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

Herausgeber: Schweizerische Entomologische Gesellschaft

Band: 60 (1987)

Heft: 3-4

Artikel: Pulsschlag, Haemozytenzahlen und Gehalt an Ionen, freien Aminosäuren und Protein im Blut der letzten Larvenstadien von Adoxophyes orana F.v.R. und Cydia pomonella (L.) (Lep., Tortricidae)

Autor: Benz, G. / Barmettler, K. / Bührer, T.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-402269

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 16.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

MITTEILUNGEN DER SCHWEIZERISCHEN ENTOMOLOGISCHEN GESELLSCHAFT
BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ ENTOMOLOGIQUE SUISSE
60, 215–225, 1987

Pulsschlag, Haemozytenzahlen und Gehalt an Ionen, freien Aminosäuren und Protein im Blut der letzten Larvenstadien von *Adoxophyes orana* F. v. R. und *Cydia pomonella* (L.) (Lep., Tortricidae)

G. BENZ[1], K. BARMETTLER[2], TH. BÜHRER[3] & P. BORNER[4]

[1] Entomologisches Institut, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich
[2] Laboratorium für Bodenkunde, Institut für Lebensmittelwissenschaften, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich
[3] Laboratorium für Organische Chemie, ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich
[4] Zoologisches Institut der Universität, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

Pulse frequency, haemocyte counts and contents of ions, free amino acids, and protein in the blood of the last instar larvae of Adoxophyes orana F. v. R. and Cydia pomonella (L.) (Lep., Tortricidae)—The frequency of the heart beat (Tab. 1) and the blood composition of one representative each of the subfamily Tortricinae *(A. orana)* and Olethreutinae (*C. pomonella)* have been studied. The haemolymph of *A. orana* is blue-green and contains 13,420 haemocytes per μl, whereas the blood of *C. pomonella* is light-yellow and contains almost twice as many haemocytes. The haemolymphs of both species have very high contents of dry matter (17% dry wt./fresh wt.) and protein (respectively 17.9% and 16.8% w/v of plasma) as well as high concentrations of the amino acid serine. When grown on semi-synthetic diets, both species have similar concentrations of Na^+, K^+, Ca^{++}, and Mg^{++}, but different concentrations of chlorine in their haemolymph (Tab. 4), the Na^+ concentrations being higher than in most lepidopterous species studied so far. It is interesting to note that in *A. orana* the concentration of K^+ in the larval blood is only half as high when the insects are grown on a semi-synthetic diet instead of living plants.

EINLEITUNG

Blut (Haemolymphe) ist ein Gewebe, denn es enthält Zellen, die sogenannten Haemozyten. Volumenmässig stellen diese aber nur einen kleinen Teil des Blutes dar. Dessen Hauptphase ist die Blutflüssigkeit, das sogenannte Plasma. Im offenen Kreislaufsystem der Insekten umspült das Blut alle Organe. Wenn solche für besondere Untersuchungen ausserhalb des Insektenkörpers *(in vitro)* lebend erhalten oder Operationen am Organismus durchgeführt werden müssen, sollten die Organe von einer Flüssigkeit umgeben sein, die zumindest ionenmässig mit der Haemolymphe übereinstimmt. Im Verlaufe von Untersuchungen über die Spermatogenese im letzten Larvenstadium von *Cydia pomonella* (L.) zeigte es sich, dass es schwierig ist, eine an Tortriciden angepasste physiologische Lösung herzustellen, da Angaben über die Zusammensetzung von Tortriciden-Blut in der Literatur bisher fehlten. Um diesem Übelstand abzuhelfen, wurde das Blut von letzten Larvenstadien der beiden am Entomologischen Institut der ETH in Dauerzucht vorhandenen Wickler-Arten untersucht. Es handelt sich um die zwei Obstschädlinge *Adoxophyes orana* F. v. R. (Schalenwickler, zur Unterfamilie Tortricinae gehörend) und *C. pomonella* (Apfelwickler, Unterfam. Olethreutinae). Da die Raupen bei der normalen Dauerzucht auf semisynthetischen

Nährmedien gezüchtet werden, interessierte auch ein Vergleich mit Raupen, die sich auf lebenden grünen Pflanzen entwickeln. Grüne Pflanzen enthalten relativ viel K^+ und wenig Na^+ (s. FLORKIN & JEUNIAUX, 1974). Deshalb wurden die Ionen Na^+, K^+ und Cl^- auch im Blut von *A. orana*-Larven untersucht, die auf lebenden Ackerbohnen (*Vicia faba* L.) gezüchtet wurden.

