

B. KLAUSNITZER, Leipzig

## Biochemische Methoden der Arttrennung bei Insekten

**Summary** For the discernment of insect species, twin species and hybrids, which are not readily separable from the standpoint of morphology, biochemical methods increase in importance more and more. First and foremost the investigation of haemolymphproteins and certain enzymes is in principle suitable for this purpose. Prior to application it is necessary to investigate possible dependencies upon, sex, developmental stages, season, organdepending differences and possibly the polymorphism of individual enzymes. There are hitherto only a few starting points for a biochemical classification of intraspecific groupings, the same applies also to the dependence of biochemical parameters upon host plants. If a proper method is available both aspects are considered possible.

**Резюме** В связи с различием морфологически трудно разделяемых видов насекомых, видов-двойников и гибридов в возрастающей мере приобретают значение биохимические методы. Принципиально пригодным является прежде всего исследование гемолимфпротеинов и определенных энзимов. Перед их применением необходимо исследовать возможные зависимости от пола, стадии развития, времени года, а также зависимые от органов различия и, если возможно, полиморфизм отдельных энзимов. Для биохимической классификации внутривидовых группировок пока еще мало отправных точек, также как и для зависимости биохимических параметров от растений-хозяев. При наличии пригодной методики можно считать возможным применение этих двух аспектов.

Wir sind daran gewöhnt, Insektenarten im wesentlichen nur nach morphologischen Merkmalen zu trennen. Dieses Verfahren ist im allgemeinen trotz mancher Schwierigkeiten im Detail das rationellste der zur Zeit verfügbaren. Differentialmerkmale können aber ebenso aus der geographischen Verbreitung, bei Phytophagen aus der Wirtspflanzenbeziehung u. a. gewonnen werden. Der Nachweis stofflicher Charakteristika ist jedoch vergleichsweise sehr aufwendig und erfordert eine entsprechende apparative und substantielle Laborausüstung, außerdem Kenntnisse, die dem Biologen oder Entomologen gewöhnlich nicht im nötigen Umfange zur Verfügung stehen; alles Gründe für eine relativ seltene Anwendung. Andererseits entspricht die Verwendung des stofflichen Aufbaues zur Arttrennung dem schon oft formulierten Konzept der Holomorphie.

Über die Arttrennung hinaus gewinnen biochemische Merkmale zunehmend für die Aufklärung von Differenzierungen im intraspezifischen Bereich besonders bei phytophagen Insekten an Bedeutung, wenn Spezialisierungs- und Einnischungsprozesse noch nicht zur artlichen Trennung geführt haben. Weiterhin können sie zur Aufklärung von Heterozygotien bzw. Hybridformen und zur Erkennung von Zwillingsarten herangezogen werden (bisher

hauptsächlich bei Vertebrata genutzt). Daraus resultiert gerade bei phytophagen Insekten mitunter eine nicht zu unterschätzende praktische Bedeutung biochemischer Untersuchungen. Für die Taxonomie der Pflanzen werden die zahlreich vorhandenen Inhaltsstoffe schon seit längerer Zeit genutzt. Es ist kein Zufall, daß eine ähnliche Methodik bei Tieren bisher vergleichsweise nur wenig zur Anwendung gelangt ist. Dies liegt vor allem daran, daß die Bildung und Anreicherung sekundärer Metabolite bei Pflanzen wegen fehlender Exkretion eine ungleich größere Bedeutung hat, als dies bei Tieren der Fall ist. Bei Tieren spielen z. B. Serumproteine eine große Rolle, die zunächst mit chromatographischen Verfahren aufgetrennt wurden, bis sich später die Elektrophorese als zweckmäßig erwies, die heute gewöhnlich als Disk-Elektrophorese angewendet wird. Für Insekten wird seit 1964 die Mikrodisk-Elektrophorese benutzt (PUN und LAMBROZO). Wie leistungsfähig diese sein kann zeigt, daß es in unserer Arbeitsgruppe möglich war, mit der Körperflüssigkeit einer einzigen Blattlaus bis zu 10 Mikrodisk-Elektrophoresen durchzuführen (HÜTHER und RICHTER 1978). In einer Arbeitsgruppe in Kischinjew stellt man sogar ein Pherogramm auf der Grundlage einer einzigen *Trichogramma* her. Neben der Analyse von Proteinmustern spielt die Unter-

suchung einzelner Enzyme (insbesondere spezifische Aktivität und Isoenzyme) eine zunehmende Rolle, wobei dem Enzymspektrum kaum Grenzen gesetzt sind. Es reicht von Hydrolasen des Verdauungskanal bis zu häufig untersuchten Dehydrogenasen, Phosphatasen und Enzymen der Glykolyse und des Zitratzyklus (KLAUSNITZER et al. 1979). Der Wert solcher enzymologischer Untersuchungen liegt vor allem darin, daß Unterschiede zwischen Populationen an verschiedenen Wirtspflanzen noch vor einer morphologischen Differenzierung an Enzymunterschieden sichtbar werden können. Die Enzymologie bietet jedoch noch weitere Möglichkeiten, wie z. B. die Untersuchung der Evolution einzelner Enzyme an Hand von Sequenzanalysen, die aber wegen ihres doch sehr großen Aufwandes vorläufig nicht praxisrelevant sind, im Gegensatz zu den bereits serienmäßig einsetzbaren elektrophoretischen und photometrischen Methoden.

