

Entomologische Nachrichten

Herausgegeben vom Bezirksfachausschuß Entomologie Dresden
des Kulturbundes der DDR,
zugleich Organ der entomologischen Interessengemeinschaften
der AG Faunistik der Biologischen Gesellschaft der DDR

Band 22

Dresden, am 15. November 1978

Nr. 11

Die Mikrodisk-Elektrophorese als Methode zur Untersuchung taxonomischer und ökologischer Fragestellungen am Beispiel einiger *Aphidina*

G. HÜTHER und K. RICHTER, Leipzig

Elektrophoretische Untersuchungen der Insektenhämolymph gewinnen seit etwa 10 Jahren mehr und mehr an Bedeutung. Obwohl mit dieser Technik bisher überwiegend Probleme der Physiologie der Insektenmetamorphose bearbeitet wurden (VAN DER GEEST und BORGSTEEDE, 1969; WÜLKER et al., 1969; EMMERICH, 1970; TOBE und LOUGHTON, 1970; u. a.), liegen auch erste taxonomische Ergebnisse vor. So konnte KLIMASZEWSKI (1976) mit Hilfe elektrophoretischer Untersuchungen die Identität von *Schizolachnus pineti* (F.) und *S. obscurus* BÖRNER nachweisen, die bis dahin als valide Arten geführt wurden.

Die Grenzen der herkömmlichen Methoden, auch der Disk-Elektrophorese, bei den Wirbellosen lagen bisher vor allem in der relativ großen erforderlichen Serum- bzw. Hämolymphmenge, die, zumindest bei kleineren Arten, kaum die Untersuchung einzelner Individuen gestattete. Durch Verringerung des inneren Durchmessers der Trennröhrchen können inzwischen Proteingemische im Nanogrammbereich (10–100 ng) reproduzierbar aufgetrennt werden (PUN und LAMBROZO, 1964; GROSSBACH, 1965; NEUHOFF, 1973; HÜTHER und ANDRÁ, im Druck). Mit diesem Beitrag wird der Einsatz der Mikrodisk-Elektrophorese mit anschließender densitometrischer Auswertung der Pherogramme zur taxonomischen Bearbeitung kleiner Insektenarten am Beispiel der Hämolymphuntersuchung einiger Aphidenarten vorgestellt.

Material und Methoden

Für die Untersuchungen wurden adulte, parthenogenetische Weibchen folgender Arten aus dem Stadtgebiet von Leipzig verwendet (Nahrungspflanzen in eckigen Klammern): *Macrosiphoniella tanacetaria* (KALTENBACH) [Tanacetum vulgare], *M. oblonga* (MORDVILKO) [Artemisia vulgaris], *Microlophium evansi* (THEOBALD) [Urtica dioica], *Aphis fabae* SCOPOLI [Vicia faba, Cirsium arvense], *A. acetosae* L. [Rumex acetosa], *A. sambuci* L.

[*Sambucus nigra*] und *Drepanosiphum platanoides* (SCHRANK) [Acer platanoides, geflügelte Tiere].

Das gesamte Material wurde am gleichen Tag (Ende Juni) gesammelt. Nach etwa 5stündigem Hungern wurden einzelne Exemplare mit 10 μ l Phosphat-Puffer (0,1 M, pH 7,4) zwischen zwei planen Glasscheiben angedrückt, der Proteinextrakt mit einer Kapillare aufgenommen und 60 min bei 10 000 g und $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ zentrifugiert. Die Aufbewahrung erfolgte eingeschmolzen bei $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Als Trennröhrchen für die Elektrophorese dienten Thermometerkapillaren mit einem inneren Durchmesser von 300 μm und 27 mm Länge. Sammelgel (5prozentig) und Trenngel (20prozentig) entsprachen den Originalvorschriften von NEUHOFF (1973). Das pro Gel aufgetragene Probenvolumen betrug 0,1–0,3 μl . Die Elektrophorese erfolgte bei 60 V (Anfangsstromstärke etwa 40 μA), 30 min, Elektrodenpuffer 50 mM Tris/Glycin, pH 8,4, Färbung mit Amidoschwarz B, Differenzierung etwa 5 min in 7,5prozentiger Essigsäure. Detaillierte Angaben zur Vorbereitung der Kapillaren, Beschickung, Elektrophoresekammern, Stromversorgung, Gelherstellung, -entnahme und -nachbehandlung sind an anderer Stelle ausführlich beschrieben (HÜTHER und ANDRÁ, im Druck).