MATERIAL UND METHODEN

Tiermaterial

Die Larven des Apfelwicklers wurden nach der Methode von HUBER *et al.* (1972) einzeln in kleinen Plastikdöschen (23 × 23 × 20 mm) auf semisynthetischem Medium gezüchtet. Auch die Larven von *A. orana* wurden entweder in solchen Döschen auf einem semisynthetischen Medium nach DE JONG (1968) (leicht modifiziert: 10% weniger Wasser und 20% mehr Agar) gezüchtet oder – in den unten besonders vermerkten Fällen – auf in Töpfen angezogenen ca. 30 cm hohen Ackerbohnen. Alle Angaben ohne Vermerk beziehen sich auf Blut von Larven, die auf semisynthetischem Medium gezüchtet wurden.

Pulsfrequenz

Zur Bestimmung der Pulsfrequenz wurde der Herzschlag auf dem Rücken des hinteren Abdomenteils unter dem Binokular beobachtet, gezählt und mit der Stoppuhr die Zeit bestimmt.

Blutgewinnung

Zur Blutgewinnung wurden Larven im letzten Stadium in einer zeitlichen Sequenz mit einer Pinzettenschere mehrere Abdominalfüsse abgeschnitten und das austretende Blut fortlaufend in eine Kapillarpipette aufgesaugt. Blut von jeweils 20–30 Raupen der gleichen Art wurde in einem gewogenen, heparinisierten kleinen Eppendorf-Zentrifugierröhrchen gesammelt und das Röhrchen wieder gewogen. Das Blutgewicht ergab sich aus der Differenz Vollgewicht minus Leergewicht.

Farbe und Haemozytenzahl

Die Farbe der Haemolymphe wurde von Auge an frischen Blutproben in Kapillarpipetten beobachtet. Grössere Proben in Zentrifugierröhrchen wurden zur Verhinderung von Melaninbildung rasch auf 80 °C erhitzt, zentrifugiert und dann beobachtet. Desgleichen wurde bei Blutproben, die mit Methanol versetzt wurden (80% s. unten), auf die Farbe geachtet.

Die Zahl der freien Haemozyten wurde nach den Methoden von TAUBER & YEAGER (1934) sowie DUNPHY & NOLAN (1980) bestimmt. Bei der ersten Methode wurden dazu zweimal je drei Raupen von *A. orana* und C. pomonella während 2 Min. in 55 °C warmem Wasser abgetötet und zugleich ihr Blut fixiert (der art in vivo erwärmtes Blut gerinnt nicht mehr, und die Haemozyten behalten die Form, in der sie zirkulieren). Die Anzahl Haemozyten wurde in frisch den Raupen entnommenen Bluttröpfchen in einer Thoma-Blutzählkammer nach Türck bestimmt, wobei das Blut mit der physiologischen Farblösung von TAUBER & YEAGER 1 : 110 verdünnt wurde. Die Haemozyten färben sich dabei violett. Von *A. orana* wurden zwei Mischproben aus Blut von je drei Raupen ausgezählt, wäh

rend von *C. pomonella* sechs individuelle Blutproben ausgewertet wurden. – Bei der zweiten Methode wurden je vier Larven während 30–40 Min. bei 4 °C inaktiviert und ihnen dann Blut durch einen Schnitt in der Mitte des Rückens entnommen. Die ungefärbten Blutzellen wurden unter dem Phasenkontrastmikroskop ausgezählt.

Trockengewichtsbestimmung

Zum Trocknen wurden gewogene Blutproben in gewogenen Röhrchen während 20 h über Silicagel bei 60 °C und anschliessend 1 h bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet. Nach dem Abkühlen wurden die trockenen Röhrchen wieder gewogen.

Plasmagehaltsbestimmung

Zur Bestimmung des Plasmagehaltes wurde ein Gesamtblut-Aliquot in einem gewogenen Zentrifugierröhrchen während 30 Min. bei 2000 × g zentrifugiert. Dann wurde der Überstand (Plasma) in ein anderes gewogenes Röhrchen pipettiert. Sowohl das Sediment aus Haemozyten als auch das Plasma wurden im Trockenschrank getrocknet (s. oben) und nach dem Abkühlen gewogen.

Proteingehaltsbestimmung

Zu einem bestimmten Plasmavolumen wurde ein vierfaches Volumen 100prozentiges Methanol zugegeben, das ausgefällte Protein abzentrifugiert (s. oben) und der Überstand in ein anderes Röhrchen pipettiert. Darauf wurde das Sediment mit 80prozentigem Methanol aufgerührt, erneut zentrifugiert, der Überstand wiederum abpipettiert und mit dem ersten Überstand vereinigt. (Die vereinigten Überstände wurden zur Bestimmung der Aminosäurengehalte verwendet.) Das verbleibende Sediment wurde getrocknet und anschliessend gewogen. Das trockene Sediment wurde mittels einer geringen Menge 0,4 M NaOH in 0,95prozentiger NaCl-Lösung gelöst und der Proteingehalt nach BIURET kolorimetrisch (Absorption bei 546 nm) bestimmt.