Zur Auftrennung von Hämolympmphproteinen wurde zunächst die Papierchromatographie eingesetzt, u. a. zur Untersuchung von verschiedenen Blattlausarten. So studierte VARTY (1956) drei Arten der gallbildenden Aphiden-Gattung *Adelges* und die Art *Pineus pini*. Die Chromatogramme der Eier unterschieden sich erheblich von denen der Larven und Imagines. EICHHORN (1958) stellte fest, daß die Unterschiede zwischen den Eiern und den 1. Larvenstadien viel größer sind als zwischen diesen und den späteren Stadien und der Imago. Die Muster des 1., 2. und 3. Larvenstadiums waren sehr ähnlich. Die Ursache dafür liegt in der Zugehörigkeit zu den Hemimetabola, bei holometabolen Insekten bestehen wesentlich größere Unterschiede zwischen Larve und Imago. Bei allen Arten zeigten nach VARTY (1956) die Imagines konstante Fluoreszenz-Farbmuster, unabhängig von der Art der Nahrungspflanze. Für die Arttrennung war aber auch das Chromatogramm der Eier verwendbar. MERKER (1957) untersuchte chromatographisch Exemplare von *Dreyfusia piceae* europäischer und nordamerikanischer Provenienz. Es zeigten sich keine Unterschiede in der Anordnung der Banden und ihrer Farben, obwohl die Art auf den beiden Kontinenten jeweils andere Koniferen als Wirtspflanzen besiedelt. Relativ große Differenzen der Farbkombinationen zeigten sich nach EICHHORN (1958) zwischen den Gattungen *Dreyfusia*, *Pineus*, *Gilletteella*, *Sacchiphantes* und *Adelges*. HALMAGYI (1966) untersuchte vor allem eine größere Zahl verschiedener Aphididae papierchromatographisch und fand neben einer re-

lativ guten Charakterisierung von Gattungen und Arten z. B. bei *Macrosiphum rosae* deutliche Unterschiede zwischen den viviparen und oviparen Weibchen und den Männchen (Abb. 1). Die Geschlechtsunterschiede waren größer als

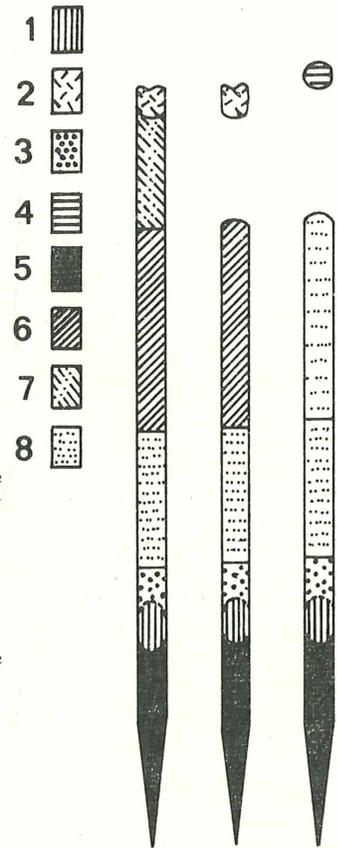


Abb. 1  
Chromatogramme  
von *Macrosiphum  
rosae*  
a) Vivipares ♀  
b) Ovipares ♀  
c) ♂  
nach HALMAGYI  
1966

Erklärung für die  
Farbsymbole:  
1 = zitronengelb  
2 = braungelb  
3 = blau  
4 = rotbraun  
5 = türkisblau  
6 = gelbbraun  
7 = braun  
8 = graublau

die zwischen den beiden Weibchentypen. Ähnliches zeigte sich bei *Drepanosiphum platanooides* und *Aphis fabae*. HALMAGYI untersuchte auch die Variabilität der Chromatogramme, die sich aber bei allen getesteten Arten als ganz unerheblich erwies und in jedem Fall die sichere Identifizierung der Art erlaubte. Auch führte er verschiedene Untersuchungen zur Wirtspflanzenabhängigkeit durch, die durchweg negative Ergebnisse zeigten. Verglichen wurden z. B. *Macrosiphum rosae* von verschiedenen Rosenformen, *Aphis sambuci* von unterschiedlichen Holundervarietäten, *Eucallipterus tiliae* von *Tilia platyphyllos* und *T. chordata*, *Aphis fabae* von *Euonymus* (Celastraceae) und *Deutzia* (Philadelphaceae). Es wird zu prüfen sein, ob die Mikrodisk-Elektrophorese als viel

genauere Methode zur Trennung von Proteinfractionen über die Unterscheidung von Arten hinaus im intraspezifischen Bereich die erhofften Unterschiede bringt.