Die qualitative Auswertung wie auch die photographische Dokumentation erfolgten unter dem Stereomikroskop. Die densitometrische Registrierung der Bandenmuster wurde mit einem Zeiss-Schnellphotometer G II und Kompensationsschreiber unter Zwischenschaltung eines modifizierten TEC-1 (Extinktionsmeßwandler, alles VEB Carl-Zeiss-Jena) durchgeführt (vgl. Abb. 1).

Ergebnisse und Diskussion

Die nach der beschriebenen Methode erzielten Pherogramme sind in Abb. 2 zusammengestellt. Je nach Art lassen sich 20 bis 25 Proteinfractionen nachweisen, die sich in vier größere Regionen einteilen lassen (Abb. 2). Die Pherogramme erweisen sich als relativ gut reproduzierbar und sind in jedem Fall eindeutig einer Art zuzuordnen, wobei schwache Unterschiede in den Intensitäten einiger Banden, vor allem in der zweiten und dritten Region, auftreten können. Bei *Aphis fabae* verhinderte die Herkunft von verschiedenen Nahrungspflanzen (*Vicia faba* und *Cirsium arvense*) trotz geringfügiger Differenzen die Artzuordnung nicht.

Die durchschnittliche Mobilität der Proteine unterschiedlicher Proben unterscheidet sich wohl hauptsächlich aufgrund differenter Proteinkonzentrationen. Bei allen untersuchten Arten liegen die stärksten Banden in der Nähe der Katode, weisen also eine relativ niedrige Mobilität auf. Recht konstant sind die wenigen Fraktionen mit hoher Mobilität. Artliche Unterschiede finden sich vor allem in den Regionen 1–3. Die deutlichsten Abweichungen zeigt das Pherogramm von *Drepanosiphum*, 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 1 ist relativ schwach ausgeprägt und auch die Regionen zwei und drei weisen deutliche Differenzen sowohl hinsichtlich der Bandenzahl als auch

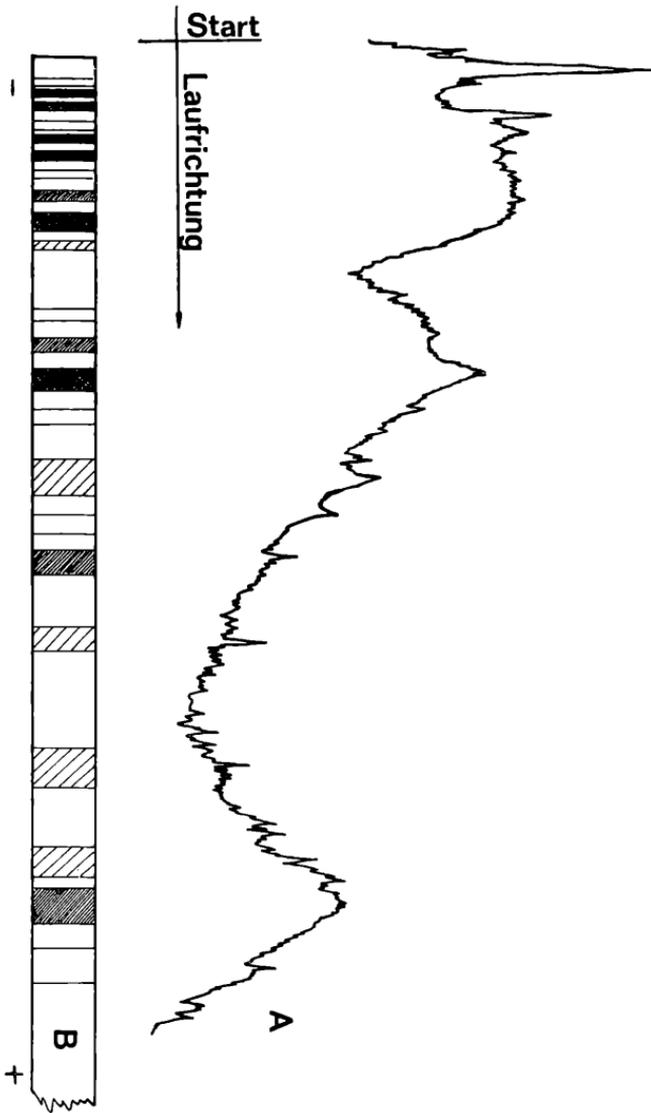


Abb. 1: Densitogramm (A) und umgezeichnetes Pherogramm (B) von *Macrosiphonia tanacetaria* (vgl. Text).

