

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXIX, 8

SECTIO C

1974

Instytut Biologii UMCS
Zakład Zoologii

Irena PAWELEC

**Układ systematyczny gatunków środkowoeuropejskich
rodzaju *Chorthippus* Fieb. (Orthoptera, Acrididae)
w świetle badań eksperymentalnych**

Система средневропейских видов рода *Chorthippus* Fieb. (Orthoptera Acrididae)
в свете экспериментальных исследований

The Systematics of Central European Species of the Genus *Chorthippus* Fieb.
(Orthoptera, Acrididae) in the Light of Experimental Research

WSTĘP

Ze względu na rozbieżności w poglądach na stosunki pokrewieństwa gatunków rodzaju *Chorthippus* Fieb. (Orthoptera, Acrididae), podjęto próbę wyjaśnienia ich przy pomocy badań metodami nieklasycznymi. Objęto nimi wszystkie gatunki tego rodzaju występujące w Polsce. Należą one, według aktualnie przyjętego układu systematycznego (1, 2, 5, 9), do dwóch podrodzajów *Chorthippus* s. str. i *Glyptobothrus* Ch o p. Ich układ systematyczny przedstawia się następująco. Podrodzaj *Chorthippus* s. str. obejmuje gatunki: *Ch. albomarginatus* (D e g.), *Ch. dorsatus* (Z e t t.), *Ch. montanus* (C h a r p.), *Ch. parallelus* (Z e t t.). Do podrodzaju *Glyptobothrus* Ch o p. należą: *Ch. apricarius* (L.), *Ch. vagans* (E v e r s m.), *Ch. pullus* (P h i l.), *Ch. brunneus* (T h u n b.), *Ch. biguttulus* (L.), *Ch. mollis* (C h a r p.). Materiał do badań zbierano na terenie powiatu lubelskiego i w Puszczy Sandomierskiej.

Praca niniejsza, jako doktorska, została wykonana w Zakładzie Zoologii Instytutu Biologii UMCS pod kierunkiem prof. dr. S. M. Klimaszewskiego.

ANALIZA KARIOLOGICZNA

Brak jest, jak dotąd, pełnego opisu kariotypów wszystkich gatunków rodzaju *Chorthippus* Fieb. Z tego względu przebadano kariotypy wszystkich polskich gatunków. Brano pod uwagę ilość, kształt, wielkość i morfologię chromosomów obserwowanych w stadium metafazy w preparatach gniecionych z jąder samców utrwalanych płynem Carnoy i barwionych orceiną.

Stwierdzono zasadnicze podobieństwo kariotypów wszystkich badanych gatunków, których pełny garnitur chromosomowy $2N\sigma = 17$ składa się z trzech par chromosomów metacentrycznych, pięciu par chromosomów akrocentrycznych i chromosomu x, o podobnych dla wszystkich gatunków kształtach i wymiarach. Powyższe wyniki potwierdzają poglądy White'a (26), że u prostoskrzydłych brak jest wyraźnych kariologicznych różnic między pokrewnymi gatunkami lub występują one bardzo rzadko.

Brak dostatecznych różnic w morfologii chromosomów, które stanowiłyby kryterium taksonomiczne, świadczy o zwartości i jednolitości rodzaju. Nie znaczy to jednak, iż w jego obrębie nie jest możliwe wyróżnienie mniejszych jednostek na podstawie innych cech kariologicznych.

ANALIZA SKŁADU WOLNYCH AMINOKWASÓW
I BIAŁEK HEMOLIMFY

W ostatnich latach metody chromatografii dla celów systematyki i taksonomii owadów z powodzeniem stosowali: Eichorn (8), Köhler (14), Micks (18), Robertson (19), Benassi, Colombo, Peretti (3), Klimaszewski (12), Saxena (20). W miarę doskonalenia metod elektroforezy stają się one również bardziej przydatne do ustalania stosunków pokrewieństw (4). Dobre wyniki przy stosowaniu elektroforezy białek hemolimfy owadów na żelu poliakrylamidowym uzyskali Wang Ching-Much, Patton (25), Marty i Zalta (17).

W przeprowadzonych badaniach nad stosunkami pokrewieństw rodzaju *Chorthippus* Fieb. zastosowano dwie metody: 1) elektrochromatografię wolnych aminokwasów hemolimfy, 2) elektroforezę jej białek na żelu poliakrylamidowym.

Celem badań chromatograficznych było stwierdzenie stanu jakościowego wolnych aminokwasów w hemolimfie dziesięciu badanych gatunków, ewentualne uchwycenie międzygatunkowych różnic w tym zakresie i ocena ich przydatności dla systematyki rodzaju *Chorthippus* Fieb. Ze względu na to, że stwierdzono wahania w występowaniu wolnych aminokwasów poszczególnych stadiów rozwojowych (m.in. 6, 10, 11), wzięto pod uwagę hemolimfę imagines.

Do badania wolnych aminokwasów hemolimfy zastosowano metodę elektrochromatografii (15). Do jednej próby pobierano hemolimfę z kilkunastu osobników. Próby powtarzano kilkakrotnie. Do określonej objętości hemolimfy dodawano taką samą objętość alkoholu absolutnego w celu strącenia białek. Następnie próbę pozostawiano w lodówce na kilka godzin celem lepszego wytrącenia osadu. Po odwirowaniu zbierano supernatant i наносzono na bibułę Whatman w ilości 30 μ l na próbę. Do elektrochromatografii używano następujących odczynników: a) bufor o pH 2,2 składał się z mieszaniny 2,5% kwasu mrówkowego i 7,8% kwasu octowego; b) układy stosowane do chromatografii: I rz. butanol — kwas octowy lodowaty — woda (4 : 1 : 1) lub fenol — woda (7 : 3).

