

Beitr. Ent.	Keltern	ISSN 0005 - 805X
55 (2005) 2	S. 451 - 462	27.12.2005

Computergestützte Identifikation – ein Update dichotomer Bestimmungsschlüssel oder doch mehr ? - Beispiel: Fransenflügler

(Insecta: Thysanoptera, Thripse)

Mit 3 Abbildungen und 1 Tabelle

GERALD MORITZ

Zusammenfassung

Weltweit sind über 5500 Thrips-Arten bekannt, von denen ca. 100 bis 150 als ökonomisch bedeutsam eingestuft werden. Über 10 Arten sind gefährliche Vektoren von Tospoviren und schädigen zahlreiche Pflanzen. Ihre Identifikation stellt aufgrund der beschriebenen Situation taxonomischer Forschung vor allem in Europa eine Herausforderung für kommende Generationen dar. Ein möglicher Weg der Konservierung des taxonomischen Wissens der noch verfügbaren Experten besteht in der Erstellung geeigneter Identifikationssoftware in Kombination mit effektiven molekularen Ansätzen der Art-Diagnostik. Im Bereich der Thysanopteren hat sich die Nutzung von *LucID2.2*¹ und die Untersuchung der ribosomalen DNA mittels ITS-RFLP Analyse bewährt. Für die Auswertung der molekularen Ergebnisse wird eine Datenbank (SQL & PHP) als eleganter Weg für die online-Auswertung der gewonnenen DNA-Produkte und Fragmentmuster vorgestellt.

Summary

About 5500 species of thrips are currently recognized worldwide and approx. 100 to 150 species are classified as economic importantly. There are now about 10 dangerous species of thrips known to carry Tospoviruses and damage a wide range of plants. Their identification represents primarily a challenge due to the described situation of taxonomic research for future generations in Europe. A possible way of the preservation of the taxonomic knowledge of the still available experts consists in the construction of suitable identification software into combination with effective molecular techniques for species diagnostics. Within the order Thysanoptera the identification software package *LucID2.2*¹ and the analysis of the rDNA (ITS-RFLP) lead fast to an exact diagnosis of pest thrips. The processing of the molecular results (primer pair, restriction enzyme, DNA product and fragment lengths) is carried out online with the help of a database (SQL & PHP).

Key Words

Thripse, Identifikation, Lucid, Automontage, ITS-RFLP.

¹ Centre of Biological Information Technology (CBIT, University Brisbane, www.lucidcentral.com)

“Since computing power is now inexpensive and available globally, we should embrace the advantages brought to the process of making identifications and storing associated data. We can attach numerous high-quality images to illustrate characters and terminal taxa, and append voluminous, yet easily accessible catalogue-style information. As taxonomists we ignore this ability at our peril: continuing to present such information in non-digital form is a luxury no longer tolerable (SMITH, 2004) if we want support from the widest imaginable community of users“ (CRANSTON, 2005).

Einleitung

Internationale Kongresse der Entomologie führen Menschen aus zahlreichen Ländern zusammen. Ihre Erkenntnisse werden publiziert, wobei allein die gegenwärtig in China erscheinenden Veröffentlichungen über Insekten in mehr als 300 Zeitschriften erfolgt. Extrapoliert man diese Situation auf die gesamte Erde, so muss man davon ausgehen, dass weit über 90 Prozent der Entomologen wohl mehr als 90 Prozent der Publikationen nicht wahrnehmen werden. Entomologen werden in verschiedenen Regionen an überschneidenden Themen arbeiten, aber nicht voneinander wissen. Unter diesem Szenario sowie der fortschreitenden Globalisierung innerhalb der Landwirtschaft gestalten sich Identifikationsleistungen innerhalb der Thysanoptera äußerst kompliziert. So kommt es einerseits zu kontinentübergreifenden Verbreitungen hoch adaptiver, oftmals insektizidresistenter sowie Tospoviren übertragender Arten, wie z.B. *Frankliniella occidentalis*, aber auch zu Verschiebungen des gesamten Schaderregerspektrums. Lokale und traditionelle, dichotome Bestimmungsschlüssel lassen sich nicht effektiv an diese Situation adaptieren und sind im Gebrauch wiederum an Spezialisten gebunden (ZUR STRASSEN, 2003). Entsprechend müssen für den gestiegenen Bedarf an Bestimmungen Alternativen gefunden werden, die eine schnelle und exakte Identifikation erlauben. Insbesondere ist bei Thrips-Arten, die als Virusvektoren bekannt sind, ein früher Nachweis für einen optimalen Einsatz integrierter Pflanzenschutzmaßnahmen und eine minimale Belastung der Umwelt notwendig. Auch Bedarf es eines Umdenkens der Auftraggeber (Pflanzenschutzämter der Länder, Flug- und Schiffshäfen, Pflanzenbeschau, etc.), die immer noch wie in den 50er Jahren des vergangenen Jahrhunderts entomologische Expertenleistungen zum Nulltarif nutzen möchten. Betrachtet man die Situation im 21. Jahrhundert, so hat die Zahl der verfügbaren Experten längst das Pensionsalter erreicht, weshalb völlig neue Lösungsansätze für die zukünftigen Anforderungen notwendig sein werden (TAUTZ et al., 2003). Für die Thysanopteren sind es hauptsächlich drei Entwicklungen, deren komplexe Nutzung auch weiterhin eine exakte Identifikation ermöglichen und darüber hinaus die lokalen Grenzen dichotomer Bestimmungsschlüssel überwinden wird. Die vorgestellten Methoden sind dabei in ihrer Kombination auch als Stufenmodell für viele andere, schwer zu diagnostizierende Organismengruppen gedacht. Für moderne Identifikationsleistungen dient als zentrale Schnittstelle ein Computer (Windows, Mac, Linux, Sun) als Server, für den mit Hilfe eines Entwicklertools (LucID 2.1- und LucID 3-Developer Kit) ein multivariater Key erstellt wird (MORITZ et al., 2001, 2004b; MORITZ & MOUND, 1999a,b). Darüber hinaus ist aufgrund der Nutzung spezieller Software (Automontage: www.syncroscopy.com) die Darstellung lichtmikroskopischer Aufnahmen extrem verbessert worden, wodurch eine schnelle und weltweite Diskussion in Expertenforen durch Austausch der Abbildungen via E-Mail sowie deren

