

Markierung und serologischer Nachweis von Erzwespen (*Pignatio agraulis*) als Grundlage für epidemiologische Untersuchungen

J. Janke¹, M. Bandte¹, G. Grabenweger², C. Büttner¹

¹Humboldt-Universität zu Berlin, Fachgebiet Phytomedizin, Lentzeallee 55/57, D-14195 Berlin

²TFH-Berlin, Fachbereich 5, Lüttichstr. 38, D-13353 Berlin

phytomedizin@agr.ar.hu-berlin.de



EINLEITUNG



Abb. 1: *Pignatio agraulis* bei der Parasitierung einer Kastanienminiermotte-Larve

Die Erzwespenart *Pignatio agraulis* gehört zu den wichtigsten natürlichen Gegenspielern der Kastanienminiermotte (*Cameraria ohridella*). Sie stechen die verschiedenen Jugendstadien der Kastanienminiermotte an (Abb. 1A und B) und belegen sie mit ihren Eiern. Die jungen Erzwespenlarven hängen nach ihrem Schlupf außen an den Larven der Kastanienminiermotte und saugen sie aus.

Als Grundlage für epidemiologische Freilanduntersuchungen zur Studie der Ausbreitung und des Parasitierungsverhaltens von *Pignatio agraulis* sollte ein Verfahren entwickelt werden, die Erzwespen zu markieren und anschließend serologisch nachzuweisen. Dabei sollte die Markierung mindestens drei Wochen lang nachweisbar sein. Außerdem sollten verschiedene Einflussfaktoren auf die Nachweisbarkeit geprüft werden.

MATERIAL UND METHODEN

Markierung

→ Zur Markierung der *Pignatio agraulis* wurde ein rabbit-Gamma-Immunglobulin (IgG) (I5006 Sigma) verwendet.

Applikationsmethode:

Das IgG wurde den Tieren entweder über die Fütterung zugeführt oder sie wurden mit diesem besprüht.

Aufwandmenge:

Es wurden Aufwandmengen von 0,25 – 5,00 mg IgG / 10 Tiere verwendet.

Serologischer Nachweis

→ Der serologische Nachweis erfolgte mittels ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).

Beschichtung:

Die Beschichtung mit anti-rabbit-IgG (R2004, Sigma) wurde in Konzentrationen von 1:500 bis 1:1500 (v.v) vorgenommen.

Probenaufbereitung:

Für die Probenzugabe wurden die *Pignatio agraulis* in jeweils 500 bis 1000 µl Puffer homogenisiert.

Konjugatzugabe:

Der verwendete Zweit-Antikörper wurde mit Peroxidase (A6154, Sigma) oder Alkalischer Phosphatase (A3687, Sigma) konjugiert.

Einflussfaktoren auf die Nachweisbarkeit

Alter der Tiere:

Die *Pignatio agraulis* wurden 3, 10 oder 29 Tage nach dem Schlupf markiert. Über einen Zeitraum von sechs Wochen wurden täglich Proben entnommen und serologisch untersucht.

klimatische Bedingungen:

Die Tiere wurden Temperaturen von -3°C bis +23°C und relativen Luftfeuchten von 37 – 100% ausgesetzt.

Geschlecht der Tiere:

Es wurden männliche und weibliche *Pignatio agraulis* untersucht.

ERGEBNISSE

Applikationsmethode

Alle besprühten *Pignatio agraulis* wurden markiert. Bei den mit IgG gefütterten Erzwespen wurden die Proben 4 und 5 nicht markiert (Abb. 2).

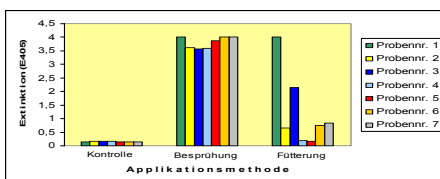


Abb. 2: Extinktionswerte (E₄₀₅) nach ELISA unter Berücksichtigung unterschiedlicher Applikationsmethoden zur Markierung von *Pignatio agraulis*

Aufwandmenge

Bereits bei einer Aufwandmenge von 0,25 mg IgG / 10 Tiere sind die Extinktionswerte rund 13 mal höher als die der unmarkierten Kontrollgruppe (Abb. 3).

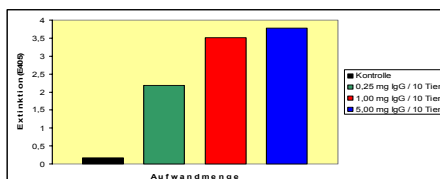


Abb. 3: Durchschnittliche Extinktionswerte (E₄₀₅) bei unterschiedlichen Aufwandmengen (n = 7)

Probenaufbereitung

Wenn die Einzeltiere in 1000 µl Puffer homogenisiert, so sind die Extinktionswerte nur 2,4 mal höher als die der unmarkierten Kontrollgruppe (Abb. 4). Bei Verwendung von 500 µl Puffer sind sie 4,1 mal höher.

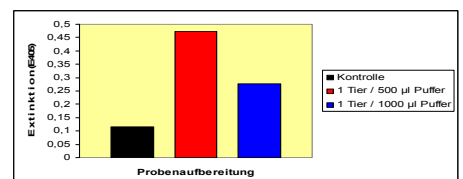


Abb. 4: Durchschnittliche Extinktionswerte (E₄₀₅) bei unterschiedlichen Pufferkonzentrationen zur Probenaufbereitung (n = 3)

ZUSAMMENFASSUNG

Markierung

- Die vorgenommenen Markierungen waren ausreichend, um sie mit Hilfe des ELISA nachweisen zu können
- Die Markierung war über den gesamten Lebenszeitraum der Erzwespen nachweisbar
- Eine Markierung mittels Besprühung führt im Vergleich zu einer solchen über die Fütterung zu einer homogeneren Markierung aller Einzelindividuen
- Zur Markierung ist eine Aufwandmenge von 0,25 mg IgG / 10 Tiere ausreichend

Serologischer Nachweis

- Die zur Beschichtung verwendete IgG-Konzentration hat keinen entscheidenden Einfluss die serologische Nachweisbarkeit
- Die Einzeltiere sollten in 500 µl Probenpuffer homogenisiert werden
- Peroxidase-Konjugate und Alkalische Phosphatase-Konjugate führen zu den selben Ergebnissen

Einflussfaktoren auf die Nachweisbarkeit

- Die klimatischen Bedingungen, das Alter und Geschlecht von *Pignatio agraulis* haben keinen Einfluss auf die Nachweisbarkeit der Markierung

Auf der Grundlage dieser Studie sind im Frühsommer 2006 Freisetzungsvorhaben geplant, um die Ausbreitung und das Parasitierungsverhalten von *Pignatio agraulis* zu untersuchen.

Vom Erfolg dieser Freisetzungsvorhaben wird es abhängen, ob eine Zucht von *Pignatio agraulis* für die praktische Anwendung sinnvoll ist.