

2 Morphologische Untersuchung von Larven der ‚drüsentragenden Gruppe‘ der Galerucinae (Coleoptera: Chrysomelidae)

2.1 Zusammenfassung

In der Literatur werden segmentale Strukturen von Larven des Blattkäfertaxons Galerucinae beschrieben, die äußerlich den Wehrdrüsen der als Schwestertaxon betrachteten Chrysomelinae vergleichbar sind. Diese ‚drüsentragende Gruppe‘ der Galerucinae setzt sich nach einer gebräuchlichen, aber umstrittenen Klassifizierung nur aus Arten der Tribus Sermylini zusammen. Dies legte die Vermutung nahe, es könnte sich bei diesen segmentalen Strukturen um eine Apomorphie der Gruppe handeln. Allerdings lagen weder Informationen zum Feinbau dieser Wehrstrukturen, noch Nachweise exokriner Drüsenzellen vor. Nach rasterelektronen- und lichtmikroskopischer Untersuchung von 10 Arten der ‚drüsentragenden Gruppe‘ konnten zwei Typen von Wehrstrukturen unterschieden werden: Einerseits nur am Abdomen paarweise lokalisierte Öffnungen, aus denen kutikulare Säckchen mit je einer exokrinen Drüseneinheit ausgestülpt werden können. Andererseits schlitzförmige Öffnungen an Thorax und Abdomen ohne direkte Beziehung zu exokrinen Drüsen. Die Homologiewahrscheinlichkeit dieser Strukturen wird diskutiert.

2.2 Einleitung

Die artenreiche Unterfamilie Galerucinae wird anhand morphologischer Merkmale der Imagines in fünf Tribus aufgeteilt: Galerucini, Luperini, Oidini, Metacyclini und Sermylini (Seeno & Wilcox 1982). Ob es sich bei diesen Tribus tatsächlich um monophyletische Taxa handelt, ist aber unklar (Crowson & Crowson 1996, Reid 1995).

Eine vorläufige Definition der Tribus, hauptsächlich auf der Basis von Merkmalen der männlichen Imagines, hat Wilcox (1965) zusammengefaßt. Eine notwendige Revision der supraspezifischen Klassifizierung wurde bisher nicht erarbeitet. Traditionell besonders an Merkmalen der Imagines orientiert, widmen sich taxonomische und phylogenetische Untersuchungen inzwischen auch Entwicklungsstadien (Eier, Larven, Puppen) der Blattkäfer (Lee 1993, Nordell-Paavola et al. 1999, Reid 1995, Steinhausen 1998, Takizawa 1972).

Die Tribus Sermylini umfaßt hauptsächlich im asiatischen Raum, aber auch in Afrika und Europa vorkommende Arten, die sich u.a. durch die folgenden Merkmale auszeichnen: Aedeagus symmetrisch; letztes Abdominalsegment der Männchen mit einem kurzen, ebenmäßig gerundeten apicalen Lobus; Dorsalergite der Larven in den Abdominalsegmenten 1-7 in zwei transversalen Reihen; ein Ocellus auf jeder Kopfseite; Epicranialnaht ausgeprägt oder lang (Wilcox 1965).

Ein weiteres gemeinsames Merkmal des Taxons Sermlylini könnten die segmental angeordneten, dorsolateral lokalisierten Wehröffnungen der Larvenstadien sein. Eine erste Beschreibung von sog. Wehrdrüsen bei Larven der Galerucine *Agelastica alni* (L.) gibt Böving (1929). Aus Untersuchungen von Takizawa (1972) geht hervor, daß Wehrstrukturen auch bei anderen Galerucinen-Arten vorkommen. Er beschreibt 10 japanische Arten und unterscheidet drei Gruppen innerhalb seiner ‚drüsentragenden Gruppe‘ der Galerucinae aufgrund der Zahl und Anordnung von larvalen Wehröffnungen (Tab. 2.1). Allerdings war bisher außer für *A. alni* (Bünnige & Hilker 1999) die Präsenz von exokrinen Drüsen an diesen larvalen Wehröffnungen weder histologisch noch morphologisch nachgewiesen worden. Die Bezeichnung Drüse wird sowohl für eine einzelne sezernierende Zelle als auch für eine funktionelle Drüseneinheit aus mehreren Zelltypen (vgl. Abb. 2.5 A, S. 17), aber auch für ein komplexes Drüsenorgan verwendet (Peters 1999). Letzteres wird vermutlich für die Wehröffnungen der Galerucinae angenommen. Ohne Nachweis exokriner Drüsenelemente werden sie hier jedoch zunächst neutral als Wehröffnungen bezeichnet.

Tab. 2.1: Anzahl und Lokalisation larvaler Wehröffnungen bei Galerucinae (nach Takizawa 1972). Zur Einteilung der Larven in fünf Gruppen wurde außerdem die Präsenz und Anordnung der larvalen Sklerite herangezogen. Im wesentlichen korrespondiert diese Klassifizierung mit der Einteilung in Tribus nach Seeno & Wilcox (1982), die auf der Basis von Adultmerkmalen vorgenommen wurde und hier in Klammern angegeben ist.

	Gruppe I (Sermlylini)	Gruppe II (Sermlylini)	Gruppe III (Sermlylini)	Gruppe IV (Luperini)	Gruppe V (Galerucini, Oidini)
Prothorax	1 Paar	keine	keine	keine	keine
Meso-/ Metathorax	2 Paare	4 Paare	keine	keine	keine
Abdomen	8/9 Paare	8 Paare	8 Paare	keine	keine

Bei Anwendung der systematischen Einordnung von Seeno & Wilcox (1982) sind die Arten mit Wehröffnungen der Tribus Sermlylini zuzuordnen. Bei den ebenfalls von Takizawa (1972) untersuchten Arten, die der Tribus Galerucini, Luperini und Oidini zugeordnet werden, kommen solche Strukturen indes nicht vor. Vertreter der Tribus Metacyclini wurden nicht untersucht.

Larvale exokrine Drüsenorgane sind bisher innerhalb der Blattkäfer nur von Larven der Unterfamilie Chrysomelinae bekannt und sowohl morphologisch (Drüsenstrukturen), chemisch (Zusammensetzung der Sekrete) als auch verhaltensökologisch (Effektivität der Sekrete gegen Feinde) sehr gut beschrieben (Garb 1915, Hinton 1951, Renner 1970; Übersichtsartikel: Blum 1994, Pasteels et al. 1988). Die abwehrenden exokrinen Drüsensekrete werden in kutikularen Sekretreservoirien gesammelt, die in der Körperhöhle versenkt sind und denen eine

unterschiedliche Anzahl von Drüsenzellen ansitzen. Die Reservoirs werden bei Störung der Larve entweder ausgestülpt, so daß das meist leicht flüchtige Wehrsekret freigesetzt oder aber nur der Inhalt des Reservoirs nach außen gedrückt wird. Die aktiven Hauptkomponenten der Wehrsekrete sind niedermolekulare, flüchtige Verbindungen (Zusammenfassung in: Pasteels et al. 1988, Blum 1994). Die Abwehreffektivität der larvalen Drüsensekrete von Chrysomelinen ist in zahlreichen Fraß- und Olfaktometerbiotests vor allem mit Ameisen als generellen Prädatoren nachgewiesen (Blum et al. 1972, Hilker & Schulz 1994, Matsuda & Sugawara 1980, Wallace & Blum 1969).