Aminosäurengehaltsbestimmung

Die Aminosäurenanalysen wurden am Zoologischen Institut der Universität Zürich (Abteilung Prof. Dr. P. S. CHEN) durchgeführt. Zur Bestimmung der Aminosäurengehalte wurden bestimmten Blutvolumina entsprechende Mengen des methanolischen Überstands (s. oben) eingetrocknet und der Rückstand mit aliquoten Volumina bidest. Wasser aufgenommen. Die Aminosäuren wurden nach der Methode von CHEN (1977) in einem Beckman/Spinco Amino Acid Analyzer «Multichrom B» analysiert, die Extinktionskurven mit dem Planimeter ausgemessen und die Konzentrationen anhand von Eichtabellen bestimmt. Von *C. pomonella* wurden 4, von *A. orana* 2 Analysen gemacht.

Bestimmung von Na, K, Ca und Mg mittels Atomabsorptions-Spektrometrie

Die atomabsorptionsspektrometrischen Bestimmungen von Na, K, Ca und Mg wurden am Laboratorium für Bodenkunde der ETHZ (Prof. Dr. H. STICHER) durchgeführt. Für die Bestimmungen stand ein computergesteuertes Varian-Spectra-AA-40-Atomabsorptionsspektrometer zur Verfügung. Die verwendeten

Blutproben wurden verschieden vorbehandelt und 1000- bis 5000fach verdünnt:
- Vollblut
- mit Haemozyten angereichertes Blut
- reines Plasma
- 80prozentiger Methanolextrakt wie zur Aminosäurenanalyse.

Bestimmung von Na^+, K^+ und Cl^- mittels ionenselektiver Mikroelektroden

Die Bestimmungen mit ionenselektiven Mikroelektroden wurden am Laboratorium für Organische Chemie der ETHZ (Abteilung Prof. Dr. W. SIMON) an zwei- bis dreifach verdünnten Vollblutproben durchgeführt. Für die Bestimmung von Na^+ wurden Mikroelektroden mit dem Ionophor N,N,N',N'-tetracyclohexyl-1,2-phenylen-dioxydiacetamid verwendet (MARUIZUMI *et al.*, 1986). Die K^+-selektiven Elektroden basierten auf dem Ionophor Valinomycin (AMMANN *et al.*, 1987). Für die Bestimmung von Cl^- wurden Mikroelektroden mit dem käuflichen Ionentauscher «Corning 477913» hergestellt (BAUMGARTEN, 1981).

RESULTATE

Blutvolumen und Pulsfrequenz

Larven von *A. orana* enthalten weniger Blut bezogen auf das Körpergewicht bzw. -volumen als Larven von *C. pomonella*. Die Blutvolumina sind zwar nicht bestimmt worden, doch ergibt sich der erwähnte Schluss aus dem Umstand, dass es viel schwieriger ist, Blut von *A. orana*-Larven zu gewinnen als von gleich grossen *C. pomonella*-Larven. Die gemessenen Pulsfrequenzen verschiedener Larvenstadien sind in der Tab. 1 zusammengestellt.

Tab. 1. Pulsrate (Herzkontraktionen pro Min.) verschiedener Larvenstadien von *Adoxophyes orana* und *Cydia pomonella* bei 21 °C.

	L_1	L_2	L_3	L_4	L_5
A. orana	-	-	62	50	42
C. pomonella	100	94	86	73	54

Gesamtblut: Farbe, Haemozytenzahl und Trockengewicht

Das Blut von *C. pomonella* ist gelb, dasjenige von *A. orana* blaugrün. Das Haemozytensediment ist bei beiden Arten farblos. Durch Wärmebehandlung werden die Chromoproteine gefällt; im Überstand der zentrifugierten wärmebehandelten Blutproben ist keine Farbe mehr zu finden – sie befindet sich im Sediment. Auch durch 80prozentiges Methanol wird das gelbe Chromoprotein beider Arten gefällt. Hingegen weist der Überstand von methanolisiertem und zentrifugiertem Blut von *A. orana* eine blaue Farbe auf. Da durch das Methanol alle Haemolymphproteine gefällt werden (s. unten), hat Methanol offenbar die Eigen-

Tab. 2. Konzentration der freien Aminosäuren im Blut letzter Larvenstadien von *Adoxophyes orana* (Tortricinae) und *Cydia pomonella* (Olethreutinae) in mM/Liter. Die Reihenfolge entspricht der Elutionsfolge. + = Spuren; – = nicht gefunden.

