

Uratkristalloide in den Fettkörperzellen von Engerlingen des Maikäfers *Melolontha melolontha* L.

Autor(en): **Wille, H. / Gerig, L. / Brönnimann, H.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **29 (1956)**

Heft 3

PDF erstellt am: **23.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-401276>

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.

Aus dem Entomologischen Institut und dem Institut für landwirtschaftliche
Bakteriologie und Gärungsbiologie der E.T.H., Zürich

Uratkristalloide in den Fettkörperzellen von Engerlingen des Maikäfers, *Melolontha melolontha* L.

von

H. WILLE, L. GERIG und H. BRÖNNIMANN
Zürich

(Herrn Prof. Dr. J. SEILER zum 70. Geburtstag freundlichst zugeeignet)

1. Einleitung

Seit dem Jahr 1949 sind am Entomologischen Institut (Vorstand : Prof. P. BOVEY) und am Institut für landwirtschaftliche Bakteriologie und Gärungsbiologie (Vorstand : Prof. T. WIKÉN) der ETH, Zürich, Untersuchungen über die Möglichkeiten einer mikrobiologischen Engerlingsbekämpfung im Gange. Im Rahmen dieser Forschung wurden am erstgenannten Institut zahlreiche Engerlinge, die an Bakteriosen, Mykosen und Rickettsiosen erkrankten, histopathologisch untersucht. In den ersten Jahren wurden die Schnittpräparate dieser Engerlinge hauptsächlich nach Giemsa und z. T. mit Haematoxylin-Erythrosin oder Azan gefärbt. Im Jahre 1954 wurde die von MAZA, BREWER und ALFERT (1953) beschriebene Quecksilberbromphenolblaufärbung eingeführt. Es konnte dabei festgestellt werden, dass die Fettkörperzellen zahlreicher Engerlinge mit stark lichtbrechenden Kristalloiden besetzt waren. Wie wir weiter unten beschreiben werden, handelt es sich dabei um Harnsäure enthaltende Konkreme. Diese Erscheinung wurde aber in Schnitten, die mit den anderen Farblösungen behandelt wurden, nie beobachtet.

Engerlinge des 2. und 3. Stadiums, die aus Freilandpopulationen stammen, können ihrem Exterieur nach in zwei Gruppen aufgeteilt werden : Die erste Gruppe umfasst « normal » aussehende Larven, die zweite Gruppe Engerlinge, die sich von den « normalen » durch einen mageren, leicht geschrumpften Habitus, eine gräuliche Farbe, ev. glasig

scheinenden Hinterteil des Abdomens und stark reduzierten Fettkörper unterscheiden. Heruntergesetzter Turgor und dünnflüssige rectale Ausstossungen sind dabei die Regel. Diese Engerlinge werden wir in der Folge als « unterentwickelt » bezeichnen. Im Laufe unserer Untersuchungen zeigte es sich, dass die erwähnten Kristalloide regelmässig in den Fettkörperzellen dieser « unterentwickelten » Engerlinge nachzuweisen waren, während sie in den « normalen » Tieren im allgemeinen fehlten.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Beschreibung, der Aufklärung der chemischen Natur dieser Kristalloide und ihrem Auftreten in verschiedenen Freilandpopulationen. Die Vermutung, dass diese Kristalloidausscheidung im Zusammenhang mit einem noch nicht näher definierten Schwächezustand gewisser Engerlinge steht, wird diskutiert.

2. Methoden

a) Mikroskopische Technik

Fixierung, Vorbereitung und Entwässerung der Engerlinge nach den Angaben von WILDBOLZ (1954).

Dicke der Paraffinschnitte : 6—8 μ .

Giemsafärbung : ROMEIS (1948) § 1401.

Haematoxylin- Erythrosinfärbung : ROMEIS (1948) § 651 ff.

Azanfärbung : ROMEIS (1948) § 1484.

Quecksilberbromphenolblaufärbung nach MAZA et al. (1953). In 100 ml 95 proz. Aethylalkohol werden 10 g Quecksilberchlorid (es lösen sich nur ca. 7,6 g) und 100 mg Bromphenolblau gelöst. Die Lösung wird filtriert. Nach der Entparaffinierung der Schnitte in Xylol, Passage durch 100 proz. und 96 proz. Alkohol gelangen die Schnitte während 15 Minuten in die alkoholische Farblösung. Sie werden darauf 20 Minuten lang in 0,5 proz. wässriger Essigsäurelösung überführt und anschliessend 15 Minuten lang in dest. Wasser ausgewaschen. Die Präparate wurden in Canadabalsam oder Caedax eingeschlossen.

b) Harnsäurenachweis

Sie wurde nach den drei folgenden Methoden bestimmt :

Murexidreaktion nach Vorschriften von RONA (1929).

Benedict-Franke-Methode (1922).

Papierchromatographisch nach BODE und HÜBENER (1952).

Die zweite Methode eignet sich besser für Serienuntersuchung als die erste. Es wird dabei die blaue Farbe, die entsteht, wenn Harnsäure auf ein Arsenphosphorwolframsäure- Reagens in Gegenwart von Natriumcyanid einwirkt, gemessen.