Elektrophoretische Untersuchungen der Insektenhämolymphe finden sich seit etwa 10 Jahren in der Literatur. So konnte KLIMASCZEWSKI (1974) mit Hilfe elektrophoretischer Untersuchungen die Identität von *Schizolachnus pineti* und *S. obscurus* nachweisen, die bis dahin als valide Arten geführt wurden. Mit der Mikrodisk-Elektrophorese kann man schwer unterscheidbare Arten, beispielsweise aus der Gattung *Aphis*, sicher und schnell diagnostizieren. Die Pherogramme erwiesen sich nach unseren Untersuchungen dann als gut reproduzierbar, wenn Exemplare des gleichen Entwicklungsstadiums verwendet wurden. Für Fragen der Arttrennung, auch der Unterartstruktur, ist es zunächst von untergeordnetem Interesse, um welche Proteine es sich bei den Banden der Pherogramme im einzelnen handelt. Über die Anfertigung von Densitogrammen auf der Grundlage der Pherogramme erscheint eine exakte mathematische Ermittlung der Unterschiede im Proteinmuster verschiedener Arten möglich (Abb. 2). Wir haben beispielsweise sechs verschiedene Blattlausarten etwas näher untersucht (HÜTHER und RICHTER 1978). Es wurden jeweils 20–25 Proteinfractionen nachgewiesen, die sich vier größte-

ren Regionen zuordnen lassen. Bei allen untersuchten Arten liegen die stärksten Banden in der Nähe der Kathode, sie weisen also eine relativ niedrige Mobilität auf. Im einzelnen zeigte sich folgendes Bild: Die deutlichsten Abweichungen zeigt das Pherogramm von *Drepanosiphum platanoides*, der einzigen nicht zu den Aphididae gehörenden untersuchten Art (Fam. Callaphididae). Hier finden sich z. B. zwei Banden vor der ersten starken Fraktion, die Region eins ist relativ schwach ausgeprägt und auch die Regionen zwei und drei weisen deutliche Differenzen sowohl hinsichtlich der Bandenzahl als auch deren Intensität auf. Möglicherweise ist die Tatsache, daß im Gegensatz zu allen anderen Arten hier geflügelte Exemplare untersucht wurden, wesentlich für diesen Befund ausschlaggebend. Sowohl *Macrosiphoniella oblonga* als auch *Microlophium evansi* unterscheiden sich deutlich von den drei *Aphis*-Arten (*fabae*, *acetosae* und *sambuci*), die sich als recht einheitliche Gruppe abzeichnen (Abb. 3).

Die elektrophoretische Untersuchung von Hämolympheproteinen kann auch zur Erkennung von Zwillingarten verwendet werden. Als Beispiel sollen zwei *Latrodectus*-Arten herangezogen werden (McCRONE 1967), aber auch bei phytophagen Insekten dürfte die Kennzeichnung von Zwillingarten nicht nur theoretisches Interesse haben, sondern erhebliche Praxisrelevanz. Die morphologisch überhaupt nicht trennbaren Arten *L. mactans* und *L. variolus* weisen deutliche Unterschiede der Pherogramme auf (Abb. 4).

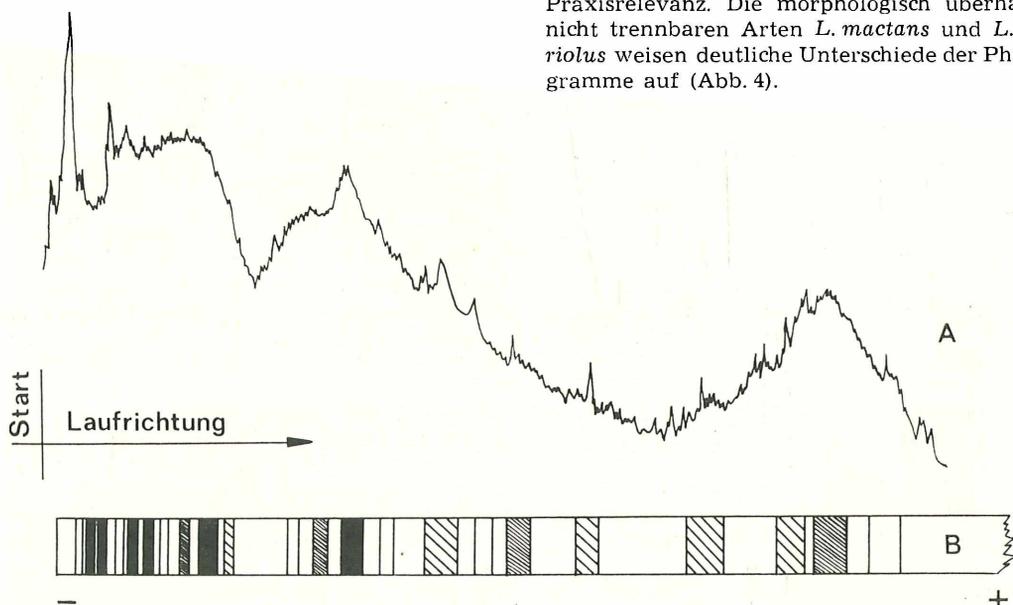


Abb. 2 Densitogramm und umgezeichnetes Pherogramm von *Macrosiphoniella tanacetaria*, nach HÜTHER und RICHTER 1978.

