

## Anwendung der Synchrotron Mikro-Röntgentomographie (SR- $\mu$ CT) in der Insektenmorphologie

**Daniela Weide & Oliver Betz**

**Eberhard Karls Universität Tübingen, Abteilung Evolutionsbiologie der Invertebraten**

**Abstract:** The application of Synchrotron X-ray micro-tomography (SR- $\mu$ CT) in insect morphology. The (synchrotron-based) method of computer tomography is a non-invasive technique novel to insect morphology. It provides the researcher with the opportunity to investigate virtual serial sections through millimeter-sized objects of interest without destroying them. Here, we explain the principle of the technique and provide two illustrative examples. The first example relates to the muscles of the head and the structure of the inner head skeleton (tentorium) of *Gyrophaena fasciata* (MARSHAM) (Coleoptera, Staphylinidae: Aleocharinae). It is shown that SR- $\mu$ CT is a useful technique to track muscles within the head and also to graphically represent the results. Moreover, it is demonstrated that the inner head skeleton elements can be three-dimensionally modeled and visualized. Our second example refers to the hind leg of *Altica* sp. (Coleoptera, Chrysomelidae: Alticini), in which details of the jumping mechanism could be further elucidated.

**Key words:** Aleocharinae, *Altica*, Alticini, Chrysomelidae, *Gyrophaena*, micro-tomography, Staphylinidae, Synchrotron, tomography, X-ray

Dipl.-Biol. D. Weide, Prof. Dr. O. Betz, Eberhard Karls Universität Tübingen,  
Abteilung Evolutionsbiologie der Invertebraten, Auf der Morgenstelle 28E, D-72076 Tübingen,  
E-mail: daniela-yvonne.weide@uni-tuebingen.de, oliver.betz@uni-tuebingen.de

Die herkömmliche Methode der Untersuchung anatomischer Verhältnisse bei Insekten ist die manuelle Präparation und das Erstellen von Schnittserien eines eingebetteten Objektes in zwei, besser drei orthogonalen Raumrichtungen (frontal, axial und sagittal). Diese Schnitte werden dann spezifisch angefärbt und über Zeichnungen und/oder Photographien ausgewertet. Mit speziellen zeichnerischen Verfahren oder mittels Graphikprogrammen können daraus 3D-Objekte „rekonstruiert“ werden.

Eine neue vielversprechende Methode in der Insektenmorphologie ist die (phasenverstärkte) Synchrotron Mikro-Röntgentomographie (SR- $\mu$ CT). Ähnlich wie etwa bei den von HÖRNSCHEMEYER et al. (2002) genutzten Desktopgeräten wird hier mit relativ geringem Zeitaufwand der Vergleich kompletter „virtueller“ Schnittserien auch einer größeren Anzahl von Taxa, wie sie zum Beispiel für vergleichend-morphologische evolutionsbiologische Studien erforderlich sind, ermöglicht. Man erhält mittels der Tomographie-Datensätze die Möglichkeit, beliebige Schnittrichtungen am Computer zu bearbeiten und auszuwerten. Die Methode arbeitet zerstörungsfrei und ist somit auch für Museumsleihgaben oder seltene Einzelfunde geeignet.

### **Methode der Synchrotron Mikro-Tomographie**

Computertomographie wird schon seit langem als diagnostische Methode in der Medizin angewendet (KALENDER, 2006). Ein Röntgenstrahl durchdringt hierbei den Körper des Patienten und wird dabei durch verschiedene Strukturen (Haut, Knochen, Muskeln, etc.) abgeschwächt, sein Signal wird über Detektoren aufgezeichnet, und hieraus wird über das so genannte Rückprojektionsverfahren, eine mathematische Funktion, die auf der RADON-Transformation (RADON, 1917) beruht, im Computer ein Bild errechnet.