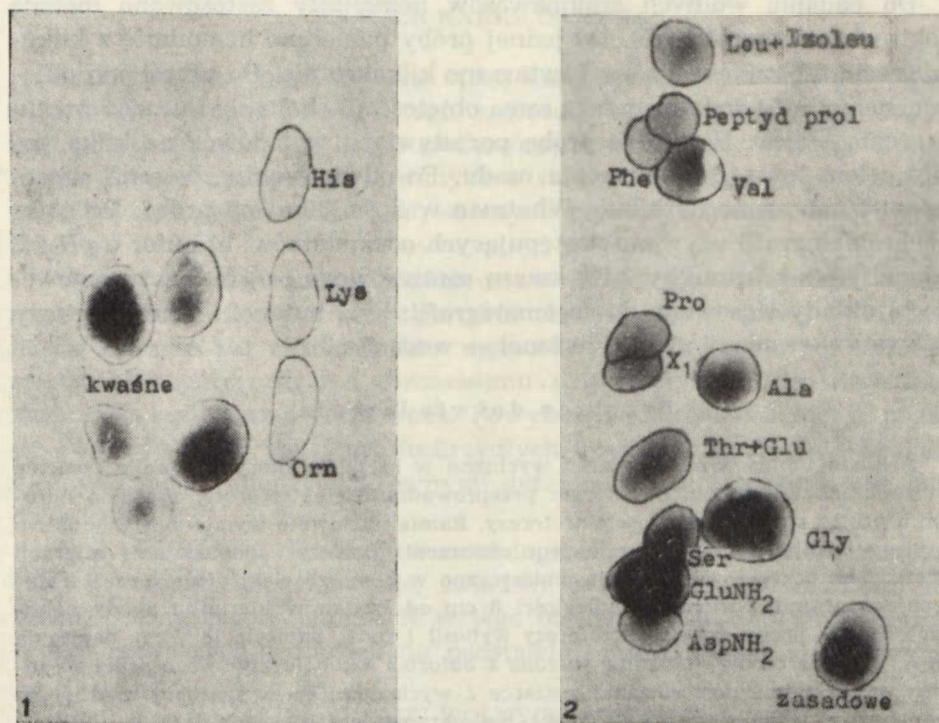
Przebieg doświadczenia

Arkusze bibuły Whatman nr 3 wycinano w kształcie litery T. Ramię poziome o wymiarach 6 $\times$ 42 cm, na którym przeprowadzano elektroforezę, zwilżano buforem o pH 2,2 stosowanym do elektroforezy. Ramię pionowe o wymiarach 35 $\times$ 23 cm nasycano alkoholem etylowym, celem utworzenia bariery zapobiegającej migracji buforu. Tak przygotowaną bibułę umieszczano w komorze elektroforetycznej, a następnie na ramię poziome w odległości 6 cm od środka w kierunku anody наносzono badane próby. Czas elektroforezy wynosił 1 godz., napięcie 18 V/cm, natężenie 1 mA. Arkusze bibuły dokładnie suszono z buforu i alkoholu etylowego przez 24 godziny w specjalnie dostosowanej suszarce z wyciągiem. Po wysuszeniu rozdzielano aminokwasy jednokierunkową, dwukrotną chromatografią wstępującą w układzie I rz. butanol — kwas octowy lodowaty — woda lub fenol — woda. Jedną próbę z każdego gatunku poddawano chromatografii przy użyciu układu butanolowego, drugą celem lepszego rozdzielenia aminokwasów zasadowych rozdzielano w układzie fenolowym. Elektrochromatogramy wywoływano 0,2% acetonowym roztworem ninhydryny w temp. 60°C. Elektroforezę przeprowadzano w aparacie do elektroforezy bibulowej średnionapięciowej, wykonanym w Warsztatach Konstrukcyjno-Naprawczych Akademii Medycznej w Lublinie.

W hemolimfie badanych gatunków stwierdzono występowanie 19 wolnych aminokwasów i peptydu prolinowego. Wspólne dla wszystkich gatunków były: peptyd prolinowy i 10 aminokwasów: leucyna z izoleucyną, fenyloalanina, walina prolina, alanina, treonina + kwas glutaminowy, seryna, glicyna, lizyna. Pozostałe aminokwasy występowały tylko u niektórych gatunków.

Zestawienie wolnych aminokwasów hemolimfy (tab. 1) wykazuje, że istnieje podstawowa grupa aminokwasów występująca u wszystkich gatunków lub u ich większości. Druga grupa aminokwasów pojawia się sporadycznie u różnych gatunków. Nieregularne występowanie tych aminokwasów utrudnia zestawienie gatunków w grupy. Można jednak zauważyć, że niektóre gatunki wyróżniają się z grupy pozostałych.