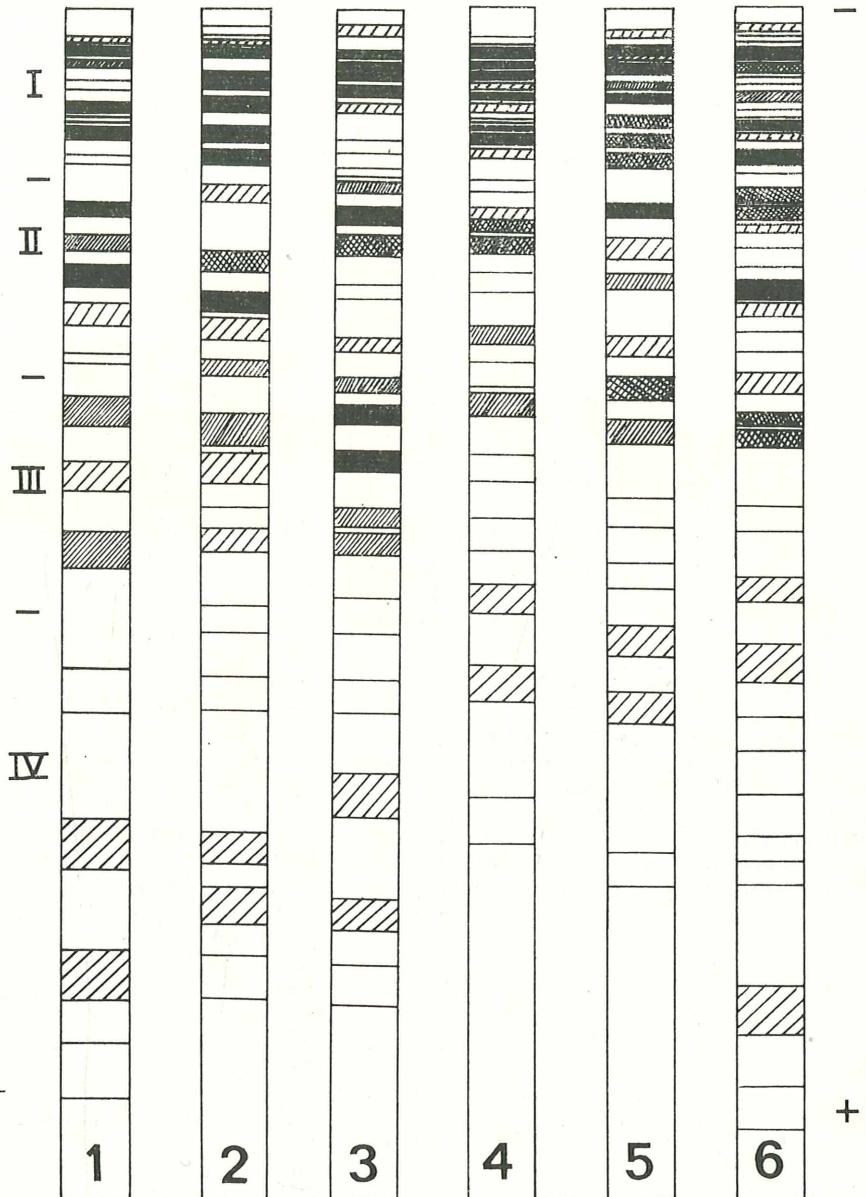


Abb. 3  
Pherogramme von  
*Macrosiphoniella*  
*oblonga* (1), *Micro-*  
*lophium evansi* (2),  
*Aphis fabae* (3),  
*A. acetosae* (4),  
*A. sambuci* (5) und  
*Drepanosiphum*  
*platanoides* (6).  
Laufrichtung von  
Katode (-) zu  
Anode (+). Die römi-  
schen Ziffern be-  
zeichnen die einzel-  
nen Regionen. nach  
HÜTHER und  
RICHTER 1978.

Bei der Deutung von Pherogrammen sind auch solche Erscheinungen zu beachten, wie Unterschiede zwischen „jungen“ und „alten“ Flugmuskeln bei verschiedenen Insekten (BEE-NAKKERS et al. 1975; ROBINSON und GOLDSWORTHY 1977).

Viel genauere Resultate lassen — wie bereits angedeutet — die Untersuchungen einzelner

Enzyme erwarten. So testeten TOMIUK et al. (1979) 20 verschiedene Enzymsysteme, von denen die besten Ergebnisse durch folgende geliefert wurden: Malatenzym, Glucose-Phosphat-Isomerase, Malatdehydrogenase 1 und 2, Glucose-Phosphat-Mutase und  $\alpha$ -Glycerin-Phosphat-Dehydrogenase an fünf Blattlausgattungen mit 43 Arten und erhielten deutliche

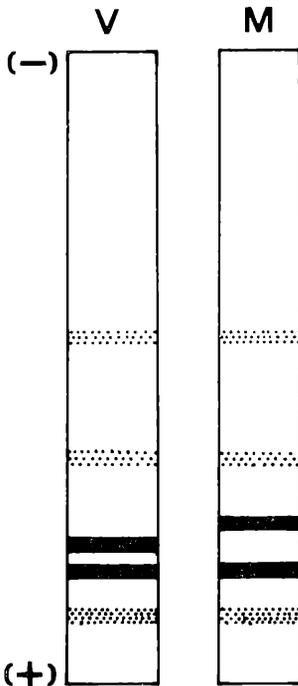


Abb. 4  
Pherogramm der  
Hämolympfproteine  
von *Latroectus*  
*variolus* (links) und  
*L. mactans* (rechts),  
nach McCrone 1967.

