*Entomologie heute 17 (2005): 111-117*

# Wie stabil sind Käferelytren? Bestimmung der Schädigungskraft und Schädigungsarbeit mit einer Universal-Zug-Druckmaschine

## How Solid are Beetle Elytra? Measurement of the Damaging Force and Energy with a Universal Tensile and Pressure Machine

Hartmut Greven & Gerhard Schwinger

**Zusammenfassung:** Mit einer Universal-Zug-Druckmaschine Tensor 1 kN DY 30 und der Steuerungssoftware Autotrac (Adamel Lhomargy S.A.) haben wir nach einer modifizierten DIN-Norm zur Prüfung von Kunstofffolien und plattenförmigen Probekörpern bestimmt, welche Schädigungskraft und Schädigungsarbeit aufgewendet werden müssen, um Elytren von intakten Käfern (lebendfrische Rosenkäfer, *Pachnoda marginata*, und alkoholfixierte Laufkäfer, *Carabus problematicus*) zu durchstoßen. Die Elytren beider Arten haben eine typische Balkencuticula. Bei einer Auftreffgeschwindigkeit von 1 mm/min und einem spitzen Durchstoßkörper (Winkel 60°) betragen Kraft und Arbeit 2,5 ± 1,3 N und 0,076 ± 0,050 Nmm (*P. marginata*) sowie 2,6 ± 0,5 N und 0,065 ± 0,012 Nmm (*C. problematicus*). Die vorgestellte Methode liefert reproduzierbare relative Daten.

**Schlüsselwörter:** *Pachnoda marginata*, *Carabus problematicus*, Elytrenaufbau, Schädigungsarbeit, Schädigungskraft

**Summary:** With a universal tensile and pressure machine Tensor 1 kN DY 30 and the software Autotrac (Adamel Lhomargy S.A.) we measured the damaging force and energy force to break through the elytra of intact beetles (freshly killed *Pachnoda marginata* and ethanol-fixed *Carabus problematicus*) according to a modified DIN norm to check synthetic foils and sheet-like samples. The two species have a typical 'Balken' cuticle. Using a fixed speed (1 mm/min) and a pointed punch with a wedge of 60°, force and energy were 2.5 ± 1.3 N and 0.076 ± 0.050 Nmm (*P. marginata*) and 2.6 ± 0.5 N and 0.065 ± 0.012 Nmm (*C. problematicus*). The technique presented yields reproducible relative data.

**Keywords:** *Pachnoda marginata*, *Carabus problematicus*, structure of elytra, damaging energy, damaging force

## 1. Einleitung

Das Integument der Insekten besteht aus einer mehrschichtigen Cuticula (Epi-, Exo- und Endo- oder Procuticula) sowie aus der die Cuticula abscheidenden Epidermis (z.B. Neville 1975; Hepburn 1985). Dies gilt im Prinzip auch für Elytren, die als Duplikatur des Integumentes einen zentralen Hämolymphraum enthalten, der zur Stabilisierung von cuticulären Trabeculae durchquert wird (u.a. Kapzov 1911; Krzelj 1969; Dennell 1976). Die mechanischen Eigenschaften des Insektenintegumentes einschließlich der Elytren werden im Wesentlichen von der Cuticula bestimmt und sind in Abhängigkeit vom Sklerotisierungsgrad, der Proteinmatrix, dem Wassergehalt, der Anord-

nung der Chitinfibrillen, dem Schwermetallgehalt etc. ganz unterschiedlich. Cuticulae sind Faser-Verbundwerkstoffe ('fibrous composite material') und daher wiederholt, vornehmlich unter anwendungsbezogenen Aspekten im Hinblick auf Festigkeit – einschließlich 'microhardness', Zähigkeit und Elastizität – untersucht und mit anderen Biomaterialen verglichen worden (u.a. HEPBURN & JOFFE 1976; neuere Übersicht bei VINCENT & WEGST 2004).

