

## Fang und Präparation von Thysanopteren und deren Larven:



### **Fangmethoden:**

Selektive Methoden: Fransenflügler lassen sich sehr gut mit Klopfnetzen oder -schirmen aus Baumwolltuch (Nesselstoff) erfassen. Der Klopfschirm wird dabei unter die Vegetation gehalten und die Pflanzen mittels eines Stockes so abgeklopft, dass die Tiere auf das Tuch fallen. Da Thysanopteren im allgemeinen recht fluginaktiv sind, verweilen sie lange genug auf dem Tuch um von dort mit einem feuchten feinen Pinsel in Probenröhrchen (s.u.) aufgenommen zu werden. Diese Methode lässt eine exakte Zuordnung der gesammelten Tiere zu den Pflanzenarten zu, an denen sie erfasst wurden.

Zum Fang von Thysanopteren an Gräsern oder von niederen krautigen Pflanzen haben sich Streifkescher aus Baumwolltuch bewährt, die mit schnellen Bewegungen durch Vegetation geschlagen werden.

Fallenfänge: Fransenflügler lassen sich auch mit unterschiedlichen Fallen, wie Eklektoren oder Malaise-Fallen, erfassen. Allerdings ist dabei der Anteil dieser Tiere am Gesamtfang im Verhältnis zu anderen Insektenordnungen recht gering und die Arbeit des Auslesens der Thysanopteren aus den Proben sehr zeitaufwendig. Bestimmte Fragestellungen können dennoch den Einsatz von Fallen rechtfertigen: so lassen sich z.B. Daten zur Jahresrhythmik (Schlüpfphänologie/Aktivitätsdichte) einzelner Arten kaum besser als durch Boden-Photoektoren gewinnen. Eine kurze Diskussion der Eklektormethode finden Sie in folgender Publikation: ULITZKA, M.R. (2009): Fransenflügler-Emergenzen am Stamm von Apfelbäumen (Insecta, Thysanoptera). *Entomologische Zeitschrift* **119**: 183 – 189.

PDF-download unter: [www.thrips-id.de/Resources/Ulitzka%20EZ%20119%202009a.pdf](http://www.thrips-id.de/Resources/Ulitzka%20EZ%20119%202009a.pdf)

Thysanopteren lassen sich auch recht effektiv mit Farbfallen fangen. Farbige Leimtafeln allerdings, wie man sie im Kulturpflanzenschutz einsetzt, sind für Probennahmen mit taxonomischer Zielsetzung völlig ungeeignet, da die Tiere komplett mit Leim verkleben und kaum wieder abzulösen sind. Weit besser eignen sich farbige Schalen, die man einfach und kostengünstig aus Einweggeschirr-Schüsseln herstellen kann: Die Schüsseln werden auf der Innenseite mit gelber bzw. blauer Farbe gestrichen und mit einer Fangflüssigkeit gefüllt. Als solches Fangmedium kann man Wasser oder niederprozentigen Alkohol verwenden, dem ein Tropfen Detergens (Spülmittel) zugesetzt ist, damit die Tiere untergehen. Tendenziell werden in Gelbschalen eher Blütenbewohner, in Blauschalen eher Blattbewohner gefangen.

## **Vorkonservierung:**

Die gefangenen Fransenflügler müssen zunächst in eine Flüssigkeit zur Vorkonservierung überführt werden. Selektiv gefangene Tiere können direkt aus den Netzen mit einem Pinsel in vorbereitete Probenröhrchen verfrachtet werden. Zur Vorkonservierung sind hochprozentiger Alkohol (Spiritus), Formol oder Pikrinsäure nicht geeignet, da diese Lösungen Proteine durch Denaturierung härten und so die weitere Präparation erschweren bzw. unmöglich machen. Als günstig hingegen hat sich ein Konservierungsmedium nach Vizthum erwiesen, das heute eher unter dem Namen AGA (Alcohol-Glycerol-Acetic Acid) bekannt ist. Dieses besteht aus 10 Teilen Ethanol 60%, 1 Teil Glycerin, 1 Teil Eisessig, außerdem werden einige Tropfen Detergens zugesetzt, damit die kleinen Insekten absinken. Die Tiere bleiben darin über lange Zeit (erfahrungsgemäß bei dunkler und kühler Lagerung bis zu 5 Jahre) weich und gut präparierbar. Ein äußerst günstiger Nebeneffekt von AGA ist, dass dieses Medium in den Körper der konservierten Arthropoden eindringt und so durch die Steigerung des osmotischen Druckes bewirkt, dass sich die Tiere strecken und ihre Flügel und Beine abgespreizt werden. Zwingend notwendig ist die Aufnahme von Fangdaten (Ort, Pflanze, ...). Diese kann man mit Bleistift auf kleine vorbereitete Zettel schreiben und direkt mit in die Probenröhrchen legen.