Da herkömmliche Röntgenstrahlung für (oftmals deutlich unter einem Millimeter) kleine Objekte wie Insekten nicht geeignet ist, kann man hier die so genannte Synchrotronstrahlung nutzen. Synchrotronstrahlung entsteht, wenn Elektronen mittels Beschleunigern auf Geschwindigkeiten nahe der des Lichtes gebracht, in einen Speicherring eingespeist und hier von einem starken Magnetfeld auf Spiralbahnen gezwungen werden. Die Erzeugung solcher Strahlung erfolgt in besonderen Strahlquellen (Teilchenbeschleuniger) wie die der

ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) in Grenoble (Frankreich) oder der ANKA (ANGstroemquelle Karlsruhe) im Forschungszentrum Karlsruhe. Weitere geeignete Strahlquellen befinden sich zum Beispiel in Berlin (BESSY) oder Hamburg (HASYLAB).

Verglichen mit herkömmlichen Röntgenstrahlen, zeichnen sich Synchrotronstrahlen unter anderem durch eine besonders hohe Intensität, Direktionalität und Kohärenz aus (z. B. CLOETENS et al., 2001). Die sich hieraus ergebenden praktischen Vorteile sind auch für die Bearbeitung biologischer Proben sehr interessant. Neben der verbesserten zeitlichen Auflösung, die kurze Belichtungszeiten erlaubt, ermöglichen die kurzen Wellenlängen der Synchrotron-Röntgenstrahlung hohe räumliche Auflösungen und damit Pixelgrößen von unter 1 µm. Die an der ESRF erreichbare theoretische Pixel-Auflösung ist mit 0,28 µm inzwischen deutlich dem Lichtmikroskop angenähert und damit hervorragend für anatomische Studien an Insekten geeignet. Tabelle 1 (verändert nach BETZ et al., 2007) zeigt die derzeit erreichbare Auflösung in Abhängigkeit von der Probengröße. Ein dritter praktischer Vorteil der Synchrotronstrahlung ergibt sich aus ihrer starken optischen Kohärenz, was den Übergang in die Phasenkontrast-Bildgebung ermöglicht (z. B. CLOETENS et al., 1997). Dabei hängt die Darstellung nicht mehr allein vom Absorptionskontrast ab, da sich im Übergangsbereich von biologischen Strukturen mit selbst geringen Unterschieden im Absorptionskoeffizienten so genannte Kanteneffekte ergeben. Die Übergangsbereiche („Kanten“) erscheinen durch diese Effekte besonders kontrastreich. Auf diese Weise kann die Darstellung sehr kleiner biologischer Proben, deren innere Strukturen nur geringe Dichteunterschiede aufweisen, sehr verbessert werden.

FreLoN Kamera			Optik – Räumliche Auflösung (µm)						Scan
			0,8	1,5	2	12	17	60	Größe
2048	Keine Zusammenfassung	Pixel-Größe (µm)	0,28	0,70	1,40	5,06	7,46	29,47	8 GB
		Sehfeld (mm)	0,60	1,43	2,87	10,36	15,29	40,00	
	Zusammenfassung	Pixel-Größe (µm)	0,56	1,40	2,80	10,12	14,93	58,95	2 GB
		Sehfeld (mm)	0,60	1,43	2,87	10,36	15,29	40,00	

Tab. 1: Überblick der derzeit für µCT Untersuchungen an der Beamline ID 19 der ESRF (Grenoble) zur Verfügung stehenden Sehfelder und der entsprechenden Pixelgrößen. Beim Zusammenfassen werden jeweils zwei vertikale und zwei horizontale Pixel zu einem Pixel vereint, um das so genannte Rauschen zu reduzieren (verändert nach BETZ et al., 2007).

Das Arbeiten mit auf Synchrotronstrahlung basierenden Mikro-Röntgentomographen ist noch sehr jung und daher noch nicht in der zoologisch-anatomischen Forschung etabliert. Auch die Kenntnis der Methode an sich ist wenig verbreitet. Bisher gibt es kaum publizierte Protokolle zur optimalen Probenvorbereitung oder zur Verbesserung der Arbeitstechnik in den Einrichtungen selbst. Eine umfassende Publikation, welche diese Methode im Zusammenhang mit der Untersuchung morphologischer Strukturen bei Arthropoden ausführlich diskutiert, ist BETZ et al. (2007).