Wir haben im Folgenden die Kräfte gemessen und die Arbeit bestimmt, die benötigt werden, um eine Elytre am intakten Tier zu durchstoßen. Unseres Wissens hat lediglich GROSSCURT (1978) versucht, mit einem einfachen „Penetrometer" die Widerstandsfähigkeit isolierter Elytren zu bestimmen. Allerdings beeinflusst die Form des verwendeten Durchstoßkörpers ganz wesentlich Kraft und Energie, die aufgewendet werden müssen, um in ein intaktes Insekt „einzudringen" (EVANS & SANSON 1998).

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Durchstoßversuche

Wir haben uns bei der angewendeten Methode an den vom Deutschen Institut für Normung e.V., das die so genannten DIN-Normen erarbeitet, herausgegebenen Prüfnormen über mechanische, thermische und elektrische Eigenschaften (DIN 1988) orientiert, und zwar an Durchstoßversuchen für Kunststoffolien (DIN 53 373) und plattenförmige Probekörper (DIN 53 443) mit elektronischer Messwerteerfassung. Im Gegensatz zu den dort verwendeten Durchstoßkörpern in Form einer Halbkugel, haben wir einen spitzen Durchstoßkörper mit einem Spitzenwinkel von 60° verwendet (s. Abb. 2a,b). Als Prüfmaschine diente eine Universal-Zug-Druckmaschine Tensor 1 kN DY 30 (Adamel Lhomargy S.A.).

Versuchstiere waren alkoholfixierte *Carabus problematicus* (n = 18), die vor den Versuchen an der Luft getrocknet waren und frisch mit Eisessig abgetötete *Pachnoda marginata* (n = 22). Alle Versuche fanden bei Zimmertemperatur statt. Geprüft wurden ganze Käfer, die seitlich mit Gips stabilisiert wurden (s. Abb. 2a,b). Die Dicke der Elytren wurde

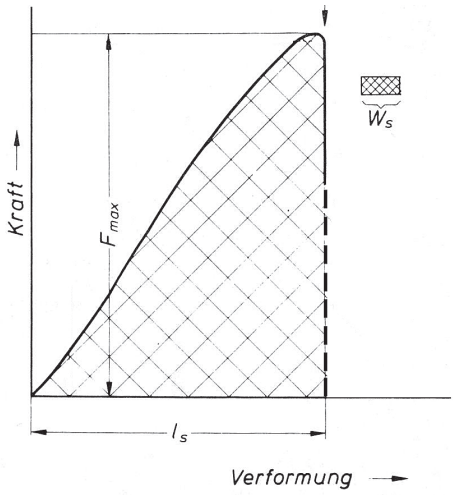


**Abb. 1:** Idealisierte Kraft-Verformungskurve für Kunsstofffolien erhalten mit einem halbrunden Durchstoßkörper (nach DIN 1988, verändert). Weitere Erklärungen im Text.
**Fig. 1:** Idealized force-deformation-curve to check synthetic foils with a semi-circled penetration body (according to DIN 1988, modified). For further explanations see text.

**Abb. 2: a-b:** Versuchsanordnung mit spitzem Durchstoßkörper und seitlich mit Gips stabilisiertem Käfer (*P. marginata*), man beachte die Nachgiebigkeit der Elytre in Abbildung b; **c-f:** Elytre von *P. marginata*: **c** = Semidünnschnitt mit Cuticula der Außenseite (oben) und Innenseite sowie Hämolyphraum, **d** = TEM-Foto, man beachte die einzelnen „Balken" parallel verlaufender Mikrofibrillen; **e-f** = REM-Fotos einer geschnittenen (e) und einer gebrochenen (f) Elytre mit Laminae; **g-h:** REM-Fotos einer gebrochenen Elytre von *C. problematicus* mit einzelnen Laminae (h).