	A. orana	C. pomonella
Phosphoethanolamin	1.9	2.0
Taurin	-	-
Threonin	2.2	7.1
Serin	39.0	23.3
Asparaginsäure	-	-
Glutaminsäure	0.4	0.9
Prolin	10.0	12.1
Glutamin	-	-
Glycin	12.9	13.6
α-Alanin	2.5	7.2
Valin	2.1	3.9
Cystin/Cystein	0.5	-
Methionin	0.5	-
Isoleucin	1.2	1.9
Leucin	1.8	3.6
Tyrosin	1.9	0.4
Thryptophan	-	-
Phenylalanin	1.4	1.3
γ-Aminobuttersäure	+	+
Ornithin	0.5	1.1
Lysin	10.0	12.8
Histidin	9.6	10.0
Arginin	2.5	3.5
Ammoniak	0.5	1.7
Total	101.4	106.4

schaft, den blauen Chromophor von seinem Trägerprotein abzulösen. Die Versuche zeigen, dass die grüne Farbe der *A. orana*-Haemolymphe durch die Kombination eines gelben und eines blauen Chromophors entsteht.

Die Methode von TAUBER & YEAGER (1934) ergab mittlere Werte für die freien Haemozyten von 13 420 pro mm³ für *A. orana* und 24 453 pro mm³ für *C. pomonella*. Die individuellen Werte bei letzterer reichten von 20 000 bis 30 000 Zellen/mm³. Die Werte nach der Methode von DUNPHY & NOLAN (1980) waren ähnlich gross, im Durchschnitt aber etwas kleiner: 11 880/mm³ für *A. orana* und 21 800/mm³ für *C. pomonella*. Das Trockengewicht (TG) der Haemozyten betrug 1,9% bzw. 2,5% vom TG des Gesamtblutes.

Das TG des Blutes (bezogen auf das Frischgewicht) betrug für *A. orana* 17,9% und für *C. pomonella* 17,7%.

Plasmagehalt

Den oben erwähnten Anteilen für die Haemozyten entsprechend ergaben sich als Plasmaanteil für *A. orana* 98,1% des TG des Gesamtblutes und für *C. pomonella* 97,5%. Das TG des Plasmas ergab 17,4% resp. 17,0% für die beiden Arten (also ähnlich wie für das Gesamtblut).

Proteingehalt

Der durch 80prozentiges Methanol ausgefällte TG-Anteil betrug bei *A. orana* 17,4% und bei *C. pomonella* 17,9%. Die Bestimmung der Proteingehalte ergab 17,89% (Gew./Vol.) für *A. orana* und 16,81% für *C. pomonella.*

Aminosäurengehalt

Tab. 2 gibt eine Zusammenstellung der freien Aminosäuren und ihrer Konzentrationen im Larvenblut der beiden Wickler-Arten. Die Gesamt-Aminosäurenkonzentration ist bei beiden Arten sehr hoch. Bezüglich des Aminosäuren-Spektrums zeigen die beiden Arten jedoch Unterschiede. Relativ hoch im Vergleich sowohl mit anderen Lepidopteren als auch mit anderen Insektenordnungen ist bei beiden Arten die Histidin- und ganz besonders die Serinkonzentration, welche bei *A. orana* auffällig hohe Werte erreicht. *A. orana* hat auch mehr Tyrosin, Methionin und Cystin, wobei die beiden letztgenannten Aminosäuren im Blut von *A. orana* nur schwach vertreten, bei *C. pomonella* jedoch nicht einmal nachweisbar sind. Letztere hat dagegen deutlich höhere Threonin-, Glutaminsäure-, Alanin-, Valin-, Leucin- und Ornithin-Konzentrationen.

Atomabsorptions-Spektrometrie des Na-, K-, Ca- und Mg-Gehaltes

Die Vorversuche mit Vollblut, mit Haemozyten angereichertem Blut und reinem Plasma von *A. orana* ergaben für die vier Elemente identische Werte. Hingegen zeigte der 80prozentige Methanolextrakt stark reduzierte Konzentrationen (Tab. 3). Offensichtlich fällt das Methanol mit den Proteinen auch grosse Mengen von Na^{+}-, Ca^{++}- und Mg^{++}-Ionen aus, jedoch nur wenig K^{+}-Ionen.

Tab. 3. Konzentration von Na, K, Ca und Mg in ppm im Gesamtblut bzw. Methanolextrakt (80%; berechnet auf Gesamtblutvolumen) von *Adoxophyes orana* und *Cydia pomonella* sowie prozentualer Verlust im Methanolextrakt.

	Na	K	Ca	Mg
A. orana: Blut	1240	860	920	365
" : Methanolextrakt	120	575	120	105
Verlust	*90%*	*33%*	*87%*	*71%*
C. pomonella: Blut	1100	1090	800	510
" : Methanolext.	140	795	105	125
Verlust	*87%*	*27%*	*87%*	*75%*

Aus diesem Grunde wurde für die weiteren Untersuchungen Vollblut verwendet. Die Ergebnisse von auf lebenden Pflanzen ernährten Raupen von *A. orana* und auf semisynthetischen Medien gezüchteten Raupen von *A. orana* und *C. pomonella* sind in Tab. 4 (oben) zusammengefasst. Bezüglich der Na^{+}-, Ca^{++}- und Mg^{++}-Konzentrationen des Blutes bestehen keine grösseren Unterschiede zwischen auf Pflanzen bzw. semisynthetischem Medium gezüchteten Raupen von

A. orana. Hingegen weisen die auf Pflanzen gezüchteten Larven eine doppelt so hohe K^+-Konzentration auf.

Die Unterschiede in den Konzentrationen der vier Elemente im Blut der beiden auf semisynthetischem Medium gezüchteten Arten sind gering: *C. pomonella* weist etwas höhere K^+- und Mg^{++}-Werte auf.