Präsentation im Web möglich wurde. Außerdem ist es eine enorme Verbesserung im Key nicht subjektiv gefärbte und merkmalsüberbetonte Grafiken deuten zu müssen, sondern vielmehr den mikroskopischen Eindruck mit dem Originalfoto vergleichen zu können. Die so im visuellen System eingegangenen Spezies wurden in einem dritten Verfahren molekular untersucht, wodurch neben der exakten Identifikation der adulten Stadien nun auch der Nachweis einer Art bereits ab dem späten Ei-Stadium möglich wird (MORITZ et al., 2004a). Dabei wurde vor allem Wert auf die ausreichende Gewinnung von DNA aus einem Individuum gelegt, da nur so eine exakte molekulare Identifikation möglich ist (MORITZ et al., 2000). Die Resultate aus der ITS-RFLP werden für eine optimale Auswertung der ermittelten Fragmentlängen und DNA-Produkte in eine ITS-RFLP-Datenbank, die sich auf dem Server befindet eingelesen. Diese Variante gibt weltweit Anwendern (Clients) die Möglichkeit bei Einhaltung der vorgegebenen ITS-RFLP Methode eine Identifikation online durchführen zu können. Die momentan verfügbare Artenzahl beschränkt sich auf ca. 50 Spezies, die so spezifische nukleare Genkombinationen aufweisen, dass die DNA-Produkte und die Restriktionsfragmentmuster der ribosomalen DNA völlig für eine Diagnose ausreichen und eine Sequenzierung nicht nötig ist.

Material und Methoden

Thripsfang und Präparation: Der Thripsfang kann sehr unterschiedlich praktiziert werden. Allerdings hat sich der Fang mit einem Mikroexhaustor aus verschiedenen Gründen nicht durchgesetzt. Am besten sind feste gelbe oder weiße Plastikschalen geeignet, über denen man mit einem stabilen Messer oder einem kräftigen Stock das zu untersuchende Material kurz ausklopft. Die Thripse bleiben aufgrund ihrer speziellen präarsalen Haftlappen an der Auffangschale haften, so dass man zur Erleichterung des Absammelns der Thripse die Schale auch auskippen kann, wodurch unnötige Pflanzenreste und andere Arthropoden nicht mehr stören. Da man Thripse bis auf wenige Ausnahmen nur mit Hilfe eines Mikroskops bestimmen kann, ist die weitere Behandlung zur Herstellung mikroskopischer Präparate sehr wichtig. Somit muss man bereits vorab entscheiden, ob die dorsale oder ventrale Region die entscheidenden Determinationsmerkmale aufweisen wird. Ein Drehen, um auf die Seite des Tieres schauen zu können, wie es in manchen dichotomen Bestimmungsschlüsseln empfohlen wird (ZUR STRASSEN, 2003), ist leider bei in Balsam eingeschlossenen Präparaten nicht möglich. Gewöhnlich endet dann die Diagnose an dieser Stelle. Als Fixiermedium hat sich eine Mischung bewährt, die man als AGA (60% Ethanol, Glycerin und Essigsäure im Verhältnis 6:1:1) bezeichnet (PALMER et al., 1989; MOUND & KIBBY, 1998). Um die Tiere im Phasenkontrast anschauen zu können, ist es ebenfalls äußerst wichtig sie einer Mazeration mit 5%iger Natronlauge zu unterziehen. Diese Prozedur hängt von der Größe, der Färbung und der Durchlässigkeit ihres Chitinpanzers ab. In manchen Fällen ist auch ein Erwärmen auf 35 bis 40°C bzw. ein Punktieren zwischen den hinteren Coxen hilfreich, wobei man den Zustand der Tiere halbstündlich unter dem Mikroskop kontrollieren sollte. Für die Vorbereitung der Präparation ist es wichtig, dass der Legeapparat während der Prozedur nicht ausgeklappt wird. Ansonsten muss er mit Hilfe von Insektennadeln zurück massiert werden, da in Seitenlage zahlreiche, diagnostisch wichtige Merkmale nicht betrachtet werden können. Danach werden die Tiere in Aqua dest. mehrfach gewässert und in einer anstei-

genden Alkoholreihe für die Einbettung in Kanadabalsam vorbereitet. Zuletzt erfolgt die Umsetzung aus absolutem Ethanol in Terpeneol (Roth), worin sie kontrolliert 30 bis 90 Minuten verbleiben. Die Einbettung erfolgt in Kanadabalsam, wobei die Konsistenz mit Hilfe von Xylen reguliert werden sollte, damit die Präparate Luftblasen frei sind.