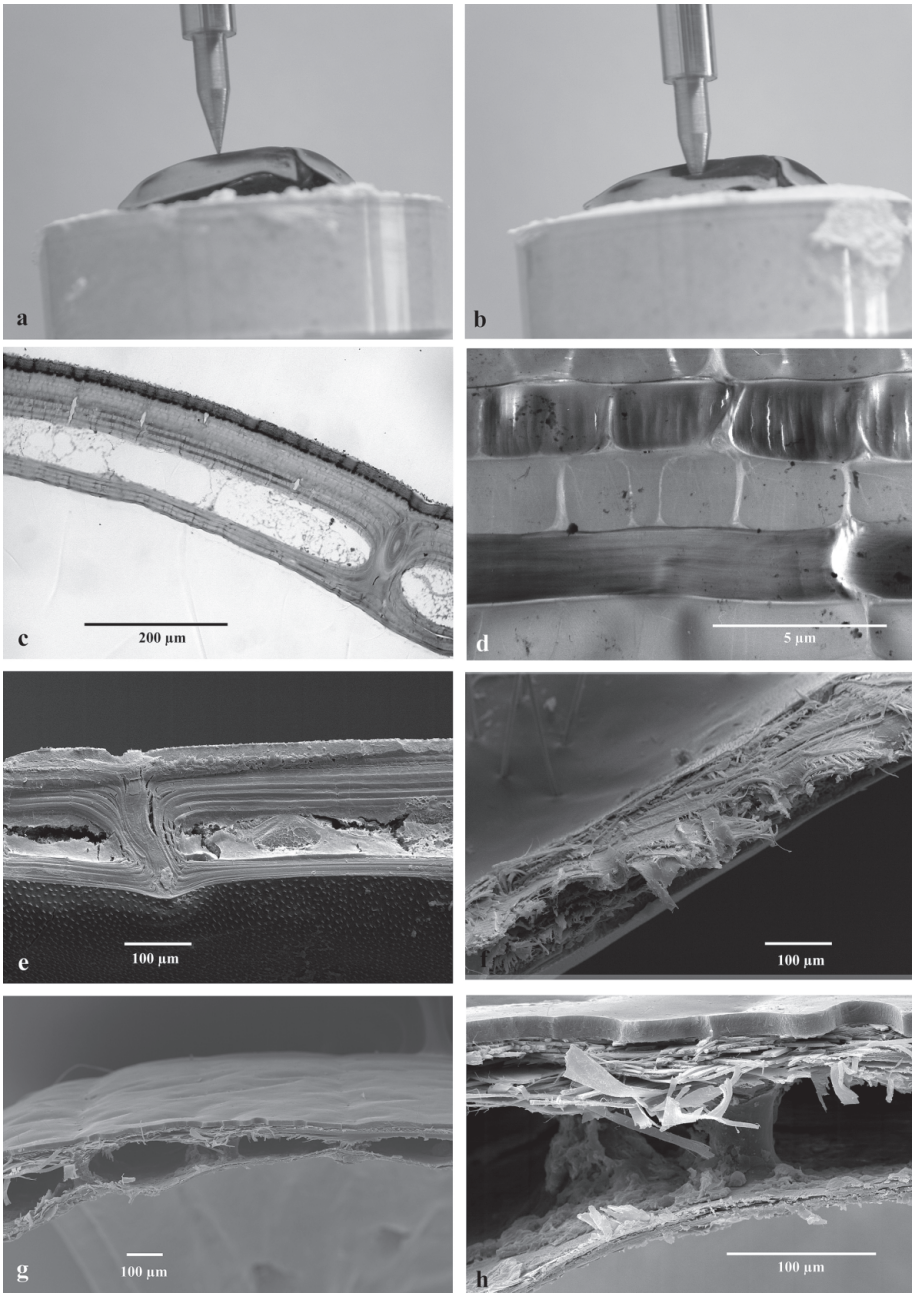


**Fig. 2: a-b:** Experimental design showing the pointed penetrating body and the beetle (*P. marginata*) stabilized in plaster, note the pliability of the elytron in figure b; **c-f:** elytron of *P. marginata*: **c** = semithin section with cuticle of the outer (top) and inner surface and hemolymph space, **d** = TEM micrograph, note the single 'balken' of parallel microfibrils; **e-f** = SEM micrographs of a cut (e) and a broken (f) elytron showing laminae, **g-h:** SEM micrograph of a broken elytron of *C. problematicus* showing laminae (h).

nach den Versuchen mit einer Mikrometerschraube gemessen. Nach Messungen am histologischen Schnitt und an rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen haben wir uns für einen Mittelwert aus jeweils drei Messungen mit einer Mikrometerschraube entschieden, der für beide Käferarten etwa 0,2 mm betrug.