## **Werkzeuge:**

Zur Präparation der kleinen Insekten sind zunächst einmal Werkzeuge notwendig, die mit der geringen Körpergröße in Einklang stehen. Normale Präpariernadeln sind daher ungeeignet.

Zum Ausrichten und Anstechen der Tiere haben sich Minutienstifte (Durchmesser 0,15mm), die zum Nadeln kleinster Insekten verwendet werden, oder feine Akupunkturnadeln (z.B. Seirin J-Type 1430, 0,14 x 30 mm) bewährt. Zur besseren Handhabung kann man diese in eine dünne, durch Ausglühen weich gemachte, Injektionskanüle einquetschen und die Kanüle wiederum in einen gängigen Nadelhalter einschrauben. Ein Einkleben der Nadeln ist ungünstig, da die organischen Lösemittel die meisten Kleber mit der Zeit auflösen.

Zum Umsetzen der Tiere zwischen den einzelnen Präparierlösungen sind kleine Drahtschlingen oder -gabeln (Letztere kann man durch Aufschneiden der Schlinge herstellen) sehr gut geeignet. Feiner Draht (0,25mm – 0,3mm; z.B. von elektrischen Spulen) wird zu einer Schlinge verdreht und wiederum in eine Kanüle eingequetscht.

Für die Präparation sind zudem gängige Präparierwerkzeuge wie feine Nadeln oder spitze feine Pinzetten z.B. zum Auflegen und Ausrichten der Deckgläschen notwendig. Für die einzelnen Präparierlösungen sind kleine Schälchen mit Abdeckung (sogenannte Embryoschalen) nötig.

## **A: Präparate für taxonomische Zwecke (Imagines):**

Präparate für taxonomische Zwecke werden in Kanadabalsam eingebettet. Die hervorragende Haltbarkeit dieses Einbettungsmediums verbunden mit herausragenden optischen Eigenschaften lässt kaum Alternativen zu.

Will man eine größere Sammlung anlegen, so wird man auf geschnittene Objektträger verzichten und eher Varianten mit geschliffenen Kanten benutzen. Als Deckgläschen verwendet man runde Gläser der Stärke 1 (0,13 - 0,16 mm) mit einem Durchmesser von 12mm (für tropische Riesenformen 15mm).

Ein fertiges Präparat sollte folgende Eigenschaften aufweisen:

### Gute Sichtbarkeit der Merkmale

Meist werden die Tiere in Dorsoventral-Lage präpariert. Bei Präparateserien sollten immer einige Tiere lateral liegen. Flügel und Beine sollten abgespreizt sein.

### Lichtdurchlässigkeit

Insbesondere große bzw. dunkle Formen müssen mit KOH gebleicht (mazeriert) werden, damit feine Strukturen in der Chitinkutikula beurteilbar sind. Auch durch Nelkenöl (s.u.) lassen sich die Präparate aufhellen.

### Farberhaltung

Die oben genannte Bleichung sollte so erfolgen, dass die ursprüngliche Färbung der Tiere nicht verloren geht. Bei Serienpräparaten gleicher Arten sollten stets einige Individuen ungebleicht eingebettet werden. Gebleichtes Material liefert grundsätzlich keine Informationen zur Färbung des Occellar- oder Hypodermalpigments, die jedoch oft artenspezifische Merkmale darstellt.