Mikroskopie und Automontage (Syncroscopy, Cambridge): Um vor allem in der Tiefenschärfe gute Aufnahmen zu bekommen, wurde ein Mikroskop mit digitalem Kameraaufsatz (Leica DM5000B + DC480) verwendet. Das Prinzip der Erstellung der mikroskopischen Abbildungen besteht in der Anfertigung mehrerer Aufnahmen, die Schritt für Schritt in der Tiefenschärfe nachreguliert werden. Mit Hilfe des Softwarepakets „Automontage“ werden die einzelnen im Fokus liegenden Regionen so modelliert, dass ein vollkommen scharfes Bild entsteht, welches an verschiedenen Körperpartien, zum Beispiel dem Kopf, Pro-, Meso- und Metanotum sowie den diagnostisch auch wichtigen Tergiten laterale bis mediale Merkmale zeigt (Fig. 1).

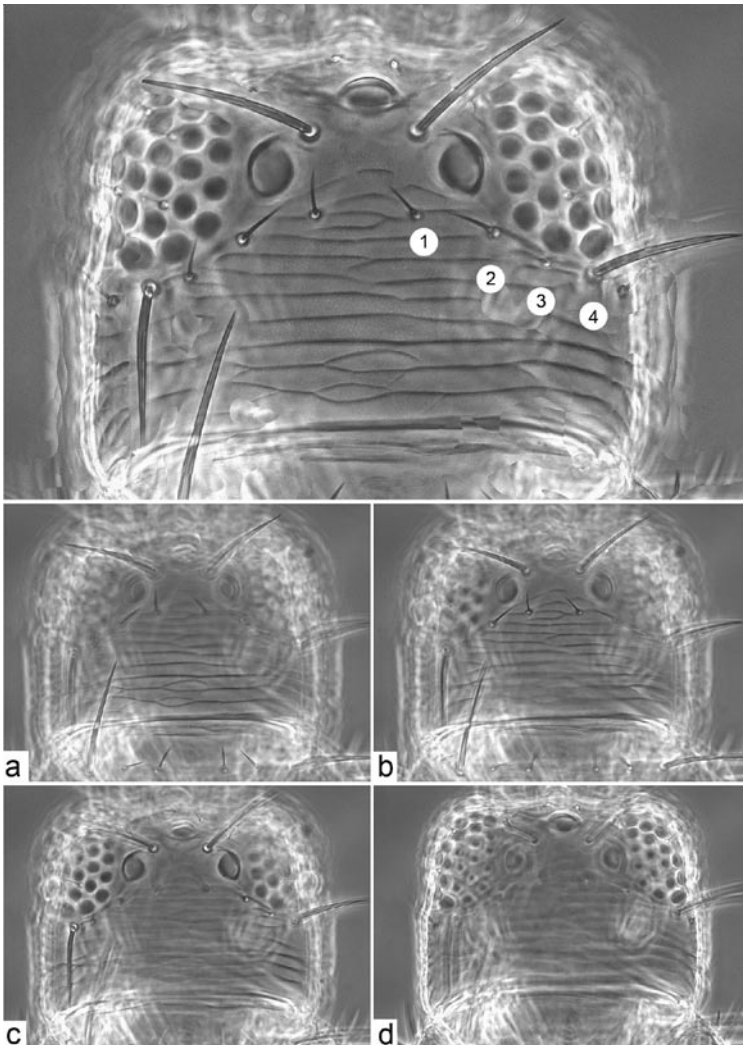


Fig. 1: *Frankliniella occidentalis*, adultes Weibchen: Kopf, dorsal, a) bis d) Bildserie - Fokus von innen nach außen sowie (oben) montiertes Bild mittels Automontage (Syncroscopy).

LucID 2.1. und LucID 3: Die visuelle Identifikation von Thysanopteren ist durch die Entwicklung interaktiver Bestimmungssoftware leichter, aber auch schneller und exakter geworden. Im Bereich der Thysanopteren-Taxonomie haben bekannte ID-Programme auf der Basis von DELTA / INTKEY (DEscription Language for TAXonomy) keine Rolle gespielt. Ein erstes Bestimmungstool entstand auf der Basis von CABiKEY (Computer Aided Biological Identification Key, programmiert von IAN WHITE, Zortech Z², MS DOS) für die Schad-Thysanopteren Europas (MORITZ & MOUND, 1995). Mit der Entwicklung und Verfügbarkeit von LucID1.0 als Basisprogramm für die Entwicklung von Identifikationssoftware wurde eine CD-ROM im Auftrag des AQIS (Australian Quarantine and Inspection Service) zur Bestimmung von nicht nativen Schad-Thysanopteren für Australien angefertigt (MORITZ & MOUND, 1999b) und darauf aufbauend mit LucID2.2 ein Identifikations- und Informationssystem für die Thysanoptera der Welt erstellt (MORITZ et al., 2001; 2004b). Das Programm selbst besteht aus zwei Komponenten, wobei der User nur den so genannten LucID-Player benötigt, während der Programmentwickler die Lizenz für den LucID-Developer erwerben muss (www.lucidcentral.com). Die Erstellung des Programms beginnt wie bei der Entwicklung eines dichotomen Keys mit einer Reihe von Fragen, die jedoch nicht nur 2, sondern mehrere Antworten erlauben und möglichst schnell eine Unterteilung in einzelne Taxa ermöglichen. Interessant ist dabei, dass verschiedene Fragen eine Wichtung erfahren und in ihrer Reihenfolge im Sinne von Expertenroutinen für einzelne Taxa so festgelegt werden können, dass der erfahrene User mit entsprechender taxonomischer Kenntnis der Thysanoptera bereits auf Gattungsebene einsteigen kann. Ebenfalls hilfreich für diese zeitsparende Vorgehensweise ist die Möglichkeit der Erstellung von Sub-Keys. Ein wesentlicher Unterschied zum dichotomen Weg besteht bei der Programmierung darin, merkmalsdiagnostische Fragen nicht für einige Spezies zu beantworten, sondern vielmehr eine Antwort für möglichst alle Arten zu finden. Damit wird der einbahnstraßenartige Weg der dichotomen Bestimmung verlassen und mit wachsender Komplexität der Datenmatrix sind mehrere variable Identifikationswege der gesuchten Art möglich. Bei größeren Datenbanken hat sich neben der Nutzung von Sub-Keys und der Merkmalswichtung auch die Auswertung von redundanten sowie abhängigen Merkmalen optimierend erwiesen. Mit LucID3.0 wird mit laufender Java Virtual Machine (Download der Java Software unter: <http://www.java.com/de/> bzw. automatisch bei Nutzung von LucID3.0) ein System genutzt, welches die Bestimmung und die Gewinnung von Informationen über Schad-Thysanopteren der Welt auf Windows-, Macintosh-, Linux- sowie Solaris-Plattformen in englischer, deutscher und spanischer Sprache erlaubt.