Jeder Durchstoßversuch wurde mit einer Auftreffgeschwindigkeit von 1 mm/min durchgeführt. Während des Versuchs wurde die Kraft-Verformungskurve aufgezeichnet. Abbildung 1 zeigt diese für Kunststoffolien bei Verwendung eines halbrunden Durchstoßkörpers. Dabei gilt (nach DIN 53 373 und 53 443):

1) die Schädigungsarbeit $W_s$ (damaging energy) ist die bis zum ersten Anriss der Probe (Schädigungspunkt) verbrauchte Energie (die Steilheit der Kurve, von der ja die Fläche unter der Kurve abhängt, richtet sich nach der Elastizität des Materials);
2) die Schädigungskraft $F_s$ (damaging force) ist die im Schädigungspunkt vom Durchstoßkörper auf die Probe in Durchstoßrichtung ausgeübte Kraft; sie entspricht etwa der Maximalkraft $F_{max}$ (maximum force) (Schädigungskraft – es kommt zum Anriss der Folie – und Maximalkraft – die Folie hält gerade noch – können in etwa gleich gesetzt werden); die Maßeinheit ist Newton (N);
3) die Schädigungsverformung $l_s$ (damaging deformation) ist die Verformung der Probe in Durchstoßrichtung im Schädigungspunkt (zu dieser Größe können wir anhand unserer Versuche nichts sagen, da sich bei den gewählten Versuchsbedingungen nicht nur die Elytre verformt, s.u.);

Für die Berechnung der Arbeit wurde $l_s$ bis zum Schädigungspunkt berücksichtigt (s. Abb. 1).

Aufgrund des spitzen Durchstoßkörpers entspricht bei einer relativ dünnen Cuticula der Anriss der Probe zugleich dem Durchstoß. Davon haben wir uns am Präparat überzeugt. Damit entspricht die Schädigungsarbeit etwa der Durchstoßarbeit.

### 2.2. Histologie und Feinstruktur

Für licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden kleine Stücke aus den Elytren von *P. marginata* in einem Glutaraldehyd-Paraformaldehyd-Gemisch in 0,1 mol/l Cacodylatpuffer fixiert (KARNOVSKY 1965), in 1 % Osmiumsäure im gleichen Puffer nachfixiert und anschließend in Spurrs Medium eingebettet. Von den Objekten wurden mit Diamantmessern Semidünnschnitte (ca. 1 µm Dicke) und Ultradünnschnitte hergestellt. Die Semidünnschnitte wurden mit Toluidinblau-Borax gefärbt, die Ultradünnschnitte mit Bleicitrat kontrastiert.

Für die Rasterelektronenmikroskopie wurden frische und fixierte Elytrenstücke mit einer Rasierklinge geschnitten oder gebrochen, über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert, nach der Kritischen-Punkt Methode getrocknet, mit Gold bedampft und in einem Rasterelektronemikroskop (Leo 1430VP, Zeiss) betrachtet.

## 3. Ergebnisse

### 3.1. Struktur der Elytren

Die Elytren lebender *P. marginata* sind etwa 0,18-0,2 mm dick; an fixiertem Material (*P. marginata* und *C. problematicus*) haben wir Dicken von 0,17-0,18 mm gemessen.

Die Elytre ist eine Duplikatur des Integumentes: Außen ist die Cuticula dicker – sie besitzt hier etwa 7-10 Lagen oder Laminae; an der Unterseite der Elytre ist sie dünner, besteht aber aus einer ähnlichen Zahl, allerdings dünnerer Laminae. Die Epidermiszellen sind flach bis prismatisch. Zwischen den beiden Cuticulae liegt ein großer Hämolymphraum, der von Trabeculae durchzogen wird (Abb. 2c,h).