Tab. 4. Konzentrationen von Na, K, Ca, Mg und Cl in mM/Liter Haemolymphe von auf lebenden Pflanzen bzw. semisynthetischem Nährmedium gezüchteten Larven (L_5) von *Adoxophyes orana* (Tortricinae) und auf semisynthetischem Nährmedium gezüchteten L_5 von *Cydia pomonella* (Olethreutinae), gemessen mittels Atomabsorptionsspektroskopie (oben) bzw. ionenselektiven Mikroelektroden (Mittelfeld). Im unteren Feld sind Durchschnittswerte nach anderen Quellen für 22 bzw. 20 Lepidopterenarten aus anderen Familien aufgeführt.

	Na	K	Ca	Mg	Cl
Atomabsorptionsspektrometrie					
Adoxophyes orana (Pflanze)	54	52	23	12	
" " (Medium)	48	22	22	15	
Cydia pomonella (Medium)	47	28	19	21	
Ionenselektive Mikroelektroden					
Adoxophyes orana (Pflanze)	66	49			89
" " (Medium)	68	23			78
Cydia pomonella (Medium)	63	30			39
Durchschnitt von 22 Lep.*	15	39	29	66	
" " 20 " **	11	41	13	61	42
" Pflanzen ***	17	117	172	61	

* Florkin & Jeuniaux (1974) ** Woodring (1985)
*** in mEq nach Florkin & Jeuniaux (1974)

Aktive Na^+-, K^+- und Cl^--Ionen

Die Messungen der drei aktiven Ionen mittels ionenselektiver Mikroelektroden sind in Tab. 4 (Mitte) eingetragen. Die gefundenen Na^+- und K^+-Werte sind den durch Atomabsorptions-Spektrometrie ermittelten Werten sehr ähnlich. Neu sind die Werte für Cl^-. Bezüglich dieses Anions zeigt sich ein sehr grosser Unterschied zwischen den beiden Arten; das Blut von *A. orana* weist einen rund doppelt so hohen Cl^--Gehalt auf wie jenes von *C. pomonella*. Andere Anionen wie Phosphat, Bicarbonat und Urat wurden nicht bestimmt.

DISKUSSION

Pulsraten

Tab. 1 zeigt, dass jüngere Larven eine höhere Herzschlagfrequenz aufweisen als ältere. Die Pulsrate ist jedoch nicht absolut mit der Körpergrösse oder

dem Körpergewicht korreliert, sondern von der Spezies abhängig. In den verhältnismässig kleineren und leichteren L_3, L_4 und L_5 von *A. orana* ist die Pulsrate z. B. geringer als in den entsprechenden Stadien von *C. pomonella.*

Haemozyten

Die Haemozytenwerte in den letzten Larvenstadien von *A. orana* und *C. pomonella* liegen innerhalb des Bereiches, den DUNPHY & NOLAN (1980) bei der Tortricine *Choristoneura fumiferana* CLEM. im 6. Larvenstadium bestimmten; sie fanden 11 600 Zellen/mm³ in weiblichen und 25 200 Zellen/mm³ in männlichen Larven. Bei unseren Bestimmungen haben wir allerdings nicht auf das Geschlecht der Raupen geschaut.

Die Haemozytenwerte von *A. orana* und *C. pomonella* liegen auch im allgemeinen Bereich für Lepidopterenlarven, für die WOODRING (1985) Zahlen von 8200/mm³ bei der Sphingide *Manduca sexta* (L.) und 35 000/mm³ bei der Pyralide *Galleria mellonella* (L.) aufführt.

Der Gewichtsanteil der Haemozyten am Gesamtblut ist bei beiden Tortriciden-Arten gering (ca. 2%).