Neben diesen multivariaten Keys ist ein weiteres Tool: LucID Phoenix auf dem Markt, mit dem vorliegende dichotome Bestimmungsschlüssel für den PC übersetzt werden können, womit, insbesondere bei umfangreichen Bestimmungsdaten auch eine Überprüfung und Optimierung der klassischen Varianten erreicht wird.

Molekulare Untersuchungen (ITS-RFLP): Alle Versuche mit Hilfe von RAPD-PCR Techniken eine Artdiagnose durchzuführen, scheiterten aufgrund zu großer Variabilitäten zwischen den einzelnen Arten (KRAUS et al., 1998). Aus diesem Grund hat sich für molekulare Untersuchungen der Thripse die ITS-RFLP Methode durchgesetzt (BRUNNER et al., 2002; HILLIS & DIXON, 1991; MORITZ et al., 2000, 2002; SEVERINI

et al., 1996; TODA & KOMAZAKI, 2002), da die Resultate aus der Anwendung von 4 Primerpaaren (ITS1 - O1: 5'- CGATCCACGAGCCGAGTGAT -3'/18J: GCCTGCG GCTTAATTTGACTC), (ITS2 - P1: 5'ATCACTCGGCTCGTGGATCG 3'/28Z: 5'AGACTCCTTGGTCCGTGTTTC 3'), (ITS1 und ITS2 - CS249: 5'TCGTAACA AGGTTTCCG 3' / CS250: 5' GTT(A/G)GTTTCTTTTCCTC 3'), und 18SM P: 5' TGAACCTGCGGAAGGAT 3' / 28SMP: 5' TCTCACCTGAACTGAGG 3') und 5 Restriktionsenzymen (*AluI*, *HaeIII*, *HinfI*, *MspI*, *RsaI*) sich auf der Artebene so stark unterscheiden, dass eine Diskriminierung zwischen verschiedenen, auch nah verwandten Arten möglich ist. Für die Gewinnung der DNA wurde eine modifizierte Extraktionsmethode nach (ROBERTS, 1998) angewandt. Mit Hilfe dieser Methode gelingt es, aus allen ontogenetischen Stadien und besonders wichtig, nur aus einem einzigen Organismus (postkatatreptische Eistadien, Larven, Puppen und adulte Tiere) genügend DNA für die Artdiagnose zu gewinnen. Die Amplifizierung der extrahierten DNA erfolgte mittels Polymerase Chain Reaction (PCR) in einem Master Cycler Gradient (Fa. Eppendorf) unter Verwendung der angeführten Primerpaare. Die gelelektrophoretische Auftrennung wird in einem 2%igen Agarose-Gel mit Ethidiumbromid (4h, 70V) durchgeführt, welches nach der Auftrennung im Image Master (Pharmacia VDS) unter Verwendung der Software ImageMaster 1D Elite ausgewertet wurde. Eine Störung durch pflanzliche DNA konnte bei keinem Test gefunden werden.

Datenbankverarbeitung²: Aufgrund der Anwendung verschiedener Primerpaare und Restriktionsenzyme ergeben sich zahlreiche unterschiedliche Gelmuster. Da aus diesen Untersuchungen bereits für eine Spezies zwischen 50 und 100 Basenpaarwerte zur Verfügung stehen, wird mit zunehmender Artenzahl eine visuelle Begutachtung des Ergebnisses zeitaufwändig. Somit wird der klassische „Borstenzähler“ zum modernen „Bandenzähler“. Ein Vergleich der Gelmuster mit Hilfe von Imagesoftware schien aufgrund der zahlreichen Modifikationen, die bei der Erstellung eines Agarosegels auftreten können, aus verschiedenen Gründen nicht vorteilhaft. Eine elegante Methode, diese langwierige und mit potentiellen Fehlern behafteten Aufgaben zu umgehen, besteht in der Schaffung einer geeigneten Datenmatrix und der Nutzung einer serverseitigen Programmiersprache, wie zum Beispiel PHP. Ein weiterer Vorteil besteht in der plattformübergreifenden Nutzung dieses molekularen Identifikationstools, da vom Client, unabhängig ob er mit Windows, Macintosh, Linux oder Solaris arbeitet, die Anfragen am Server verarbeitet und das Resultat via HTML beim User angezeigt werden. Mit der Aufnahme weiterer Spezies sowie Primerpaaren und Restriktionsenzymen wurde die Datenbank um ein Softwaretool erweitert, mit dem die genannten Parameter jederzeit editiert und erweitert werden können (Fig. 2). Die so entstehende Datenbank ist online verfügbar und erlaubt die Eingabe und Auswertung der molekularen Resultate. (<http://moritz.zoologie.uni-halle.de>: Benutzername: test, Kennwort: thripsid)

² Für die Hilfe bei der Erstellung der Datenbank (SQL & PHP) sowie des Wartungstools danke ich den Herren Nick Hehlke, Michael Seifert und Jens Keilwagen, Studenten des Fachbereichs Informatik der Universität Halle.