Die dritte Methode beruht auf der Fähigkeit der Harnsäure und Ascorbinsäure, III — wertiges Fe zu II — wertigem zu reduzieren. Das II-wertige Eisen reagiert mit o-Phenanthrolinhydrochlorid und ergibt

eine sichtbare Rotfärbung. Es wurden die folgenden Filterpapiere verwendet « Whatman » Nr. 1 und 2 sowie « Schleicher Schüll » Nr. 2045a.

Als Lösungsgemisch wurde Butanol-Eisessig-Wasser im Verhältnis 40 : 10 : 50 verwendet. Nach Trocknung bei 105 ° C wurden die Chromatogramme mit einem Gemisch von Ferriammoniumsulfat (5 ml, 1,5 g/l) und o-Phenanthrolinhydrochlorid (45 ml, 20g/l) besprüht und anschliessend bei 105 ° C getrocknet. Zur Ermittlung der genauen Lage der Harnsäurekomponente wurde von uns immer eine Vergleichsharnsäurelösung (0,2g/l) mitchromatographiert. Das Auftragen der Testversuchslösungen mit einer Mikrosyringe erlaubte Schätzungen der Konzentrationen.

3. Beschreibung der Kristalloide in den Fettkörperzellen von Engerlingen

Vor allem « unterentwickelte » Engerlinge weisen in ihren Fettkörperzellen nach Färbung mit Quecksilberbromphenolblau auffallend lichtbrechende Kristalloide auf. Sie haben eine rundliche Form mit leicht gewelltem Rand. Ihre Struktur ist uneinheitlich; oft werden rosettenförmige Anordnungen der einzelnen Elemente beobachtet. Die Grösse dieser Kristalloide beträgt beim 2. wie auch beim 3. Larvenstadium 4—5,5 μ (Abb. 3, 4 u. 5). Die erste Vermutung, es könnte sich dabei um Artefakte handeln, musste bald aufgegeben werden. Die Nachprüfung ergab nämlich, dass der Fettkörper frisch sezierter « unterentwickelter » Engerlinge sehr häufig solche Kristalloide enthält. Nach der Fixierung zeigten dieselben Engerlinge in den entparaffinierten,

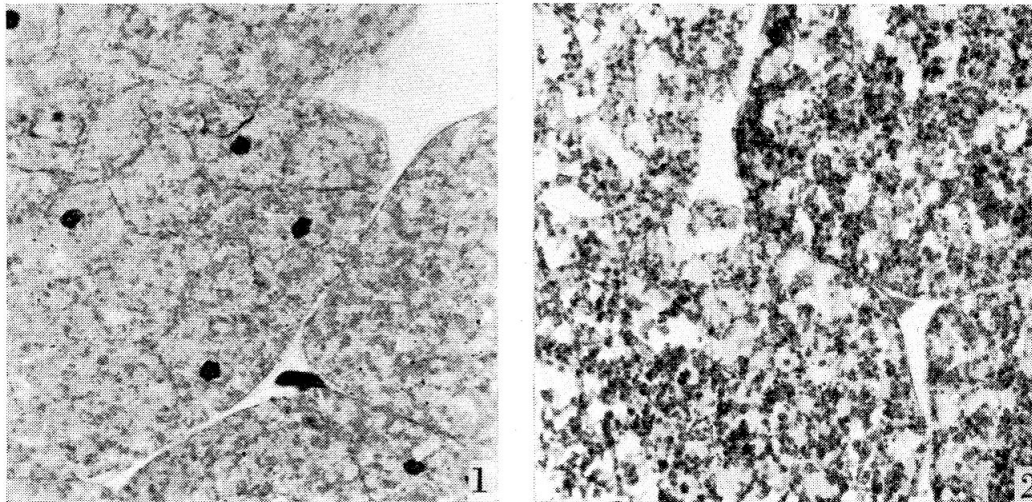


Abb. 1 und 2. — Querschnitt durch den Fettkörper eines Engerlings des 3. Stadiums. Keine Uratkristalloide. Mit Quecksilberbromphenolblau. — 1. Ca. 200 \times . — 2. Ca. 400 \times .

ungefärbten Schnitten, sowie nach Färbung mit Quecksilberbromphenolblau dieselben Kristalloide. Waren die Schnittpräparate der gleichen Tiere nach Giemsa, mit Haematoxylin-Erythrosin oder Azan gefärbt, so fehlten diese Kristalloide völlig. Frisch herauspräparierte Fettkörperzellen, die mit Kristalloiden besetzt waren, wurden in dest. Wasser zerrieben. Unter dem Mikroskop konnte man beobachten, wie sich die Kristalloide innert kurzer Zeit auflösten und völlig verschwanden. Es ist deshalb verständlich, dass die Kristalloide in all denjenigen Schnittpräparaten fehlen, die mit einer wässrigen Farblösung angefärbt wurden. Die Quecksilberbromphenolblaufärbung bewirkt hingegen,