Plasma

Das Plasma der beiden Tortriciden-Arten macht den grossen Hauptteil des Blutes aus. Abgesehen von einem hohen Trockengewicht von rund 18% und einem hohen Proteingehalt von 17,9% resp. 16,8% (Gew./Vol.), weist es keine ausserordentlichen Eigenschaften auf. VAN DER GEEST & CRAIG (1967) berichten z. B. von 7,0–8,2% Plasma-Trockengewicht bei der Noctuide *Peridroma saucia* (HB.), d. h. von halb so hohen Werten. Der Proteingehalt ist ebenfalls ausserordentlich hoch, obwohl auch dazu nur Vergleichsdaten von Noctuiden zur Verfügung stehen. Die Proteinkonzentrationen sind zudem nicht konstant, sondern nehmen im Verlaufe der Entwicklung zu. Dies gilt auch noch im letzten Larvenstadium. So fanden MARTIGNONI & MILSTEAD (1964) und VAN DER GEEST & CRAIG (1967) in 1–6 Tage alten L_6 von *P. saucia* Proteinwerte von 4,9–6,3% bzw. 2,0–4,7%, ferner SHAPIRO & IGNOFFO (1971) 3,8–10,3% bei *Heliothis zea* (BOD.) und YOUNG & LOWELL (1971) 2,7–7,6% bei *Trichoplusia ni* (HB.). Offensichtlich zu niedrig ist die allgemeine Angabe von 2% Proteingehalt für Lepidopteren von FLORKIN & JEUNIAUX (1974).

An einen Teil der Proteine, die sogenannten Chromoproteine, sind gelbe *(C. pomonella)* bez. sowohl gelbe wie blaue *(A. orana)* Chromophoren gebunden. Diese Chromoproteine werden sowohl durch Hitze als auch durch 80prozentiges Methanol ausgefällt und lassen sich abzentrifugieren. Durch Methanol werden jedoch nur die gelben Chromoproteine der beiden Arten samt dem Chromophor (wahrscheinlich ein Carotinoid) ausgefällt, während der blaue Chromophor im Blut von *A. orana* offenbar vom Trägerprotein abgelöst wird und in Lösung bleibt. Der methanolische Überstand von *A. orana*-Blut ist deshalb rein blau. Vermutlich handelt es sich bei *A. orana* wie bei den grünblütigen *Choristoneura*-Arten, um einen Gallenfarbstoff vom Bilitrien-Typ (SCHMIDT & YOUNG, 1971).

Aber auch in einigen anderen Eigenschaften unterscheidet sich das Blut der untersuchten Tortriciden von demjenigen der meisten Lepidopteren aus anderen Familien. Zwischen den beiden Arten (Unterfamilien?) zeigen sich ebenfalls gewisse Unterschiede.

Der Aminosäurengehalt des Tortricidenplasmas ist recht hoch, höher als beim Weidenbohrer (*Cossus cossus* L.), jedoch nicht höher als etwa bei der Hesperide *Calpodes* sp. (WOODRING, 1985) oder dem Seidenspinner *Bombyx mori* L. (FUKUDA *et al.*, 1955a). Bezüglich des Spektrums der Aminosäuren kann aus einer Momentanaufnahme vermutlich nur wenig Essentielles herausgelesen werden, da die Konzentrationen der verschiedenen Aminosäuren im Verlaufe der Entwicklung sehr stark ändern können (FUKUDA *et al.*, 1955a). Wie bereits bei der Besprechung der Resultate erwähnt wurde, ist für beide Tortriciden-Arten der relativ hohe Gehalt an Serin auffällig. Dazu ist allerdings zu sagen, dass bei 7 von 8 auf freie Aminosäuren der Haemolymphe untersuchten Lepidopterenlarven das Serin nicht bestimmt wurde (s. GILMOUR, 1961) und deshalb nicht bekannt ist, ob nicht weitere Lepidopterenarten ebenfalls hohe Serinkonzentrationen im Blut enthalten. Da Sericin zu einem Drittel aus Serin besteht und auch das Seiden-Fibroin fast ausschliesslich aus Glycin, Alanin, Serin und Tyrosin besteht (FUKUDA *et al.*, 1955b; nach HEPBURN, 1985, Threonin statt Tyrosin!), könnte man sich vorstellen, dass der hohe Seringehalt mit der hohen Spinntätigkeit der Tortriciden-Larven gekoppelt ist. Nach den Untersuchungen von FUKUDA *et al.* (1955b) an normalen Seidenraupen und solchen, denen die Seidendrüsen extirpiert worden waren, bewirkt letzteres eine Anreicherung von Glycin (20×), Threonin (9×), Prolin (6×), Serin (3×) und Tyrosin (2×) in der Haemolymphe. Desgleichen führt der Beginn der Seidenbiosynthese im Blut der 6tägigen normalen L_5 gegenüber der 3tägigen L_5 zu einer Erhöhung der Serinkonzentration.

Der Gehalt an Na^+, K^+, Ca^{++} und Mg^{++} des Tortricidenblutes beruht offensichtlich auf einem entsprechenden Gehalt an freien Ionen, denn sonst müssten die atomabsorptionsspektrometrisch ermittelten Werte grösser sein als die mit ionenselektiven Mikroelektroden ermittelten Werte (Tab. 4). Mit dem Atomabsorptionsspektrometer wird nämlich der Gesamtgehalt eines bestimmten Elementes bestimmt, unabhängig davon, ob es in der Form freier Ionen oder gebunden vorliegt. Dagegen werden mit den Mikroelektroden nur aktive (freie) Ionen gemessen.