Jako cechy wybitnie „różniące” traktuję: a) wyłączne występowanie



Ryc. 1. Przykładowy rozdział aminokwasów hemolimfy (*Ch. albomarginatus*); 1 — elektrochromatografia w układzie: butanol — kwas octowy — woda, 2 — elektrochromatografia w układzie: fenol — woda; oznaczenia aminokwasów patrz tab. 1
 An exemplary division of hemolymph amino acids (*Ch. albomarginatus*): 1 — electrochromatography in the: butanol — acetic acid — water system, 2 — electrochromatography in the: phenol — water system; for denotations of amino acids see Table 1

jednego aminokwasu lub dzielenie go najwyżej jeszcze z jednym gatunkiem; b) brak aminokwasu występującego u wszystkich innych gatunków lub więcej niż u ich połowy. Na tej podstawie można zestawić gatunki według liczby cech „różniących”:

<i>Ch. vagans</i>	6	<i>Ch. dorsatus</i>	1
<i>Ch. pullus</i>	3	<i>Ch. biguttulus</i>	1
<i>Ch. apicarius</i>	2	<i>Ch. mollis</i>	1
<i>Ch. montanus</i>	2	<i>Ch. parallelus</i>	0
<i>Ch. albomarginatus</i>	1	<i>Ch. brunneus</i>	0

Z powyższego zestawienia wynika, że skład aminokwasów *Ch. vagans* w wyraźny sposób wyróżnia go od pozostałych gatunków. Mniej jaskrawo natomiast zaznacza się to w przypadku *Ch. pullus*.

W badaniach nad białkami hemolimfy zastosowano elektroforezę żelową przy użyciu żelu akrylamidowego.

Tab. 1. Występowanie wolnych aminokwasów w hemolimfie
The occurrence of free amino acids in the hemolymph

Gatunek Species	Leu+Izoleu	Phe	Propeptyd prol.	Val	Pro	Ala	Thr+Glu	Ser	Glu NH ₂	Gly	Asp NH ₂	Kw. asp	Met	x ₁	x ₂	Tyr	Arg	Hist	Lys	Orn.
<i>Ch. albomarginatus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+				+	+	+
<i>Ch. dorsatus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+						+	+	+	+
<i>Ch. montanus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+	+			+	+	+
<i>Ch. parallelus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+				+	+	+
<i>Ch. biguttulus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+			+	+	+	+
<i>Ch. apricarius</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+		+		+	+	+
<i>Ch. brunneus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+			+	+	+	+
<i>Ch. mollis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				+				+	+	+
<i>Ch. pullus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+		+	+
<i>Ch. vagans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+		+	+

Oznaczenia: Leu+Izoleu — leucyna+izoleucyna, Phe — fenylalanina, Val — walina, Pro — prolina, Ala — alanina, Thr+Glu — treonina+kwas glutaminowy, Ser — seryna, GluNH₂ — glutamina, Gly — glicyna, AspNH₂ — asparagina, kw. asp. — kwas asparaginowy, Met — metionina, x₁ — aminokwas niezidentyfikowany, x₂ — aminokwas niezidentyfikowany, Tyr — tyrozyna, Arg — arginina, His — histydyna, Lys — lizyna, Orn — ornityna, Propeptyd prol. — propeptyd prolino-
 Explanation: Leu+Izoleu — leucine+isoleucine, Phe — phenylalanine, Val — valine, Pro — proline, Ala — alanine, Thr+Glu — threonine+glutaminic acid, Ser — serine, GluNH₂ — glutamine, Gly — glycine, AspNH₂ — asparagine, kw. asp. — aspartic acid, Met — methionine, x₁ — unidentified, x₂ — unidentified, Tyr — tyrosine, Arg — arginine, His — histidine, Lys — lysine, Orn — ornithine, Propeptyd prol. — proline-peptide.

Przebieg doświadczenia

Żel sporządzono w sposób następujący: a) 1 mol. octan potasu + 8 mol. mocznik + 0,1 mol. TEMD (inicjator polimeryzacji) na każde 10 ml roztworu; b) 12% akrylamid + 0,6 bisakrylamid + 8 mol. mocznik; pH roztworów żelowych = 5,5; c) 8 mol. mocznik + nadsiarczan amonu w ilości 240 mg na 10 ml roztworu. Roztwory a b c zmieszano w stosunku 1 : 1 : 2. Po wymieszananiu roztworów napełniono nimi rurki szklane o długości 7 cm i średnicy 0,5 cm.

Bufory: a) anodowy: 0,2 mol. B alanina + kwas octowy lodowaty do pH 3,8; b) katodowy: 0,15 mol. KOH + kwas octowy lodowaty do pH 4,5.

Do nanoszonej na żel hemolimfy dodano uprzednio 8 mol. mocznik. Czas elektroforezy wynosił 3 godz. Natężenie prądu 7—8 mA na każdą rurkę. Wędrówka białek odbywała się od + do —.