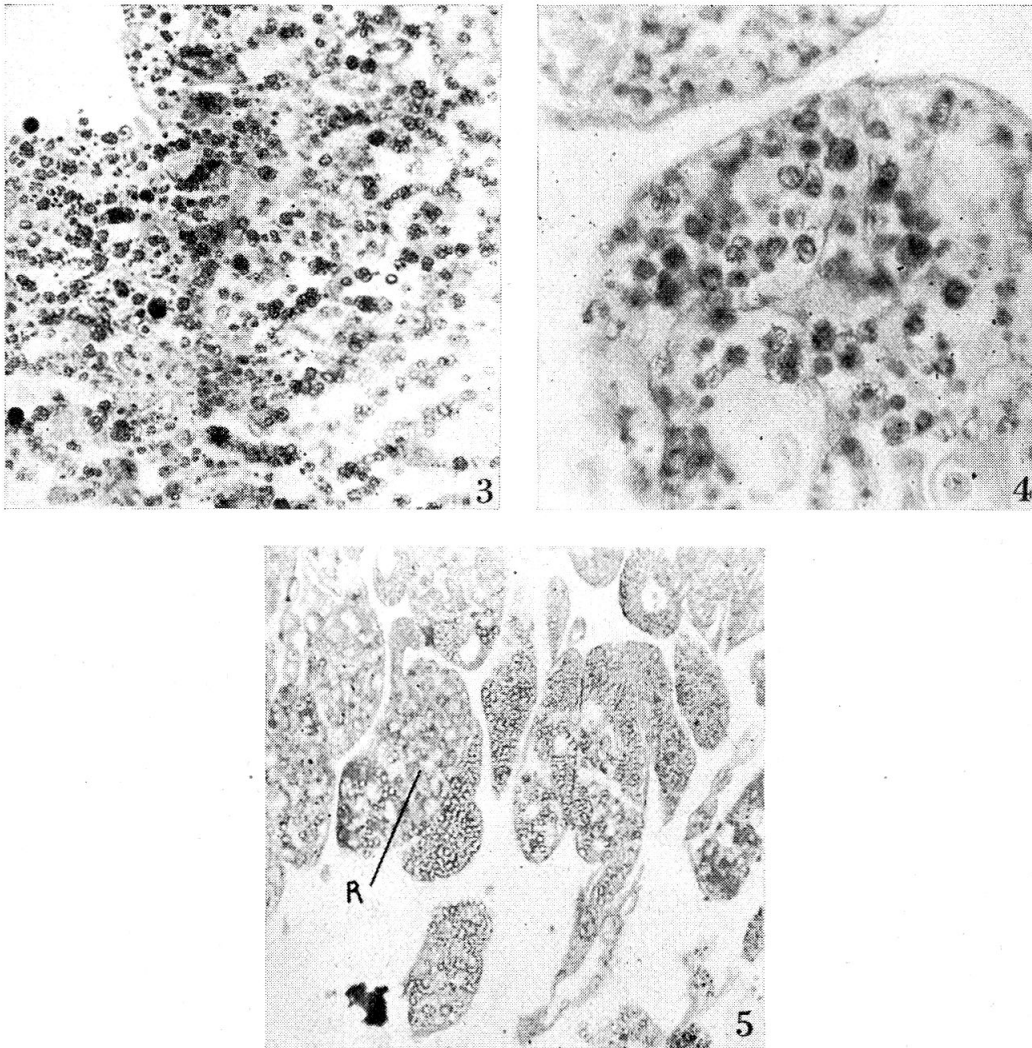


Abb. 3 bis 5. — 3. Uratkristalloide im Fettkörper eines Engerlings des 3. Stadiums. Starker Besatz. Quecksilberbromphenolblau. Ca. 400 \times . — 4. Mittlerer Uratkristalloidbesatz in den Fettkörper eines Engerlings des 2. Stadiums. Gleiche Färbung. Ca. 1000 \times . — 5. Querschnitt durch den Fettkörper eines an Rickettsiose erkrankten Engerlings des 3. Stadiums 10 Wochen nach der Häutung. R = durch Rickettsien befallene Fettkörperzellen. Starker Uratkristalloidbesatz. Gleiche Färbung. Ca. 200 \times .

dass die Kristalloide in eine schwer wasserlösliche Form überführt werden. Es konnte nicht ermittelt werden, welche Komponenten der Farblösung dafür verantwortlich sind, und welche Verbindung dabei entsteht. Werden die Schnitte nämlich mit alkoholischer Bromphenolblaulösung ohne Zusatz von Quecksilberchlorid gefärbt, so werden die Kristalloide in der nachfolgenden Wasserpassage völlig aufgelöst und sind im Präparat nicht mehr nachzuweisen. Es konnte gezeigt werden, dass das Quecksilberchlorid nicht allein für die schwer wasserlösliche Form der Kristalloide verantwortlich ist. Engerlinge, deren Fettkörperzellen eindeutig Kristalloide enthielten, wurden im Gemisch von ZENKER (ROMEIS, § 336) fixiert. Diese Flüssigkeit enthält u. a. Quecksilberchlorid und wird nach der Fixierung während mindestens 24 Stunden ausgewaschen. Dieser Versuch wurde mit 8 Tieren durchgeführt. Bei 6 Tieren fehlten auf den Schnitten nach der Quecksilberbromphenolblaufärbung die Kristalloide völlig im Fettkörper, bei den zwei anderen waren einige ganz vereinzelt vorhanden. Verglichen mit dem Besatz vor der Fixierung war auch in diesem Fall der grösste Teil der Kristalloide ausgewaschen worden.