Die Präsenz larvaler Wehrdrüsen wird als Merkmal in der Systematik und als Argument für die phylogenetischen Beziehungen der Chrysomelidae (Blattkäfer) untereinander herangezogen (Lee 1993), obwohl die Homologie der Drüsenstrukturen bisher nicht geklärt ist (Reid 1995, Schmitt 1996). Vielfach fehlen zur begründeten Homologisierung Informationen über Drüsenfeinstrukturen oder auch über die Zusammensetzung der Drüsensekrete.

Den Beschreibungen exokriner Wehrdrüsen der Galerucinae-Larven (Böving 1929, Paterson 1931, Takizawa 1972) stehen Beobachtungen anderer Autoren gegenüber, die die beschriebenen Abwehrreaktionen der Larven als Reflexbluten bezeichnen, d. h. die Abgabe von Hämolymphe (Baur & Rank 1996, Tischler 1977, Zucht 1934).

Die kontroverse Interpretation von Galerucine-, Wehrdrüsen‘ wurde zum Anlaß genommen, morphologische Untersuchungen an bis dahin nur äußerlich beschriebenen Wehröffnungen dieser Larven durchzuführen. Es konnten zwar an Larven von *A. alni* exokrine Drüsenzellen an ausstülpbaren kutikularen Säckchen nachgewiesen werden (Bünnige & Hilker 1999). Dennoch handelt es sich bei den Strukturen dieser Galerucine-Larven nicht um ausschließlich exokrines Drüsensekret sezernierende Öffnungen wie bei manchen Chrysomelinae-Larven: Auf taktile Reize wird eine Flüssigkeit aus den Säckchen abgegeben, die in Farbe, Hämolymphezusammensetzung und Proteinkomposition der Hämolymphe entspricht (Bünnige & Hilker 1999).

In der vorliegenden Arbeit werden 10 weitere Arten der ‚drüsentragenden Gruppe‘ nach Takizawa (1972) hinsichtlich der Anatomie ihrer Wehröffnungen mikroskopisch untersucht.

2.3 Material und Methoden

Insekten

Die für die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen eingesetzten Larven sind in Tab. 2.2 zusammengestellt. Zu Vergleichszwecken wurden außerdem Larven von *Galerucella nymphaeae* (Galerucinae: Galerucini) und *Phaedon cochleariae* (Chrysomelinae: Chrysomelini) für das Rasterelektronenmikroskop präpariert.

Tab. 2.2: Zusammenstellung der untersuchten Arten der ‚drüsentragenden Gruppe‘ der Galerucinae und der Untersuchungsmethoden; angegeben ist die Gruppenzuordnung nach Takizawa (1972); REM: rasterelektronenmikroskopische Untersuchung; LM: lichtmikroskopische Untersuchung; EtOH: Larven wurden in KAAD-Lösung fixiert und 70%igem Ethanol konserviert (1 Teil Kerosen, 2 Teile Essigsäure 99 %, 7 Teile Ethanol 90 %, 1 Teil Dioxan). Alle Arten: L3-Stadium.

Art	Gruppe	Zustand	REM	LM
<i>Agelasa nigriceps</i>	1	frisch	✓	✓
<i>Gallerucida bifasciata</i>	1	frisch	✓	✓
<i>G. lewisi</i>	1	EtOH	✓	
<i>Hamushia eburata</i>	1	EtOH	✓	
<i>Sermylassa halensis</i>	1	frisch	✓	✓
<i>Arthrotus niger</i>	2	EtOH	✓	
<i>Agelastica coerulea</i>	3	frisch	✓	✓
<i>Morphosphaera coerulea</i>	3	EtOH	✓	
<i>M. chrysomeloides</i>	3	EtOH	✓	
<i>M. japonica</i>	3	EtOH	✓	

Die in Ethanol konservierten Larven der Arten *Arthrotus niger*, *Morphosphaera coerulea*, *M. chrysomeloides*, *M. japonica*, *Gallerucida lewisi* und *Hamushia eburata* wurden freundlicherweise von H. Takizawa, Hasuda, Japan, zur Verfügung gestellt. Larven der Arten *Agelastica coerulea*, *Gallerucida bifasciata* und *Agelasa nigriceps* wurden aus Eigelegen der von H. Takizawa zugeschickten Imagines herangezogen (*A.c.* auf *Alnus glutinosa* (Schwarzerle), *A.n.* auf *Actinidia arguta* (Kiwi) und *G.b.* auf *Reynoutria japonica* (Staudenknöterich). Larven der Art *Sermylassa halensis* wurden im Freiland gesammelt und auf *Galium mollugo* (Labkraut) gehalten (Funddaten in Tab. 2.3).

Rasterelektronenmikroskopische Studien

Die Larven von 10 Galerucinae der ‚drüsentragenden Gruppe‘ (Tab. 2.2) sowie die beiden Vergleichsarten, *Galerucella nymphaeae* und *Phaedon cochleariae*, wurden der Länge nach von dorsal aufgeschnitten und für 30 h bei Raumtemperatur in 5%iger KOH-Lösung mazeriert. Die Integumentstücke wurden daraufhin in einer Acetonreihe aufsteigender Konzentration dehydriert (10 %-Schritte, von 10 bis 100 %, pro Konzentration 15 min) und

Tab. 2.3: Funddaten und Futterpflanzen der untersuchten Galerucinae-Arten.

Art	Fundort (Fundort der Imagines)	Funddatum	Futterpflanze	Det. (Stadium)
<i>Agelasa nigriceps</i> Motschulsky	Laborzucht (Tomioka, Fukushima Pref., Honshu, Japan)	11.05.1999	<i>Actinidia arguta</i>	H. Takizawa (Imagines)
<i>Agelastica alni</i> (L.)	Laborzucht (Krumme Lanke, Berlin, Deutschland)	20.05.1999	<i>Alnus glutinosa</i>	M. Bünnige (Imagines)
<i>Agelastica coerulea</i> Baly	Laborzucht (Fujiwara, Tochigi Pref., Honshu, Japan)	15.05.1999	<i>Alnus glutinosa</i>	H. Takizawa (Imagines)
<i>Arthrotus niger</i> Motschulsky	Mt. Amagi, Sizuoka, Honshu, Japan.	17.05.1966	<i>Alnus sp.</i>	H. Takizawa (Larven)
<i>Gallerucida bifasciata</i> Motschulsky	Laborzucht (Tomioka, Fukushima Pref., Honshu, Japan)	11.05.1999	<i>Reynoutria sp.</i>	H. Takizawa (Imagines)
<i>Gallerucida lewisi</i> (Jacoby)	Mt. Takao, Tokyo, Honshu, Japan	12.05.1968	<i>Chrysopenium sp.</i>	H. Takizawa (Larven)
<i>Hamushia eburata</i> (Harold)	Mt. Takao, Tokyo, Honshu, Japan	12.05.1968	<i>Myosoton sp.</i>	H. Takizawa (Larven)
<i>Morphosphaera coerulea</i> (Schönfeld)	Sinmura, Amami-Osima Is., Ryukyu Is., Japan	29.04.1967	<i>Ficus sp.</i>	H. Takizawa (Larven)
<i>Morphosphaera japonica</i> (Hornstedt)	Saeki, Oita, Kyushu, Japan	?	<i>Ficus sp.</i>	H. Takizawa (Larven)
<i>Morphosphaera chrysomeloides</i> (Bates)	Liukuei, Kaoshung, Taiwan	01.06.1996	<i>Ficus sp.</i>	H. Takizawa (Larven)
<i>Sermylassa halensis</i> (L.)	Köppchensee, Lübars, Berlin, Deutschland	10.05.1998	<i>Galium sp.</i>	M. Bünnige (Larven)

abschließend getrocknet (Kritische Punkt-Trocknung; CPD 030, Fa. Bal-tec, Balzers, Liechtenstein). Nach Montage auf Aluminiumteller erfolgte die Sputter-Beschichtung mit Gold. Die Proben wurden in einem Rasterelektronenmikroskop (SEM 515, Philips, NL) betrachtet und fotografiert.