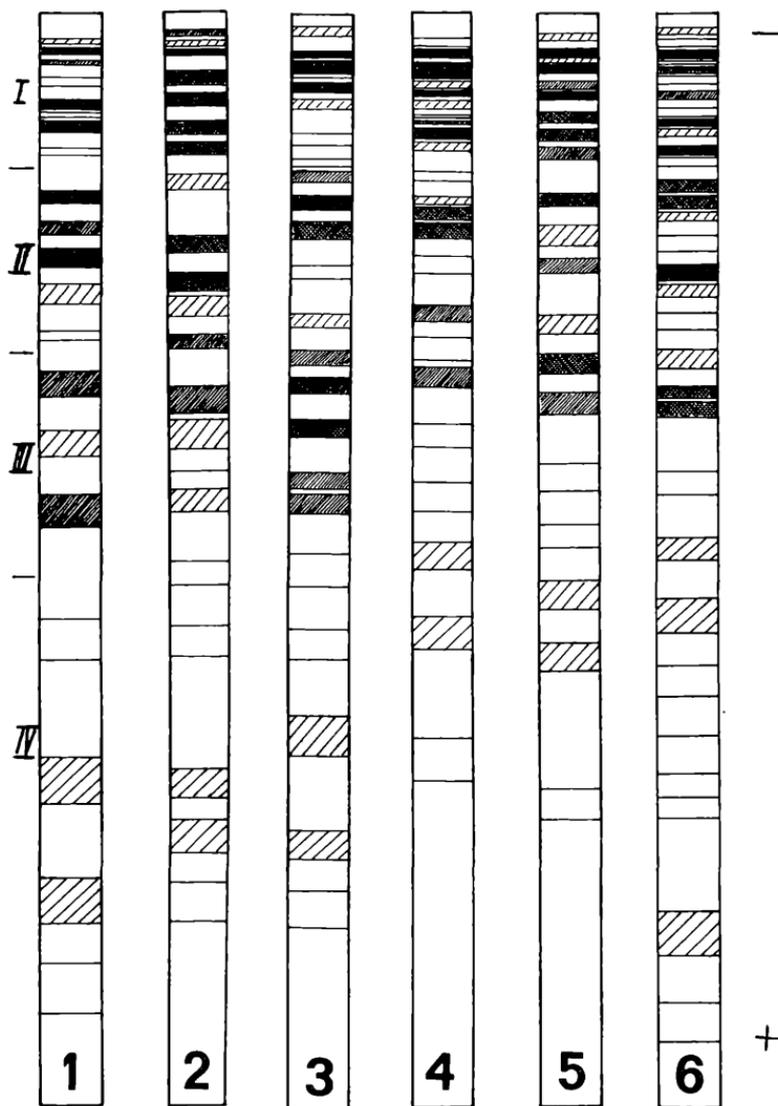


Abb. 2: Pherogramme von *Macrosiphoniella oblonga* (1), *Microlophium evansi* (2), *Aphis fabae* (3), *A. acetosae* (4), *A. sambuci* (5) und *Drepanosiphum platanoides* (6). Laufrichtung von Katode (-) zu Anode (+). Die römischen Ziffern bezeichnen die einzelnen Regionen.

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* als auch *Microlophium* unterscheiden sich deutlich von den drei *Aphis*-Arten, die sich als recht einheitliche Gruppe abzeichnen. Die Differenzen zwischen beiden *Macrosiphoniella*-Arten (vgl. Abb. 1) sind größer als innerhalb der Gattung *Aphis*. Insgesamt stimmen die vorliegenden Befunde mit der üblichen Systematik der *Aphidina* überein. In Anbetracht des geringen bisher untersuchten Materials ist es verfrüht, über Fragen etwa subgenerischer Strukturen zu spekulieren.