Fig. 2: Datenmatrix-Wartungstool mit dem Arten, Primer-Paare und Restriktionsenzyme neu aufgenommen bzw. geändert werden können.

Ergebnisse und Diskussion

Thripse (Thysanoptera, Blasenfüße, Fransenflügler) sind unscheinbare Mikroinsekten, deren Körperlänge bei den meisten Arten unter 2 bis 3 mm liegt. Lästig und damit bemerkbar machen sich einige Arten (*Limothrips cerealium*, *Limothrips denticornis*) vor allem durch ihr massenhaftes Auftreten während der Sommermonate. 11 Arten sind momentan als alleinige Vektoren von Tosspoviren bekannt und ca. 100 bis 150 Arten kann man als weltweit landwirtschaftlich bedeutsame Schaderreger einordnen. Globalisierung, enorme speziesspezifische Adaptationsleistungen und teilweise hohe Insektizidresistenzen haben ihre Bedeutung in den letzten Jahren enorm gesteigert. Selbst lange nach den Zeiten des kalten Krieges werden sie Mittelpunkt für Wirtschaftsembargos, sei es im Handel mit Russland oder den Beziehungen zwischen Kuba und den USA. Da es um Millionenverluste durch Pathogentransfer, Wuchsdeformationen sowie Fruchtschäden geht, ist es nicht verwunderlich, dass es brisant ist, von den weltweit 5.500 bekannten

Arten genau die Spezies zu erkennen, deren Schadpotenzial am größten ist. Betrachtet man die beiden Unterordnungen, so gehört zu den Tubulifera nur eine einzige Familie (=Phlaeothripidae) mit zwei Unterfamilien, den Idolothripinae (700 Arten in 80 Gattungen) und den Phlaeothripinae (2.500 Arten in 350 Gattungen). Diese insgesamt 3.200 Spezies bilden somit den größten Teil der Ordnung Thysanoptera. Da diese Arten wirtschaftlich nicht als Schädlinge in Erscheinung treten, ist das biologische Wissen zu dieser Gruppe äußerst gering und eine visuelle sowie molekulare Bestimmung aufgrund des Fehlens taxonomischer Experten fast schon aussichtslos. So haben (PRIESNER, 1926-28) und (SCHLIEPHAKE & KLIMT, 1979) noch Bestimmungstabellen für ausgewählte Phlaeothripiden vorgestellt, während (ZUR STRASSEN, 2003) leider nur noch die terebranten Thysanopteren behandelt. Zu dieser Unterordnung, die man auch als Terebrantia aufgrund des Besitzes eines säbelartigen Legebohrers der Weibchen bezeichnet, gehören momentan 2.359 Spezies. Die artenreichste Familie stellen die Thripidae mit über 2.000 Spezies, zu denen die bekanntesten Schad-Thripse gehören, wie *Thrips palmi* und *Frankliniella occidentalis*. Alle taxonomischen Gruppierungen bedürfen einer umfassenden Überarbeitung mit Hilfe visueller und molekularer Methoden. So lässt allein die Anzahl der artenarmen Gattungen Zweifel an der Richtigkeit taxonomischer Bewertung zu (MORITZ et al., 2001). So gibt es allein 335 Gattungen, somit mehr als die Hälfte aller beschriebenen Gattungen mit jeweils nur einer einzigen Art und zusätzliche 146 Gattungen, deren Artenanzahl nicht 3 Spezies übersteigt (Tab. 1).

Tab. 1: Verteilung der Anzahl der beschriebenen Arten pro Gattung (Stand 2004, MORITZ et al., 2004b)

Gattungen	3	4	8	18	23	54	59	48	44	102	335
Arten / Gattung	>200	199-100	99-50	49-30	29-20	19-10	9-6	5-4	3	2	1

Frankliniella occidentalis hat es innerhalb von 25 Jahren geschafft die Neue Welt zu verlassen und den gesamten europäischen Kontinent sowie die angrenzenden Gebiete Afrikas und Eurasiens zu besiedeln. Entsprechend entstand die Notwendigkeit lokale Bestimmungsliteratur zu ergänzen und einheimische Arten abzugrenzen. Die Identifikation der Neueindringlinge ist somit aus verschiedener Sicht äußerst wichtig, da erst mit der Diagnose eine gezielte Bekämpfung möglich ist. Bleiben taxonomische Forschung und Förderung ein rudimentärer Bestandteil der Biowissenschaften, so kann man sich ein reales Szenario der bevorstehenden Unwissenheit über Taxa unserer Erde leicht vorstellen. So würde man wohl nicht in wenigen Jahren, wie 2005 Dank der aktiven Senioren-Taxonomen geschehen, *Ceratothripoides claratris* als einen weiteren Virusvektor (*Capsicum chlorosis virus*) erkennen (PREMACHANDRA et al., 2005). Die europäische Situation kann wenig positiv bewertet werden, vielmehr sind es begrenztes Denken, mittelalterliche Strukturen, komplizierte Förderungsverfahren und bürokratische Hürden, die es längst zu überwinden gilt. Unterschiedliche Einschätzungen der Situation durch Organisationen, Institute und Pflanzenbeschau nähren den Boden einer begrenzten Innovation und belohnen die Sicht mancher Kontrolleure, auch mit einer vierfach vergrößerten Lupe jeden Thrips sicher bestimmen zu können. So ist es nicht verwunderlich, dass auch im neuen Framework VI der Europäischen Union der Taxonomie keine entsprechende Bedeutung beigemessen wird. Ganz anders die Sicht