Lichtmikroskopische Untersuchung

L3-Stadien der Arten *Agelasa nigriceps*, *Agelastica coerulea*, *Gallerucida bifasciata* und *Sermylassa halensis* wurden mit Ethylacetat getötet, mit einer Präpariernadel an mehreren Stellen ventral perforiert und 40 h in Bouin fixiert. Nach der Dehydrierung in Ethanol und Isobutanol schloß sich die Einbettung der Larven in Paraplast[®] (www.2spi.com) an. Die kurz zuvor in der Transversalebene in der Mitte des Körpers geteilten Larven wurden in dem erkaltenden Einbettungsmedium ausgerichtet und nach Aushärten der Masse mit einem Mikrotom (Supercut 2050, Reichert-Jung, D) in der Transversalebene 2-5 µm dünn geschnitten. Die Färbung erfolgte mit Hämalaun-Eosin oder Kernechtrot-Kombinationsfärbung (Romeis 1968). Die Präparate wurden mit Eukitt[®] (Fa. Kindler, Freiburg, D) eingedeckt.

2.4 Ergebnisse

Larven von Arten der Gruppe 1 nach Takizawa (1972) (*Hamushia eburata*, *Agelasa nigriceps*, *Gallerucida bifasciata*, *G. lewisi* und *Sermylassa halensis*) haben keine ausstülpbaren Säckchen an den Innenseiten ihrer Wehröffnungen (Abb. 2.1 A-D, Abb. 2.2 A-F). Die Wehröffnungen sind vom Prothorax bis zum 8. oder 9. Abdominalsegment lokalisiert (vgl. Tab. 2.1). In den Abdominalsegmenten liegen sie zwischen dem posterioren, dem äußeren anterioren und dem inneren anterioren Dorsolateralsklerit. Diese Sklerite sind deutlich voneinander abgesetzt.

Es konnten mikroskopisch keine Drüsenzellen an den Innenseiten der Wehröffnungen nachgewiesen werden. Jedoch finden sich in der Nähe der Wehröffnungen Tubuli von Epidermaldrüsen, die im gesamten Integument verteilt sind und die direkt nach außen münden. Die Tubuli der Drüsenkanäle sind 100-120 µm lang und weisen eine bifurkate Endstruktur auf. Diese Übergangszone für das Drüsensekret in den kutikularen Kanal wird als Endapparat bezeichnet (Noirot & Quenedey 1991). Einzig bei Larven der Gruppe 1 finden sich an den schmalen Seiten der Wehröffnungen Faserkegel aus kutikularen Fibrillen (Abb. 2.2 C).

Die Untersuchung des einzigen verfügbaren Vertreters der Gruppe 2, *Arthrotus niger*, erbrachte ein ähnliches Bild der anatomischen Verhältnisse wie bei Vertretern der Gruppe 1

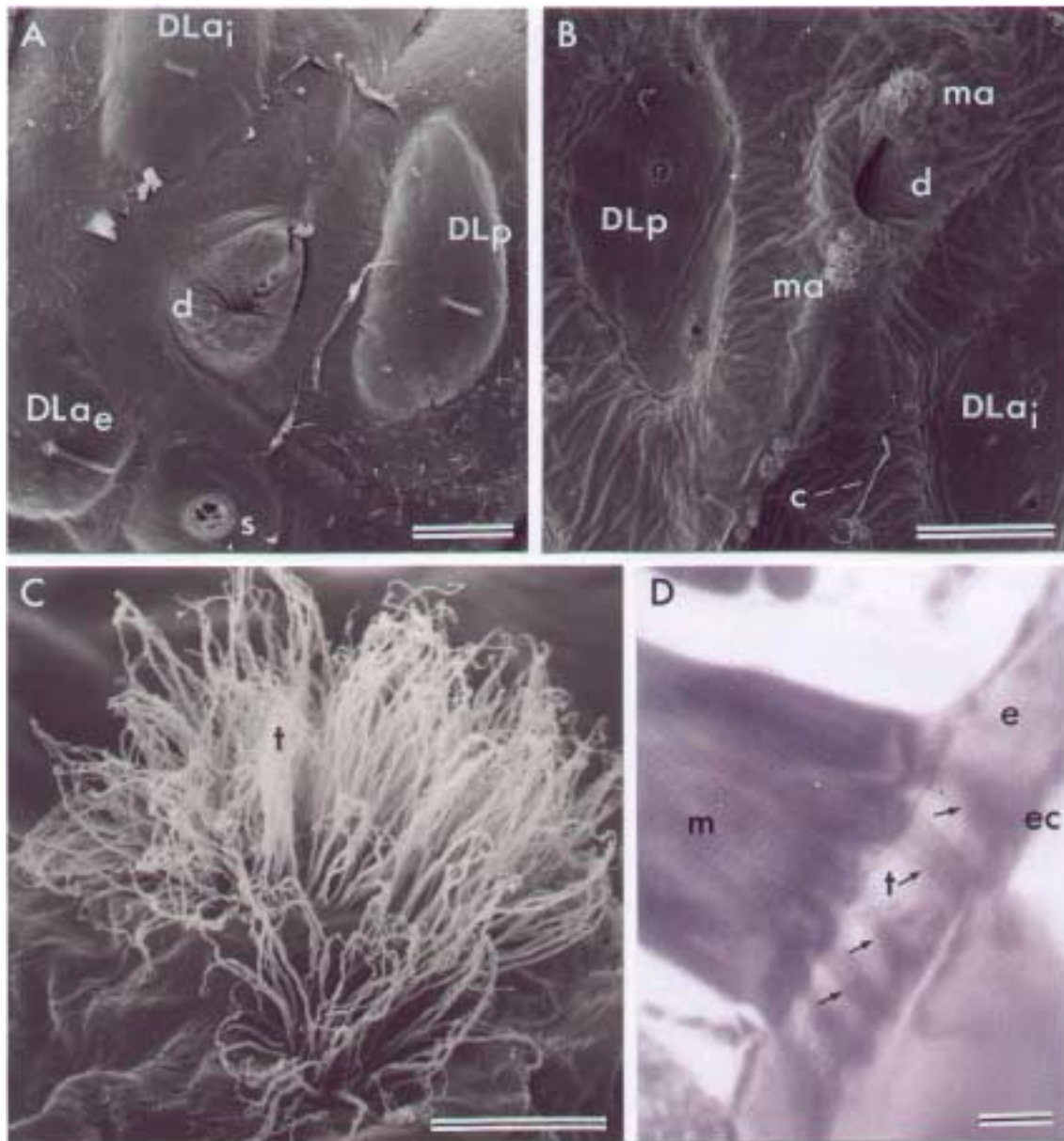


Abb. 2.1: A-C. *Hamushia eburata* (Gruppe 1), L3. **A.** Außenansicht der Wehröffnung (d). **B.** Innenansicht der schlitzförmigen Wehröffnung (d) mit Muskelansatzstellen (ma). DLp posteriorer Dorsolateralsklerit; DLae äußerer anteriorer Dorsolateralsklerit; DLaj innerer anteriorer Dorsolateralsklerit. Balken A, B: 100 µm. **C.** Nahaufnahme des Faserkegels aus Tonofibrillen. Rasterelektronenmikr. Aufnahme. **D.** *Sermylassa halensis* (Gr. 1), L3. Lichtmikroskopische Aufnahme eines Dünnschnitts, m Muskel, t Tonofibrillen, e Epidermis, ec Epikutikula. Balken: 10 µm.