### Handhabbarkeit

Um eine lange Suche des Objekts unter dem Mikroskop zu vermeiden, sollte die Tiere möglichst mittig auf dem Objektträger liegen. Vorteilhaft ist zudem die Ausrichtung der kleinen Insekten mit deren Kopf zum unteren Rand des Objektträgers. Durch die optisch bedingte Umkehr erscheinen sie dann bei der mikroskopischen Betrachtung aufrecht.

So angefertigte Präparate kann man sogar übereinanderlegen und durch Änderung der Schärfereinstellung die Tiere direkt miteinander vergleichen ("Durchscannen").

## Haltbarkeit

Präparate zu taxonomischen Zwecken sind nur dann von wissenschaftlichem Wert, wenn sie über lange Zeiträume unverändert erhalten bleiben und so zu Vergleichszwecken dienen können. Daher kommt zur Herstellung derartige Präparate ausschließlich Kanadabalsam in Frage.

Antike Referenzpräparate in vielen Museen beweisen, dass in Kanadabalsam eingebettete Insekten bei lichtgeschützter Lagerung mindestens 250 Jahre unverändert überstehen.

### **Vom vorkonservierten Thrips zum fertigen (mazerierten) Dauerpräparat:**

Für Präparate ohne Mazeration entfallen die Punkte 3 und 4.

1) Die Tiere werden aus den Probenröhrchen mit AGA in die erste Schale pipettiert. Von dort werden sie mittels einer Drahtgabel (s.o.) in eine Waschlösung (Ethanol 40%) überführt.

2) In der Waschlösung verbleiben die Tiere mindestens 10 Minuten. Sie werden zudem ventral in den Intersegmentalhäutchen der Abdominalsternite mit einer feinen Nadel angestochen. Dies ermöglicht einen schnelleren Flüssigkeitsaustausch und verhindert ein Kollabieren bei der späteren Entwässerung im Ethanol.

3) Aus der Waschlösung werden die Tiere nun mit einer Drahtgabel in die nächste Präparierschale mit Kalilauge (5%) überführt. Je nach Größe und Ausgangsfarbe verbleiben sie nun bis zu 24 Stunden in der Lauge. Dabei ist es sinnvoll von Zeit zu Zeit mit einer gebogenen Nadel ihr Abdomen vorsichtig zusammenzudrücken und die sich nach und nach zersetzenden Eingeweide und verseifenden Fette herauszumassieren.

4) Nun werden die Tiere erneut in eine Waschlösung (Ethanol 40%) überführt, wo sie ca. 10 Minuten verbleiben.

5) Nun folgt die Entwässerung in der Alkoholreihe. In kleinen Schälchen werden folgende Ethanol-Konzentrationen vorbereitet: 80%, 90% und Ethanol absolut (min. 96%). Die Tiere verbleiben in jeder Lösung mindestens 10 bis 15 Minuten, große Individuen länger.

6) Nun müssen die Tiere in ein Medium überführt werden, das sich in Kanadabalsam löst. Besonders geeignet ist aus mehreren Gründen etherisches Nelkenöl (*Oleum syzygii aromatici*): Es ist wesentlich weniger giftig als Xylol oder Terpeneol und hellt zudem die Präparate auf.

Allerdings neigen in KOH gebleichte Thysanopteren manchmal zum Kollabieren; v.a. dann, wenn sie nicht vollständig, d.h. zu kurz, mazeriert wurden und sich noch Organreste im Abdomen befinden. Insbesondere das Abdomen, aber in manchen Fällen sogar die Fühlerglieder können dabei schrumpfen oder eingedellt werden. Umgehen oder zumindest reduzieren kann man diesen Effekt indem man zunächst ein Zwischenmedium aus Ethanol absolut und Nelkenöl im Verhältnis 1:1 mischt, die Tiere darin etwa 10 Minuten lässt und sie erst dann in reines Nelkenöl überführt, worin sie mindestens 20 Minuten verbleiben sollten.