Unterschiede durch charakteristische Isoenzyme. Es zeigte sich ferner, daß meist die unterschiedliche Mobilität eines einzelnen Enzyms genügt, um artspezifische Unterschiede zu demonstrieren (Abb. 5). Andererseits konnten mit den getesteten Enzymen die *Brachycaudus*-Arten nicht getrennt werden, obwohl es gerade für diese morphologisch schwierig diagnosti-

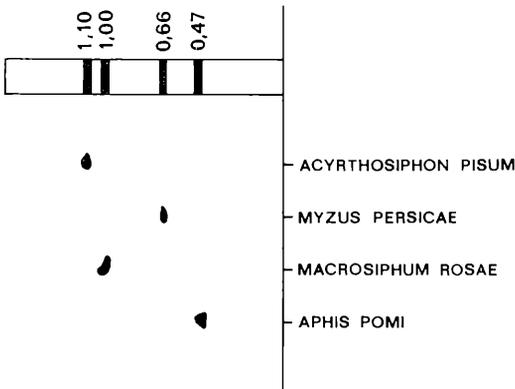


Abb. 5 Unterschiedliche Mobilität der Glukose-Phosphat-Isomerase bei verschiedenen Blattlausarten (*Macrosiphum rosae* = 1,00), nach TOMIUK et al. 1979.

zierbaren Arten wünschenswert gewesen wäre. Dennoch gibt es Ansätze zur Trennung morphologisch schwierig unterscheidbarer Arten und auch zur Bildung von Artengruppen. Von den 11 von TOMIUK et al. untersuchten *Aphis*-Arten ließen sich an Hand der relativen Mobilität der Glucose-Phosphat-Isomerase (bezogen auf *Macrosiphum rosae* = 1,00) einige eindeutig charakterisieren: *A. umbrella* (0,55), *A. urticata* (0,66), *A. pomi* (0,48), *A. salicaria* (0,52), *A. sambuci* (0,75) und Glucose-Phosphat-Mutase 0,48 oder 0,34). Keine Unterschiede gab es zwischen *A. frangulae* und *A. grossularia* (jeweils 0,87) einerseits und *A. solanella*, *A. rumicis* und *A. fabae* (jeweils 0,75) andererseits. *A. schneideri* ist durch Malatdehydrogenase 2 (0,5) zu unterscheiden.

Unter den zur Arttrennung herangezogenen Enzymen sind Esterasen von vielen Autoren bevorzugt worden, so z. B. für *Drosophila* von WRIGHT (1961, 1963), KNOWLES und FRISTRUM (1967) und OGITA (1961), für *Pieris* von CLEMENTS (1967), für Lycaenidae von BURNS und JOHNSON (1971). Außerdem existieren Arbeiten, die sich mit dem Polymorphismus von Esterasen (Auftreten von Isoenzymen) in Abhängigkeit von der geographischen Herkunft der Tiere befassen (Lycaenidae, BURNS und JOHNSON 1971). Noch viel mehr in die Tiefe gehend geschahen solche Untersuchungen an *Drosophila* (HUBBY und THROCKMORTON 1965, AYALA und POWELL 1972, BULMER 1973, JOHNSON 1973). SASAJI und OHNISHI (1973) untersuchten eine große Zahl von Coccinellidenarten mit Hilfe der Disk-Elektrophorese. Dabei zeigte sich, daß die Isoenzym-Banden der untersuchten Esterase bei fast allen Arten stabile, reproduzierbare Bilder zeigten, außer in der Gattung *Harmonia*. Bei *Harmonia axyridis* und *H. yedoensis* wurde eine große intraspezifische Variation angetroffen, beide Arten werden als Zwillingarten angesehen, die aber im Larvenstadium auch morphologisch trennbar sind. Als Imagines sind sie nicht unterscheidbar und natürlich völlig genetisch voneinander isoliert. Interessant ist nun, daß das Grundmuster der Banden bei einzelnen Individuen beider Arten zwar erkennbar bleibt, jedoch ein deutlicher Polymorphismus vorliegt (Abb. 6). *H. yedoensis* ist durch  $M_2$  und  $F_1$  charakterisiert, *H. axyridis* durch  $M_1$ . Das Beispiel soll zeigen, wie vorsichtig die Interpretation solcher Pherogramme zu erfolgen hat und daß die artcharakteristische Bandenstruktur an einem möglichst großen Material unterschiedlicher Provenienz herauszuarbeiten ist, wie es in der Morphologie ja auch üblich ist.

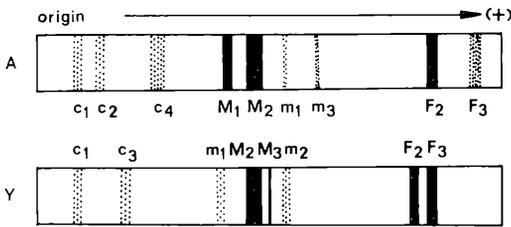


Abb. 6 Pherogramm mit den Isoenzymbanden einer Esterase von *Harmonia axyridis* (oben) und *H. yedoensis* (unten), nach SASAJI und OHNISHI 1973.