(Abb. 2.3 A, B): Auch hier finden sich weder kutikuläre Säckchen noch Drüsentubuli, die in direktem funktionalem Zusammenhang mit den Wehröffnungen stehen (Abb. 2.3 B). Die regelmäßig im Integument verteilten Dermaldrüsen haben kutikuläre Kanäle von mindestens 120 µm Länge und sind mit einem bifurkaten Endapparat ausgestattet. Die Tiere haben in Meso- und Metathorax je zwei paarige Wehröffnungen, dorsal des Alarsklerites. Im Abdomen

sind jedoch pro Segment nur zwei Wehröffnungen, die wie bei den untersuchten Arten der Gruppe 1 zwischen den Skleriten DLp, DL_{a_e} und DL_{a_i} liegen.

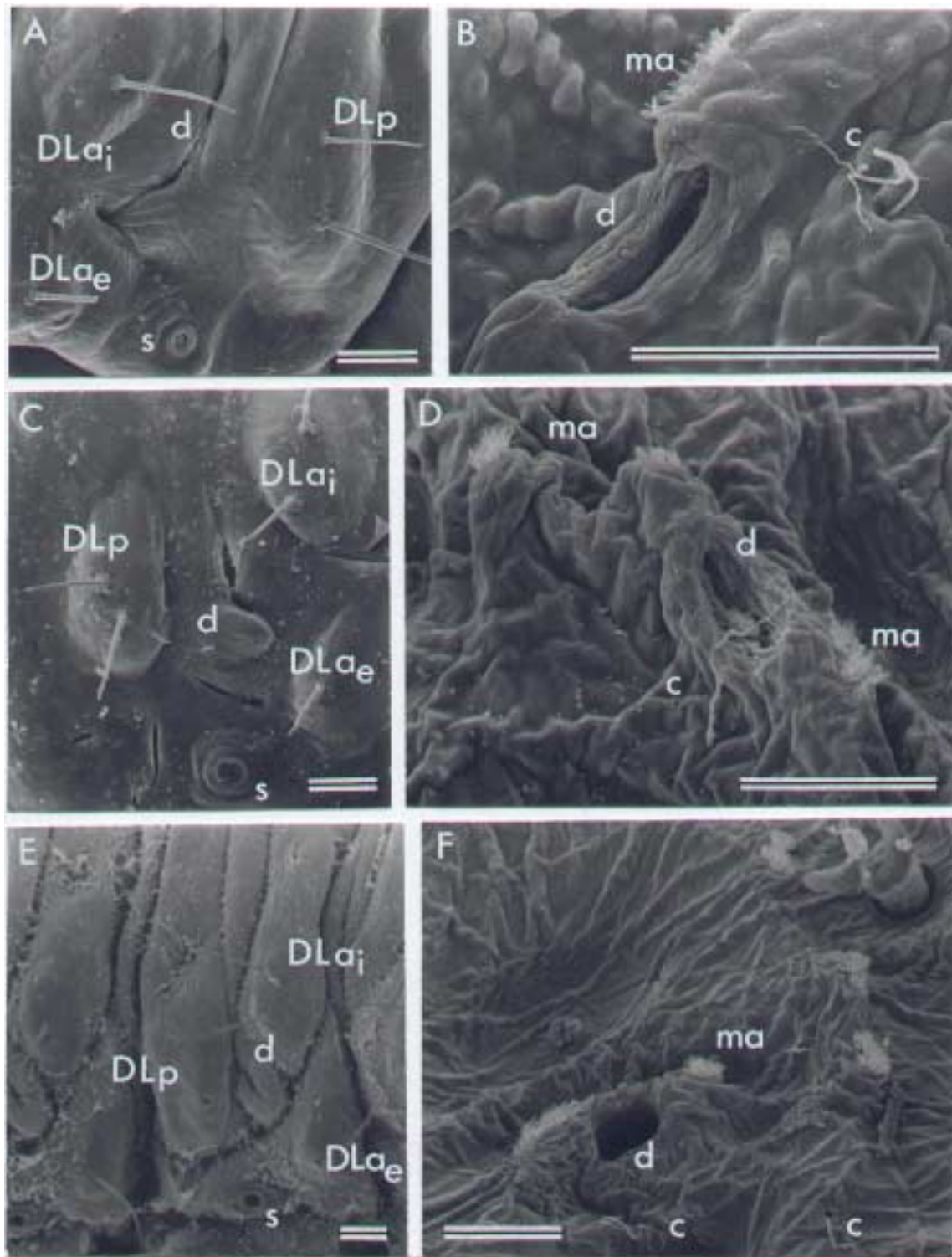


Abb. 2.2: A-B. L3-Larven von *Agelasa nigriceps*: **A.** Wehröffnung (d) von außen **B.** Innenansicht der schlitzförmigen Wehröffnung (d) mit Muskelansatzstellen (ma). **C.** *Gallerucida bifasciata*, L3, Außenansicht der Wehröffnung. **D.** *Gallerucida lewisi*, L3, Wehröffnung von innen. **E.** u. **F.** *Sermylassa halensis*, L3. **E.** Außenansicht der Wehröffnung. **F.** Innenansicht der schlitzförmigen Wehröffnung (d) mit Muskelansatzstellen (ma). Drüsenkanäle mit gegabeltem Endapparat. REM-Aufnahmen, Balken: 100 µm. DLp posteriorer Dorsolateralsklerit; DL_{a_e} äußerer anteriorer Dorsolateralsklerit; DL_{a_i} innerer anteriorer Dorsolateralsklerit. S Stigma; c Sekretkanal von Drüseneinheiten.

An den schlitzförmigen Wehröffnungen sind keine Faserkegel im REM sichtbar. Die runden Vertiefungen in der Kutikula an den Schmalseiten der Wehröffnungen werden als Muskelansatzstellen (Abb. 2.3: ma) angesehen. Lichtmikroskopische Aufnahmen waren mangels Frischmaterial nicht möglich. Eine äußerliche Besonderheit sind die Borsten der Larven, die mehr oder weniger stark gefiedert sind (Abb. 2.3 A). Alle anderen untersuchten Larven haben dagegen glatte Borsten. Lebende Larven zur Beobachtung des Verhaltens bei Attacken standen nicht zur Verfügung.

