

# SYMPOSIA GENETICA ET BIOLOGICA ITALICA

CENTRO DI GENETICA DEL CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE  
PRESSO L'UNIVERSITÀ DI PAVIA

---

**KLAUS HALBERSTADT**

INSTITUT FÜR ANGEWANDTE ZOOLOGIE DER UNIVERSITÄT - WÜRZBURG

ZUR PIGMENTIERUNG DER FORMICINENKUTIKULA

Estratto dal Volume XII

*Atti IV Congresso U. I. E. I. S. - Pavia, 9-14 Settembre 1961*

## ZUR PIGMENTIERUNG DER FORMICINENKUTIKULA

**KLAUS HALBERSTADT**

INSTITUT FÜR ANGEWANDTE ZOOLOGIE DER UNIVERSITÄT - WÜRZBURG

Die Kutikulapigmentierung der Unterfamilie Formicinae (Hymenopt. Formicidae), insbesondere der Gattungen *Formica* und *Lasius* ist von den Systematikern oft als taxonomisches Merkmal benutzt worden. Wo sich die Klassifizierung allein auf dieses Merkmal stützte, ist teilweise erhebliche Verwirrung angerichtet worden (STITZ, 1939). Aufsplitterung des Artbegriffes in ökologisch und populationsgenetisch nicht definierbare Unterbegriffe war die Folge. Neuere Bearbeitungen stützen die Klassifizierung auf Merkmalskomplexe. Die hier bezüglich ihrer Pigmentierung näher untersuchte *Formica fusca*-Gruppe ist taxonomisch revidiert (YARROW 1954). Unklar blieb die breite Variabilität der Zeichnung und Dichte des Kutikulapigmentes besonders von *Formica rufibarbis* Fab. und *Formica cunicularia* Latr. Es bestand die Möglichkeit, dass sich in den Pigmentierungstypen (in Korrelation mit anderen Artmerkmalen, wie z.B. Beborstung) Ökotypen manifestierten. Zur Klärung dieser Frage wurde untersucht, ob sich parallel der Variation der Biotope (Änderung von Vegetation, Insolation, Gesteinsart, Bodentiefe und -feuchtigkeit) in einem Verbreitungsareal Merkmalskline bei den genannten Arten aufstellen lassen. Dies trifft weder für die Kutikulapigmentierung, noch für andere Merkmale zu. Die Varianten leben vielmehr sympatrisch. Der Variationsbreite des Nestes (gemäss den Genomen von ♀ + ♂) ist die Variationsbreite der einzelnen Arbeiterin untergeordnet: *Abbildung 1*. Die Pigmentierung ist in den Grenzen der Variationsbreite des Nestes mit der Grösse des Individuums korreliert: Grosse Tiere hell, kleine Tiere dunkel.

Es war daher zu klären, ob und in welcher Weise die Kutikulapigmentierung des einzelnen Individuums modifizierbar ist. Zu die-

sem Zweck wurden im Freiland gesammelte Larven von *Formica rufibarbis* Fab. bei verschiedenen Temperaturen (+ 75 % RF) aufgezogen. Die Ergebnisse gibt *Abbildung 2* wieder: Dichte und Ausdehnung der Pigmentierung lassen sich, da die Zeichnung diffus ist, nur

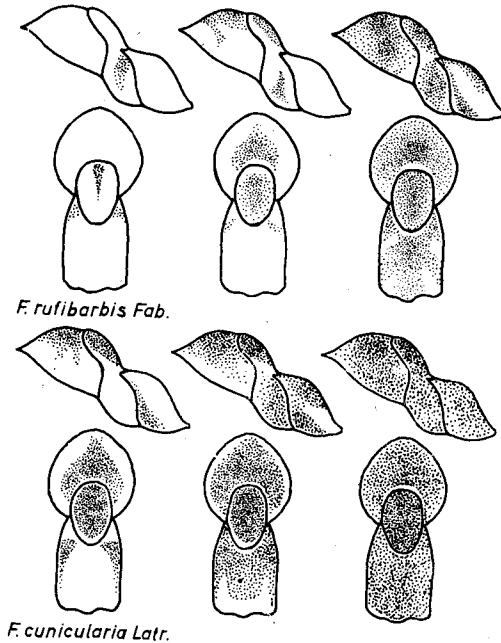


Abb. 1: Variationen der Pigmentierung bei *Formica rufibarbis* und *Formica cunicularia*, Thorax.

in groben Umrissen festlegen. Dauer von A → F bei 30° 6 Tage, bei 26° 10 Tage, bei 15° 11 Tage. Die Sklerotisierungsdauer ist bei 26° und 15° nahezu gleich, die Pigmentierung bei 26° dunkel. Der Thorax der 15°-Tiere ist fast unpigmentiert, Kopf und Abdomen sind heller. Der rotbraune Teil der Thoraxkutikula färbt sich bei allen Zuchttemperaturen gelb, sodass andere Modifizierbarkeit aufgrund anderer Bildungsweise des roten Pigments angenommen werden kann. Es ist wahrscheinlich, dass es sich hierbei um rote Melanine handelt, wie sie für Vespidae und Gryllidae nachgewiesen sind. Die Epidermis enthält kein Pigment (BECKER 1937, FUZEAU-BRAESCH 1959).