Polymorphismus verschiedener Esterasen ist auch aus Freiland-Populationen von *Locusta migratoria migratorioides* bekannt (CURRY 1977). Die im einzelnen sehr komplizierten Befunde werden noch durch Sexualdimorphismus und Saisonabhängigkeiten überlagert.

FERRAN et al. (1976) untersuchten 19 verschiedene Enzyme aus den Speicheldrüsen und dem Verdauungskanal von *Anisochrysa carnea* und *Chrysopa perla*. Bei einer Reihe von Enzymen wurden Artunterschiede in der Aktivität und auch Unterschiede zwischen Larven und Imagines, aber auch zwischen den Geschlechtern gefunden. Die Aktivitätsmessungen von *A. carnea*-Larven, die auf synthetischer Diät gezogen wurden, unterschieden sich nicht von natürlich ernährtem Material.

Weil Parallelen zu phytophagen Insekten möglich scheinen, sei auf ein Ergebnis von HYLLE-

BERG (1976) hingewiesen, der bei 3 sehr ähnlichen *Hydrobia*-Arten spezifische Glykosidaseaktivitäten sowie Trypsin- und Lysozym-ähnliche Aktivitäten von Enzymrohextrakten untersuchte. Für die 3 Arten ermittelt er identische qualitative Spektren mit signifikanten quantitativen Unterschieden (Abb. 7), die er im Zusammenhang mit der Nahrung und der Mikronischenrealisierung diskutiert.

Die Eignung von verschiedenen Proteasen aus dem Verdauungstrakt zur Artunterscheidung wird durch die Untersuchung von GROGAU und HUNT (1977) an *Paravespula germanica* und *P. maculifrons* wahrscheinlich. Außer den angeführten Stoffgruppen eignen sich noch weitere für eine biochemische Arttrennung. So fanden GREENWAY und GRIFFITHS (1973) und GREENWAY et al. (1974) Unterschiede in den Triglyceriden von *Aphis evonymi* in Abhängigkeit von den Morphen und auch zwischen den Aphiden verschiedener Familien mit dem Massenspektrometer. So wiesen die sommerlichen Viviparen (Alatae und Apteræ) von *Aphis evonymi* und *A. fabae* hohe Werte von Myristinsäure (C<sub>14</sub>) und Palmitinsäure (C<sub>16</sub>) auf, während bei den Frühjahrsformen (Fundatrices und Fundatrigenien) Myristinsäure dominierte.

Wie groß die Palette weiterer geeigneter Stoffe ist, zeigt sehr eindrucksvoll die Arbeit von DETTNER (1977) zur Chemotaxonomie der Dyctiscidae, die bezüglich der Stoffklassen teil-

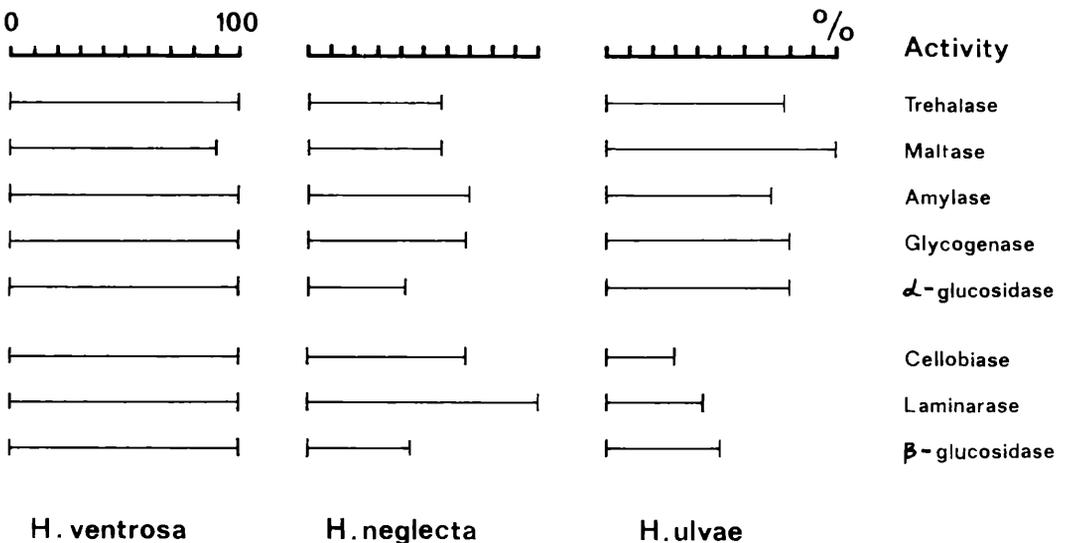


Abb. 7 Relative Enzymaktivitäten von 3 Arten der Gattung *Hydrobia*, nach HYLLEBERG 1976.