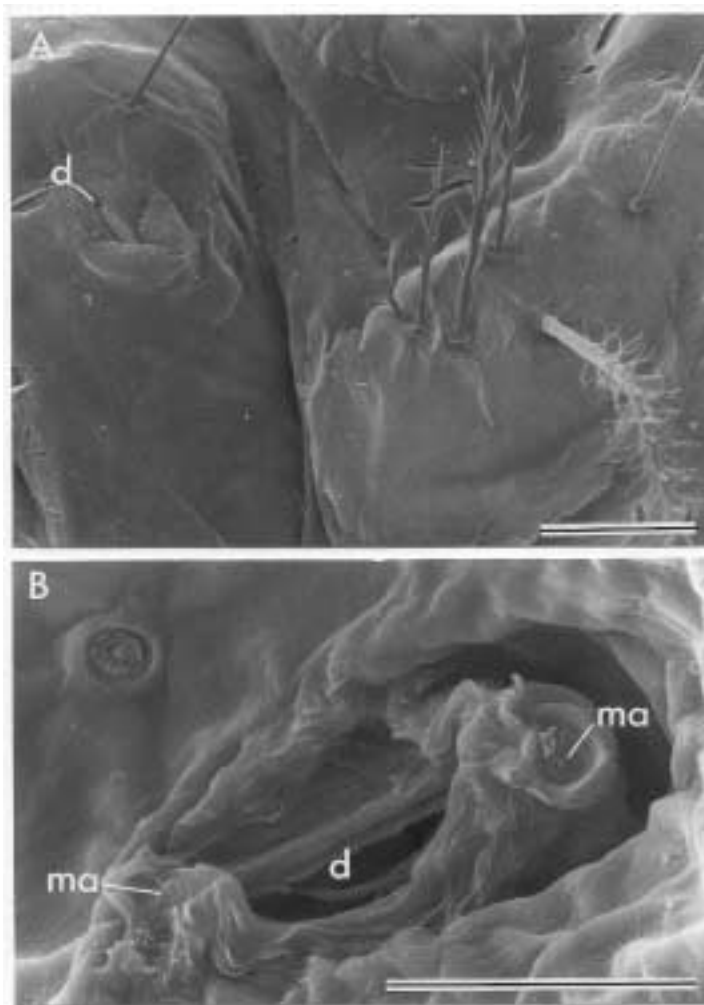


Abb. 2.3: A-B. REM-Aufnahme von *Arthrotus niger*, L3. (Gruppe 2) **A.** Außenansicht der Wehröffnung (d) und gefiederten Borsten. Balken: 100 μ m. **B.** Innenansicht der schlitzförmigen Wehröffnung mit Muskelansatzstellen (ma). Balken: 50 μ m.

Bei allen untersuchten Vertretern der Gruppe 3 nach Takizawa (1972), *Agelastica coerulea*, *Morphosphaera chrysomeloides*, *Morphosphaera coerulea* und *Morphosphaera japonica*, konnten Strukturelemente wie bei *Agelastica alni* erkannt werden (Abb. 2.4 A-F). Die Larven verfügen über dorsolateral paarweise an den Abdominalsegmenten 1-8 lokalisierte ausstülpbare kutikuläre Säckchen (Abb. 2.4: es). Die Öffnungen dieser Strukturen befinden sich auf

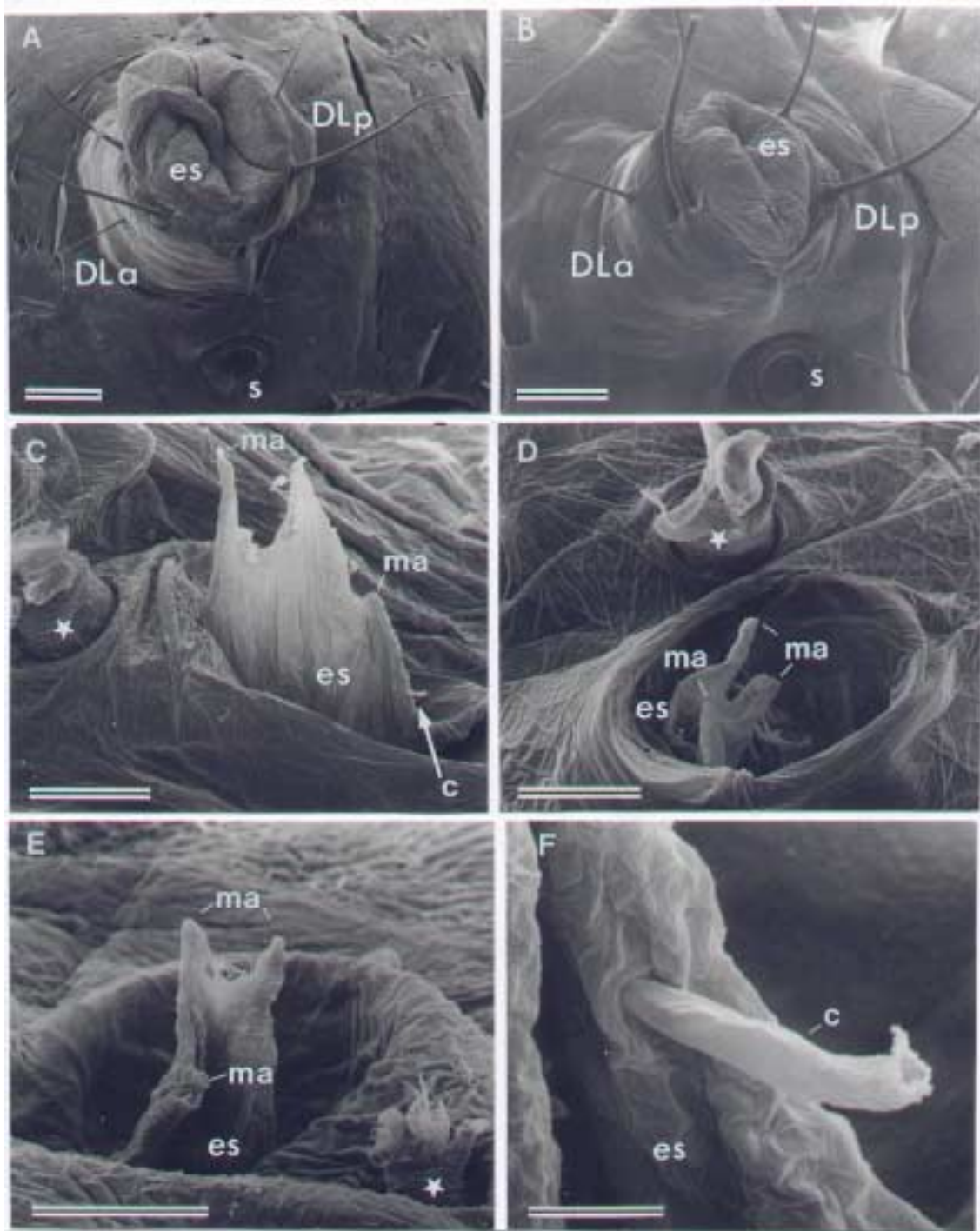


Abb. 2.4: A-F. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von L3-Larven der Gruppe 3. **A.** *Morphosphaera japonica* und **B.** *Morphosphaera chrysoloides*: ausstülpbares kutikulares Säckchen (es), Außenansicht. DLa anteriorer Dorsolateralsklerit; DLp posteriorer Dorsolateralsklerit. **C.** *M. japonica*, **D.** *M. chrysoloides* und **E.** *Agelastica coerulea*: Innenansicht des ausstülpbaren Säckchens (es) mit Muskelansatzstellen (ma) und kutikularem Kanal einer Drüseneinheit (c). **F.** Nahaufnahme des kultikularen Drüsenkanals von *M. japonica*. Mit dem Stern ist die Mündung einer Trachea gekennzeichnet, s Stigma, Balken A-E: 100 μ m, F: 10 μ m.