Das histologische Bild der vollständig pigmentierten Imaginalkultikula zeigt *Abbildung 3*. Mittels Phasenkontrastbeobachtung (Ein-

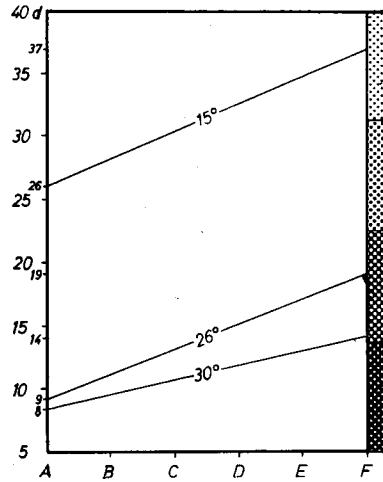


Abb. 2: Ordinate = Entwicklungszeit in Tagen. Abszisse = äusserlich sichtbare Sklerotisierungsschritte (A: Beginn der Sklerotisierung an den Skleriträndern, F: Schlüpfen der Imago aus dem Kokon). Grauskala = Dichte und Ausdehnung der Pigmentierung.

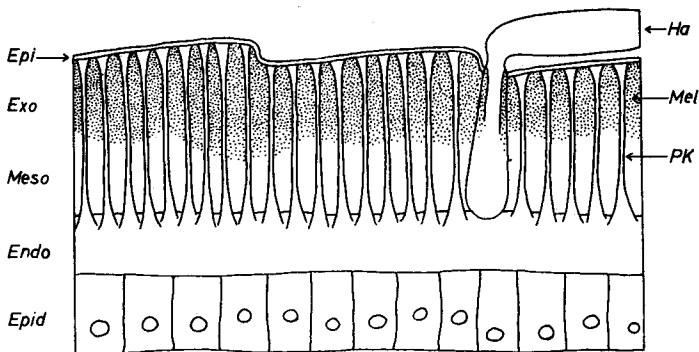


Abb. 3: Querschnitt durch die adulte Kutikula von *Formica spec.* Schematisch. Epid. = Epidermis, Endo = Endokutikula, Meso = Mesokutikula, Exo = Exokutikula, Epi = Epikutila, Ha = Haar, Mel = Melanisierung, PK = Porenkanal.

schlussmittel Zeiss L 25) von Quer- und Flächenschnitten der Kutikula lässt sich zeigen, dass die Pigmentierung nur die Exokutikula zwischen den Porenkanälen ergreift. Die Porenkanäle enthalten kein Pigment. Dass es sich hierbei um Melanine handelt beweist die Fluoreszenzlöschung pigmentierter, ungehärteter Kutikulaschnitte im Bereich der Exokutikula (Tetrahydrofuran-Paraffin, Thiazinrot, intensives UV-Licht).

Um genaueren Einblick in den Stoffwechsel von Melanisierung und Sklerotisierung während der Metamorphose zu gewinnen, wurde das Auftreten phenolischer Verbindungen in der Lymphe quantitativ verfolgt. Untersuchungsobjekt war die pigmentierte Form *Formica rufibarbis* Fab. Zum Vergleich wurde die nichtpigmentierte *Polyergus rufescens* Latr. herangezogen.

*Methode:* Puppen verschiedener Entwicklungsstadien über  $\text{CH}_3\text{COOH}$ -Dämpfe (zwecks Vermeidung enzymatischer Oxydation, SHULL e.a., 1932), Lymphe in vacuo getrocknet, gewogen. Phenolbestimmung kolorimetrisch nach GOMORI (1949) mit « Fast Red B Salt ».

Die Ergebnisse zeigt *Abbildung 4*:

- I = Einsetzen der Metamorphose (Durchbruch des Mitteldarms).
- II = Letzte Larvenhäutung (Puppenkutikula ausgebildet).
- III = Sklerotisierung der Skleritränder und Gelenke.
- IV = Melanisierung der Imaginalkutikula.
- V = Sklerotisierung der Skleritflächen.
- VI = Schlüpfen aus dem Kokon.

Für die Melaninbildung ist unter den gewählten Versuchsbedingungen die 8-fache Menge phenolischer Substanz nötig, wie für die Sklerotisierung. Die Menge Phenol zum Zeitpunkt der Sklerotisierung ist bei beiden Arten gleich. Der prozentuale Anstieg bei *Polyergus rufescens* in Punkt IV deutet auf eine geringe Melaninbildung auch bei dieser Form hin.