weise auch auf phytophage Insekten übertragbar sein dürfte. Untersucht wurde eine Fülle organischer Substanzen, insbesondere verschiedene aromatische Säuren, Aldehyde und Sesquiterpene (Massenspektroskopie, Dünnschichtchromatographie, UV-Spektrometrie). Wegen der Allgemeingültigkeit sei ein Zitat DETTNERs gebracht: „Die Chemotaxonomie versucht aufgrund des Vorkommens und der Verbreitung charakteristischer Inhaltsstoffe von Organismen unter Bezug auf die Ergebnisse der klassischen taxonomischen Befunde Aussagen über natürliche Verwandtschaften zu treffen. Wenn die konvergente Entstehung derselben Substanz infolge unterschiedlicher Biosynthesewege ausgeschlossen werden kann, weisen nämlich gleiche Verteilungsmuster von Naturstoffen auf gleiche Reaktionssequenzen, Enzymarnituren und Gene hin.“ „Die größte, meist unlösbare Schwierigkeit besteht darin, chemische Konvergenzen auszuschließen oder nachzuweisen, daß dieselbe Substanz biogenetisch auf verschiedenen Wegen entstehen kann. In diesem Zusammenhang ist als allgemeines Prinzip lediglich von Bedeutung, daß chemisch einfach gebaute Moleküle in der Regel eher mehrmals unabhängig entstehen können als komplizierte zusammengesetzte Verbindungen.“

Aus den Beispielen, die keinerlei Vollständigkeitsanspruch erheben wollen, sollen folgende generelle Schlußfolgerungen zur Anwendung biochemischer Methoden für die Arttrennung bei Insekten gezogen werden:

1. Die Untersuchung von Hämolympfproteinen und bestimmten Enzymen ist zur Arttrennung prinzipiell geeignet.
2. Die Anwendung wird sich wegen der spezifischen Methodik auf solche Fälle konzentrieren wie morphologisch sehr schwer trennbare Arten, Zwillingarten und Hybride.
3. Es sind sorgfältig solche möglichen Erscheinungen wie Sexualdimorphismus, Abhängigkeit von Entwicklungsstadien, organabhängige Unterschiede, jahreszeitliche Abhängigkeiten und evtl. Polymorphismus einzelner Enzyme (Auftreten von Isoenzymen) zu beachten.
4. Für eine biochemische Aufgliederung von intraspezifischen Gruppierungen gibt es bisher wenig Ansatzpunkte, ebenso für eine Wirtspflanzenabhängigkeit biochemischer Parameter. Beides wird bei geeigneter Methodik für möglich gehalten.

## Literatur

- AYALA, F. J., und J. R. POWELL (1972): Allozymes as diagnostic characters of sibling species of *Drosophila*. Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 1094 bis 1096
- BEENAKKERS, A. M. TH., VAN den BROEK, A. TH. M., und TH. J. A. de RONDE (1975): Development of Catabolic Pathways in Insect Flight Muscles. A Comparative Study. J. Insect Physiol., 21, 849–859. Pergamon Press
- BULMER, M. G. (1973): Geographical uniformity of protein polymorphisms. Nature 241, 199 bis 200
- BURNS, J. M., und F. M. JOHNSON (1971): Esterase polymorphism in the butterfly *Hemiarctia isola*: stability in a variable environment. Proc. Nat. Acad. Sci. 68: 34–37
- CLEMENTS, A. N. (1967): A study of soluble esterases in *Pieris brassicae* (Lepidoptera). J. Ins. Physiol. 13, 1021–1031
- CURRY, P. J. (1977): Esterase polymorphism in a field population of the African migratory Locust *Locusta migratoria migratorioides*. J. Insect Physiol., 23, 405–414. Pergamon Press
- DETTNER, K. (1977): Ökophysiologische und chemotaxonomische Untersuchungen an Hand der Pygidialdrüsen-Systeme der Dytisciden (Hydradephaga). Diss. Fachbereich Biol. Univ. Hohenheim
- EICHHORN, O. (1958): Morphologische und papierchromatographische Untersuchungen zur Arttrennung in der Gattung *Dreyfusia* C. B. (Adelgidae). Z. ang. Ent., 42, 278–283
- FERRAN, A., BIGLER, F., und J.-P. LYON (1976): Etude des activités enzymatiques des glandes salivaires et des intestins de trois insectes prédateurs de pucerons: *Chrysopa carnea* STEPH., *Chrysopa perla* (Nevroptères: Chrysopidae) et *Semiadalia 11-notata* SCH. (Col., Coccinellidae). Ann. Zool.-Ecol. anim 8, 513–521
- GREENWAY, A. R., und D. C. GRIFFITHS (1973): A comparison of Triglycerides from Aphids and their Cornicle Secretions. J. Insect Physiol., 19, 1649–1655. Pergamon Press
- GREENWAY, A. R., GRIFFITHS, D. C., FURK, C., und R. N. B. PRIOR (1974): Composition of Triglycerides from Aphids of six different families and from different seasonal forms of *Aphis evonymi*. J. Insect Physiol., 20, 2423 bis 2431. Pergamon Press
- GROGAN, D. E., und J. H. HUNT (1977): Digestive proteases of two species of Wasps of the genus *Vespa*. Insect Biochem., 7, 191–196. Pergamon Press
- HALMÁGYI, L. (1966): The applicability of paper chromatography in the taxonomy of Aphids (Aphidoidea). Acta Zool. Acad. Sc. Hung., 12, 83–97
- HUBBY, J. L., und L. H. THROCKMORTON (1965): Protein differences in *Drosophila*. II. Comparative species genetics and evolutionary problem. Genetics 53, 203–215