Die von uns untersuchten Objekte (*Gyrophaena fasciata* (Coleoptera, Staphylinidae: Aleocharinae) und *Alicia* sp. (Coleoptera, Chrysomelidae: Galerucinae: Alticini)) wurden in einer 2,5% Glutaraldehydlösung fixiert, über eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert und anschließend Kritisch-Punkt getrocknet. Es erfolgte eine Montage auf einen PVC-Probenhalter, der in einen Probenaufnahmehalter eingespannt und mit einer Strahlenergie von etwa 20,5 keV durchleuchtet wurde. Es wurden bei einer Rotation des Objektes um 180° 1500 Projektionen bei einer Belichtungszeit von je einer Sekunde aufgenommen.

Die mit Hilfe von SR-µCT erhaltenen Daten werden in Grauwerten dargestellt. Die Ansprache verschiedener Gewebetypen innerhalb dieser Datensätze ist daher schwieriger als das Arbeiten mit herkömmlichen Schnittserien, welche differentiell angefärbt werden können (ROMEIS, 1989). Die Orientierung über die Schnittserie hinweg ist hingegen gegenüber der Auswertung von Serienschnitten am Lichtmikroskop stark erleichtert. So stehen zur Auswertung von µCT-Daten eine Reihe sowohl kommerzieller als auch frei erhältlicher Software-Pakete zur Verfügung. Beispielsweise werden bei dem Programm VGStudio Max (Volume Graphics, Heidelberg, Deutschland) vier Einzel Fenster gleichzeitig am Bildschirm dargestellt. Es gibt ein Fenster, in dem das Objekt als 3D Modell angezeigt wird, sowie drei Fenster mit 2D Schnittansichten in

frontaler, axialer und sagittaler Raumrichtung. Weitere Zusatzfunktionen wie etwa der 3D-Zeiger erleichtern die Arbeit, indem die Lage einer Struktur, die in einem dieser Fenster ausgewählt wurde, automatisch in den anderen drei Fenstern markiert und angezeigt wird. Dieses Werkzeug ist beispielsweise hilfreich, um Muskelzüge zu verfolgen sowie Ansatz und Ursprung derselben zu ermitteln.

Auch das in der digitalen Bildverarbeitung als Segmentierung bezeichnete Herausmodellieren einzelner Strukturen, wie etwa des Kreislauf- oder Verdauungssystems ist durch die perfekte Alignierung der virtuellen Schnittserien des zu untersuchenden Objektes wesentlich erleichtert.

## Ergebnisse

Morphologische Studien an Insekten beziehen sich oftmals auf eine detaillierte Untersuchung des gesamten Kopfes oder auf Bereiche desselben. Der Kopf weist ein breites Spektrum an Sinnesorganen, endo- und exoskeletalen Merkmalen, Muskulatur, Gehirndifferenzierungen oder Mundwerkzeugen auf. Die Morphologie der Insekten spiegelt ihre Lebensweise wider, und insbesondere die Kopfstrukturen geben Hinweise auf Lebensraum oder Ernährungsweise. Die Ergebnisse kopfmorphologischer Studien können zudem auf phylogenetischer oder morphologischer Ebene diskutiert werden (z. B. BETZ et al., 2003; BEUTEL & WEIDE, 2005; HÖRNSCHEMEYER et al., 2002).

Im Folgenden sollen zwei Beispiele exemplarisch die Möglichkeiten der SR- $\mu$ CT aufzeigen. Als erstes werden Teilergebnisse einer Studie zur Kopfanatomie von Kurzflügelkäfern (Staphylinidae) angeführt. Zudem werden Resultate aus einer Untersuchung des Sprungmechanismus von „Erdflöhen“ (Chrysomelidae: Galerucinae, Alticini) präsentiert.

**Beispiel 1:** Kopfmuskulatur und Aufbau des Tentoriums von *Gyrophaena fasciata* (MARSHAM) (Coleoptera, Staphylinidae: Aleocharinae)

Folgt man der Nomenklatur von KÉLER (1963), kann man in der Kopfkapsel von Insekten bis zu 66 verschiedene Muskeln, welche die Kopfanhänge und Mundwerkzeuge bewegen, erwarten. Hinzu kommen weitere, die mit dem Verdauungstrakt assoziiert sind. Die folgenden Abbildung (Abb. 1A), in der die Muskulatur weiß hervorgehoben ist, gibt einen Einblick in die Muskelausstattung, die räumliche Anordnung der Muskulatur innerhalb der Kopfkapsel sowie ihren Verlauf bei dem Kurzflügelkäfer *Gyrophaena fasciata*.