7) Nun folgt die eigentliche Erstellung des Präparats:

Ein Objektträger wird auf eine Schablone, die dessen Mitte markiert, gelegt und ein Tropfen Kanadabalsam mit einem Glasstab aufgebracht. Nun wird das Tier mit einer gebogenen Nadel aus dem Nelkenöl in das Balsam überführt und unter der Stereolupe mit einer feinsten Nadel vorsichtig ausgerichtet (siehe oben: Handhabbarkeit von Präparaten). Mit einer spitzen Pinzette muss nun das Deckglas so aufgelegt und etwas angedrückt werden, dass das kleine Insekt mittig verbleibt. Mit etwas Übung kann man durch Bewegen des Deckglases das Tier auch noch geringfügig zurechtrücken.

8) Sinnvoll ist das Vortrocknen der Präparate auf einer Heizplatte (sog. Objektträger-Strecktisch) bei 45°C um sie vorab zu fixieren. Die eigentliche Trocknung erfolgt über vier bis sechs Wochen im Wärmeschrank bei einer Temperatur von etwa 40°C.

## **B: Präparate für Routineuntersuchungen**

Um schnell und kostengünstig Präparate für Routineuntersuchungen herzustellen, kann man folgende Medien verwenden:

- Einschlussmittel nach HOYER (Genaue Angaben zur Herstellung dieses Mediums finden Sie unter C: Präparate von Thysanopterenlarven)
- CMC 10 Mountant (Masters Company, Inc., 890 Lively Blvd. Wood Dale, IL 60191, masterscoinc@aol.com)

Beide Medien sind zwar weniger gut für permanente Dauerpräparate geeignet, aber bei gewissenhafter Herstellung durchaus viele Jahre haltbar; insbesondere wenn die Präparate mit Umrandungslack versiegelt werden.

Zur Präparation werden die Tiere aus dem Vorkonservierungsmedium in 70%iges Ethanol überführt. Nach ca. 10 Minuten kann man sie dann auf einem Objektträger in einen Tropfen des Einbettungsmediums einbringen, ausrichten und mit einem Deckglas abdecken.

Nach dem Trocknen sollte die Kante zwischen Deckglas und Objektträger durch Umrandung mit einem speziellen Umrandungslack versiegelt werden (Angaben zur Herstellung eines geeigneten Lackes finden Sie unter C: „Präparation von Thysanopterenlarven“).

### **C: Präparation von Thysanopterenlarven**

Die Präparation von Thysanopterenlarven unterscheidet sich grundlegend von der ihrer Imagines. Für Dauerpräparate von Imagines ist Kanadabalsam das wohl geeignetste Einschlussmedium. Für Larven hingegen ist es - abgesehen vielleicht von großen Phlaeothripidenlarven - größtenteils ungeeignet. Der Grund liegt in der schwachen Sklerotisierung der juvenilen Tiere. Die dünne Chitincuticula hält der notwendigen Prozedur der Mazeration, Entwässerung und Überführung in ein unpolares Lösungsmittel (meist Nelkenöl, Xylol oder Terpeneol) nicht stand. In der Regel kollabieren die kleinen Insekten beim letztgenannten Schritt und werden dadurch unbrauchbar. Ältere Präparate von PRIESNER oder von ZUR STRASSEN in der Sammlung der SENCKENBERGISCHEM NATURFORSCHENDEN GESELLSCHAFT zeigen zwar, dass eine Einbettung in Kanadabalsam ohne Mazeration möglich ist, jedoch sind solche Präparate von geringem Wert, da die feinen Merkmale der Cuticula (Miliarskulptur) kaum sichtbar sind.

Ein bewährtes Einschlussmittel für die Juvenilstadien ist hingegen das zweitweise fast in Vergessenheit geratene Medium nach HOYER. Es ist zum einen hydrophil, zum anderen durch das enthaltene Chloralhydrat gleichzeitig bleichend; Mazeration und Entwässerung sind dadurch hinfällig.

Das Medium kann nach folgendem Rezept hergestellt werden. Lesen Sie unbedingt die Sicherheitshinweise zu den genannten Stoffen!

#### Chemikalien:

- Gummi arabicum: 2,6g
- Destilliertes Wasser: 4,4ml
- Glycerin (99%, wasserfrei): 1,4ml
- Chloralhydrat: 17,6g (Achtung: Chloralhydrat ist ein Hypnotikum und giftig!)