Es ist in der Literatur vielfach auf die Verschiedenartigkeit beider Prozesse hingewiesen worden (HACKMAN 1958, DENNELL 1958). Es ist wahrscheinlich, dass beide Prozesse einander nur so weit beeinflussen, als dass die Melanisierung begrenzt ist durch das chemisch inaffin werden der Kutikula infolge der Sklerotisierung. Die Melanisierung gilt als der unkompliziertere Prozess. Ihre Modifizierbarkeit durch Temperatur kann die Temperaturabhängigkeit der Phenolasewirkung, oder die der Polymerisation der Indolchinone zum Melanin widerspiegeln. Versuche in vivo sind hierüber nicht bekannt.

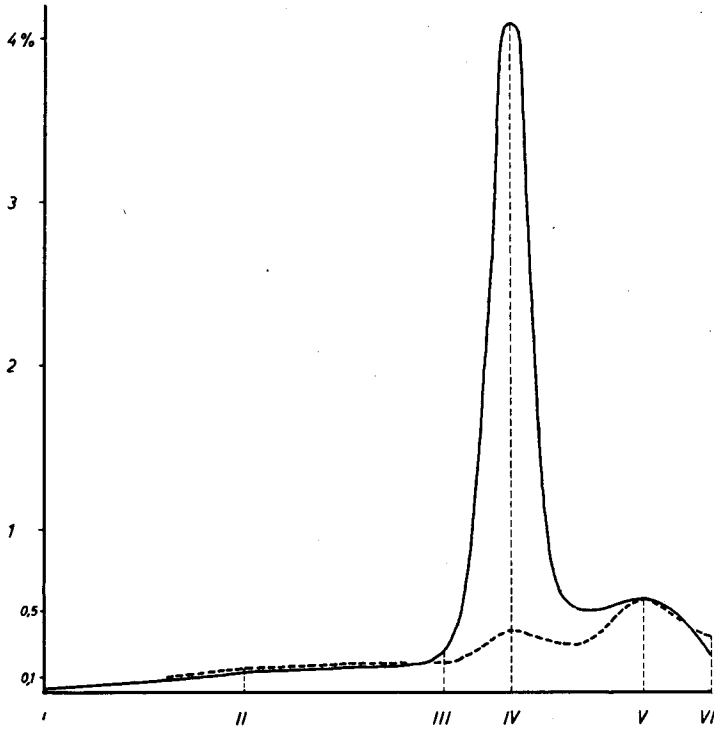


Abb. 4: Ordinate = Gewichtsprozente Phenol. Abszisse = äusserlich sichtbare Metamorphoseschritte. ————— = *Formica rufibarbis*. - - - - - = *Polyzergus rufescens*. Zuchttemperatur 18° C.

Auf die Unterschiedlichkeit der Herkunft und des Stoffwechsels der Phenole beider Prozesse weist das zeitlich verschiedene Auftreten der Metaboliten in der Lymphe und auch ihre unterschiedliche Quantität hin.

FUZEAU-BRAESCH (1959) zeigt an *Gryllus bimaculatus* mittels radiomarkiertem Tyrosin, dass Injektion nach der Imaginalhäutung Einbau allein in das Kutikularpigment zur Folge hat, während Injektion vor der Häutung die gesamte Kutikula radioaktiv werden lässt, ohne dass ein stärkerer Anstieg während der Sklerotisierung zu beobachten ist. Bei *Formica* entspräche dem Punkt « Häutung » der Punkt III der Abbildung 4 (Abszisse), da hier die Imaginalkutikula vollständig sezerniert ist. Die Imaginalhäutung selbst lässt sich nicht zeitlich festlegen, da die Puppenkutikula nach Auflösung ihrer Endokutikula langsam austrocknet und stückweise abfällt.

Die Frage nach dem Unterschied der an beiden Prozessen beteiligten Phenolase ist oft gestellt worden. MALEK (1957) berichtet von stärkerer Enzymwirkung unter melanierten Stellen der Exokutikula von *Schistocerca*. Nichtmelanierte, sklerotisierte Stellen zeigen schwächere Wirkung. Ursache hierfür könnten verschiedene Temperaturoptima der beteiligten Enzyme sein, oder aber Unterschiede in der Substratspezifität. Ueber letztere liegen widersprechende Beobachtungen vor (ITO 1953, AERTS 1960). Qualitative Untersuchungen der Lymphe von *Formica spec.* werden durchgeführt um zu klären, welche Phenole, bezw. Diphenole während der Metamorphose bei Melanisierung und Sklerotisierung auftreten.