4. Ergebnisse der physiologisch- chemischen Untersuchungen

Zahlreiche Versuche erbrachten den Beweis, dass es sich bei den oben beschriebenen Kristalloiden um Harnsäure enthaltende Konkreme handeln muss. Die genaue chemische Zusammensetzung wurde noch nicht abgeklärt. Es wurde eine positive Murexid- und *Benedict-Franke*-Reaktion erhalten, wenn Fettkörperzellen, die stark mit Kristalloiden besetzt waren, aus frisch seziierten Engerlingen entnommen und mit jenen Reagenzien vermischt wurden. Die Reaktionen fielen negativ aus, wenn die Zellen frei von Konkrementen waren. Aus arbeitstechnischen Gründen wurde vor allem bei den Reihenuntersuchungen der Test nach *Benedict-Franke* angewendet. Diese Methode ist nicht ganz einwandfrei, da u. a. Sulfide und Verbindungen mit der SH-Gruppe auch Blaufärbung erzeugen. NEWTON (1937) verbesserte diesen Test und konnte diese Fehler ausschalten. Später arbeiteten wir auch nach seiner Methode und stellten fest, dass sie in unseren qualitativen Versuchsreihen keine Veränderung der Ergebnisse brachte.

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, besteht eine weitgehende Übereinstimmung zwischen dem Ergebnis des *Benedict-Franke*-Testes und dem Befund in den Schnittpräparaten. Eine stark, bzw. schwach positive Reaktion entspricht meistens einem starken bzw. mittleren bis schwachen Besatz der Fettkörperzellen mit Kristalloiden (Bild 3, 4, u. 5). Fällt die Reaktion negativ aus, so fehlen in der Regel die Konkreme in den Zellen (Bild 1 und 2). An Hand von Schnittpräparaten wurde im Laufe der Untersuchungen gefunden, dass die Verteilung der Uratkristalloide in den Fettkörperzellen einiger Tiere sehr unregel-

TABELLE I

Zusammenhang zwischen der Reaktion des Harnsäuretestes nach Benedict und Franke und dem Besatz von Kristalloiden in den Fettkörperzellen von Engerlingen nach Färbung der Schnittpräparate mit Quecksilberbromphenolblau

Reaktion des Benedict-Franke-Testes	Befund auf den Schnittpräparaten	Untersuchte Engerlinge aus	
		Schönbuch (BL) 3. Larvenstadium	Froideville (FR) 2. Larvenstadium
Negativ	Fettkörperzellen ohne Kristalloide	22	4
	Fettkörperzellen mit Kristalloiden	1	0
Schwach positiv	Fettkörperzellen ohne Kristalloide	0	3
	Fettkörperzellen schwach mit Kristalloiden besetzt	14	13
Stark positiv	Fettkörperzellen ohne Kristalloide	0	1
	Fettkörperzellen stark mit Kristalloiden besetzt	2	10

mässig sein kann. Im gleichen Engerling wechseln Zonen stärksten Besatzes mit Partien, die ganz frei oder nur spärlich mit Uratkristalloiden besetzt sind. Deshalb kann beim gleichen Tier je nach der Stelle, an welcher die Fettkörperzellen zum chemischen Test entnommen wurden, die Stärke der Reaktion verschieden ausfallen. Daher eignet sich leider der chemische Test nicht zur Serienuntersuchung von Engerlingen. Für solche Arbeiten liefert die Beobachtung der Fettkörperzellen frisch sezierter Tiere im Mikroskop sicherere Ergebnisse. In Fällen, wo bei der ersten Fettkörperentnahme keine Uratkristalloide vorlagen, wurden darauf noch aus verschiedenen anderen Stellen des Fettkörpers Proben entnommen.

Zum papierchromatographischen Nachweis der Harnsäure in den Fettkörperzellen der Engerlinge gingen wir folgendermassen vor: Engerlinge des 3. Stadiums wurden mit Essigäther abgetötet. Nach Aufschneiden des Integumentes längs der beiden Stigmenreihen wurde der Darmtrakt und die Malpighischen Gefässe entfernt. Hernach wurden verschiedene Proben des Fettkörpers auf das Fehlen oder Vorhandensein von Uratkristalloiden geprüft. Es wurden dabei drei Kategorien unterschieden: Fettkörperzellen ohne Kristalloide, Fettkörperzellen mit schwachen bzw. starkem Uratkristalloidbesatz. Die Fettkörper der betreffenden Engerlinge wurden hernach herauspräpariert und in entsprechende Behälter, die mit 100 proz. Alkohol gefüllt waren, überführt. Das gewonnene Material wurde bis zur Weiterbearbeitung bei -25°C aufbewahrt. Von den rund 2000

Engerlingen, die für diese Untersuchung herbeigezogen wurden, entfielen rund 20 % auf die erste, 10 % auf die zweite und 70 % auf die dritte Kategorie. Diese in 100 proz. Alkohol gesammelten Proben wurden hernach bei 40° C getrocknet und zermörsert. 2 g lufttrockener Fettkörper wurde in einem Gemisch von dest. Wasser und Schwefeläther (10 : 2) während 5 Minuten kräftig geschüttelt und in einen Scheidetrichter überführt. Durch den Ätherzusatz wurde das Fett im Fettkörper aufgelöst, so dass das Wasser die Uratkristalloide aufschliessen konnte. Nach 4—5 Stunden hatten sich in der Regel die beiden Phasen gut getrennt. Die zermörserten Zellanteile schwammen zunächst in der Ätherphase oberhalb der Wasserphase. Die Wasserphase wurde dann abfliessen gelassen. Dieser Trennungsprozess wurde 5—8 mal wiederholt, bis die Zelltrümmer in die Wasserphase sanken. 1 g lufttrockener Fettkörper wurde in rund 6 l Wasser aufgeschlossen. Die Wasserphase wurde unter Vacuum bei 50° C auf 2—3 ml Flüssigkeit eingedampft und nach der oben angegebenen Methode chromatographiert. Die Sammelprobe der Fettkörper von Engerlingen, deren Fettkörperzellen frei waren von Uratkristalloiden, ergaben chromatographisch nie eine Harnsäurereaktion. In den Sammelproben hingegen, in welchen die Uratkristalloide mikroskopisch nachgewiesen wurden, erhielt man stets eine deutliche Harnsäurereaktion (Tabelle 2).