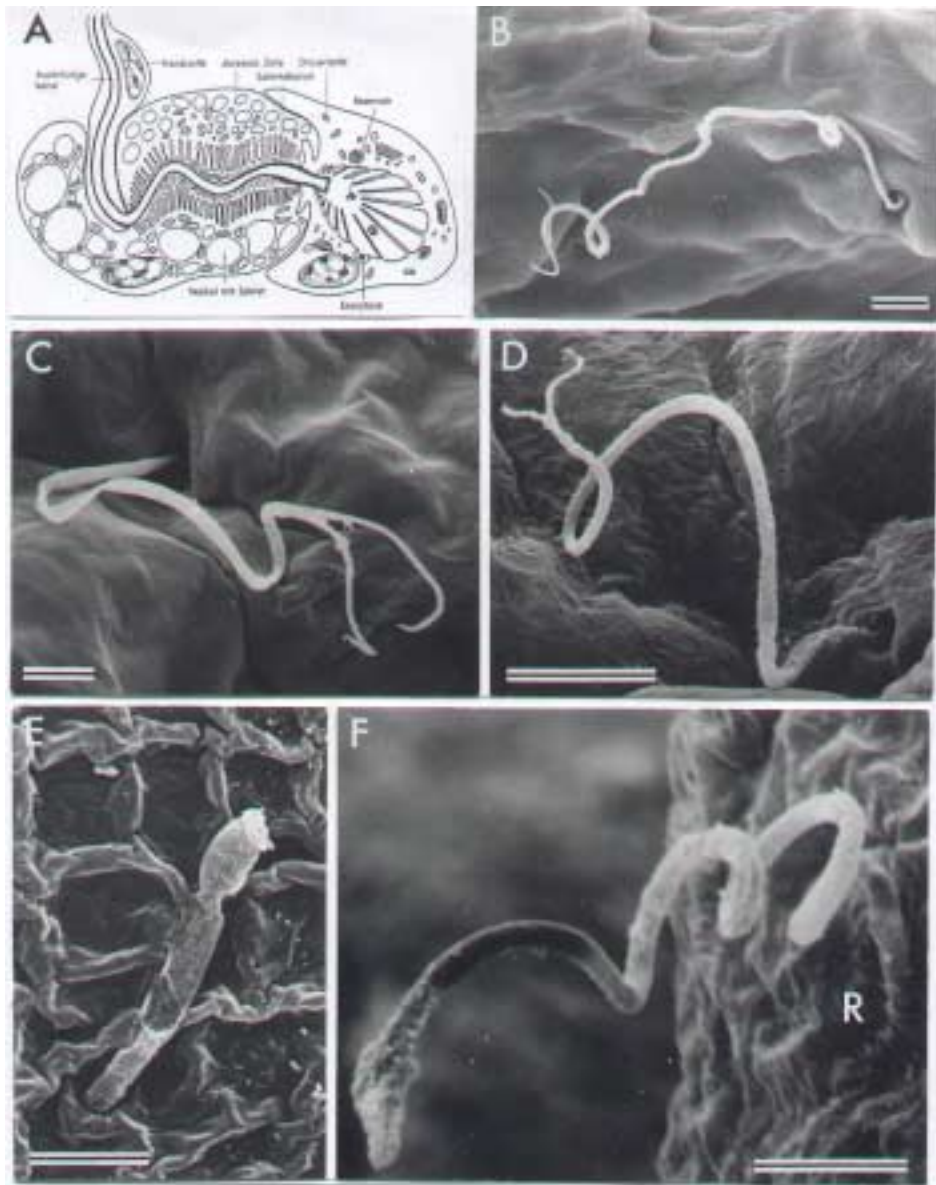


Abb. 2.5: **A.** Schematische Darstellung einer Dermaldrüse von *Tenebrio molitor* (Col.: Tenebrionidae; nach Delachambre, 1973 aus Peters 1999). **B-F.** Kutikulare Drüsenkanäle von Blattkäferlarven. **B.** *Arthrotus niger* (Galerucinae: Sermlylini; Gr. 2), **C.** *Gallerucida lewisi* (Gal.: Sermlylini; Gr. 1), **D.** *Gallerucella nymphaeae* (Gal.: Galerucini; Gr. 5), **E.** *Agelastica alni* (Gal.: Sermlylini; Gr. 3), **F.** *Phaedon cochleariae* (Chrysomelinae) R Reservoir der segmentalen Wehrdrüsen. Balken B-F: 10 µm.

den zu erhabenen Tuberkeln verwachsenen Skleriten DLa (anteriorer Dorsolateralsklerit) und DLp (posteriorer Dorsolateralsklerit). In jedes dieser Säckchen mündet der Kanal (Abb. 2.4: c) einer Drüseneinheit des Typs 3 nach Noirot & Quennedey (1974, 1991). Dieser Kanal ist kurz (20-30 µm) und weist keine spezifische Struktur eines Endapparates auf. Lediglich eine Einschnürung des Kanals im distalen Bereich kann als solche interpretiert werden, ist aber in den meisten Präparaten schlecht erhalten. Die Säckchen werden vermutlich durch steigenden Körperinnendruck ausgetrieben, so daß die Innenseite des Säckchens nach außen weist. Das

Drüsensekret sowie die durch einen bisher ungeklärten Mechanismus austretende Hämolymphe kann so freigesetzt werden. Die Säckchen werden aktiv durch Muskeln zurückgezogen. Die Ansatzstellen dieser Muskeln sind apikal und lateral an den Säckchen lokalisiert und als kutikulare Sehnen ausgeprägt. Kutikulare Fibrillen sind nicht vorhanden.

In Abb. 2.5 sind Details von kutikularen Kanälen larvaler Epidermaldrüsen von Vertretern folgender Taxa dargestellt: von den 3 Gruppen der ‚drüsentragenden Galerucinen‘ nach Takizawa (1972), von einer wehrdrüsenlosen Galerucinen-Art, *Galerucella nymphaeae*, die zur Tribus Galerucini zählt, und von einer mit segmentalen Drüsen bewehrten Art der Chrysomelinae, *Phaedon cochleariae*. Drüsenkanäle, die im Integument der Galerucine *G. nymphaeae* zu finden sind, haben einen gegabelten Endapparat mit einer Gesamtlänge des Drüsenkanals von 100 µm (Abb. 2.5 E). Larven der Chrysomeline *Phaedon cochlaeriae* haben an Meso- und Metathorax und an den Abdominalsegmenten 1-7 jeweils ein Paar ausstülpbarer kutikularer Säckchen, in die jeweils mehrere kutikulare Kanäle von Drüsenzellen münden. Die Kanäle haben einen kegelförmigen, im REM rauh wirkenden Endapparat (Abb. 2.5 D) und messen etwa 100 µm. Tab. 2.4 enthält eine Zusammenfassung der Ergebnisse.

2.5 Diskussion

Die hier vorliegende Arbeit zeigt, daß die untersuchten Sermylini-Arten verschiedene Typen von Wehröffnungen haben. Einzig bei den Vertretern von Gruppe 3 nach Takizawa (1972), *Agelastica* spp. und *Morphosphaera* spp., konnten Drüsenzellen in funktionellem Zusammenhang mit den bei der Abgabe von Wehrflüssigkeit beteiligten Öffnungen nachgewiesen werden, jedoch nicht bei den Larven der Gruppen 1 und 2. Somit kann die Bezeichnung Wehrdrüsen für die zunächst nur äußerlich beschriebenen, segmental paarweise angeordneten Strukturen nicht beibehalten werden. Sie werden hier daher neutral als Wehröffnungen bezeichnet.

Diese Ergebnisse ziehen die Frage nach sich, ob die larvalen Wehröffnungen wirklich als Apomorphie des Taxons Sermylini *sensu* Wilcox (1965) (entspr.: Gruppe 1 + 2 + 3 nach Takizawa 1972) verstanden werden können. Wegen ihrer Lage am Körper zwischen den Skleriten DLa und DLp und oberhalb der Stigmen können die Wehröffnungen als homologe Strukturen angesehen werden. Das gleiche gilt für die ausstülpbaren Wehrdrüsen der Chrysomelinae-Larven, die zwischen den verschmolzenen Skleriten DLa_e und DLp_e der Meso-, Metathorakal- und Abdominalsegmente lokalisiert sind (Cox 1982, Takizawa 1976). Ebenso

wie bei den drüsenbewehrten Chrysomelinae bilden die Sklerite DLa und DLp bei Gruppe 3 Galerucinae (*Agelastica* spp., *Morphosphaera* spp.) erhabene Tuberkel. Die Wehröffnungen der Arten von Gruppe 1 und 2 dagegen sind zwischen den flachen Skleriten lokalisiert.