Transmissionselektronenmikroskopische Bilder der Elytren-Cuticula von *P. marginata* machen deutlich, dass die einzelnen Laminae der Cuticula aus Bündeln von Fibrillen bestehen, die im Querschnitt eine nahezu rechteckige Form haben. Die einzelnen Laminae liegen in dem abgebildeten Bereich nahezu rechtwinklig zueinander (Abb. 2d,e).
Im Querschnitt und Querbruch zeigen sich im Rasterelektronenmikroskop die einzelnen Lagen als flache Scheiben (Abb. 2e,f). Das gilt auch für die Elytren von *C. problematicus* (Abb. 2g,h).

### 3.2. Durchstoßversuche

Typische Kraft-Verformungskurven, die wir für *P. marginata* und *C. problematicus* erhalten haben, zeigt Abbildung 3. Nach Auftreffen des Durchstoßkörpers beginnt sich die Elytre zu verformen (Abb. 2b), bis die Spitze in diese eindringt („erster Anriss") und die Elytre schließlich durchdringt. Die Kraft sinkt nach Durchdringung der Elytre nicht auf 0, weil die Spitze nach oben hin breiter wird, sich das Loch in der Elytre also verbreitert, und in das darunter liegende Abdomen eindringt. Beide Vorgänge lassen sich in der Kraft-Verformungskurve nicht voneinander trennen. Auch das Durchqueren des Hämolymphraumes innerhalb der Elytre spiegelt sich offenbar nicht in der Kurve wider.
Die Kraft, die aufgewendet werden musste, um die Elytre zu durchstoßen, war mit 2,5 ± 1,3 N (n = 15) bei *P. marginata* und mit 2,6 ± 0,5 N (n = 9) bei *C. problematicus* relativ ähnlich. Der Weg, den der Durchstoßkörper vom Aufsetzen der Elytre bis zum Durchstoßen zurücklegte, zeigte mit 0,99 ± 0,3 mm (*P. marginata*) und 0,68 ± 0,12 mm (*C. problematicus*) größere Unterschiede. Dies wirkte sich auch auf die Schädigungsarbeit aus (*P. marginata*: 0,076 ± 0,050 Nmm; *C. problematicus*: 0,065 ± 0,012 Nmm). Die Daten für rechte und linke Elytre unterschieden sich nicht wesentlich voneinander.

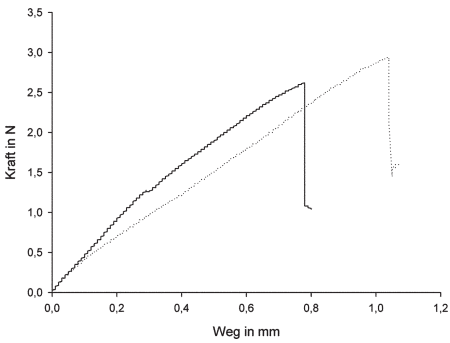


**Abb. 3:** Kraft-Verformungskurve einer Elytre eines intakten, seitlich stabilisierten, frisch getöteten *P. marginata* (helle Linie) und eines intakten, seitlich stabilisierten, alkoholfixierten *C. problematicus* (dunkle Linie). Weitere Erklärungen im Text.
**Fig. 3:** Force-deformation-curve of an elytron of an intact, laterally stabilized, freshly killed *P. marginata* (grey line) and an intact, laterally stabilized, ethanol fixed *C. problematicus* (black line). For further explanations see text.

## 4. Diskussion

Die Cuticulae vieler Käfer sind außerordentlich kompakt und widerstandsfähig. Das gilt auch für die Elytren, die in erster Linie dem Schutz der zarten Alae dienen. Da sie meist das gesamte Abdomen bedecken, dürften sie aber auch einen gewissen Schutz vor Prädatoren gewähren, zum Beispiel vor anderen räuberischen Insekten, Vögeln, die von oben angreifen und auf ihre Beute picken, oder Kleinsäugern (z.B. Insektivoren), die noch unerfahren im Umgang mit einer solchen Beute sind.
Unsere licht-, rasterelektronen- und transmissionselektronenmikroskopischen Bilder der Elytren von *P. marginata* zeigen den typischen Aufbau einer Balkencuticula, wie er auch von anderen Coleoptera bekannt ist (vgl. die Verhältnisse bei dem nahe verwandten *Pachynoda* (sic!) *sinuata*; Hepburn 1972). Vor allem die elektronenmikrosko-

