Über Arthropodenabwehrstoffe, LXV

Die Chemische Ökologie des Grundschwimmers *Laccophilus minutus*

On Arthropode Defensive Compounds, LXV

The Chemical Ecology of the Water Beetle *Laccophilus minutus*

H. Schildknecht*, B. Weber und K. Dettner

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg
und dem Zoologischen Institut der RWTH Aachen

Z. Naturforsch. **38b**, 1678–1685 (1983); eingegangen am 7. Juli 1983

Arthropode Defensive Compounds, β -Hydroxyalkanoic Acids, Methyl 3,4-dihydroxyphenylacetate, GC-MS, Chemical Ecology

According to a GC-MS analysis of methylated extracts the abdominal tips of the water beetle *Laccophilus minutus* (Dytiscidae) contain four β -hydroxyalkanoic acids. On the basis of MS and GC data another compound was assigned the structure of 6-octenoic acid.

The same β -hydroxyalkanoic acids, and in addition, traces of β -hydroxyheptanoic acids were identified in dissected pygidial defensive glands after trimethylsilylation. Methyl 3,4-dihydroxyphenylacetate was recognized as a further main component in the pygidial gland secretion from the mass spectrum of its TMSi ether.

The Laccophilinae occupy unique position among all the dytiscide subfamilies because they are the only water beetles which store β -hydroxyalkanoic acids in their pygidial glands. On the other hand the dytiscides appear to form a monophyletic group which is supported by the occurrence of methyl 3,4-dihydroxyphenylacetate. This class of compound is also commonly encountered in the other dytiscide subfamilies.

Einleitung

Die Pygidialdrüsen der Wasserkäfer stellen paarige, im Abdomen gelegene Komplexdrüsen dar. Im Gegensatz zu den Laufkäfern (*Carabidae*), die das Abwehrsekret dieser Drüsen bei Gefahr in größerer Menge meist gezielt auf den Angreifer abgeben können, wird der dickflüssige Inhalt der Pygidialdrüsenreservoirs bei den echten Schwimmkäfern (*Dytiscidae*) in kleinen Portionen ausgepreßt. Die hier gespeicherten aromatischen Substanzen dienen nicht zur Räuberabwehr, sondern sorgen zusammen mit einem gleichzeitig abgegebenen Protein dafür, daß die Käferoberfläche frei von Befall durch Mikroorganismen bleibt [1, 2]. Diese Schutzmaßnahme ist für die Fortbeweglichkeit der Käfer im Wasser unumgänglich und hat wahrscheinlich zusätzlich eine enorme Bedeutung bei der Überwinterung dieser Tiere.

Da die Pygidialdrüsen innerhalb der *Dytiscidae* eine homologe Struktur darstellen, eignen sie sich hervorragend für chemotaxonomische Untersuchungen. Im Rahmen derartiger Studien [3] stellte

sich heraus, daß sich die Pygidialdrüsensekrete zweier Grundschwimmerarten der Gattung *Laccophilus* aus der Unterfamilie der *Laccophilinae* hinsichtlich Farbe, Geruch und Konsistenz stark von den übrigen Drüsensekreten von Vertretern der Unterfamilien des *Dytiscinae*, *Colymbetinae*, *Hydopodinae* und *Noterinae* unterscheiden.

Während der Inhalt des Reservoirs bei Schwimmkäfern im Regelfalle eine weiße oder gelbliche Färbung aufweist und eine dickflüssige Masse oder Paste darstellt, speichern die *Laccophilinae* in ihren Pygidialdrüsenreservoirs eine farblose Flüssigkeit. Diese Tatsache ist auch dafür verantwortlich, daß der gesamte Pygidialdrüsenkomplex bei den Grundschwimmern nur äußerst schwierig präparativ faßbar ist. Im Gegensatz zu dem geruchlosen bzw. schwach aromatisch duftenden Sekret der bislang untersuchten Schwimmkäfer ist die in den Pygidialdrüsen der *Laccophilinae* produzierte Flüssigkeit durch einen stechenden, etwas an Önanthsäure erinnernden Geruch charakterisiert und zeigt zudem eine saure Reaktion bei der Prüfung mit Universalindikatorpapier.