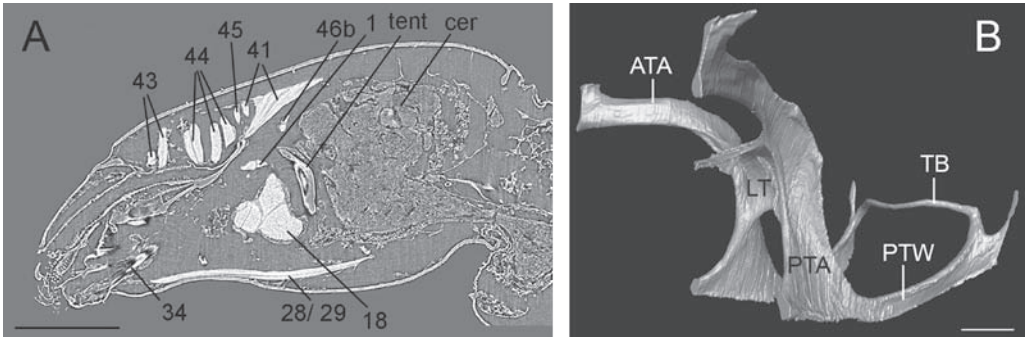


Abb. 1: *Gyrophaena fasciata* (MARSHAM).

(A) aus einem  $\mu$ CT-Datensatz rekonstruierter virtueller Sagittalschnitt des Kopfes. Die Muskulatur wurde nachträglich weiß eingefärbt; ihre Nummerierung folgt dem Schema von KÉLER (1963),

(B) 3D Modell des Tentoriums, erstellt mit amira®.

Abkürzungen: ATA anteriorer Tentorialarm, cer Cerebrum, LT Laminatentorium, PTA posteriorer Tentorialarm, PTW posteriorer Tentorialwall, TB tentoriale Brücke, tent Tentorium, 1 Musculus tentorioscapalis anterior, 18 M. tentoriostipitalis, 28/29 M. submentopraementalis/ M. tentoriopraementalis inferior, 34 M. praementopalpalis externus, 41 M. frontohypopharyngealis, 43 M. clypeopalatalis, 44 M. clypeobuccalis, 45 M. frontobuccalis anterior, 46b Teil des M. frontobuccalis posterior. Messbalken = 100 $\mu$ m.

Nach dem für die Staphylinidae angenommenen Grundplan (vgl. THAYER, 2005) besteht das Tentorium aus einem Laminatentorium mit (i) anterioren, (ii) davon ausgehenden dorsalen sowie (iii) posterioren Tentorialarmen. Diese können mit den Gula-Leisten verschmelzen und eine Art Wall bilden. Weiter hinten

werden sie von der tentorialen Brücke überspannt. Abbildung 1B zeigt anhand eines dreidimensionalen Modells, welches mittels der Software amira® aus einem  $\mu$ CT-Datensatz modelliert wurde, den Aufbau des Tentoriums von *G. fasciata*. Bei dieser Art sind die dorsalen Tentorialarme nicht ausgebildet.

