

Die Carbohydrasen der Spinnmilbe *Tetranychus urticae* Koch (Acari, Trombidiformes, Tetranychidae)

Über Verdauungsfermente bei Spinnmilben ist bisher in der Literatur nichts bekannt geworden. Diese sehr lebhaften, phytophagen Arthropoden dürften den grössten Teil ihres Betriebsstoffwechsels durch die Verwertung von Kohlenhydraten decken. Darüber hinaus spielt nach den Untersuchungen von FRITZSCHE¹ der Gehalt an reduzierenden Zuckern in den Wirtspflanzen für die Vermehrungsrate der Spinnmilben eine ausschlaggebende Rolle. Eine eingehende Untersuchung und Charakterisierung der kohlenhydratspaltenden Fermente erscheint uns daher gerechtfertigt. Da das Darmsystem von *Tetranychus urticae* präparatorisch nicht zugänglich ist, wurden Homogenisate ganzer Tiere verwendet. Für die Sezernierung von Fermenten dürften bei Spinnmilben lediglich Darm und Speicheldrüsen in Frage kommen. Auf Grund des Saugvorganges, der charakterisiert ist durch das meist vollständige Aussaugen einer grossen Anzahl von Zellen in kleinen Zeiträumen², ist jedoch nicht anzunehmen, dass den Speicheldrüsen eine entscheidende Bedeutung als Bildungsort für Carbohydrasen zukommt.

Als Versuchstiere dienten Deutonymphen und weibliche Imagines von *Tetranychus urticae* Koch, die in Laborzuchten (20–22°C und Langtagbeleuchtung) an *Phaseolus vulgaris* L. gehalten wurden. In erster Linie wurden Tiere von überstark befallenen Blättern verwendet, da in Homogenisaten solcher Spinnmilben wenig unabgebautes Chlorophyll und andere pflanzliche Inhaltstoffe auftreten. Die Homogenisate wurden anhand verschiedenartiger Substrate auf das Vorhandensein der entsprechenden Carbohydrasen geprüft.

Methode. 15–20 mg Milben in 40–60 µl 0,9%iger NaCl-Lösung homogenisieren und zentrifugieren. Je 5 µl dieses Extraktes bei 37°C für verschieden lange Zeiten unter Toluoldämpfen mit 5 µl Sörensen-Phosphat-Puffer (pH 6,8), der 100 γ des entsprechenden Substrates enthält, inkubieren. Kontrollen: Substrat + Puffer und Homogenisat + Puffer.

Chromatographische Technik. Nach der Inkubation erfolgte quantitatives Auftragen der Ansätze auf Whatman Nr. 1 Papier. Danach entwickeln im Durchlaufchromatogramm (2½ Tage) mit einem Gemisch aus *n*-Propanol-Äthylacetat-Wasser (7:1:2). Nachweis der Zucker mit acetonischer Silbernitratlösung, Besprühen mit äthanolischer Natronlauge und Auswaschen in 5*n* Ammoniak und Wasser. Das Vorhandensein einer Carbohydrase kann auf dem Papier auf zweierlei Weise nachgewiesen werden: Erstens durch das Auftreten der Spaltprodukte und zweitens durch eine signifikante Verringerung oder ein vollständiges Verschwinden der Substrate.

Stärke wird durch Milbenextrakte in hohem Ausmass gespalten (starke Amylaseaktivität). Nach 16stündiger Inkubationszeit ist das eigentliche Endprodukt Maltose durch die ebenfalls vorhandene starke α-Glucosidase (Maltase) bereits zu Glucose hydrolysiert und deshalb nicht mehr nachweisbar. Die starke α-Glucosidase spaltet weiterhin Saccharose und Trehalose, wobei der Rohrzucker schneller abgebaut wird. Dies erklärt sich vielleicht daraus, dass Saccharose neben der α-Glucosidase auch durch eine β-h-Fructosidase hydrolysiert wird, was im Folgenden noch auszuführen ist. Eine Spaltung des Disaccharids Cellobiose fand nicht statt, eine β-Glucosidase fehlt demnach. Die Galactoside Melibiose und Lactose werden in Galactose und Glucose zerlegt. Die Milben müssen also sowohl eine α- als auch eine β-Galactosidase enthalten; letztere ist wirksamer. Das Trisaccharid Melezitose wird in Glucose und Turanose gespalten. Dieses