Quantitative Untersuchung des Aminosäurestoffwechsels (Papierchromatographische Methode nach LINSKENS, 1960: Hydrolysate. Kolorimetrische Bestimmung des Ninhydrin- Cu-Komplexes) der Imaginalkutikula von *Formica rufibarbis* Fab. zeigte Unterschiede zwischen der vollständig melanierten Abdominalkutikula und der unmelanierten Thorakalkutikula. Verfolgt wurden besonders Tyrosin und Alanin. Der Tyrosinwert der stärker sklerotisierten Thorakalkutikula fällt im Verlauf der Sklerotisierung weniger ab als der der Abdominalkutikula. Dieser Abnahme steht eine Zunahme an Alanin in der Thorakalkutikula im gleichen Zeitraum gegenüber, sodass im Fall der Sklerotisierung auf eine gewisse Desaminierung des Tyrosin geschlossen werden kann (AERTS, 1960). Die genauen Daten hierüber sollen an anderer Stelle veröffentlicht werden.

#### LITERATUR

- AERTS, F. 1960 Enzymes in the metabolism of phenolic acids in insects. Verhändl. XI. Int. Kongr. Ent. Wien.
- BECKER, E. 1937 Über das Pterinpigment bei Insekten und die Färbung und Zeichnung von *Vespa* im besonderen. Z. Morph. Ök. Tiere. 32.
- DENNELL, R. 1958 Hardening of insect cuticles. Biol. Rev. 33.
- FUZZEAU-BAESCH, S. 1959 Recherche de l'origine des pigments cuticulaires d'un insecte par la méthode des éléments marqués. C. R. Acad. Sci. 248.
- GOMORI, G. 1949 Determination of phenol in biologic material. J. Lab. Clin. Med. 34.
- HACKMAN, R. H. 1958 Biochemistry of insect cuticle. Proc. IV, Int. Congr. Biochem. Wien.
- ITO, T. 1953 Studies on the integument of the silkworm *Bombyx mori*. V: Phenol oxydase of the integument. Bull. Sericult. Exper. Sta. 14.
- LINSKENS, H. F. 1959 Papierchromatographie in der Botanik. Berlin.
- MALEK, S. R. A. 1957 Sclerotisation and melanisation: Two independent processes in the cuticle of the desert Locust. Nature 180.

- SHULL, W. E. et al. 1932 Some effects of certain toxic gases on the blood of the cockroach (*Periplaneta orientalis*). J. Econ. Entomol. 25.
- STITZ, H. 1939 Formicidae. In: Dahb, Die Tierwelt Deutschl. Jena.
- YARROW, I. H. H. 1954 The British ants allied to *Formica fusca* L. (Hym. Formicidae). Transact. Soc. Brit. Ent. 11.

#### Riassunto

Il presente lavoro è un'esame delle condizioni di sviluppo dei pigmenti cuticolari nelle Formicine. La pigmentazione dipende direttamente dalla temperatura d'allevamento. Esami istologici della cuticola adulta indicano che il pigmento si forma nella esocuticola e non nei canalicoli della cuticola. Il processo di pigmentazione è separabile da quello di sclerotizzazione sia da un punto di vista quantitativo che temporale nel corso della metamorfosi. Il metabolismo della tirosina differisce in entrambi i processi.

#### Summary

It was tried to get a survey on the developmental conditions of the cuticular pigments of Formicinae. Pigmentation directly depends on the breeding temperature. Histological investigation of the adult cuticle shows the pigment formed in the exocuticle but not in the pore canals. The process of pigmentation is separable from that of sclerotisation as well quantitative as temporal during metamorphosis. The metabolism of tyrosine differs in both processes.

#### Résumé

Le présent travail décrit un aperçu des conditions du développement pour les pigments cuticulaires chez les Formicines. La pigmentation dépend directement de la température d'élevation. Les examens histologiques de la cuticule adulte ont données le resultat, que le pigment se forme dans l'exocuticule et ne pas dans les canalicules de la cuticule. Les méthodes appliquées rendent la possibilité à separer la processus de pigmentation du processus de durcissement non seulement quantitative, mais encore selon leur apparition pendant la metamorphose. Le metabolisme de la tyrosine se distingue dans les deux processus.

#### Zusammenfassung

Es wurde versucht Einblick in die Entwicklungsbedingungen des Kutikulpigmentes der Formicinen zu gewinnen. Die Pigmentierung ist von der Zuchttemperatur direkt abhängig. Histologische Untersuchung der adulten Kutikula ergibt, dass das Pigment in der Exokutikula, aber nicht in der Porenkanälen gebildet wird. Der Prozess der Pigmentbildung ist sowohl quantitativ, als auch in seinem zeitlichen Auftreten während der Metamorphose von der Sklerotisierung zu trennen. Der Tyrosinstoffwechsel beider Prozesse verläuft unterschiedlich,