**Beispiel 2:** Der Sprungmechanismus von *Altica* sp. (Coleoptera, Chrysomelidae: Galerucinae: Alticini)

Die „Erdflöhe“ (Tribus: Alticini) stellen eine mehrere Tausend Arten umfassende Gruppe sprunghafter Blattkäfer dar. Der Sprung erfolgt mit den verdickten Hinterschenkeln, wobei die im Femur inserierenden, für den Sprung verantwortlichen Extensormuskeln der Tibia an einem stark vergrößerten Apodem ansetzen, das eine komplizierte dreidimensionale Struktur aufweist (AET in Abb. 2A). Obwohl die Anatomie des Sprungbeines verschiedener Arten mehrfach beschrieben wurde (z. B. BARTH, 1954; FURTH, 1982; MAULIK, 1929), ist der eigentliche Mechanismus der Energiespeicherung kurz vor dem Sprung sowie der plötzlichen Freisetzung von Energie beim Sprung nicht vollständig verstanden. Nach Funktionsmodellen von BARTH (1954) und FURTH (1982) ist daran ein Vorspannmechanismus beteiligt, der in der Ko-Kontraktion der kräftigen Extensor- sowie der schwächeren Flexormuskeln der Tibia besteht. Um die Tibia trotz Kontraktion der kräftigen Extensormuskeln zunächst im gebeugten Zustand halten zu können, ist es aber offenbar erforderlich, dass sich der terminale sklerotisierte Teil der Sehne (SFT in Abb. 2) des Flexormuskels mit der Innenseite des Femurs verzahnt, so dass neben der Ko-Kontraktion des Flexormuskels zusätzlich eine mechanische Sperre resultiert. Diese könnte gemeinsam mit dem ebenfalls kontrahierten Flexormuskel vorerst die Streckung der Tibia verhindern, obwohl der Extensormuskel bereits aktiv ist. Dabei könnte die für den Sprung erforderliche Energie langsam aufgebaut und zunächst in den elastischen Strukturen des Extensorsystems (vor allem der großen Extensorsehne (Abb. 2A)) gespeichert werden. Erst nach Freisetzung der mechanischen Sperre (z. B. nach Erschlaffung des Flexormuskels) könnte die gespeicherte Energie dann katapultartig freigesetzt und in die beobachtete hohe Sprungleistung umgesetzt werden (vgl. SCHMITT, 2004).

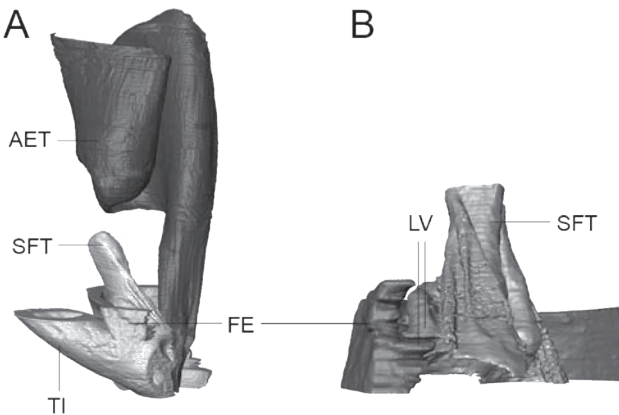


Abb. 2: 3D Modelle des metafemorales Gelenksystems bei *Altica* sp., erstellt mit amira®

(A) Ventralansicht der Anatomie des distalen Abschnitts des Metafemurs. Länge des Apodems des Extensormuskels der Tibia: 360  $\mu$ m.

(B) Lateralansicht des distalen Sklerits der Sehne des Flexormuskels der Tibia. Länge des Sklerits: ca. 80  $\mu$ m. Abkürzungen: AET Apodem des Extensormuskels der Tibia, FE Femur, LV leistenartige Vorsprünge, SFT Sklerit der Sehne des Flexormuskels der Tibia, TI Tibia. Nähere Erklärungen s. Text sowie BETZ et al. (2007).

Abbildung 2 zeigt 3D-Modelle verschiedener Elemente des femuro-tibialen Sprungapparates von *Altica* sp., die wir mit Hilfe von SR- $\mu$ CT-Datensätzen rekonstruiert haben. Dabei konnte unter anderem gezeigt werden, dass das terminale Sklerit der Flexorsehne mit der Innenwand des Femurs über leistenartige Vorsprünge beider Elemente eng verzahnt ist (LV in Abb. 2B). Diese Struktur könnte die Funktion der oben postulierten mechanischen Sperre einnehmen.

### Diskussion und Ausblick

Trotz aller Vorteile der (SR-)  $\mu$ CT sind oftmals histologische Schnittserien als Ergänzung und vor allem zur Validierung der Ergebnisse notwendig. Vor allem die Möglichkeit der differentiellen Anfärbung der Schnitte ermöglicht hier eine eindeutige Gewebszuordnung sowie eine leichtere Orientierung im Schnitt.