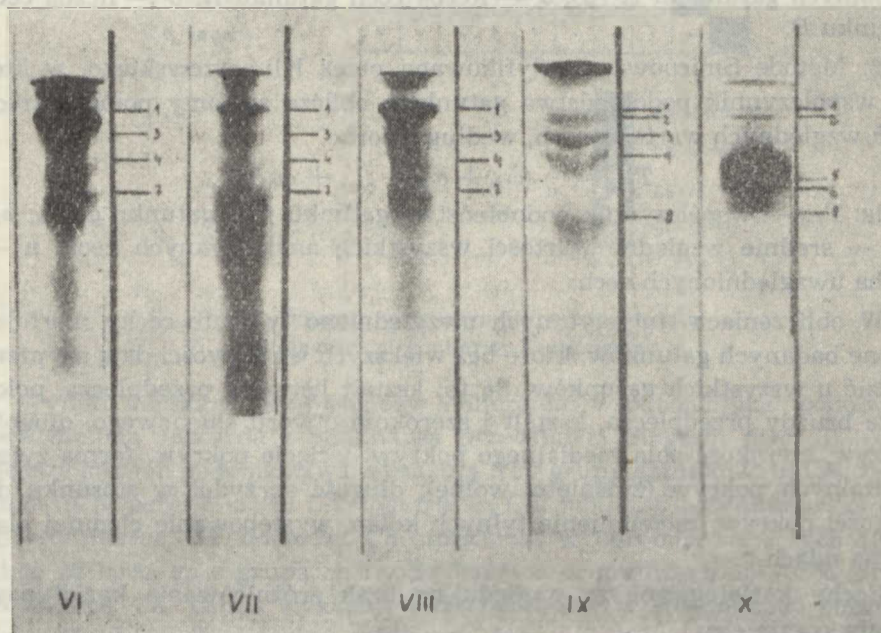
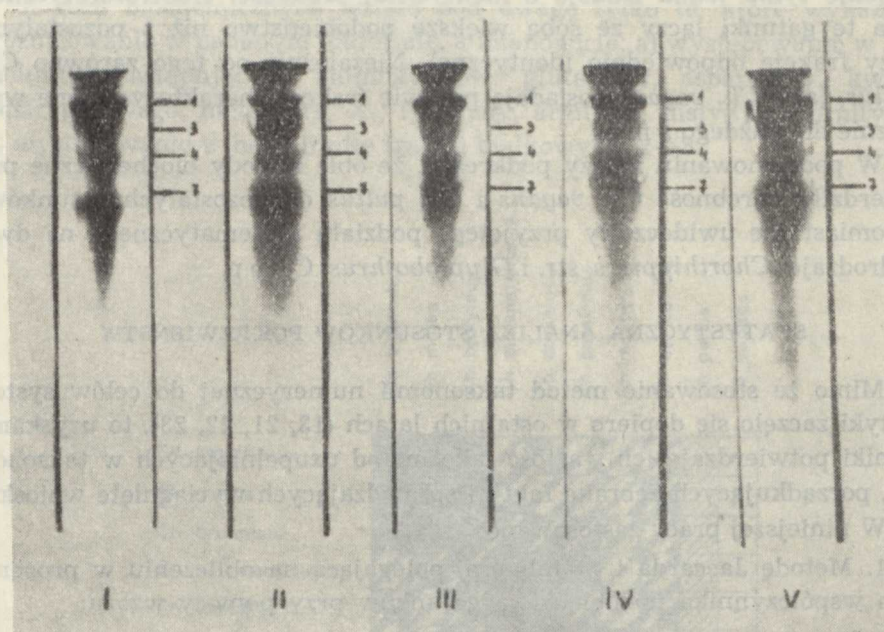
Wyniki elektroforezy przedstawia ryc. 2. Próby I—VIII posiadają po cztery frakcje białkowe (1, 3, 4, 7). Charakteryzuje je zasadnicze podobieństwo. Kolejne, odpowiednie frakcje poszczególnych prób wykazują identyczną prędkość elektroforetyczną. Próba IX ma pięć frakcji (1, 2, 3, 4, 8), przy czym frakcje 1, 3, 4 występują również w próbach I—VIII, a frakcja 1 w próbie X. Frakcje 2 i 8 tej próby znajdują się ponadto tylko w próbie X. Próba X ma również pięć frakcji. Frakcja 1 jest jedyną, upodabniającą ją do pozostałych prób. Frakcje 1, 2 i 8 (jak już wspomniano) są wspólne tylko z próbą IX. Wyłączne dla próby X są frakcje 5 i 6.

Na podstawie otrzymanych danych próby można podzielić na dwie grupy: a) próby I—VIII stanowią zwartą grupę, jednolitą, o jednakowej liczbie frakcji i ich prędkości elektroforetycznej, posiadają jedną frakcję wspólną dla wszystkich prób i trzy frakcje charakterystyczne wyłącznie dla grupy; b) próby IX i X posiadają po pięć frakcji, w tym jedną wspólną z grupą „a”, dwie frakcje charakterystyczne wyłącznie dla grupy, ponadto każda z obu prób posiada po dwie wyłączne dla siebie frakcje, nie stanowią one jednak zespołu tak wyraźnie jednolitego jak poprzedni.

Powyższe ugrupowanie gatunków rodzaju *Chorthippus* nie odpowiada jego układowi systematycznemu. Nie uwidocznił się tutaj podział na dwa podrodzaje: *Chorthippus* s. str. i *Glyptobothrus* Ch o p. Natomiast wyodrębniły się wyraźnie dwa gatunki zaliczane dotąd do podrodzaju *Glyptobothrus* Ch o p.: *Ch. pullus* i *Ch. vagans*. Do pozostałych gatunków na-

Ryc. 2. Zestawienie elektroforegramów hemolimfy: I — *Ch. albomarginatus*, II — *Ch. dorsatus*, III — *Ch. montanus*, IV — *Ch. parallelus*, V — *Ch. apricarius*, VI — *Ch. biguttulus*, VII — *Ch. brunneus*, VIII — *Ch. mollis*, IX — *Ch. pullus*, X — *Ch. vagans*

A composition of hemolymph electrophorograms: I — *Ch. albomarginatus*, II — *Ch. dorsatus*, III — *Ch. montanus*, IV — *Ch. parallelus*, V — *Ch. apricarius*, VI — *Ch. biguttulus*, VII — *Ch. brunneus*, VIII — *Ch. mollis*, IX — *Ch. pullus*, X — *Ch. vagans*



wiązuje tylko jedna frakcja o identycznej prędkości elektroforetycznej. Oba te gatunki łączy ze sobą większe podobieństwo niż z pozostałymi (trzy frakcje odpowiednio identyczne). Niezależnie od tego zarówno *Ch. pullus*, jak i *Ch. vagans* posiadają po dwie frakcje charakterystyczne wyłącznie dla każdego z nich.