Auffällig ist der hohe Gehalt an Na^+ im Vergleich mit den höheren Lepidopteren. Von den bisher untersuchten Lepidopteren weisen einzig die Pyraliden relativ hohe Na^+-Werte im Blut auf, z. B. 40 mM/Liter bei *Nymphula nymphaeata* (SUTCLIFFE, 1962) und 32,6 resp. 26,5 mM/Liter bei *Ephestia kuehniella* resp. *Galleria mellonella* (DUCHÂTEAU *et al.* 1953). Wie Tab. 4 (unten) zeigt, ist der mittlere Na^+-Gehalt von Lepidopterenblut bedeutend geringer als bei unseren Tortriciden-Arten. Deren hohe Na^+-Werte können als primitives Merkmal aufgefasst werden, erinnern sie doch an Werte, wie sie unter den phytophagen Holometabola nur bei Käfern und Trichoptera (sofern letztere als Phytophage bezeichnet werden dürfen) und ausserdem bei den Hemimetabola festgestellt wurden. Zweifelsohne müssen die Tortricidenlarven Na^+ akkumulieren, denn ihre Pflanzennahrung enthält durchschnittlich nur 17 mEg/kg Na (s. FLORKIN & JEUNIAUX, 1974).

Nach den letztgenannten Autoren zeichnen sich Lepidopteren und andere phytophage Insekten dadurch aus, dass sie Na^+ und Mg^{++} aus der Nahrung akkumulieren und K^+ und Ca^{++} eliminieren. Für die untersuchten Tortriciden-Larven trifft dies zwar weitgehend zu, nicht aber bezüglich der Akkumulation von Mg^{++} (vgl. Blutwerte oben mit Pflanzenwerten zuunterst in Tab. 4).

Interessant ist der grosse Unterschied im K^+-Gehalt von auf Pflanzen und auf semisynthetischem Nährmedium gezüchteten *A. orana*-Raupen. Während für

die auf Pflanzen gezüchteten Tiere nur wenig höhere K^+-Werte als für andere Lepidopteren gefunden wurden, müssen die im Blut von auf semisynthetischen Nährmedien gezüchteten Raupen gefundenen K^+-Werte als extrem niedrig betrachtet werden. Da beide Gruppen Geschwister waren, kann der Unterschied nicht auf genetischer Variabilität der Gruppen beruhen, sondern einzig durch die unterschiedliche Ernährung bedingt sein. Dies ist ein ganz neuer Befund. Er könnte einerseits bedeuten, dass die Tortriciden-Raupen grundsätzlich K^+ eliminieren, unabhängig davon, ob sie mit der Nahrung zu hohe (Pflanze) oder nur genügend hohe K-Mengen (semisynthetisches Nährmedium) aufnehmen. Da beide Gruppen sich normal (bis zum Adultstadium) entwickelten, zeigt das Beispiel anderseits, wie wenig exakt diesbezüglich die Homöostasis der Tortriciden geregelt ist und wie unempfindlich ein solcher Organismus für Abweichungen im inneren Milieu ist. In die gleiche Richtung deutet auch der grosse Unterschied im Cl^--Gehalt der beiden Tortriciden. Vielleicht hat die grosse Plastizität dieser Arten etwas mit ihrer Polyphagie zu tun.

VERDANKUNG

Wir sind den Herren Proff. P. S. Chen vom Zoologischen Institut der Universität, W. Simon vom Laboratorium für Organische Chemie der ETHZ und H. Sticher vom Laboratorium für Bodenkunde der ETHZ in Zürich dankbar für die Erlaubnis, einen Teil der Untersuchungen in ihren Laboratorien durchzuführen.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Blut von letzten Larvenstadien des Schalenwicklers *Adoxophyes orana* F. v. R. (Tortricinae) und des Apfelwicklers *Cydia pomonella* (L.) (Olethreutinae) wurde untersucht. Jenes von *A. orana* ist blaugrün und enthält je mm^3 13'420 Haemozyten, jenes von *C. pomonella* ist hellgelb und enthält fast doppelt so viele Haemozyten. Das Blut beider Arten hat einen sehr hohen Trockengewichts (17%), Plasma- (98%) und Proteinanteil (17% des Plasmas) sowie hohe Konzentrationen der freien Aminosäure Serin. Beide Arten haben ähnliche Na^+-, K^+-, Ca^{++}- und Mg^{++}-Konzentrationen im Blut, wenn sie auf einem semisynthetischen Nährmedium gezüchtet werden, jedoch unterschiedliche Konzentrationen von Cl^- (Tab. 4). Die Na^+-Konzentrationen sind dabei höher als bei allen bisher untersuchten Lepidopteren. Ein ganz neuer Befund ist, dass der K^+-Gehalt von *A. orana* je nach der Nahrung verschieden ist. Während die K^+-Konzentrationen von auf lebenden Pflanzen gezüchteten Raupen etwa der von anderen Lepidopteren-Larven entspricht, ist sie in den auf semisynthetischem Nährmedium gezüchteten Raupen stark erniedrigt. Auch die auf Medium gezüchteten Raupen von *C. pomonella* weisen sehr niedrige Blut-K^+-Werte auf.