α-Glucosid wird aber durch die starke α-Glucosidase sehr schnell zu Fructose und Glucose hydrolysiert und kann aus diesem Grunde nicht nachgewiesen werden. Das Trisaccharid Raffinose (Galactose-1(α)-6-Glucose-1(α)-2(β)-Fructose) wird nach 20stündiger Inkubationszeit vollkommen in die drei Monosaccharide aufgespalten. Bei kürzeren Inkubationszeiten (4–10 h) konnte als Zwischenprodukt eindeutig Melibiose nachgewiesen werden. Durch die hier erfolgte Abspaltung von Fructose aus Raffinose ist das Vorkommen einer β-h-Fructosidase bewiesen. Im weiteren Spaltungsverlauf wird dann auch die α-galactosidische Bindung der Melibiose angegriffen. Unter abgeänderten geeigneten Versuchsbedingungen wurde auch das Vorkommen von Polyasen (ausser Amylase) untersucht. Alle Versuche mit den Substraten Cellulose, Pektin und Pektinsäure verliefen negativ; es fehlen Cellulase, Pektinase und Polygalacturonase.

Der Vergleich mit Untersuchungen an Aphiden³ und Wanzen⁴ zeigt eindeutig ein breiteres Carbohydrasen-Wirkungsspektrum bei *Tetranychus urticae*, was in Zusammenhang mit der sehr polyphagen Lebensweise dieser Tiere zu bringen sein dürfte. Das Vorkommen einer Polygalacturonase in den Speicheldrüsen verschiedener Aphiden⁵ hängt mit der hier andersartigen, meist interzellularen Stechweise zusammen⁶.

Carbohydrasenaktivität in Extrakten aus *Tetranychus urticae*

Substrate	Spaltung durch Carbohydrasen	Spaltprodukte
α-Glucoside		
Stärke	+	Glucose (Maltose)
Maltose	+	Glucose
Saccharose	+	Glucose, Fructose
Trehalose	+	Glucose
β-Glucoside		
Cellobiose	–	–
Cellulose	–	–
α-Galactosid		
Melibiose	+	Glucose, Galactose
β-Galactosid		
Lactose	+	Glucose, Galactose
Trisaccharide		
Melezitose	+	Glucose, Fructose
Raffinose	+	Glucose, Fructose, Galactose
Pektin	–	–
Pektinsäure	–	–

Summary. In preparations of crushed whole spider mites (*Tetranychus urticae* Koch), the enzymes capable of hydrolyzing carbohydrates were identified. The products of the enzymic hydrolysis were detected by paper chromatography. The following substrates were hydrolyzed: Starch, maltose, sucrose, trehalose, melibiose, lactose, melezitose and raffinose. Not attacked were: Cellobiose, cellulose, pectin and pectic acid. In the homogenates there must be present an amylase, an α-glucosidase, a β-h-fructosidase, an α- and β-galactosidase. There is no indication for the presence of a β-glucosidase, a cellulase, a pectinase and polygalacturonase.

P. EHRHARDT und G. VOSS

Institut für Angewandte Zoologie der Universität Würzburg (Deutschland), 31. März 1961.

¹ R. FRITZSCHE, Biol. Zbl. 79, 521 (1960).

² R. LIESERING, Z. Pflkrankh. 67, 524 (1960).

³ F. DUSPIVA, Verh. Dtsch. Zool. Ges. Tüb. 1954, 440.

⁴ E. HAAS, Diss. Heidelberg (1955).

⁵ J. W. MC ALLAN und M. L. CAMERON, Can. J. Zool. 34, 559 (1956).

⁶ Herrn Professor Dr. K. GÖSSWALD sei an dieser Stelle vielmals für die Ermöglichung dieser Untersuchungen und seine freundliche Unterstützung gedankt.