W podsumowaniu należy podkreślić, że obie metody biochemiczne potwierdziły odrębność *Ch. vagans* i *Ch. pullus* od pozostałych gatunków, natomiast nie uwidoczniły przyjętego podziału systematycznego na dwa podrodzaje: *Chorthippus* s. str. i *Glyptobothrus* Ch o p.

STATYSTYCZNA ANALIZA STOSUNKÓW POKREWIEŃSTW

Mimo że stosowanie metod taksonomii numerycznej do celów systematyki zaczęło się dopiero w ostatnich latach (13, 21, 22, 23), to uzyskane wyniki potwierdzają ich wartość jako metod uzupełniających w taksonomii, porządkujących zebrane fakty i sprawdzających wyciągnięte wnioski.

W niniejszej pracy zastosowano:

1. Metodę Jaccarda i Steinhausa, polegającą na obliczeniu w procentach współczynnika podobieństwa gatunków przy pomocy wzoru:

$$P = \frac{2c}{a+b} \cdot 100$$

gdzie: p — współczynnik podobieństwa w procentach, c — liczba cech wspólnych gatunkom A i B , a — liczba cech gatunku A , b — liczba cech gatunku B .

2. Metodę Smirnowa zmodyfikowaną przez Klimaszewskiego, w której współczynnik podobieństwa gatunków oblicza się przy pomocy średnich względnych wartości cech, według wzoru:

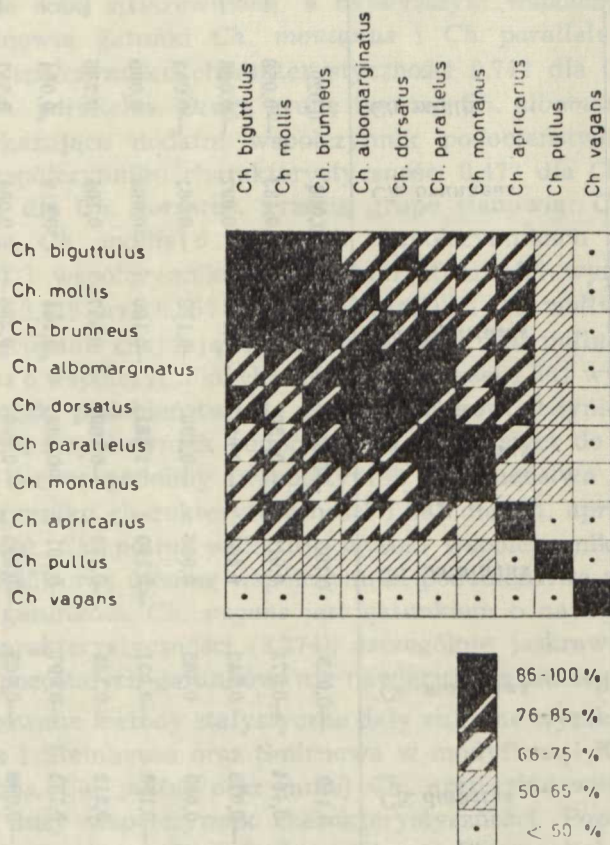
$$T_{f,g} = \frac{1}{n} (\omega_A + \omega_B + \dots + \omega_M)$$

gdzie: $T_{f,g}$ — współczynnik podobieństwa gatunku f do gatunku g , ω_A , ω_B , ω_M — średnie względne wartości wszystkich analizowanych cech, n — liczba uwzględnionych cech.

W obliczeniach statystycznych uwzględniono tylko te cechy morfologiczne badanych gatunków, które bez większych wątpliwości dają się prześledzić u wszystkich gatunków. Są to: kształt listewek przedplecza, położenie bruzdy przedplecza, kształt i szerokość otworu słuchowego, długość pokryw, szerokość pola medialnego pokryw, wcięcie pokryw, forma żyłek kubitalnych pokryw (zrośnięte, wolne), długość skrzydeł w stosunku do długości pokryw, zaciemnienie tylnych kolan, występowanie ciemnej plamy na udach.

Cechy kariologiczne ze względu na brak zróżnicowania kariotypów zostały pominięte.

Z cech biochemicznych wzięto pod uwagę tylko te, które wykazują zróżnicowanie w badanym materiale, a mianowicie: a) występowanie w hemolimfie następujących aminokwasów: glutaminy, asparaginy, kwasu asparaginowego, metioniny, X_1 , tyrozyny, argininy, histydyny, ornityny; b) występowanie w hemolimfie frakcji białkowych: 2—8.