TABELLE 2

Papierchromatographischer Nachweis der Harnsäure in Fettkörpersammelproben mit fehlendem, schwachem und starkem Uratkristalloidbesatz

	Harnsäuretestlösung	Uratkristalloidbesatz in den Fettkörpersammelproben		
		fehlend	schwach	stark
Harnsäurereaktion	+	—	+	++

5. Untersuchung über die Uratausscheidung im Fettkörper von Engerlingen aus dem Freiland

Diese Untersuchungen wurden zu verschiedenen Zeiten im Laufe der Vegetationsperiode 1955 an Engerlingen des 2. und 3. Stadiums, die aus dem Basler- und Bernerflugjahrgebiet stammten, durchgeführt. Die erhaltenen Ergebnisse können folgendermassen zusammengefasst werden :

1. Die Fettkörperzellen sämtlicher untersuchter L_3 (70 Larven) eines Versuchsfeldes in Büsserach, SO (Baslerfluggebiet), die am 21. April 55 im Begriff waren, die oberen Bodenschichten aufzusuchen, waren dicht mit Uratkristalloiden besetzt. Diese Harnsäureverbindung wird jedoch im Laufe der folgenden Wochen weitgehend abgebaut. So

wurden Ende Mai 1955 weitere 40 Tiere, die Ende April aus dem Versuchsfeld Büsserach mitgenommen und gemäss der von WILLE und WILDBOLZ (1953) beschriebenen Methode im Laboratorium gehalten wurden, untersucht. Bei nur zwei Larven waren die Fettkörperzellen dicht mit Uratkristalloiden, bei 14 weiteren schwach besetzt und bei den übrigen 24 konnten keine Uratkonkremente nachgewiesen werden.

2. Im Laufe des Sommers wechselte in verschiedenen Engerlingspopulationen (2. und 3. Engerlingsstadium im Bernerfluggebiet bzw. 3. Engerlingsstadium im Baslerfluggebiet) der Anteil von Larven, deren Fettkörperzellen frei waren gegenüber denjenigen, in welchen die Zellen mehr oder weniger dicht mit Uratkristalloiden besetzt waren, sehr. Die Ergebnisse unserer Erhebung sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

TABELLE 3
Stärke des Uratkristalloidbesatzes in den Fettkörperzellen von Freilandengerlingen

Fluggebiet	Herkunft der Engerlinge	Datum	Larvenstadium	Engerlinge mit unterschiedlicher Dichte des Uratkristalloidbesatzes in den Fettkörperzellen		
				Besatz sehr dicht	Besatz mittelschwach	ohne Uratkristalloide
Bernerflug	Hofhalden I	10.V.55	2.	15	22	12
»	Hofhalden II (ZH)	8.VII.55	2. und 3.	63	12	10
»	Froideville	14.V.55	2.	19	28	14
»	Froideville (FR)	22.VII.55	3.	40	33	24
»	Guggei	27.V.55	2.	21	2	7
»	Luthern (LU)	27.V.55	2.	24	4	2
Baslerflug	Büsserach	21.IV.55	3.	70	0	0
»	Büsserach* (SO)	25.V.55	3.	2	14	24
»	Schönbuch (BL)	23.V.55	3.	2	13	22

* Vom 21.IV. bis 25.V.55 in Laborzuchten gehalten.

Auf die letzte Gruppe entfallen vorwiegend « unterentwickelte » Engerlinge. Die weitere histologische Untersuchung dieser Tiere zeigt, dass die Bakterienflora im Mitteldarm häufig sehr stark entwickelt ist, und oft schon Partien des Mitteldarmepithels vakuolig oder in Auflösung begriffen sind. In « normalen » Larven ist die Mitteldarmbakterienflora spärlich vertreten oder fehlt gänzlich, während das Mitteldarmepithel gut differenziert und geschlossen ist (WILDBOLZ, 1954). Tabelle 4 zeigt, dass die Fettkörperzellen « unterentwickelter » Engerlinge in den

zahlreichsten Fällen dicht mit Uratkristalloiden besetzt sind. In Larven, in denen der Fettkörper bereits so weit abgebaut ist, dass die einzelnen Fettzellen nur noch aus dem Kern und einer schwachen Andeutung einer Zellmembran bestehen, können die Uratkristalloide fehlen (vergl. Kolonne 6 von Tabelle 4).