pischen Aufnahmen lassen erkennen, dass Mikrofibrillen (= Micellen) zu rechteckigen Makrofibrillen gruppiert sind, die parallel verlaufen und Lagen oder Platten (Laminae) bilden. Die Makrofibrillen einer Lage sind durch 'intra-ply'-Fibrillen verbunden, bilden also, da die Lagen von Porenkanälen durchzogen werden, ein Maschengeflecht. Die einzelnen Lagen wiederum sind durch 'inter-ply'-Fibrillen verknüpft. Diese Fibrillen erhöhen die Widerstandskraft der Cuticula gegen Reiß- und Scherkräfte (HEPBURN & BALL 1973). Die einzelnen Lagen von Makrofibrillen kreuzen sich in einem Winkel von etwa 90° (HEPBURN & BALL 1973; DENNELL 1976, 1978). Die Elytren von *C. problematicus*, die wir hier nicht näher untersucht haben, dürften ähnlich aufgebaut sein (vgl. Abb. 2h). In den bisherigen Arbeiten über die Cuticula (einschließlich der Elytrencuticula) von *P. sinuata* wurde deren Organisation sowie Reiß- und Zugfestigkeit in Abhängigkeit von der Orientierung der Fibrillen behandelt und über Materialerschöpfung spekuliert, zum Beispiel beim Flug (HEPBURN & BALL 1973). Die Aussagekraft der von diesen Autoren erhobenen biomechanischen Daten ist kürzlich angezweifelt worden (VINCENT & WEGST 2004). GROSSCURT (1978) hat mit Hilfe eines einfachen Penetrometers die Widerstandskraft der Elytren von Kartoffelkäfern *Leptinotarsa decemlineata*, die zum Teil mit Diflubenzuron, einem Hemmer der Chitinsynthese, gefüttert worden waren, indirekt über willkürlich gewählte Gewichtseinheiten abgeschätzt. Detailliertere Angaben zur Methode fehlen allerdings.

Wir haben versucht, mit einer herkömmlichen Prüfmaschine die Kraft und die Arbeit zu bestimmen, die benötigt wird, die Elytre am intakten Käfer zu durchdringen, das heißt die Messungen werden durch den gesamten die Elytre unterlagernden Körper des Käfers beeinflusst. Die aufgezeichneten Kraft-Verformungskurven entsprechen im Prinzip einer „typischen Kraft-Verformungskurve" bei Durchstoßversuchen mit Kunststoffen (s.o.). Nach dem Durchdringen der Elytre trifft die Spitze des Durchstoßkörpers allerdings auf den nachgiebigen Körper des Käfers, der – wie auch die Elytre – deformiert wird. Daher sinkt die Kraft nach Durchdringung der Elytre und aufgrund der Form des Durchstoßkörpers nicht auf 0 (s.o.).

Im Hinblick auf die Geräteeigenschaften und eine Normierung waren zunächst verschiedene Parameter vorzugeben, von denen einige durchaus abgewandelt werden könnten. Unabdingbare Voraussetzungen für diese Art von Versuchen sind die Stoßbeanspruchung senkrecht zur Probenebene und Angaben zur Dicke der Proben. Verändert werden könnten, je nach Fragestellung, die Form des Durchstoßkörpers sowie die Geschwindigkeit, mit der dieser auf die Probe auftrifft.