Ryc. 3. Diagram współczynników podobieństw
A diagram of similarity coefficients

Wyniki uzyskane przy pomocy obliczania współczynnika podobieństwa metodą Jaccarda i Steinhausa przedstawia diagram (ryc. 3). Największy stopień podobieństwa wykazują trzy grupy gatunków: a) *Ch. montanus* i *Ch. parallelus*; b) *Ch. biguttulus*, *Ch. mollis*, *Ch. brunneus*; c) *Ch. albomarginatus*, *Ch. dorsatus*. *Ch. apricarius* wyodrębnia się z tych grup, mimo że łączy go z grupą „b” podobieństwa w granicach 65—85% (przez *Ch. mollis*). *Ch. pullus* wykazuje dużą odrębność w stosunku do pozostałych gatunków. Z ośmioma gatunkami łączy go tylko współczynnik po-

Tab. 2. Zestawienie współczynników podobieństw obliczonych metodą Smirnowa
w modyfikacji Klimaszewskiego
A. composition of similarity coefficients calculated by Klimaszewski's modification
of Smirnov's method

Gatunek Species	<i>Ch. albomarginatus</i>	<i>Ch. dorsatus</i>	<i>Ch. montanus</i>	<i>Ch. parallelus</i>	<i>Ch. apricarius</i>	<i>Ch. biguttulus</i>	<i>Ch. brunneus</i>	<i>Ch. mollis</i>	<i>Ch. pullus</i>	<i>Ch. vagans</i>
<i>Ch. albomarginatus</i>	0,477	0,140	-0,015	0,106	-0,069	-0,051	0,066	0,029	-0,268	-0,339
<i>Ch. dorsatus</i>	0,140	0,404	-0,073	0,019	-0,156	0,212	0,133	-0,058	-0,296	-0,326
<i>Ch. montanus</i>	-0,015	-0,073	0,742	0,465	-0,031	-0,145	-0,097	-0,065	-0,237	-0,802
<i>Ch. parallelus</i>	0,106	0,019	0,465	0,556	-0,190	-0,173	-0,061	-0,093	0,081	0,711
<i>Ch. apricarius</i>	-0,069	-0,156	-0,031	-0,190	1,381	-0,180	-0,069	0,030	-0,498	-0,278
<i>Ch. biguttulus</i>	-0,051	0,212	-0,145	-0,173	-0,180	0,557	0,164	0,286	-0,320	-0,350
<i>Ch. brunneus</i>	0,066	0,133	-0,097	-0,061	-0,069	0,164	0,419	0,084	-0,209	-0,429
<i>Ch. mollis</i>	0,029	-0,058	-0,065	-0,093	0,090	0,286	0,084	0,557	-0,400	-0,430
<i>Ch. pullus</i>	-0,268	-0,296	-0,237	0,081	-0,498	-0,320	-0,209	-0,400	1,629	-0,242
<i>Ch. vagans</i>	-0,339	-0,326	-0,802	-0,711	-0,278	-0,350	-0,429	-0,430	-0,242	3,274

dobieństwa zawarty w klasie 50—65% lub poniżej 50% (z *Ch. vagans*). *Ch. vagans* jest gatunkiem najbardziej charakterystycznym, wykazuje największy brak podobieństwa do reszty gatunków. Współczynniki podobieństw ze wszystkimi pozostałymi gatunkami nie przekraczają 50%.

Wyniki uzyskane drogą obliczania współczynnika podobieństwa metodą Smirnowa w modyfikacji Klimaszewskiego przedstawia tab. 2. Grupę najbardziej ze sobą spokrewnioną, o najwyższym współczynniku podobieństwa stanowią gatunki *Ch. montanus* i *Ch. parallelus*. Wynosi on 0,465, przy współczynniku charakterystyczności 0,742 dla *Ch. montanus* i 0,556 dla *Ch. parallelus*. Drugą grupę tworzą: *Ch. albomarginatus* i *Ch. dorsatus*, wykazujące dodatni współczynnik podobieństwa. Wynosi on 0,140 przy współczynniku charakterystyczności 0,477 dla *Ch. albomarginatus* i 0,404 dla *Ch. dorsatus*. Trzecią grupę stanowią: *Ch. biguttulus*, *Ch. brunneus*, *Ch. mollis* o dodatnich współczynnikach podobieństwa (0,084—0,286) i współczynnikach charakterystyczności wynoszących dla *Ch. brunneus* 0,419 oraz 0,557 dla *Ch. biguttulus* i *Ch. mollis*. Poza wyodrębnionymi grupami znajdują się: *Ch. apricarius*, *Ch. pullus*, *Ch. vagans*. *Ch. apricarius* o współczynniku charakterystyczności 1,381 wykazuje ujemne współczynniki podobieństwa do ośmiu gatunków, jedynie z *Ch. mollis* ma on dodatni współczynnik podobieństwa, lecz nawet do tego gatunku nie jest on bardzo podobny (współczynnik podobieństwa wynosi 0,090, przy współczynniku charakterystyczności 1,381 dla *Ch. apricarius* i 0,557 dla *Ch. mollis*). *Ch. pullus* wykazuje wysoki współczynnik charakterystyczności (1,625) oraz ujemne współczynniki podobieństwa w stosunku do pozostałych gatunków. *Ch. vagans* jest gatunkiem o najwyższym współczynniku charakterystyczności (3,274), szczególnie jaskrawo wyróżniając się z grupy pozostałych gatunków, nie nawiązuje do żadnego z nich.

Obie stosowane metody statystyczne dały zbliżone wyniki. Według metod Jaccarda i Steinhausa oraz Smirnowa w modyfikacji Klimaszewskiego *Ch. vagans*, *Ch. pullus* oraz mniej *Ch. apricarius* wyodrębniają się i wykazują duży współczynnik charakterystyczności. Pozostałe gatunki łączą się w trzy grupy pokrewnych ze sobą: 1) *Ch. parallelus*, *Ch. montanus*; 2) *Ch. albomarginatus*, *Ch. dorsatus*; 3) *Ch. biguttulus*, *Ch. mollis*, *Ch. brunneus*.