Diese durch Voruntersuchungen erbrachten Befunde deuten darauf hin, daß Vertreter der Unterfamilie der *Laccophilinae* über ein völlig anderes Inventar an Pygidialdrüsensubstanzen als die übrige

* Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. Schildknecht, Organisch-chemisches Institut der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 270, D-6900 Heidelberg 1.

gen Schwimmkäferunterfamilien verfügen. Die Strukturaufklärung der *Laccophilus*-Sekretkomponenten sowie die damit verbundenen chemotaxonomischen Konsequenzen sollen Gegenstand der im folgenden beschriebenen Untersuchung sein.

1. Biologie der Laccophilinae

Die Schwimmkäferunterfamilie der Laccophilinae ist mit sieben Gattungen über die ganze Erde verbreitet und hier insbesondere in wärmeren Gebieten durch zahlreiche Arten vertreten. Von der eigentlichen Gattung *Laccophilus* sind bislang fast 300 Arten beschrieben worden, wovon lediglich drei Vertreter in Mitteleuropa anzutreffen sind. Diese lokale Artenarmut wird allerdings dadurch wettgemacht, daß diese Schwimmkäfer in stehenden und langsam fließenden Gewässern zwischen Wasserpflanzen außerordentlich häufig sind und hier hinsichtlich ihrer Individuenzahlen oft mehr als 50% der gesamten Schwimmkäferfauna repräsentieren.

Unsere Untersuchungsobjekte, die beiden in Mitteleuropa häufigsten Grundschwimmerarten *Lacco-*

philus minutus L. und *Laccophilus hyalinus* Deg., sind trotz ihrer relativ geringen Körpergröße von 4,5 mm ohne weiteres sofort anhand ihrer eiförmigen Gestalt, des charakteristischen Zeichnungsmusters der Elytren und vor allem an der gelbgrünen Körperfarbe zu erkennen (Abb. 1). Die grüne Farbe der Tiere kommt dadurch zustande, daß in der Hämolymphe sowohl mehrere Carotinoide als auch ein blauer Gallenfarbstoff enthalten sind [4].

Diese Färbung stellt eine hervorragende Anpassung an das Leben zwischen dichten Wasserpflanzenbeständen dar und die Grundschwimmer wären im Wasserkäscher zwischen Pflanzenmaterial so gut wie unauffindbar, wenn sie sich nicht durch ihre fabelhafte Springfähigkeit auszeichnen würden. Nach Wesenberg-Lund [5] ist diese Springfähigkeit und die damit verbundene äußerst unbeholfene Fortbewegungsweise auf dem Trockenen ein Hinweis darauf, daß die *Laccophilinae* zu den Schwimmkäfern gehören, die aufgrund der Morphologie ihrer Extremitäten (Abplattung und Verbreiterung; Bedornung; Abb. 1) am besten an das Leben im Wasser angepaßt sind. Gleichzeitig gehören Grund-

Abb. 1. Habitusbild eines männlichen Exemplares von *L. minutus* und einer präparierten Pygidialdrüse.

Das Schlüsselfragment m/z 103 weist auf einen 3-Hydroxysäuremethylester hin. Das Molekulargewicht der Verbindungen konnte aus den CI-Daten ermittelt werden. Die massenspektrometrische Fragmentierung sprach für die Methylester der β -Hydroxyoctansäure **1b** (Fraktion III), β -Hydroxydecansäure **4b** (Fraktion VI) und β -Hydroxynonansäure **3b** (Fraktion V) sowie für eine verzweigte β -Hydroxynonansäure **2b** (Fraktion IV) [8]. Die Struktur der unverzweigten Ester wurde durch einen Vergleich der analytischen Daten von synthetischem Material bestätigt.