seit einigen Jahren in Australien und Nordamerika, da man hier auf präventive, anstatt konservative Bekämpfung der Schaderreger setzt. So wurde schnell erkannt, dass molekulare Methoden auf der Ermittlung von Nukleotidsequenzen bzw. deren Länge basieren und aufgrund der Unterschiedlichkeit zwischen verschiedenen Arten eine moderne Diskriminierung möglich sein wird.

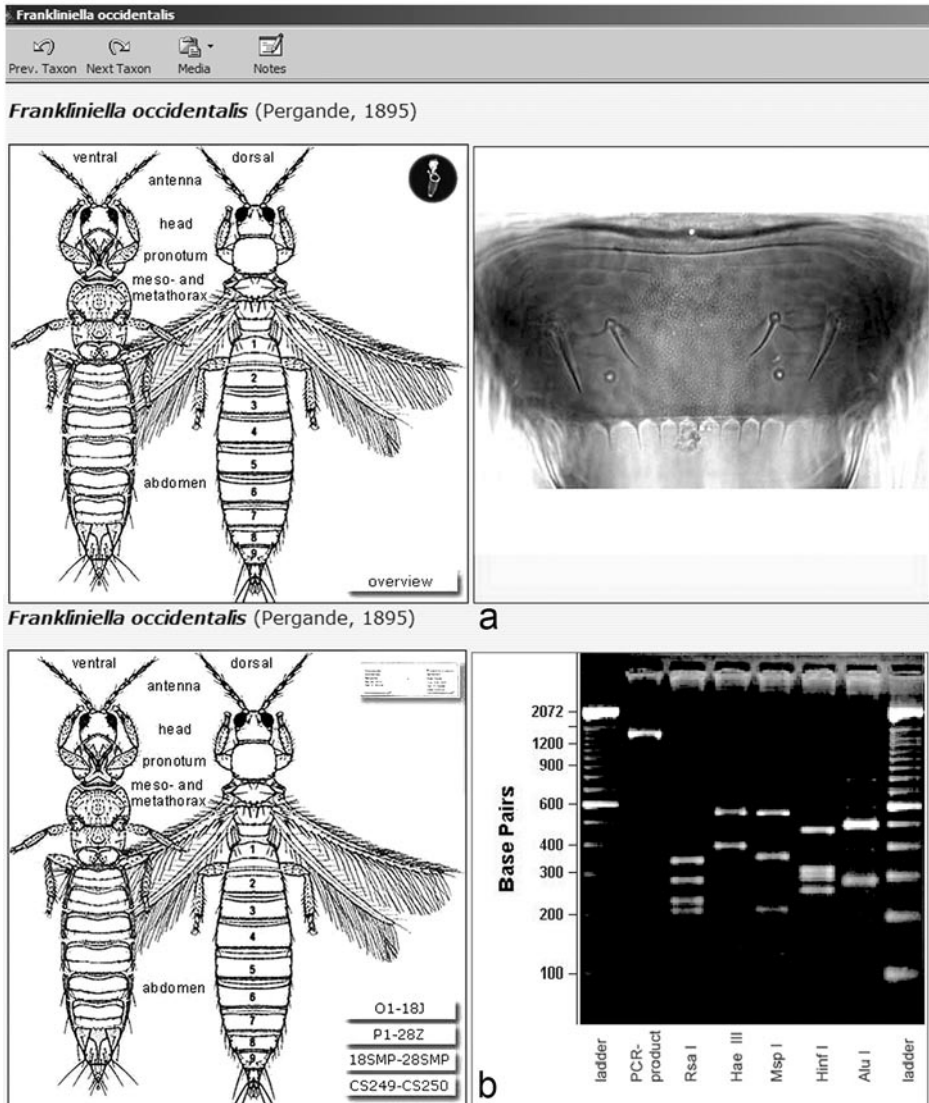


Fig. 3: ThripsID 2004, Ausschnitt aus dem Identifikationsergebnis *Frankliniella occidentalis*: a) Betrachtung wichtiger Körperregionen durch Überfahren der Körperregionen in der linken Habitus-Skizze, wobei rechts jeweils die originalen mikroskopischen Aufnahmen erscheinen, b) Vergleich der ITS-RFLP-Analyse für unterschiedliche Primerpaare.