Renner (1970) bemerkt, daß „von der Hypodermis gebildete Hautblasen, ausstülpbare und nicht ausstülpbare“ bei Arthropoden weit verbreitet sind und daher die Präsenz dieses Merkmals eher als plesiomorpher Zustand dieses Merkmals angesehen werden muß. In diesem Sinne kann für die verschiedenen Typen von Wehröffnungen der Galerucinae und für die Wehrdrüsen der Chrysomelinae angenommen werden, daß diese segmentalen Wehrstrukturen einen gemeinsamen Ursprung haben, also ein plesiomorphes Merkmal sind, das in unterschiedlicher Weise abgewandelt wurde. Unter der Annahme, daß als Vorläuferstrukturen einfache schlitzförmige Sollbruchstellen in der Kutikula vorhanden waren, würden diese bei den Galerucinen der Gruppe 1 und 2 den ursprünglichen Zustand repräsentieren, während die Säckchenbildung unter Einbeziehung einer exokrinen Drüsenzelle aus dem Dermaldrüsenarsenal bei Gruppe 3 eine Weiterentwicklung dieses Grundtyps darstellt. Da nach bisherigen Kenntnissen Larven der Galerucinae der Gruppen 4 und 5 (Luperini, Oidini und Galerucini) keine segmentalen Wehröffnungen im Larvenstadium haben, müßte in diesen Gruppen eine Reduktion dieses Merkmals stattgefunden haben. Bei den Chrysomelinae wäre dann die Hämolympfabgabe eingestellt worden und es hätte eine Verstärkung der exokrinen Drüsensekretproduktion durch Einbeziehung mehrerer Drüseneinheiten stattgefunden..

Dettner & Schwinger (1987) vermuten, daß die segmentalen Larvaldrüsen der Chrysomelinae, Tribus Chrysomelini, homologe Bildungen sind und als Apomorphie dieses Taxons anzusehen sind, die sie von der primär drüsenlosen Schwestergruppe Timarchini abgrenzt. In Folge dieser Annahme wären die segmentalen Wehröffnungen der Galerucinen der Gruppen 1, 2 und 3 unabhängig davon entstanden. Die mit segmentalen Wehröffnungen oder -drüsen ausgestatteten Larven der verschiedenen Taxa leben auf der Oberfläche ihrer Futterpflanzen und sind dort vielen kleinen Prädatoren wie z.B. Ameisen ausgesetzt. Die vergleichbare Lage am Körper wäre dann eine Folge ähnlicher Selektionsdrücke, z. B. durch Räuber. Sowohl die Abgabe von leicht flüchtigen exokrinen Drüsensekreten (Chrysomelinae) als auch von Hämolymphe hat sich im Labortest als effektive Abwehr gegen kleine Prädatoren erwiesen (Pasteels et al. 1988, Wallace & Blum 1971).

Aber auch innerhalb der Galerucinae kann die konvergente Entstehung der verschiedenen Wehrdrüsentypen postuliert werden. Gegen den gemeinsamen Ursprung der Wehröffnungs-

typen spricht die Ausbildung der Skleritenmuster am Abdomen der Larven: Diese sind bei Arten der Gruppen 1, 2 und 5 gleich und abweichend davon in Gruppe 3 ausgeprägt (vgl. Tab. 2.4). Ein weiteres Argument gegen einen gemeinsamen Ursprung der Wehröffnungen ist die Gestaltung der Drüsenkanäle, die im Intergument aller untersuchten Arten vorkommen und u.a. für Beschichtung der Kutikula mit kutikularen Wachsen zuständig sind. Die bifurkate Struktur (Abb. 2.2 B, Abb. 2.5 B, C) des Endapparates von Drüseneinheiten der Gruppen 1 und 2 nach Takizawa (1972) läßt sich auch in der zur Tribus Galerucini zugeordneten Art *Galerucella nymphaeae* (Abb. 2.5 D) nachweisen, nicht aber bei den der Gruppe 3 zugeordneten Arten (Abb. 2.5 E, Abb. 2.4 F und Tab. 2.4).

Einzig bei Larven der Gruppe 1 finden sich an den schmalen Seiten der Wehröffnungen Faserkegel (Abb. 2.1 B, C, Abb. 2.2 F), die als Anheftungsstellen für Muskeln dienen. Dies sind kutikulare Fibrillen, die als Fortsetzung muskulärer Mikrotubuli durch Epidermis und Endokutikula eine Verbindung zur Exokutikula schaffen und somit eine stabile Verankerung der Muskeln erzielen (Weber 1933, Korschelt 1938). Ungeklärt ist, wie die beschädigte Kutikula repariert wird. Die Faserkegel können als Hinweis auf einen aktiven Verschlussmechanismus verstanden werden. Bei den Vertretern der Gruppe 3 liegen die Risse in der Kutikula vermutlich zwischen den apikalen Muskelansatzstellen (Abb. 2.4: ma) und werden somit beim Zurückziehen des Säckchens ins Körperinnere verlegt.

Von Larven und Imagines vieler Arten der Galerucinae ist die kontrollierte Abgabe von Hämolymphe als Abwehrmechanismus beschrieben (Deroe & Pasteels 1982, Hollande 1911 zitiert in Jones 1977). Dieses Reflexbluten ist aber auch für Arten aus vielen anderen Insektenordnungen beschrieben worden und kann an verschiedenen Körperstellen auftreten, z. B. an den Tibiofemoralgelenken, an Antennenbasen, an Elytrenrändern, an der Mandibellbasis oder aus Intersegmentalmembranen. Die Austrittsstellen an anderen Stellen, meist an den Dorsolateralergiten, sind als Schlitze, Poren oder Einsenkungen der Kutikula ausgeprägt. Larven der Coccinellide *Exochomus quadripustulatus* (L.) besitzen segmental paarig am Abdomen angeordnete sog. *bleeding pores* (Kendall 1971). Blattwespen der Art *Athalia rosae* (L.) (Hymenoptera: Tenthredinidae) weisen in ihren Larvalstadien ausstülpbare Bläschen am letzten Abdominalsegment auf (pers. Mitteilung Jean-Luc Boevé, 2003). Weitere Blattwespenarten zeigen in ihren Larvalstadien einen als *easy bleeding* beschriebenen Modus der Hämolymphabgabe: Bei schon leichter Berührung kann an vielen, nicht auffallenden Körperstellen die Kutikula aufbrechen (Boevé & Schaffner 2003). Die Larven können die austretende Hämolymphe in die Körperhöhle zurückziehen und zeigen eine erstaunliche Resi-

stanz bei starkem Flüssigkeitsverlust. Die Heilung erfolgt innerhalb von Minuten. Über die genauen Vorgänge beim Wundverschluß ist auch hier bisher nichts bekannt.

Durch die Kenntnis segmentaler Wehröffnungen bei Arten anderer Käferfamilien (Coccinellidae) oder Ordnungen (Hymenoptera) können die verschiedenen Wehröffnungstypen leicht als Konvergenzen verstanden werden, die durch ähnliche Selektionsdrücke dieser Arten kanalisiert wurden.