TABELLE 4

*Ausscheidung von Uratkristalloiden in den Fettkörperzellen
« unterentwickelter » Engerlinge
(Befund nach Schnittpräparaten, Quecksilberbromphenolblaufärbung)*

Kennzeichnung des Larvenstadiums	Zahl untersuchter Engerlinge	Engerlinge mit morphologisch ± normalen Fettkörperzellen		Engerlinge mit stark reduzierten Fettkörperzellen	
		Zellen stark mit Uratkristal- loiden besetzt	Zellen ohne Uratkristalloide	Zellen mit Urat- kristalloiden	Zellen ohne Uratkristalloide
L ₃	45	39	1	0	5
L ₃ 0—10 Wochen nach der Häutung	32	22	2	0	8
L ₃ mindestens 10 Wochen nach der Häutung	57	57	0	0	0

In mehr oder weniger « normal » aussehenden Engerlingen können die Fettkörperzellen ebenfalls stärker oder schwächer mit Uratkristalloiden besetzt sein, auf alle Fälle überwiegen dabei die Larven mit kristalloidfreien Zellen. In der folgenden Diskussion wird auf diese Erscheinung näher eingegangen werden.

6. Diskussion

Der Fettkörper der Insekten arbeitet nicht nur als Ansammlungs-, Aufbewahrungs- und Resyntheseorgan sondern ist auch bei verschiedenen Insektengruppen befähigt, Stoffwechselzwischen- und -endprodukte temporär zu speichern (Übersicht bei FAUSSEK, 1911, PARDI, 1939, WIGGLESWORTH, 1933). Bei Collembolen, Orthopteren und Hymenopteren wird die Harnsäure in bestimmten, differenzierten Zellen des Fettkörpers, in den sogenannten Exkretspeicherzellen oder Uratzellen ausgeschieden. Bei den Lepidopteren und Dipteren dagegen können im Fettkörper keine bestimmten Uratzellen nachgewiesen werden, die Harnsäure wird vielmehr unter bestimmten Bedingungen in sämtlichen Fettkörperzellen abgelagert. In *Vanessa io* L. (HOLLANDE, 1914) erscheinen zu Beginn der Nymphose die Urate vorerst als kleine Granula um den Zellkern der Fettkörperzellen herum, um dann allmählich zu starken Harnsäurekonkrementen anzuwachsen. WIGGLESWORTH (1942) machte bei *Aedes aegypti* L. eine ähnliche Feststellung.

Während einer Hungerperiode kann dabei die im Fettkörper ausgeschiedene Harnsäure stark zunehmen, nach einer Futtergabe verschwindet sie jedoch weitgehend aus den Zellen. DE BOISSEZON (1930) schildert bei *Culex pipiens* L., dass am Ende der Verpuppung Harnsäurekristalle gehäuft im Fettkörper auftreten. Die gleiche Erscheinung ist in überwinternden Imagines zu beobachten. In *Antheraea pernyi* Hb. untersuchte LEIFERT (1935) mit quantitativen chemischen Methoden das Vorhandensein verschiedener N-Stoffwechselprodukte. Er stellte u. a. eine stetige Zunahme des Harnsäuregehaltes im Laufe der Larvenentwicklung fest. Bei jeder Häutung ergaben sich regelmässig deutliche Maxima. In der Puppe stieg der Harnsäuregehalt sehr rasch an, um dann bei der Imago wieder stark abzufallen. FAUSSEK (1911) beschreibt bei den Embryonen von *Blatta sp.* L. bestimmte Gruppen von Uratzellen, in denen die während des Wachstumsprozesses entstehende Harnsäure, die ja durch die Eihülle nicht eliminiert werden kann, ausgeschieden wird. Nach CHAUVIN (1941) soll das Auftreten von Uraten in den Fettkörperzellen von *Schistocerca gregaria* FORSK. im Zusammenhang mit einem physiologischen Schwächezustand der Tiere stehen.

Mit Ausnahme der Aussage von CHAUVIN scheint in allen anderen Fällen der Fettkörper dann die Funktion eines Exkretophors zu übernehmen, wenn sich das Insekt in irgendeinem relativen Ruhezustand ohne Futteraufnahme wie Häutung, Verpuppung, Winterruhe oder in Hungerperioden befindet. Die im Fettkörper aufgespeicherte Harnsäure wird später wieder ausgeschieden.

Es ist verständlich, dass während der Winterruhe des Engerlings die N-Stoffwechselprodukte und namentlich die Harnsäure nicht ausgeschieden werden können, sondern vorübergehend in den Fettkörperzellen gespeichert werden. Wie in den oben zitierten Fällen wird auch im Engerling während der nachfolgenden Aktivitätsphase die Harnsäure aus den Fettkörperzellen weggeführt.

Viel wichtiger scheint uns aber die Beobachtung zu sein, dass während der Vegetationsperiode die Fettkörperzellen eines gewissen Prozentsatzes «normaler» und «unterentwickelter» Engerlinge in wechselndem Mass mit Uratkristalloiden beladen sind. Zur Erklärung dieser Erscheinung könnten für die «normal» aussehenden Engerlinge vor allem beide folgenden Hypothesen in Frage kommen:

Einerseits wechseln während der Vegetationszeit Phasen, in welchen gesteigerte Nahrungsaufnahme, erhöhter Stoffumsatz und rasches Wachstum stattfinden, mit Ruhezeiten ab, in welchen die Tiere relativ inaktiv sind und die Nahrung höchstens für die Deckung des Erhaltungsstoffwechsels aufnehmen. Ein solches Verhalten mag tatsächlich für die älteren L_3 zutreffen (THIEM, 1949). Für die L_2 fehlen darüber dagegen jegliche Angaben. Es ist nun wohl möglich, dass während einer solchen Ruhezeit die Harnsäure in den Fettkörperzellen gespeichert wird, um dann während der folgenden Aktivitätsphase wieder ausgeschieden zu werden. Dies könnte ebenfalls bei der Häutung vom 2.

zum 3. Stadium zutreffen. Untersuchungen in dieser Richtung sollten weitergeführt werden.