Abb. 4. Massenspektrum der Fraktion I des methylierten Extraktes von *L. minutus*.

Im Massenspektrum der Fraktion I (Abb. 4) fanden wir m/z 156 als Ion höchster Masse. Die Fragmente bei m/z 127 und m/z 124 können durch Abspaltung von C_2H_5 bzw. Methanol aus m/z 156 erklärt werden. Die Massendifferenzen von m/z 124 zu m/z 96 und m/z 82 lassen vermuten, daß aus diesem Ion CO und Keten eliminiert wird. Diese Fragmentierungen sind typisch für einen aliphatischen Methylester, auf den auch das intensive McLafferty-Ion bei m/z 74 hinweist. Der base-peak des Spektrums bei m/z 55, ein charakteristisches Bruchstück ungesättigter Kohlenwasserstoffe [9], führt zusammen mit der möglichen Elementarzusammensetzung $C_9H_{16}O_2$ für das Molekülion zu dem Strukturvorschlag eines Octensäuremethylesters. Massenspektrometrisch kann die Lage der Doppelbindung nicht auf einfache Weise festgestellt werden. Ein Vergleich mit dem Literaturspektrum des Oct-2-ensäuremethylesters zeigt im wesentlichen gleiche Fragmente, aber erhebliche Abweichung in der Intensitätsverteilung. Leider sind die Massenspektren der anderen isomeren Octensäureester nicht bekannt.

Nach Untersuchungen von Rohwedder *et al.* [10] und Groff [11] an Hexensäureestern und Nonensäureestern besitzt das Fragment m/z 55, der base-peak unseres Spektrums, außer in den 2-Isomeren nur noch bei den Hexensäureestern und dem Nonensäureester mit einer Doppelbindung in (ω -1)-Position vergleichbare Intensität. Daher schlagen wir für die Fraktion I die Struktur eines Oct-6-ensäuremethylesters (**5**) vor.

Fraktion II konnte bisher nicht identifiziert werden.

Alle unverzweigten β -Hydroxysäuren mit sieben bis zehn C-Atomen **6a**, **1a**, **3a**, **4a** wurden von uns nach Reformatsky aus den Aldehyden synthetisiert [12, 13]. Anschließend setzten wir die freien Säuren mit Diazomethan zu den Methylestern bzw. mit MSTFA zu den Silylderivaten um, die wir mit der GC-MS-Kopplung untersuchten und mit entsprechend derivatisierten Hinterleibsextrakten verglichen. Die Massenspektren der authentischen Verbindungen stimmten sehr gut mit den Spektren überein, die wir von den Naturstoffderivaten erhielten.

Die quantitative GC der trimethylsilylierten Säuren ergab, daß das Sekret von *L. minutus* 0,69 μ g **1a** und 0,96 μ g **4a** pro Käfer enthält (ermittelt aus 3 Messungen).

Auf je zwei gepackten Säulen wurden die Retentionszeiten der Methylester sowie der Silylderivate bestimmt. Ein Vergleich mit den entsprechenden Fraktionen der methylierten und silylierten Extrakte von *L. minutus* zeigte gute Übereinstimmung der gemessenen Werte (Tab. I).

Tab. I. Retentionszeitvergleich der Fraktionen derivatisierter *L. minutus*-Extrakte mit synthetischen Vergleichssubstanzen.

GC-Säule	t_{dr} (min)			
	1b	3b	4b	<i>L. minutus</i>
OV 101	10,0		16,05	10,05 16,10
SP 1000	17,55	20,29	22,89	17,51 20,47 22,87
	1c	3c	4c	<i>L. minutus</i>
OV 101	10,21	12,65	14,97	10,27 12,61 14,97
OV 225	7,5	9,59	11,68	7,52 9,58 11,62

Nach der Trimethylsilylierung der gesamten Drüsen fanden wir neben den vier beschriebenen β -Hydroxysäuren 1c–4c (Fraktionen II–V) und Fettsäure-TMSi-Estern (Fraktionen VIII–IX) in Fraktion I Spuren von β -Hydroxyheptansäure (6c). Ihr TMSi-Derivat ist massenspektrometrisch vor allem durch die Ionen m/z 275 ($M^+ - 15$), m/z 233 und m/z 159 charakterisiert [14].