WNIOSKI

W konfrontacji układu systematycznego z otrzymanymi wynikami należy stwierdzić, że nie potwierdzają one słuszności istniejącego układu systematycznego rodzaju *Chorthippus*.

Zarówno metody biochemiczne, jak i statystyczne wykazały zdecydowaną odrębność *Ch. vagans* od pozostałych gatunków. Wyodrębnia się też

jako mało spokrewniony z resztą *Ch. pullus* i częściowo *Ch. apricarius*, który jednak nawiązuje do pozostałych gatunków. Nie wydaje się możliwe wyróżnienie grup bez uwzględnienia pozostałych występujących w świecie gatunków. Jest prawdopodobne, że *Ch. vagans* i *Ch. pullus* nawiązują do innych grup gatunków nie reprezentowanych w faunie Polski. Zwartą grupę stanowią gatunki: *Ch. montanus*, *Ch. parallelus*, *Ch. dorsatus*, *Ch. albomarginatus*, *Ch. biguttulus*, *Ch. brunneus*, *Ch. mollis*. Jednak na podstawie analizy statystycznej wyodrębnia się trzy grupy gatunków pokrewnych: 1) *Ch. montanus*, *Ch. parallelus*; 2) *Ch. dorsatus*, *Ch. albomarginatus*; 3) *Ch. biguttulus*, *Ch. brunneus*, *Ch. mollis*.

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że stosowanie metod kariologicznych (porównywanie kariotypów) jest minimalnie przydatne do badania stosunków pokrewieństw w tej grupie owadów.

W badaniach biochemicznych wykazano, że analiza białek hemolimfy jest szczególnie przydatna do badań w zakresie rodzaju i podrodzaju, natomiast analiza aminokwasów — w odniesieniu do odrębności rodzajowej.

Ze stosowanych metod numerycznych w ocenie stosunków podobieństwa korzystne okazały się obie metody.

Otrzymane wyniki sugerują potrzebę przebadania statystycznego, przynajmniej na podstawie dostępnych cech morfologicznych, całego rodzaju *Chorthippus* Fieb. w celu ustalenia stosunków pokrewnych grup.

PIŚMIENNICTWO

- 1 Bazyłuk W.: Prostoskrzydłe — *Orthoptera* (Saltatoria). Klucze do oznaczania owadów Polski **11**, PWN, Warszawa 1956.
- 2 Bej-Bienko G. J., Miszczenko I. L.: Saranczewyje fauny SSSR i sopriedielnych stran. Czast 2, Izd. Akad. Nauk SSSR, Moskwa 1951.
- 3 Benassi C. A., Colombo G., Peretti G.: Free Amino Acids of the Haemolymph of *Anacridium aegyptium* L. (*Orthoptera*). *Experientia* **15**, 457—458 (1959).
- 4 Bianchi U.: Utilità, significato e limiti dell'elettroforesi applicate a particolari problemi tassonomici. *Riv. Biol.* **60**, 227—245 (1967).
- 5 Chopard L.: *Orthoptéroïdes*. Faune de France 56. Lechevalier, Paris 1951.
- 6 Coles G. C.: The Haemolymph and Moulting in *Shodnius prolixus* Stal. *J. Insect. Physiol.* **11**, 1317—1323 (1965).
- 7 Diksith T. S. S., Vasuki K., Majumder S. K.: Testicular and Haemolymph Amino Acids of *Poecilocerus pictus* (Acrididae). *J. Insect. Physiol.* **14**, 367—370 (1968).
- 8 Eichorn O.: Morphologische und papierchromatographische Untersuchungen zur Artentrennung in der Dreyfusia C.B. (*Adeloidae*). *Z. Ang. Ent.* **42**, 278—283 (1958).
- 9 Harz K.: Die Geradfluger Mitteleuropas. VEB G. Fischer Verl. Jena 1957.
- 10 Jarnicka-Stanios H.: Studies of the Concentration of Free Amino Acids in the Tissues of *Blattella germanica* L. During Metamorphosis. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska sectio C* **22**, 27—39 (1968).