Andererseits könnte jedoch auch zutreffen, dass jene « normalen » Engerlinge mit den Uratkristalloiden in den Fettkörperzellen nicht mehr die Fähigkeit haben infolge einer unbekanntem physiologischen Störung, die Harnsäure in den Fettkörperzellen abzubauen und mit dem Kot auszuscheiden.

Diese Engerlinge wären Vorstadien der oben erwähnten « unterentwickelten » Larven, deren Fettkörperzellen in den meisten Fällen mit Uratkristalloiden vollbefrachtet sind. Wie wir aus zahlreichen Versuchen wissen, erholen sich diese Engerlinge nicht mehr, sondern sterben innerhalb 8—20 Tagen; äusserlich stellt man als Todesursache eine Bakteriose oder Mykose fest. Sehr häufig schwimmen im Haemocoel von Engerlingen, die einer Bakteriose erlegen sind, nach weitgehender Auflösung des Fettkörpers durch die Bakterien, zahlreiche Uratkristalloide. Bei verpilzten Engerlingen bleibt der Fettkörper, der mit Uratkristalloiden dicht besetzt ist, längere Zeit nach dem Tod des Tieres erhalten. Eine ähnliche Erscheinung wird in Engerlingen, die an einer Rickettsiose erkrankt sind (WILLE und MARTIGNONI, 1952), beobachtet. Die Fettkörperzellen, die nicht von den Rickettsien befallen wurden, sind dabei dicht mit Uratkristalloiden bepackt (Abb. 5).

Das gehäufte Auftreten der Uratkonkremente im Fettkörper « unterentwickelter » Engerlinge steht zweifellos im Zusammenhang mit einer physiologischen Störung. Unbekannte Faktoren bewirken vielleicht, dass die Fettkörperzellen physikalisch-chemisch so verändert werden, dass die Harnsäure, die in diesen Zellen gebildet wird, nicht mehr weitergeleitet werden kann, sondern zurückgehalten wird. Das Tier geht dann langsam an einer Selbstvergiftung zugrunde. Es liegt auf der Hand, dass auf diese Art geschwächte Engerlinge viel leichter Angriffen von pathogenen Bakterien und Pilzen erliegen. In noch nicht abgeschlossenen Versuchen wurde geprüft, ob ein Ferment (Uricase) bei « normalen » Engerlingen den Abbau der Harnsäure in den Fettkörperzellen bewerkstelligt. Es sollte dann anschliessend untersucht werden, ob die Speicherung der Harnsäure im Fettkörper auf einen temporären Mangel dieses Fermentes zurückzuführen sei.

In der Schweiz sind im Rahmen der Zentrale für Maikäferbekämpfungsaktionen eingehende Untersuchungen über die Regression von Engerlingspopulationen unter den verschiedensten Bedingungen durchgeführt worden. Diese Erhebungen haben einen guten Überblick über den verschiedenartigen Verlauf der Rückbildung geliefert, aber leider weiss man noch sehr wenig über die mannigfaltigen Faktoren, die für die Regression verantwortlich sind. Wir sind überzeugt, dass der weitere Ausbau unserer Untersuchungsrichtung seinerseits auch einen Beitrag zur Abklärung der vielseitigen Gradationsprobleme in Engerlingspopulationen bringen wird. Aus den Zahlen von Tabelle 5 kommt eine gewisse Tendenz zum Ausdruck, dass eine

TABELLE 5

Beziehungen zwischen dem Uratkristalloidbesatz in den Fettkörperzellen von Engerlingen und der späteren Regression der betreffenden Population

	Stärke des Besatzes	Versuchsort			
		Versuch Froideville		Versuch Hofhalden	
		Datum 22. Juli 17. Okt.		Datum 8. Juli 29. Sept.	
Prozentuale Verteilung der Engerlinge mit unterschiedlicher Stärke des Uratkristalloidbesatzes in den Fettkörperzellen	stark mittel	41,2 34,0		74,2 14,1	
Prozent Engerl. mit Uratkristalloiden den Fettkörperzellen		75,2*		88,3**	
Durchschn. Engerlingsbesatz pro $\frac{1}{4}$ m ² in den betr. Populationen		24,5	10,0	15,0	2,8
Prozentuale Abnahme der Population im Laufe von ca. 3 Monaten			59,2		81,2

* 97 Engerlinge wurden untersucht

** 85 » » » »

Korrelation in der Zusammensetzung einer Engerlingspopulation in Bezug auf das Vorhandensein oder das Fehlen von Uratkristalloiden und ihrer zukünftigen Regression bestehen kann.