Auf einer 50 m SE 54 Glaskapillarsäule zeigte Fraktion I übereinstimmende Retentionszeiten mit unserer synthetischen Vergleichsverbindung.

Das Massenspektrum der Fraktion VI zeigt Ionen höherer Masse mit großer Intensität, die für eine aromatische Verbindung sprechen. Durch eine genaue Interpretation des Spektrums wurde die Fraktion VI als TMSi-Derivat des 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäuremethylesters (7c) erkannt. Das Spektrum der synthetischen Verbindung, die wir aus 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäure herstellten [15], war mit dem Spektrum des Naturstoffes vollkommen identisch.

Ein GC-Retentionsvergleich auf einer 50 m SE 54 Glaskapillarsäule bestätigte die Identität der beiden Verbindungen.

Das Massenspektrum der Fraktion VII konnten wir bisher nicht deuten.

4. Diskussion der Ergebnisse

β -Hydroxyalkansäuren kommen neben Indolyl- und Phenylelessigsäure als aktive Verbindungen in den Metathorakaldrüsen der Ameisenunterfamilie der Myrmicinae vor [16, 17]. Wie bereits für das Myrmicacin (β -Hydroxydekansäure) am Beispiel der Konservierung von Pflaumenmus demonstriert werden konnte, zeigen β -Hydroxyalkansäuren fungizide Wirkung [18, 19]. Gleichzeitig kommt ihnen wahrscheinlich eine generelle Bedeutung als Keim- und Wachstumshemmer zu [20]. Wir vermuten, daß sich alle Vertreter der *Laccophilinae* mit β -Hydroxyalkansäuren in Verbindung mit 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäuremethylester vor Befall durch Mikroorganismen schützen, da wir diese Komponenten außer bei *L. minutus* auch bei *L. hyalinus* gaschromatographisch nachweisen.

Wie der Verhaltensversuch zeigt, wird das Sekret beim Putzakt an Land auf der Käferoberfläche verteilt. Weiterhin war auffallend, daß beträchtliche Mengen des Pygidialdrüsensekretes von *L. minutus* bei Reizung nach außen abgegeben werden, was

sicherlich auch auf die geringe Viskosität des Sekrets zurückzuführen ist. Möglicherweise ist den Pygidialblasensubstanzen der *Laccophilinae* deshalb auch eine Repellentfunktion zuzuschreiben.

Abb. 5. TIC der silylierten Inhaltsstoffe präparierter Pygidialblasen von *L. minutus*, 3% OV 101, 2 m, Temperaturprogramm: 110–220 °C, 4 °C/min.

Es ist bemerkenswert, daß *L. minutus* in seinen Pygidialdrüsen nicht nur Abwehrsubstanzen speichert, die sich strukturell (jedoch nicht biogenetisch) mit denen von *Hygrobia tarda* vergleichen lassen [21], sondern auch einen Phenolcarbonsäureester, eine Verbindung also, die zu denen gehört, die wir allgemein als Abwehrsubstanzen der Dytiscidae gefunden haben. Aus diesem Grunde soll die Stellung der *Laccophilinae* innerhalb der Dytiscidae unter chemotaxonomischen Gesichtspunkten betrachtet werden.