LITERATUR

AMMANN, D., CHAO, P. & SIMON, W. 1987. Valinomycin-based K^+ selective microelectrodes with low electrical membrane resistance. *Neurosci. Letters, 74:* 221–226.

BAUMGARTEN, C. M. 1981. An improved liquid ion exchanger for chloride ion-selective microelectrodes. *Am. J. Physiol. 241* (5): C 258–C 263.

CHEN, P. S. 1977. Analysis of amino acids, peptides and related compounds. In: R. B. TURNER, Ed. *Analytical Biochemistry of Insects.* Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, 315 pp.

DE JONG, D. J. 1968. Rearing the fruit-tree-leafroller *Adoxophyes orana* HB. on artificial diet for the evaluation of pesticides. *Meded. Pijksfak. Landbouwwetensch., Gent, 33:* 789–795.

DUCHÂTEAU, G., FLORKIN, M. & LECLERQ, J. 1953. Concentrations des bases fixes et types de composition de la base totale de l'hémolymphe des insectes. *Arch. Int. Physiol. Biochim., 61:* 518–549.

DUNPHY, G. B. & NOLAN, R. A. 1980. Hemograms of selected stages of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol. 112:* 443–450.

FLORKIN, M. & JEUNIAUX, C. 1974. Hemolymph: Composition. In: M. ROCKSTEIN Ed. *The Physiology of Insecta,* 2nd edit., *5:* 255–307.

FUKUDA, T., KIRIMURA, J., MATUDA, M. & SUZUKI, T. 1955a. Microbiological determination of free amino-acids in the body fluid of the silkworm larva *(Bombyx mori). Nature, 175:* 1041.

FUKUDA, T., KIRIMURA, J., MATUDA, M. & SUZUKI, T. 1955b. Biochemical studies on the formation of the silk protein: I. The kinds of free amino acids concerned in the biosynthesis of the silkprotein. *J. Biochem. (Tokyo), 42:* 341–346.

GILMOUR, D. 1961. *The Biochemistry of Insects.* Academic Press, New York & London, 343 pp.

HEPBURN, H. R. 1985. The Integument. In: M. S. BLUM, Hrsg. *Fundamentals of Insect Physiology,* pp. 139–183, Wiley, New York, 598 pp.

HUBER, J., BENZ, G. & SCHMID, K. 1972. Zuchtmethode und semisynthetisches Nährmedium für Apfelwickler. *Experientia, 28:* 1260–1261.

MARTIGNONI, M. E. & MILSTEAD, J. E. 1964. Hypoproteinemia in a noctuid larva during the course of nucleopolyhedrosis. *J. Invert. Pathol., 6:* 517–531.

MARUIZUMI, T., WEGMANN, D., SUTER, G., AMMANN, D. & SIMON, W. 1986. Neutral carrier-based Na^+-selective electrode for application in blood serum. *Microchim. Acta, 1:* 331–336.

SCHMIDT, F. H. & YOUNG, C. L. 1971. Larval coloration in *Choristoneura* spp. (Lepidoptera, Tortricidae). Bile pigment in haemolymph. *J. Insect Physiol., 17:* 843–855.

SHAPIRO, M. & IGNOFFO, C. M. 1971. Protein and free amino acids changes in the hemolymph of *Heliothis zea* larvae during nucleopolyhedrosis. *J. Invert. Pathol., 17:* 327–332.

SUTCLIFFE, D. W. 1962. The composition of haemolymph in aquatic insects. *J. Exp. Biol., 39:* 325–344.

TAUBER, O. E. & YEAGER, J. F. 1934. On the total blood (hemolymph) cell count of the field cricket, *Gryllus assimilis pennsylvanicus* BURM. *Iowa State Coll. J. Sci., 9:* 13–24.

VAN DER GEEST, L.P.S. & CRAIG, R. 1967. Biochemical changes in the larvae of the variegated cutworm, *Peridroma saucia,* after infection with a nuclear polyhedrosis virus. *J. Invert. Pathol., 9:* 43–54.

WOODRING, J. P. 1985. Circulatory systems. In: M. S. BLUM, Hrsg. *Fundamentals of Insect Physiology,* pp. 5–57, Wiley, New York, 598 pp.

YOUNG, S. Y. & LOWELL, J. S. 1971. Hemolymph proteins of *Trichoplusia ni,* during the course of a nuclear polyhedrosis virus infection. *J. Invert. Pathol., 17:* 410–418.

(erhalten am 28.9.1987)