Insbesondere wohl auch, weil die Zahl der als Insekten-Aliens gekennzeichneten Eindringlinge in den USA und Australien in den letzten Jahrzehnten enorm gestiegen ist. Neben dem COI-Gen existieren zahlreiche Arbeiten zu speziesspezifischen ITS-Regionen der ribosomalen DNA bei systematisch weit entfernten Organismen (BESANSKY et al., 1992; FERRIS et al., 1993; FRITZ et al., 1994; HACKETT et al., 2000; HARRIS & CRANDALL, 2000; PASKEWITZ & COLLINS, 1989; RUTLEDGE et al., 1996; MILLER et al., 1999; FABRY et al., 1999; GALLEGO & GALIAN, 2001). Alle Resultate dieser Arbeiten konnten leicht modifiziert für die Bearbeitung der Thripse eingesetzt werden. In den USA wurden 2003 10 Millionen US-Dollar für systematische Projekte unter dem Titel „Planetary Biodiversity Inventories: Mission to an (Almost) Unknown Planet“ bereitgestellt. Eine sehr gute europäische Analyse inklusive der Chance der Taxonomie für eine tief greifende Renaissance ist bei (MALLET & WILLMOTT, 2003; Hebert et al., 2002) nachzulesen. Für die Thysanopteren wird seit 2005 ein für die USA kombinierter visueller und molekularer Key mit finanzieller Unterstützung durch das USDA und unter Zusammenarbeit mit der University of Davis erstellt („Pest thrips of North America“). Für dieses Projekt wird bereits seit 2004 eine Datenmatrix aufgebaut, die die Identifikation anhand des DNA-Produkts und der Fragmentlängen erlauben. Dabei kann eine Toleranz zwischen 10%, 20% und 30% ausgewählt werden, da unter praktischen Bedingungen keine Sequenzierung durchgeführt wird, und somit keine, auf das Basenpaar genaue Fragmentierung des DNA-Produktes möglich ist, wie dies bei (TODA & KOMAZAKI, 2002) und (BRUNNER et al. 2002) demonstriert wird. Darüber hinaus gibt die Erhöhung der Toleranzschwelle die Möglichkeit in Bezug auf gleiche Fragmentmuster ähnliche Arten zu diagnostizieren bzw. komplizierte Arten zu diskriminieren und entsprechend nach geeigneten Primerpaaren und Enzymen suchen zu können. Letztlich sei darauf hingewiesen, dass zwischen dem molekularen und visuellen Key nach Wunsch gewechselt werden kann. Somit kann man neben den Gelmustern auch diagnostisch wichtige Körperregionen jederzeit anschauen (Fig. 3).

Literaturverzeichnis

- BESANSKY, N. J.; PASKEWITZ, S. M.; HAMM, D. M. & COLLINS, F. H. 1992: Distinct families of site-specific retrotransposons occupy identical positions in the rRNA genes of *Anopheles gambiae*. - *Molecular and Cellular Biology* 12 (11): 5102-5110.
- BRUNNER, P. C.; FLEMING, C. C. & FREY, J. E. 2002: A molecular identification key for economically important thrips species (Thysanoptera: Thripidae) using direct sequencing and a PCR-RFLP-based approach. - *Agricultural and Forest Entomology* 4: 127-136.
- CRANSTON, P. S. 2005: Ancient and modern - toolboxes for e-bugs. - *Systematic Entomology* 30: 1-3.
- FABRY, S.; KÖHLER, A. & COLEMAN, A. W. 1999: Intraspecies analysis: comparison of ITS sequence data and gene intron sequence data with breeding data for a worldwide collection of *Gonium pectorale*. - *J. Mol. Evol.* 48: 94-101.
- FERRIS, V. R.; FERRIS, J. M. & FAGHIHI, J. 1993: Variation in spacer ribosomal DNA in some cyst-forming species of plant parasitic nematodes. - *Fundam. appl. Nematol.* 16 (2): 177-184.
- FRITZ, G. N.; CONN, J.; COCKBURN, A. & SEAWRIGHT, J. 1994: Sequence analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer 2 from populations of *Anopheles nuneztovari* (Diptera: Culicidae). - *Mol. Biol. Evol.* 11 (3): 406-416.
- GALLEGO, D. & GALIAN, J. 2001: The internal transcribed spacers (ITS1 and ITS2) of the rDNA differentiates the bark beetle forest pests *Tomicus destruens* and *T. piniperda*. - *Insect Molecular Biology* 10 (5): 415-420.