Die Methode hingegen erscheint zur Klärung derartiger Probleme durchaus geeignet. Es versteht sich dabei von selbst, daß zu derartigen vergleichenden Untersuchungen nur Individuen des gleichen Entwicklungsstadiums herangezogen werden können. Die großen Unterschiede im Proteinhinhalte in Abhängigkeit vom Metamorphosestadium wurden bereits durch verschiedene Autoren überzeugend nachgewiesen (DUKE und PANTELOURIS, 1963; CHEN und LEVENBOOK, 1966; VAN DER GEEST und BORGSTEEDE, 1969; EMMERICH, 1970; TOBE und LOUGHTON, 1970; u. v. a.). Gleichmaßen ist es für taxonomische Fragestellungen zunächst von untergeordnetem Interesse, um welche Proteine es sich bei den Banden der Pherogramme im einzelnen handelt. Einige Autoren beschreiben albumin- bzw. globulinähnliche Fraktionen (CLARK und BALL, 1956; WHITTAKER und WEST, 1962; SIAKOTOS, 1960), während andere keine entsprechenden Proteine nachweisen konnten (KRIEG, 1965; CHEN, 1959; CHEN und LEVENBOOK, 1966; u. a.). Für viele Hämolympheproteine konnten bereits enzymatische Aktivitäten und Transportfunktionen nachgewiesen werden (rev. in CHEN, 1971). Eine exakte Zuordnung enzymatischer Funktionen könnte sich vor allem für ökologische Untersuchungen als wertvoll erweisen, zumal hier gerade für Aphiden umfangreiches Material über den Zusammenhang von Enzymaktivität und Umwelt vorliegt (RICHTER, in Vorber.). Durch die weitere Entwicklung und Standardisierung der vorgestellten Methode ist eine exakte mathematische Ermittlung des Unterschiedes im Hämolympheproteinmuster verschiedener Arten vorgesehen (RICHTER, HÜTHER und KLAUSNITZER, in Vorber.).

S u m m a r y

The micro disc electrophoresis as a method to study taxonomic and oecologic problems at the example of some aphids.

The use of a micro disc electrophoretic method for researching taxonomic and oecologic problems is described at the example of haemolymph protein patterns of some aphids. 20–25 protein bands could be detected for each species, the pherograms being rather well reproductive, if specimens of the same metamorphotic stage (adult parthenogenetic females) were used. The differences between three investigated species of the genus *Aphis* are weakly compared with those between the genera *Macrosiphoniella*, *Micro-*

lophium and *Aphis*. The most distinguishing pattern was found for *Drepanosiphum*, a member of an other family. It seems possible to standardize the method to get exact mathematical values for the haemolymph differences between species.

Резюме

Микродиск-электрофореза как метод исследования таксономических и экологических проблем на примере некоторых *Aphidina*.

На примере изучения гемолитических протеинов некоторых *Aphidina* описывается метод обработки таксономических и экологических проблем с помощью микродиск-электрофореза. Удалось наблюдать 20–25 протеиновых фракций для каждого вида. Результаты хорошо репродуцируются, если особи находятся на одинаковых метаморфических состояниях. Различия между 3-мя изученными видами из рода *Aphis* мало сравнивались с теми между родами *Macrosiphoniella*, *Microlophium* и *Aphis*. Самые большие различия установлены между *Aphis* и *Drepanosiphum*, представитель другого семейства. Возможно обработать метод в таком плане, что можно получить точные математические данные разниц гемолимфы отдельных видов.

Literatur

- CHEN, P. S. (1956): Elektrophoretische Bestimmung des Proteingehaltes im Blut normaler und letaler (ltr) Larven von *Drosophila melanogaster*. Rev. Suisse Zool. **63**, 216–229. — CHEN, P. S. (1971): Biochemical aspects of insect development. Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, 1971. — CHEN, P. S. und L. LEVENBOOK (1966): Studies of the haemolymph proteins of the blowfly *Phormia regina*. I. Changes in ontogenetic patterns. J. Insect Physiol. **12**, 1595–1609. — CLARK, E. W. und G. H. BALL (1956): Preliminary micro-electrophoretic studies of insect proteins. Physiol. Zool. **29**, 206–212. — DUKE, E. J. und E. M. PANTELOURIS (1963): Ontogenesis of lymph proteins in *Drosophila melanogaster*. Comp. Biochem. Physiol. **10**, 351–355. — EMMERICH, H. (1970): Über die Hämolympheproteine von *Pyrrhocoris apterus* und über die Bindung von Ecdyson durch Hämolympheproteine. J. Insect Physiol. **16**, 725–747. — GROSSBACH, U. (1965): Acrylamide gel electrophoresis in capillary columns. Biochim. biophys. Acta (Amst.) **107** 180–182. — HÜTHER, G. und J. ANDRÁ (im Druck): Microelektrophorese — Erfahrungen und Einsatzmöglichkeiten. Z. med. Lab.-Diagnost. — KLIMASZEWSKI, S. A. (1974): The identity of *Schizolachnus pineti* (F.) and *Sch. obscurus* BÖRNER (Hom., Lachnidae). Pr. Nauk. Univ. Slask Katowicuch **145**, 85–95. — NEUHOFF, V. (1973): Micro-Electrophoresis on polyacrylamide gels. In: KLEINZELLER, A., G. F. SPRINGER und H. G. WITTMANN (Hrsg.): Molecular Biology Biochemistry and Biophysics. Berlin, Heidelberg, New York, 1–83. — PUN, J. Y. und K. LOMBROZO (1964): Micro-electrophoresis of brain and pineal protein in polyacrylamide gel. Analyt. Biochem. **9**, 9–20. — KRIEG, A. (1956): Elektrophoretische Untersuchungen an Hämolympheproteinen von Insekten und anderen Avertebraten. Natur-