Das Anfertigen von Schnittserien führt jedoch zwangsläufig zur „Zerstörung“ des Objektes. Somit können beispielsweise keine quantitativen Analysen anatomischer Unterschiede zwischen verschiedenen Taxa mittels geometrisch morphometrischer Methoden (z. B. ZELDITCH et al., 2004) erfolgen.

Auch eine dreidimensionale Modellierung wird durch die notwendige Alignierung der Schnitte unter genauester Berücksichtigung eventuell verloren gegangener Schnitte erschwert. Die Tabellen 2-3 fassen die Vor- und Nachteile von (SR-)  $\mu$ CT sowie histologischer Schneidetechnik zusammen.

Vorteile	Nachteile
Keine Artefakte im Objekt aus der Methode selbst heraus	„Strahlzeit“ ist begrenzt und wird nur über Anträge zugewiesen
Zeitersparnis	Bilder sind „Grau in Grau“
Keine Alignierung nötig; perfekte Ausrichtung der Schnitte ergibt sich durch die Methode	Mehrere Auswertungsprogramme sollten kombiniert angewandt werden
Weitgehend zerstörungsfrei; daher auch für Museumsmaterial und Einzelfunde geeignet	Technik und kommerzielle Software für die Auswertung teuer
Möglichkeit der Anwendung geometrisch morphometrischer Verfahren im 3D-Bereich	Sichtfenster limitiert maximale Probengröße und deren Auflösung (vgl. Tab.1)
Beliebige Anzahl von Schnittrichtungen auswertbar	
Möglichkeit der 3D-Rekonstruktion	

Tabelle 2: Vor- und Nachteile der (Synchrotron-) Mikro-Röntgentomographie

Vorteile	Nachteile
Räumliche Auflösung bis 0,2 $\mu$ m bei optimaler Schnittdicke (Semidünnschnitte von max. 0,5 $\mu$ m)	Oft Artefakte im Zusammenhang mit Beschädigungen einzelner Schnitte (Stauchungen, Risse, Totalverluste)
Verschiedene Möglichkeiten der differentiellen Anfärbung mit genauer Gewebszuordnung	Einbettungsmedien oft diffizil (Gesundheitsgefährdung, unzureichende Härtung, etc.)
	Zeitintensiv
	Objekte werden immer „zerstört“

Tabelle 3: Vor- und Nachteile histologischer Schneidetechniken

Die derzeit bereits möglichen Pixelauflösungen von bis zu 0,28  $\mu$ m (vgl. Tab. 1) verbunden mit der automatischen Alignierung und 3D-Rekonstruktion kompletter (virtueller) Schnittserien machen die Methode der (SR-)  $\mu$ CT im Bereich der Mikroanatomie ausgesprochen attraktiv und konkurrenzfähig gegenüber der traditionellen Anfertigung von Mikrotom-Dünnschnittserien. So können Schnittserien sowie räumliche Rekonstruktionen ohne zeichnerischen Aufwand originalgetreu und authentisch abgebildet werden, so dass auch Vergleiche zwischen verschiedenen Autoren ohne weiteres möglich werden.

Ein weiterer gravierender Vorteil besteht in der enormen Zeitersparnis. So benötigt die Anfertigung einer Tomographie mit 1500 Projektionen am ESRF weniger als 60 Minuten. Dieser Umstand macht die SR- $\mu$ CT auch zu einem wichtigen Instrument der vergleichenden taxonomischen und phylogenetischen Forschung, da sie das Auffinden und die Beurteilung einer großen Zahl von Merkmalen bei einer Vielzahl von Arten in kurzer Zeit ermöglicht. Dieser Umstand könnte dazu beitragen, die Quantität der für phylogenetische Analysen verfügbaren morphologischen Merkmale deutlich zu erhöhen und damit wieder konkurrenzfähiger gegenüber molekular-phylogenetischen Ansätzen zu machen.

In der Histologie werden die etablierten Methoden der Mikrotomie weiterhin unverzichtbar bleiben, da sie mit Hilfe differentieller Anfärbungen die Ansprache und Analyse verschiedener Gewebetypen bis hin zur histochemischen Identifikation ermöglichen.

Um die Methode der synchrotronbasierten Mikro-Röntgentomographie als innovative Routinemethode etablieren zu können, wird es in Zukunft darauf ankommen, entsprechende Strahlrohre auch an kleineren Synchrotron-Einrichtungen einzurichten und für die zoologisch-morphologische Forschung zugänglich zu machen.