Bevor aber diese Fragen schlüssig abgeklärt sind, müssen noch zahlreiche Erhebungen durchgeführt werden. In Tastversuchen wurde der Besatz an Aminosäuren im Fettkörper « normaler » und « unterentwickelter » Engerlinge untersucht ; es wurden beträchtliche Unterschiede gefunden. Wie wir oben angedeutet haben, steht das von uns aufgeworfene Problem im engsten Zusammenhang mit der Pathologie der Engerlinge. Wir gelangen immer mehr zur Überzeugung, dass die eingehende Abklärung der Physiologie der Engerlinge wertvolle Beiträge zu einer erfolgreichen zukünftigen mikrobiologischen Bekämpfung dieses Schädlings liefern wird.

Zusammenfassung

Die Fettkörperzellen eines wechselnden Prozentsatzes von Engerlingen aus dem Freiland sind mit stark lichtbrechenden Kristalloiden von 4—5,5 μ besetzt (Tab. 3, Abb. 3, 4, 5). Es handelt sich dabei um eine leicht wasserlösliche Harnsäureverbindung (positive Murexid- und *Benedict-Franke*- Reaktion, papierchromatographischer Harnsäurenachweis nach BODE und HÜBENER).

In gefärbten Schnittpräparaten lassen sich diese Uratkristalloide einzig nach Behandlung mit Quecksilberbromphenolblau in 95 proz. Äthylalkohol darstellen.

Freilandpopulationen von Engerlingen setzen sich aus « normal » aussehenden und « unterentwickelten » Engerlingen zusammen. Es ist auffallend, dass die Fettkörperzellen der « unterentwickelten » Engerlinge meistens mit solchen Uratkristalloiden dicht besetzt sind. In « normalen » Engerlingen ist dies eher die Ausnahme. Es wird vermutet, dass die Speicherung der Harnsäure in den Fettkörperzellen im Zusammenhang mit einer physiologischen Störung steht.

Es scheint eine Korrelation zwischen dem Vorliegen oder Fehlen von Uratkristalloiden im Fettkörper von Engerlingen und der späteren Regression der betreffenden Population zu bestehen (Tab. 5).

LITERATURVERZEICHNIS

- BENEDICT, S. R. und FRANKE, E., 1922. *A method for the direct determination of uric acid in blood.* J. biol. Chem. **52**, 387—391.
- BODE, F. und HÜBENER, H. J., 1952. *Identification of uric acid and ascorbic acid by chromatography.* Nature, **170**, 501.
- BOISSEZON, P. DE, 1930. *Contribution à l'étude de la biologie et l'histophysiologie de Culex pipiens.* Arch. Zool. exp. et gén. **70**, 281—431.
- CHAUVIN, R., 1941. *Contribution à l'étude physiologique du criquet pèlerin et du déterminisme des phénomènes grégaires.* Ann. Soc. Ent. France, **60**, 133—272.
- FAUSSEK, V., 1911. *Vergleichend-embryologische Studien.* Zeitschr. wiss. Zool., **98**, 529—625.
- HOLLANDE, C., 1914. *Formations endogènes de cristaux albumoïdes et des urates des cellules adipeuses des chenilles de Vanessa io et Vanessa urticae.* Arch. Zool., **5**, 559—578.
- LEIFERT, H., 1935. *Untersuchungen über den Exkretstoffwechsel bei Eiern, Raupe und Puppe von Antheraea pernyi.* Zool. Jb., **55**, 131—171.
- MAZA, D., BREWER, P. A. und ALFERT, M., 1953. *The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromphenol blue.* Biol. Bull., **104**, 57—67.
- NEWTON, E. B., 1937. *A chromogenic tungstate and its use in the determination of the uric acid of blood.* J. Biol. Chem. **120**, 315—329.
- PARDI, L., 1939. *I corpi grassi degli insetti.* Redia, **25**, 87—288.
- ROMEIS, B., 1948. *Mikroskopische Technik,* München.
- RONA, P., 1929. *Praktikum der physiologischen Chemie, zweiter Teil,* Blut-Harn. Berlin.
- THIEM, H., 1949. *Über Erfahrungen bei der Aufzucht von Engerlingen.* Verh. Deutschen Ges. angew. Ent. 11. Mitgliederversammlung, 77—95.
- WIGGLESWORTH, V. B., 1933. *On the function of the so called « Rectal glands » of insects.* Quart. J. microscop. Sci. **75**, 132—150.
- 1942. *The storage of protein, fat, glycogen and uric acid in the fat body and other tissues of mosquito larvae.* J. exp. Biol. **19**, 56—77.
- WILDBOLZ, TH., 1954. *Beitrag zur Anatomie, Histologie und Physiologie des Darmkanals der Larve von Melolontha melolontha L.* Mitt. Schw. Ent. Ges. **27**, 193—240.
- WILLE, H. und WILDBOLZ, TH., 1953. *Beobachtungen über die Eiablage des Maikäfers und die Entwicklung des Engerlings im Laboratorium.* Mitt. Schw. Ent. Ges. **26**, 219—224.
- WILLE, H. und MARTIGNONI, E. M., 1952. *Vorläufige Mitteilung über einen neuen Krankheitstypus beim Engerling von Melolontha vulgaris F.* Zeitschr. allg. Path. Bakt. **15**, 470—474.

Die vorliegende Arbeit wurde z. T. durch einen Beitrag des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt. Den zuständigen Behörden sprechen wir unseren besten Dank aus. Für wertvolle Ratschläge sowie die Benützung der Laboratorien sind wir den Herren Prof. A. DEUEL und R. KOBLET zu herzlichem Dank verpflichtet.