- HACKETT, B. J.; HACKETT, B. J.; GIMNIG, J.; GUELBEOGO, W.; COSTANTINI, C.; KOEKEMOER, L. L.; COETZEE, M.; COLLINS, F. H. & BESANSKY, N. J. 2000: Ribosomal DNA Internal Transcribed Spacer (ITS2) Sequences Differentiate *Anopheles funestus* and *An. rivulorum*, and Uncover a Cryptic Taxon. - *Insect Molecular Biology* 9 (4): 369-374.
- HARRIS, D. J. & CRANDALL, K. A. 2000: Intragenomic variation within ITS1 and ITS2 of freshwater crayfishes (Decapoda: Cambaridae): Implications for phylogenetic and microsatellite studies. - *Molecular Biology and Evolution* 17 (2): 284-291.
- HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L. & DEWAARD, J. R. 2002: Biological identifications through DNA barcodes. - *Proceedings Royal Entomological Society London B* DOI 10.1098/rspb.2002.2218.
- HILLIS, D. M. & DIXON, M. T. 1991: Ribosomal DNA: Molecular evolution and phylogenetic inference. - *The Quarterly Review of Biology* 66 (4): 411-453.
- KRAUS, M.; SCHREITER, G. & MORITZ, G. 1998: Molecular genetic studies of thrips species. - In: G. VIERBERGEN & I. TUNC (Editors), Sixth International Symposium on Thysanoptera. - Orkum Ozan Medya Hizmetleri A.S., Antalya, Turkey, pp. 77-80.
- MALLET, J. & WILLMOTT, K. 2003: Taxonomy: renaissance or tower of Babel? - *Trends in Ecology and Evolution* 18 (2): 57-59.
- MILLER, L. J.; ALLSOPP, P. G.; GRAHAM, G. C. & YEATES, D. K. 1999: Identification of morphologically similar canegrubs (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthini) using a molecular diagnostic technique. - *Australian Journal of Entomology* 38: 189-196.
- MORITZ, G.; DELKER, C.; PAULSEN, M.; MOUND, L. A. & BURGERMEISTER, W. 2000: Modern methods for identification of Thysanoptera. - *EPPO Bulletin* 30: 591-593.
- MORITZ, G.; KUMM, S.; KRANZ, R.; PICL, S. & STELLER, A. 2004a: Thrips Identifikation - vom Ei zur Art. - *Mitteilungen Deutsche Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie* 14: 71-75.
- MORITZ, G.; MORRIS, D. C. & MOUND, L. A. 2001: ThripsID- Pest thrips of the world. An interactive identification and information system. - Aciar CD-ROM, CSIRO Publishing, Collingwood, Australia.
- MORITZ, G. & MOUND, L. A. 1995: CABIKEY to the common Thysanoptera of Europe, (13 MS DOS Discs). - CAB International, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK.
- MORITZ, G. & MOUND, L. A. 1999a: Identifikations- und Informations-Software zu wirtschaftlich wichtigen Thysanopteren-Arten (Insecta). - *Zeitschrift Agrarinformatik* 4: 90-95.
- MORITZ, G. & MOUND, L. A. 1999b: ThripsID - Species most likely to be taken on plant material imported into Australia (CD ROM). - AQIS, CSIRO, Canberra.
- MORITZ, G.; MOUND, L. A.; MORRIS, D. C. & GOLDARAZENA, A. 2004b: Pest thrips of the world (CD ROM). - CBIT University of Brisbane, Brisbane.
- MORITZ, G.; PAULSEN, M.; DELKER, C.; PICL, S. & KUMM, S. 2002: Identification of thrips using ITS-RFLP analysis. In: R. MARULLO & L. A. MOUND (Editors), Thrips and Tospoviruses: Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera. - Australian National Insect Collection, Canberra, pp. 365-367.
- MOUND, L. A. & KIBBY, G. 1998: Thysanoptera: An identification guide. - CAB International, Oxon, New York, 70 S.
- PALMER, J. M.; MOUND, L. A. & DU HEAUME, G. J. 1989: CIE guides to insects of importance to man: 2. Thysanoptera. - CAB International Institute of Entomology and British Museum (Natural History), London, 73 S.
- PASKEWITZ, S. M. & COLLINS, F. H. 1989: Site-specific ribosomal DNA insertion elements in *Anopheles gambiae* and *A. arabiensis*: nucleotide sequence of gene-element boundaries. - *Nucleic Acids Research* 17 (20): 8125-8133.
- PREMACHANDRA, W. T. S. D.; BORGEMEISTER, C.; MAISS, E.; KNIERIM, D. & POEHLING, H.-M. 2005: *Ceratothripoides claratris*, a new vector of a Capsicum chlorosis virus isolate infecting tomatoes in Thailand. - *Phytopathology* 95: 659-663.

- PRIESNER, H. 1928: Die Thysanopteren Europas. - A. Asher & Co. Amsterdam, Wien, 755 S.
- ROBERTS, D. B. 1998: *Drosophila*, a practical approach. - Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo, 399 S.
- RUTLEDGE, R. C.; CORNEL, A. J.; MEEK, L. C. & COLLINS, F. H. 1996: Validation of a ribosomal DNA-polymerase chain reaction species diagnostic assay for the common malaria mosquito (Diptera: Culicidae) sibling species complex. - *Journal of Medical Entomology* 33 (6): 952-954.
- SCHLIEPHAKE, G. & KLIMT, K.-H. 1979: Thysanoptera, Fransenflügler. Die Tierwelt Deutschlands, 66. Band. - G. Fischer, Jena, 477 S.
- SEVERINI, C.; SILVESTRINI, F.; MANCINI, P.; LA ROSA, G. & MARINUCCI, M. 1996: Sequence and Secondary Structure of the rDNA Second Internal Transcribed Spacer in the Sibling Species *Culex pipiens* L. and *Cx. quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). - *Insect Molecular Biology* 5 (3): 181-186.
- SMITH, V. S. 2004: Lousy Lists. Review of "The chewing lice: world checklist and biological overview". - *Systematic Biology* 53: 666-668.
- TAUTZ, D.; ARCTANDER, P.; MINELLI, A.; THOMAS, R. H. & VOGLER, A. P. 2003: A plea for DNA taxonomy. - *Trends in Ecology and Evolution* 18 (2): 70-74.
- TODA, S. & KOMAZAKI, S. 2002: Identification of thrips species (Thysanoptera: Thripidae) on Japanese fruit trees by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism of the ribosomal ITS2 region. - *Bulletin of Entomological Research* 92: 359-363.
- ZUR STRASSEN, R. Z. 2003: Die terebranten Thysanopteren Europas. Die Tierwelt Deutschlands. - 74 Goecke & Evers, Keltern, 277 S.

Adresse des Autors:

Prof. Dr. GERALD MORITZ
Universität Halle-Wittenberg
Lehr- und Forschungsbereich Entwicklungsbiologie
Domplatz 4
D- 06108 Halle (Saale),
e-mail: gerald.moritz @ zoologie.uni-halle.de