- HÜTHER, G., und K. RICHTER (1978): Die Mikrodisk-Elektrophorese als Methode zur Untersuchung taxonomischer und ökologischer Fragestellungen am Beispiel einiger Aphidina. Ent. Nachr., 22, 169–175
- HYLLEBERG, J. (1976): Resource Partitioning on Basis of Hydrolytic Enzymes in Deposit-Feeding Mud Snails (Hydrobiidae). Oecologia (Berl.), 23, 115–125
- JOHNSON, G. B. (1973): Relationship of enzyme polymorphism to species diversity. Nature 242, 193–194
- KLAUSNITZER, B., EBERT, W., JACOB, U., und K. RICHTER (1979): Zur Anwendung neuerer Methoden der Determination in der Zoologie. Biol. Rdsch., 17, 183–193
- KLIMASZEWSKI, S. A. (1974): The identity of *Schizolachnus pineti* (F.) and *Sch. obscurus* BÖRNER (Hom., Lachnidae). Pr. Nauk. Univ. Slask Katowicuch, 145, 85–95
- KNOWLES, B. B., und J. W. FRISTROM (1967): The electrophoretic behaviour of ten enzyme systems in the larval integument of *Drosophila melanogaster*. J. Insect Physiol., 13, 731–737. Pergamon Press
- MCCRONE, J. D. (1967) Biochemical differentiation of the sibling black widow spiders, *Latroctes mactans* and *L. variolus*. Psyche, 74, 212–216
- MERKER, E. (1958): Chromatographische Artbestimmung von Tannenläusen der Gattung *Dreyfusia*. Naturwissenschaften, 45, 118–119
- OGITA, Z. (1961): Genetical relationship between ali-esterase activity and insecticide-resistance in *Drosophila melanogaster* IV. Botyu-Kagaku, 26, 93–97
- PUN, J. Y., und K. LAMBROZO (1964): Micro-electrophoresis of brain and pineal protein in polyacrylamide gel. Analyt. Biochem., 9, 9–20
- ROBINSON, N. L., und G. J. GOLDSWORTHY (1977): Adipokinetic hormone and the regulation of Carbohydrate and Lipid metabolism in a working flight muscle preparation. J. Insect Physiol., 23, 9–16. Pergamon Press
- SASAJI, H., und E. OHNISHI (1973): Disc Electrophoretic Study of Esterase in Ladybirds. Mem. Fac. Edu., Fukui Univ., Ser. II, Nat. Sci., No. 23
- TOMIUK, J., WÖHRMANN, K., und K. A. EGGER-SCHUMACHER (1979): Enzyme patterns as a characteristic for the identification of aphids. Z. ang. Ent., 88, 440–446
- VARTY, I. W. (1956): *Adelges* insects of silver firs. Forestry Comm. Bull., Edinburgh, No. 26, 75
- WRIGHT, T. R. F. (1961): The genetic control of an esterase in *Drosophila melanogaster*. Amer. Zool., 1, 476
- WRIGHT, T. R. F. (1963): The genetics of an esterase in *Drosophila melanogaster*. Genetics, 48, 787–801

Anschrift des Verfassers:  
Doz. Dr. sc. nat. Bernhard Klausnitzer  
Sektion Biowissenschaften  
der Karl-Marx-Universität  
Bereich Taxonomie/Ökologie  
DDR – 7010 Leipzig, Talstraße 33

D. BRAASCH, Potsdam und T. SOLDAN, Prag

## Neue Heptageniidae (Ephemeroptera) aus Asien III

**S u m m a r y** The males of *Epeiron uzbekistanicus* n. sp. and *Ecdyonurus pallidus* n. sp. from the Uzbekh Soviet Socialist Republic (Central Asia) as well as one male of *Epeiron kashmiriensis* n. sp. from India, Kashmir, are described.

**Р е з ю м е** Описываются самцы *Epeiron uzbekistanicus* n. sp. и *Ecdyonurus pallidus* n. sp. из Узбекской ССР (Средняя Азия) и самец *Epeiron kashmiriensis* n. sp. из Индии, Кашмир.

In den vorangegangenen Beiträgen (BRAASCH & SOLDAN, 1979 und 1980) wurden einige Arten der Gattungen *Cinygmula* und *Iron* sowie ein Vertreter der Gattung *Epeorus* behandelt. In der Aufsammlung von SOLDAN 1980 in Mittelasien fand sich überraschenderweise ein

*Epeiron* DEMOULIN, der sich deutlich von *E. amseli* DEMOULIN aus Afghanistan unterscheidet. Dieser Sachverhalt gab Anlaß zu einem Typenstudium der letzterwähnten Art, das uns freundlicherweise durch Dr. ROESLER, Karlsruhe (BRD), ermöglicht worden ist. Da-

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Entomologische Nachrichten und Berichte](#)

Jahr/Year: 1982

Band/Volume: [26](#)

Autor(en)/Author(s): Klausnitzer Bernhard

Artikel/Article: [Biochemische Methoden der Arttrennung bei Insekten 18-25](#)