge tragen. Eine kurze Zusammenfassung erschien in den Mitteilungen der S.E.G., Bd. 24, S. 203, Juli 1951.

LITERATURVERZEICHNIS

- ARVY, L., GABE, M., LHOSTE, J., 1950. *Action de quelques insecticides sur le sang du Doryphore (Chrysomela decemlineata Say)*. Bull. Soc. Ent. de France, Tome LV, N° 8, p. 122.
- BURNSIDE, C. E., 1928. *A septicemic condition of adult bees*. Journ. Econ. Ent., Vol. 21, Nr. 2, pp. 379-386.
- 1928. *Septicemia of the Honeybee*. Transactions of IV. International Congress of Entomology, Vol. II, pp. 757—767.
- FYG, W., 1942. *Das Bienenblut*. Schweiz. Bienenzeitg., Heft 3, pp. 120—122.
- LOTMAR, R., 1945. *Die Metamorphose des Bienenendarmes*. Beiheft 10 zur Schweiz. Bienenzeitg., Bd. 1, pp. 443—506.
- MAURIZIO, A., 1945. *Trachtkrankheiten der Bienen*. Beiheft 8 zur Schweiz. Bienenzeitg., Bd. 1, pp. 337—368.
- 1946. *Beobachtungen über die Lebensdauer und den Futterverbrauch gefangen gehaltener Bienen*. Beiheft 13 zur Schweiz. Bienenzeitg., Bd. 2, pp. 1—48.
- METALNIKOFF, S. u. TOUMANOFF, 1930. *Les cellules sanguines et la phagocytose chez les larves d'abeilles*. Extrait des Comptes rendus des séances de la Société de biologie, Tome C III, p. 965.
- MÜLLER, K., 1925. *Über die korpuskulären Elemente der Blutflüssigkeit bei der erwachsenen Honigbiene (Apis mellifica L.)*. Erlanger Jahrbuch für Bienenkunde, Bd. III, erste Hälfte, pp. 5—27.
- PONDER, E. u. HYMAN, C., 1942. *The Cytolytic effect of Saponin on the walls of vessels*. The American Journal of Physiology, Vol. 138, Nr. 1, pp. 432—438.
- WIGGLESWORTH, V. B., 1939. *The Principles of Insect Physiology*.
- WINTERSTEIN, H., 1925. *Handbuch der vergleichenden Physiologie*. Bd. I, 1, p. 750.
- YEAGER, J. F., 1945. *The Blood Picture of the Southern Army-worm (Prodenia eridania)*. Journ. Agr. Research, Vol. 71, Nr. 1, pp. 1—40.