### Herstellung:

Zunächst wird das Gummi arabicum mit der genannten Menge an Wasser versetzt, wobei es quillt und sich dann allmählich löst. Nun werden unter Rühren das Glycerin und abschließend das Chloralhydrat zugegeben.

Die Mischung kann mit einem Magnetrührer vermengt werden. Sie erscheint dann zunächst durch mit eingerührte Luftbläschen milchig, wird aber nach kurzer Standzeit wieder klar. Das fertige Medium ist leicht gelblich, aber wasserklar und hat die Konsistenz von flüssigem Honig.

Die Qualität, insbesondere die Hyalinität des Mediums hängt vor allem von der Qualität des Gummi arabicum ab. Trübungen sind meist auf verunreinigtes Gummi arabicum zurückzuführen.

Die Präparation der Larven erfolgt nun wie unter B dargestellt: Die Larven werden aus dem Vorkonservierungsmedium zunächst in (höchstens!) 70%iges Ethanol überführt. Nach ca. 10 Minuten kann man sie auf einem Objektträger in einen Tropfen Medium nach HOYER einbringen, ausrichten und mit einem Deckglas abdecken.

Nach ca. zwei Wochen Trocknungszeit ist das Medium im Randbereich soweit ausgehärtet, dass das Deckglas fest fixiert ist. Nun muss die Kante zwischen Objektträger und Deckglas mit einem geeigneten Umrandungslack versiegelt werden, um eine weitere Austrocknung, die das Präparat zerstören würde, zu verhindern.

Umrandungslacke sollten bestimmte Kriterien erfüllen:

- Sie müssen eine starke Dampfsperre bilden, um eine Verdunstung von Wasser aus dem Einschlussmedium zu verhindern.
- Sie müssen resistent gegen Immersionsöl sein.
- Sie sollten sich gut auftragen lassen, so dass auch umrandete Präparate nicht verschmiert aussehen, sondern eine gewisse Ästhetik besitzen.

Besonders geeignet als Umrandungslack ist Schellack, den man am besten selbst herstellt. Dazu wird heller Blätterschellack in soviel Ethanol gelöst, dass eine noch gut fließende Lösung von ausreichend hoher Viskosität und hohem Festkörpergehalt entstehen. In diese Schellacklösung wird Acetylenruß (sogenannter „Flammruß“, als schwarze Pigmentfarbe im Farbenhandel erhältlich) eingerührt. Der Auftrag erfolgt auf einer Lackringdreh Scheibe. Hier muss man durch Versuche ausprobieren, ob der Lack die richtige Konsistenz hat und ausreichend gut deckt. Der so hergestellte Deckglaslack liefert Ringe mit seidenmatter

Oberfläche. Bevorzugt man schwarz glänzende Ringe, so setzt man dem Lack etwa 5 bis 10% Kolophonium (bezogen auf den Schellackanteil) zu.

Das Einfärben des Lackes mit Flammruß bietet den Vorteil, dass eventuelle Lücken leichter erkannt und dann durch eine zweite Lackschicht beseitigt werden können.

### **Beschriftung der Präparate:**

Der Wert von Präparaten ohne entsprechende Daten ist recht beschränkt. Daher wird jeder Objektträger mit zwei Schildchen versehen:

Links sind vermerkt: Gattungs- und Artnamen mit Autor und Beschreibungsjahr, Geschlecht (oder bei Larven das entsprechende Stadium), Datum der Bestimmung, Bestimmer und die Serie, sowie die Nummer des Präparates.

Rechts sind vermerkt: Herkunftsland und -ort, Habitat und Pflanze an der das Tier erfasst wurde, Datum der Erfassung und Sammler, Einbettungsmedium und -datum und die Serie, sowie die Nummer des Präparates.

Oberhalb des präparierten Tieres (das mit dem Kopf nach unten gerichtet ist) ist es sinnvoll das Geschlecht oder bei Larven das entsprechende Stadium mit wasserfestem Stift zu vermerken, da es so in den Präparatekästen sofort erkennbar ist. Unterhalb des Tieres wird mit einem Glasgravurstift die Serie und Nummer des Präparates erneut eingeritzt. Sollten sich Schildchen einmal ablösen, so können diese eindeutig anhand der Seriennummer zugeordnet werden.