**Danksagung**

Für die Segmentierung der dargestellten 3D-Strukturen danken wir Sebastian Schmelzle und Isabel Koerner. Unser Projekt zur Kopfmorphologie der Staphylinidae wird von der DFG gefördert.

**Literatur**

- BARTH, R. (1954): O aparelho saltatório do Halcineo *Homophoeta sexnotata* Har. (Coleoptera). – Memórias do Instituto Oswaldo Cruz **52** (2): 365-376.
- BETZ, O., THAYER, M. K. & A. F. NEWTON (2003): Comparative morphology and evolutionary pathways of the mouthparts in spore-feeding Staphyloinoidea (Coleoptera). – Acta Zool. (Stockh.) **84**: 179-238.
- BETZ, O., WEGST, U., WEIDE, D., HEETHOFF, M., HELFEN, L., LEE, W.-K. & P. CLOETENS (2007): Imaging applications of synchrotron X-ray phase-contrast microtomography in biological morphology and biomaterial science. I. General aspects of the technique and its advantages in the analysis of millimetre-sized arthropod structure. – J. Microsc. **227**: 51-71
- BEUTEL, R. G. & D. WEIDE (2005): Cephalic anatomy of *Zorotypus hubbardi* (Hexapoda: Zoraptera): New evidence for a relationship with Acercaria. – Zoomorphology **124**: 121-136.
- CLOETENS, P., BOLLER, E., LUDWIG, W., BARUCHEL, J. & M. SCHLENKER (2001): Absorption and phase imaging with synchrotron radiation. – Europhysics News **32** (2): 1-9.
- CLOETENS, P., PATEYRON-SALOME, M., BUFFIERE, J. Y., PEIX, G., BARUCHEL, J., PEYRIN, V. & M. SCHLENKER (1997): Observation of microstructure and damage in materials by phase sensitive radiography and tomography. – J. Appl. Phys. **81** (9): 5878-5886.
- FURTH, D. G. (1982): The metafemoral spring of flea beetles. – Spixiana Suppl. **7**: 11-27.
- HÖRNSCHEMEYER, T., BEUTEL, R. G. & F. PASOP (2002): Head structures of *Priacma serrata* Leconte (Coleoptera, Archostemata) inferred from x-ray tomography. – J. Morph. **252**: 298-314.
- KALENDER, W. A. (2006): Computertomographie. – Publicis Corporate Publishing, Erlangen. 324 pp.
- KÉLER, S. v. (1963): Anhang: Versuch einer einheitlichen morphologischen Terminologie der wichtigsten Muskeln des Insektenkörpers. – Entomologisches Wörterbuch: 638-679.
- MAULIK, F. Z. S. (1929): On the structure of the hind femur in halcine beetles. – Proc. Zool. Soc. Lond. **2**: 305-308.
- RADON, J. (1917): Über die Bestimmung von Funktionen durch ihre Integralwerte längs gewisser Mannigfaltigkeiten. – Ber. Saechs. Akad. Wiss. **29**: 262-277.
- ROMEIS, B. (1989): Mikroskopische Technik. – Urban & Schwarzenberg, München, Baltimore. 697 pp.
- SCHMITT, M. (2004): Jumping flea beetles: structure and performance (Insecta, Chrysomelidae, Alticinae). – In: JOLIVET, P., SANTIAGO-BLAY, J. A. & M. SCHMITT: New developments in the biology of Chrysomelidae. – SPB Academic Publications, The Hague, 61-169.
- THAYER, M. K. (2005): Staphylinidae LATREILLE, 1802. – In: KRISTENSEN, N. P. & R. G. BEUTEL: Handbuch der Zoologie, Band IV, Arthropoda: Insecta, Teilband 38, Coleoptera, Beetles, Vol.1. – De Gruyter, Berlin, 296-344.
- ZELDITCH, M. L., SWIDERSKI, D. L., SHEETS, H. D. & W. L. FINK (2004): Geometric morphometrics for biologists. 1st ed. – Elsevier, Amsterdam. 443 pp.