11. Jarnicka-Stanios H.: Zachowanie się wolnych aminokwasów w tkankach poszczególnych stadiów rozwojowych trojszynka ulca (*Tribolium confusum* Duval.). [w:] Materiały na IX Zjazd Polskiego Towarzystwa Zoologicznego, Lublin 22—25 września 1969. Pol. Tow. Zool. Lublin 1969.
12. Klimaszewski S. M.: Bemerkungen über die „mali“ — Gruppe (*Homoptera*, *Psyllidae*). Bull. Acad. Sc. Polon. cl. 2, 9 (1961).
13. Klimaszewski S. M.: Stosunki pokrewieństwa środkowoeuropejskich gatunków z rodzaju *Trioza* Först (*Homoptera*, *Psyllodea*) w świetle badań metodami taksonomii numerycznej. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska sectio C 22, 1—20 (1967).
14. Köhler F.: Papierchromatographische Untersuchungen fluoreszierender Stoffe der Honigbiene (*Apis mellifica* L.). Naturwis. 45 (17), 421—422 (1958).
15. Kowalska-Pyłka H.: Badania nad aminoacydurią u szczurów w nerczycy doświadczalnej wywołanej aminonukleozydem — puromycyną i chlorkiem rtęciowym. Lublin 1966 (maszynopis).
16. Makino S.: A Review of the Chromosome Numbers in Animals. Hokuryukan, Tokyo 1956.
17. Marty R., Zalta J. P.: Significations possibles des variations protéiniques de l'hémolymph des Orthoptères analysées par électrophorèse en gel polyacrylamide. J. Insect. Physiol. 14, 861—868 (1968).
18. Micks D. W.: Paper Chromatography as a Tool for Mosquito Taxonomy: The *Culex pipiens* Complex. Nature 174, 217—218 (1954).
19. Robertson J. G.: Paper Chromatography in Insect Taxonomy. Can. J. Zool. 35, 411—419 (1957).
20. Saxena K. N., Seshachar B. R., Gandhi J. K.: Taxonomic Value of Biochemical Characteristics of Animals with Reference to Amino Acids. Sys. Zool. 14, 33—46 (1965).
21. Smirnow E. S.: Problema taksonomicznego schodstwa w sistematikie. Żur. Obszcz. Biol. 24, 172—181 (1963).
22. Smirnow E. S.: Taksonomiczeskij analiz roda. Żurn. Obszcz. Biol. 21, 89—103 (1960).
23. Sokal R., Sneath P. H.: Principles of Numerical Taxonomy. W. H. Freeman a. Company. San Francisco 1963.
24. Troc Morton L. H.: Biochemistry and Taxonomy. Ann. Rev. Entomol. 13, 99—114 (1968).
25. Wang Ching-Much, Patton R. L.: The Separation and Characterisation of the Haemolymph Proteins of Several Insects. J. Insect. Physiol. 14 (8), 1069—1075 (1968).
26. White M. J. D.: Cytogenetics and Systematic Entomology. Ann. Rev. Ent. 2, 71—90 (1957).
27. Wyatt G. R.: The Biochemistry of Insect Haemolymph. Ann. Rev. Ent. 6, 75—102 (1961).

РЕЗЮМЕ

Так как существуют разногласия во взглядах на отношения родства видов рода *Chorthippus* Fieb. (*Orthoptera*, *Acrididae*), предпринята попытка выяснить их с помощью исследований неклассическими методами. Опыты велись на всех видах этого рода, выступающих в Польше. Во время работы были применены:

1. Кариологический анализ — здесь констатируется основное сходство кариотипов всех исследованных видов.

2. Биохимические методы: а) анализ свободных аминокислот гемолимфы, используя бумажную электрохроматографию, б) анализ белков гемолимфы, пользуясь электрофорезом на полиакриламидовом геле.

Оба биохимических метода подтвердили отличие *Ch. vagans* и *Ch. pullus* от остальных видов, но не показали принятого систематического деления на два подрода *Chorthippus* s. str. и *Glyptobothrus* Ch o p.

3. Статистический анализ отношений родства сделан методом Jaccard'a и Steinhaus'a, а также Smirnova в модификации Климашевского. Оба статистических метода дали похожие результаты: по этим методам *Ch. vagans*, *Ch. pullus* и меньше *Ch. apricarius* выделяются и показывают большой коэффициент характеристичности. Остальные виды образуют три группы, сходные друг с другом: 1) *Ch. parallelus*, *Ch. montanus*, 2) *Ch. albomarginatus*, *Ch. dorsatus*, 3) *Ch. biguttulus*, *Ch. mollis*, *Ch. brunneus*. Сопоставляя систему с полученными результатами надо сказать, что они не подтверждают правильности существующей системы рода *Chorthippus* Fieb.

Примененные методы показали свою разнообразную пригодность для таксономических и систематических исследований. Применение кариологических методов (сравнение кариотипов) в небольшой степени полезно для исследования отношений родств в той же группе насекомых. Примененные биохимические и численные методы оказались для таких исследований очень полезными.

SUMMARY

Because of the difference of opinions on the affinity relations of species of the genus *Chorthippus* Fieb. (*Orthoptera*, *Acrididae*) an attempt to explain them with the help of non-standard methods of investigations was undertaken. The investigations embraced all species of this genus occurring in Poland. The following was applied:

1. A karyological analysis — a basic resemblance of karyotypes of all investigated species was ascertained.

2. Biochemical methods: a) an analysis of free hemolymph aminoacids with the application of paper electrochromatography, b) an analysis of hemolymph proteins by applying electrophoresis on polyacrylamide gel. Both biochemical methods confirmed the distinct feature of *Ch. vagans* and *Ch. pullus* in comparison with the remaining species, however they did not reveal the accepted systematic division into two subgeni *Chorthippus* s. str. and *Glyptobothrus* Ch o p.

3. The statistical analysis of the affinity relations was carried out

using Jaccard's and Steinhaus's method and Klimaszewski's modification of Smirnov's method. Both statistical methods gave similar results: according to these methods *Ch. vagans*, *Ch. pullus* and in a smaller degree *Ch. apricarius* stand apart and show a large characteristic coefficient. The remaining species join themselves into three allied groups: 1) *Ch. parallelus*, *Ch. montanus*, 2) *Ch. albomarginatus*, *Ch. dorsatus*, 3) *Ch. biguttulus*, *Ch. mollis*, *Ch. brunneus*. When comparing the systematic with the obtained results it should be ascertained that they do not confirm the rightness of the existing systematical arrangement of genus *Chorthippus* Fieb.

The applied methods revealed their varied usefulness for taxonomic and systematic investigations. The application of karyological methods (the comparison of karyotypes) has only a minimum usefulness in investigations of affinity relations in this group of insects. The applied biochemical and numerical methods were found to be very useful in these types of investigations.