2.6 Literatur

Baur, R. & Rank, N.E. (1996): Influence of host quality and natural enemies on the life history of the alder leaf beetles *Agelastica alni* and *Linnaeidea aenea*. In: Chrysomelidae Biology, Vol. 2: Ecological Studies. P.H.A. Jolivet & M.L. Cox (Hrsg.). SPB Academic Publishing, Amsterdam: 173-194.

Blum, M.S. (1994): Antipredator devices in larvae of the Chrysomelidae: a unified synthesis for defensive eclecticism. In: Novel aspects of the biology of Chrysomelidae. P. Jolivet, M.L. Cox & E. Petitpierre (Hrsg.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 277-288.

Blum, M.S., Brandt, J.M., Wallace, J.B. & Fales, H.F. (1972): Chemical characterisation of the defensive secretion of a chrysomelid larva. Life Sciences 11: 525-531.

Boevé, J.-L. & Schaffner, U. (2003): Why does the larval integument of some sawfly species disrupt so easily? The harmful hemolymph hypothesis. Oecologia 134: 104-111.

Böving, A.G. (1929): Beetle larvae of the subfamily Galerucinae. Proc. U.S. Nat. Museum 75: 1-43.

Bünnige, M. & Hilker, M. (1999): Larval exocrine glands in the galerucine *Agelastica alni* L. (Coleoptera: Chrysomelidae): their morphology and possible functions. Chemoecology 9: 55-62.

Cox, M.L. (1982): Larvae of the British genera of chrysomeline beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). Systematic Entomology 7: 297-310.

Crowson, R.A. & Crowson, E.A. (1996): The phylogenetic relations of Galerucinae and Alticinae. In: Chrysomelidae Biology, Vol. 1: The classification. P.H.A. Jolivet & M.L. Cox (Hrsg.). SPB Academic Publishing, Amsterdam. S. 97-118.

Dettner, K. & Schwinger, G. (1987): Chemical defense in the larvae of the leaf beetle *Gonioctena viminalis* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). Experientia 43: 458-460.

Garb, G. (1915): The eversible glands of a chrysomelid larva, *Melasoma lapponica*. J. Entomol. Zool. 7: 87-97.

- Hilker, M. & Schulz, S. (1994): Composition of larval secretion of *Chrysomela lapponica* (Coleoptera, Chrysomelidae) and its dependence on host plant. J. Chem. Ecol. 20: 1075-1093.
- Hinton, H.E. (1951): On a little-known protective device of some chrysomelid pupae (Coleoptera). Proc. Roy. Entomol. Soc. London, Ser. A 26: 67-73.
- Kendall, D.A. (1971): A note on reflex bleeding in the larvae of the beetle *Exochomus quadripustulatus* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). The Entomologist 104: 231-235.
- Korschelt E. (1938): Cuticularsehne und Bindegewebssehne. Eine vergleichend morphologisch-histologische Betrachtung. Z. wiss. Zool. 150: 494-526.
- Lee, J.E. (1993): Phylogenetic studies on the larvae of the Chrysomelidae (Coleoptera) from Japan. Japanese Journal of Entomology 61: 409-424.
- Matsuda, K. & Sugawara, F. (1980): Defensive secretion of chrysomelid larvae *Chrysomela vigintipunctata costella* (Marseul), *C. populi* L. and *Gastrolina depressa* Baly (Coleoptera: Chrysomelidae). Appl. Ent. Zool. 15: 316-320.
- Noirot, C. & Quenedey, A. (1974): Fine structure of insect epidermal glands. Ann. Rev. Entomol. 19: 61-81.
- Noirot, C. & Quenedey, A. (1991): Glands, gland cells, glandular units: some comments on terminology and classification. Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.) 27: 123-128.
- Nordell-Paavola, A., Nokkala, S., Koponen, S. & Nokkala, C. (1999): The utilization of chorion ultrastructure and chorion polypeptide analysis in recognizing taxonomic units in northern Europe Galerucini (Col., Chrysomelidae). In: Advances in Chrysomelidae biology 1. M.L.Cox (Hrsg.). Backhuys Publishers, Leiden: 95-104.
- Pasteels, J.M., Braekman, J.-C. & Daloz, D. (1988): Chemical defense in the Chrysomelidae. In: Biology of Chrysomelidae. P. Jolivet, E. Petitpierre & T.H. Hsiao (Hrsg.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht: 233-252.
- Paterson, N.F. (1931): Studies on the Chrysomelidae. Part II. The bionomics and comparative morphology of the early stages of certain Chrysomelidae (Coleoptera, Phytophaga). Proc. Zool. Soc. London 3: 879-949.
- Peters, W. (1999): Integument. In: Lehrbuch der Entomologie. K. Dettner & W. Peters (Hrsg.). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart: 1-52.
- Reid, C.A.M. (1995): A cladistic analysis of subfamilial relationships in the Chrysomelidae sensu lato (Chrysomeloidea). In: Biology, phylogeny, and classification of Coleoptera. J. Pakaluk & S.A. Slipinski (Hrsg.). Muzeum i Instytut Zoologii PAN, Warszawa: 559-631.

Renner, K. (1970): Über die ausstülpbaren Hautblasen der Larven von *Gastroidea viridula* DEGEER und ihre ökologische Bedeutung. Beitr. Entomol. 20: 527-533.

Romeis, B. (1968): Mikroskopische Technik. 16. Auflage. R. Oldenbourg Verlag, München.

Schmitt, M. (1996): The phylogenetic system of the Chrysomelidae. History of ideas and present state of knowledge. In: Chrysomelidae biology, Vol. 1: The classification, phylogeny, and genetics. P.H.A. Jolivet & M.L. Cox (Hrsg.). SPB Academic Publishing, Amsterdam: 75-96.

Seeno, T.N. & Wilcox, J.A. (1982): Leaf beetle genera (Coleoptera: Chrysomelidae). Entomography 1: 1-221.

Steinhausen, W.R. (1998): Comparative morphology of pupae of the leaf beetle subfamilies Chrysomelinae and Galerucinae. Mus. Reg. Sci. Nat. Torino 1998: 311-318.

Takizawa, H. (1972): Descriptions of larvae of glanduliferous group of Galerucinae in Japan, with notes on subdivisions of the subfamily (Coleoptera: Chrysomelidae). Insecta Matsumurana, Supplement 10: 1-14.

Takizawa, H. (1976): Larvae of the genus *Gonioctena* Chevrolat (Coleoptera, Chrysomelidae). Description of Japanese species and the implications of larval characters for the phylogeny. Kontyu 44: 444-468.

Tischler, W. (1977): Kontinuität des Biosystems Erle (*Alnus*) – Erlenblattkäfer (*Agelastica alni*). Z. angew. Zool. 6: 69-92.

Wallace, J.B. & Blum, M.S. (1969): Refined defensive mechanisms in *Chrysomela scripta*. Ann. Entomol. Soc. Am. 62: 503-506.

Wallace, B.S. & Blum, M.S. (1971): Reflex bleeding. A highly refined defensive mechanism in *Diabrotica* larvae (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 64: 1021-1027.

Weber H. (1933): Lehrbuch der Entomologie. Fischer, Jena.

Wilcox, J.A. (1965): A synopsis of the North American Galerucinae (Coleoptera: Chrysomelidae). Bull. N.Y. Stat. Mus. Sci. Serv. 400: 1-226.

Zucht, G. (1934): Zur Biologie von *Agelastica alni* (L.) . Dt. Ent. Z. 3 /4: 146-218...