Die Form des Durchstoßkörpers war bei unseren Untersuchungen einem „spitzen Zahn" nachempfunden (s. auch EVANS & SANSON 1998). Der Aufwand, der von einem potentiellen Räuber bei der Bewältigung eines Insekts betrieben werden muss, hängt aber von zahlreichen Parametern ab, die auch nicht annähernd im Experiment simuliert werden können (siehe auch EVANS & SANSON 1998). Das gilt unter anderem für die natürlicherweise stark schwankende Zahnform (Kontaktoberfläche von Zahn und Beute = 'tip-sharpness' und Volumen sowie Oberfläche des Zahns, die mit fortschreitender Entfernung von der Spitze zunehmen; siehe EVANS & SANSON 1998), die Geschwindigkeit und Richtung des Zubeißens, die unterschiedliche Muskelkraft der Prädatoren und anderes mehr.

Mit der hier vorgestellten Methode können wir lediglich relative Aussagen machen. Die Methode liefert aber reproduzierbare Ergebnisse. Die Standardabweichungen waren bei lebendfrischem Material (*P. marginata*) etwas größer als bei fixiertem Material (*C. proble-*

*maticus*). Diese Tatsache sowie die deutlichen Unterschiede im Weg, den der Durchstoßkörper nehmen musste, und damit auch in der Arbeit, die geleistet wurde, liegen an Unterschieden zwischen den Elytren der beiden Käferarten, die im vorliegenden Fall wohl darauf zurückzuführen sind, dass die Laufkäfer (*C. problematicus*) fixiert und daher weniger nachgiebig waren.

## Danksagung

Wir danken ganz herzlich Herrn Prof. Dr. J. Prochotta, Fachhochschule Düsseldorf, für kritische Diskussionen, Herrn M. Brenner und Frau Dipl.-Biol. B. Pelzer für technische Hilfe und dem Aquazoo – Löbbecke Museum, Düsseldorf, für die Rosenkäfer.

## Literatur

Dennell, R. (1976): The structure and lamination of some arthropod cuticles. Zoological Journal of the Linnean Society 58: 159-164.

Dennel, R. (1978): Balken orientation in three coleopteran cuticles. Zoological Journal of the Linnean Society 64: 15-26.

DIN (Deutsches Institut für Normung e.V.) (1988): Kunststoffe. Mechanische und thermische Eigenschaften. 9. Auflage. Beuth Verlag; Berlin, Köln.

Evans, A.R., & Sanson, G.D. (1998): The effect of tooth shape on the breakdown of insects. Journal of Zoology 246: 391-400.

Grosscurt, A.C. (1978): Effects of diflubenzuron on mechanical penetrability, chitin formation and structure of the elytra of *Leptinotarsa decemlineata*. Journal of Insect Physiology 24: 827-831.

Hepburn, H.R. (1972): Some mechanical properties of crossed fibrillar chitin. Journal of Insect Physiology 18: 815-825.

Hepburn, H.R. (1985): Structure of the integument. S. 1-58 in: Kerkut, G.A., & Gilbert, L.I. (Hrsg.): Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology, vol. 3: integument, respiration and circulation. Pergamon Press; Oxford.

Hepburn, H.R., & Ball, A. (1973): On the structure and mechanical properties of beetle shells. Journal of Material Science 8: 618-623.

Hebburn, H.R., & Joffe, I. (1976): On the material properties of insect exoskeletons. S. 207-236 in: Hebburn, H.R. (Hrsg.): The insect integument. Elsevier; Amsterdam.

Kapzov, S. (1911): Untersuchungen über den feineren Bau der Cuticula bei Insekten. Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie 98: 297-337.

Karnovsky, M.J. (1965): A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. Journal of Cell Biology 27: 137A.

Krzelj, S. (1969): Structure anatomique comparée des élytres de Coléoptères. Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique 99: 85-109.

Neville, A.C. (1975): Biology of the arthropod cuticle. Springer; Berlin, Heidelberg, New York.

Vincent, J.F.V., & Wegst, U.H.K. (2004): Design and mechanical properties of insect cuticle. Arthropod Structure & Development 33: 187-199.

Prof. Dr. Hartmut Greven
Institut für Zoomorphologie und Zellbiologie
Dipl.-Biol. Gerhard Schwinger
Zentrum für Anatomie und Hirnforschung (Anatomie II)
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Universitätsstr. 1
D-40225 Düsseldorf
E-Mail: grevenh@uni-duesseldorf.de