wissenschaften **43**, 60–61. — RICHTER, K. (in Vorber.): Der Einfluß verschiedener anthropogener Noxen auf die Aktivität einiger Enzyme von *Aphis sambuci* L. (*Homoptera*, *Aphididae*). — RICHTER, K., G. HÜTHER und B. KLAUSNITZER (in Vorber.): Eine mathematische Methode zur Auswertung von Hämolymppherogrammen bei Insekten am Beispiel einiger *Coccinellidae*. — SIAKOTOS, A. N. (1960): The konjugated plasma proteins of the American cockroach. 1. The normal state. *J. gen. Physiol.* **43**, 999–1013. — TOBE, S. S. und B. G. LOUGHTON (1970): Haemolymph protein metabolism during fifth instar *Locusta*. *Can. J. Zool.* **48**, 297–304. — VAN DER GEEST, L. P. S. und F. H. M. BORGSTEEDE (1969): Protein changes in the haemolymph of *Pieris brassicae* during the last larval instars and the beginning of the pupal stage. *J. Insect Physiol.* **15**, 1687–1693. — WHITTACKER, J. R. und A. S. WEST (1962): A starch gel electrophoretic study of insect haemolymph proteins. *Can. J. Zool.* **40**, 655–671. — WÜLKER, W., W. MAIER und P. BERTAUF (1969): Untersuchungen über die Hämolympfproteine der Chironomiden (*Dipt.*). *Z. Naturforsch.* **24 b**, 110–116.

Anschrift der Verfasser:

Dr. G. Hüther und Dipl.-Biol. K. Richter,
Sektion Biowissenschaften der Karl-Marx-Universität,
Bereiche Zellbiologie und Taxonomie/Ökologie,
701 Leipzig, Talstraße 33

Revision der *Sitona callosus*-Gruppe (*Col.*, *Curculionidae*)

L. DIECKMANN, Eberswalde

Unter den vier Synonymen von *Sitona callosus* GYLLENHAL, die M. & F. van Emden (1939) im JUNK-Katalog aufführten, sind *S. tenuis* ROSENHAUER und *S. correctus* FAUST selbständige Arten, so daß die *S. callosus*-Gruppe aus drei Spezies besteht. Der 1966 beschriebene *S. callosus* ssp. *montanus* SMRECZYNSKI gehört zu *S. tenuis*.

Für die Fauna Europas sind nur *S. callosus* und *S. tenuis* von Bedeutung. Beide Arten lassen sich nicht nur morphologisch, sondern auch durch ökologische Besonderheiten gut unterscheiden; hinzu kommt außerdem eine geographische Vikarianz in der Ostwest-Richtung. In Mitteleuropa kommt nur *S. tenuis* vor. *S. correctus*, die dritte Art, ist nur aus Mittelasien bekannt. Zunächst sollen die Beschreibungen und die Typen aller zur Gruppe gehörenden Taxa besprochen werden. Für das Ausleihen der Typen wie auch weiteren Materials möchte ich folgenden Kollegen noch einmal herzlich danken: Dr. Z. CMOLUCH (Zoologisches Institut, Lublin), Dr. F. HIEKE (Zoologisches Museum, Berlin), Dr. Z. KASZAB (Ungarisches Naturwissenschaftliches Museum, Budapest), R. KRAUSE und H. NÜSSLER (Staatliches Museum für Tierkunde Dresden), Dr. T. NYHOLM (Naturhistorisches Reichs-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1978

Band/Volume: [22](#)

Autor(en)/Author(s): Hüther G., Richter Klaus

Artikel/Article: [Die Mikrodisk-Elektrophorese als Methode zur Untersuchung taxonomischer und ökologischer Fragestellungen am Beispiel einiger Aphidina 169-175](#)