Bezüglich der phylogenetischen Stellung der fünf Dytiscidenunterfamilien Dytiscinae, Colymbetinae, Hydroporinae, Laccophilinae sowie Noterinae existieren derzeit die unterschiedlichsten Auffassungen. Dies kommt allein schon dadurch zum Ausdruck, daß die Noterinae von einigen Autoren als eigene Familie Noteridae den restlichen Dytiscidae gegenübergestellt werden [5, 22]. Neben den Noterinae sind es jedoch vor allem auch die Laccophilinae, die in morphologischer Hinsicht stark von den Noterinae und den homogenen Gruppen der Colymbetinae, Dytiscinae und Hydroporinae abweichen [6]. Zimmermann [23] geht sogar so weit, die Laccophilinae an die Basis der Dytiscidae zu stellen und vertritt damit dieselbe Meinung wie Sharp [24], der schon 1880 hervorgehoben hatte, „that there

is no real connection between the *Laccophilinae* and other groups“.

Wird dieses phylogenetische Problem von der chemischen Seite her angegangen und werden die Inhaltsstoffe der homologen Pygidialdrüse als Verwandtschaftskriterium gewertet, so ergibt sich zum einen, daß die *Colymbetinae* und *Dytiscinae* erwartungsgemäß eine Einheit darstellen (Abb. 7). Substanzen wie Benzoesäure, *p*-Hydroxybenzaldehyd, *p*-Hydroxybenzoesäuremethylester, Protocatechusäuremethylester und Hydrochinon sind in beiden Unterfamilien anzutreffen [1, 3]. Wie sich jedoch unerwarteterweise herausstellte, bilden auch

die *Noterinae* und *Hydroporinae* eine homogene Gruppe, die durch die Präsenz von Phenylelessigsäure, *p*-Hydroxyphenylelessigsäure, Phenylbrenztraubensäure und 3-Indolylessigsäure geeint ist [3, 25]. Alle vier Unterfamilien haben folglich das gemeinsame Merkmal, daß die in der Pygidialdrüse sezernierten Substanzen aus dem Aminosäurestoffwechsel stammen.

Eine ganz andere biogenetische Herkunft muß den neu aufgefundenen Hauptkomponenten der *Laccophilus*-Pygidialdrüsen zugeschrieben werden, denn als β -Hydroxycarbonsäuren dürften sie aus dem Lipidstoffwechsel stammen. Diese chemische

Abb. 6. MS der TMSi-Derivate der Fraktion VI von *L. minutus*.

Abb. 7. Phylogenetische Stellung der *Laccophilinae* aufgrund der Chemie der Pygidialdrüsensekrete.

Sonderstellung der *Laccophilinae* wird zusätzlich noch dadurch untermauert, daß diese Gruppe in Hämolymphe, Muskulatur und Integument einen Gallenfarbstoff speichert, der bei allen restlichen Käfergruppen fehlt [4]. Auch der erstmalig in Insektenabwehrdrüsen aufgefundene 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäuremethylester stellt ein Eigenmerkmal der *Laccophilinae* dar. Vom biogenetischen Aspekt her gesehen, schlägt dieser Ester jedoch wieder eine Brücke zu den aromatischen Substanzen der übrigen vier Dytiscidenunterfamilien und es spricht alles dafür, daß sämtliche fünf Schwimmkäferunterfamilien, trotz Sonderstellung der *Laccophilinae* eine monophyletische Gruppe darstellen.

Der nachgewiesene 3,4-Dihydroxyphenylelessigsäuremethylester der *Laccophilinae* unterscheidet sich vom beim Gelbbrandkäfer (*Dytiscus*) gefundenen 2,5-Dihydroxyphenylelessigsäuremethylester (Homogentisinsäuremethylester) zwar nur durch die unterschiedliche Stellung der beiden OH-Gruppen am aromatischen Ring. Da bei Insekten 3,4-Dihydroxylierungen zur Produktion von Phenolen für die Aushärtung der Kutikula außerordentlich häufig sind, ist es jedoch sehr wahrscheinlich, daß Phenylelessigsäure bei *Laccophilus* in derselben Weise hydroxyliert und anschließend verestert wird. Im Gegensatz dazu muß aber bei *Dytiscus* angenommen werden, daß 2,5-Dihydroxyphenylelessigsäure aus *p*-Hydroxyphenylbrenztraubensäure durch Einfügen einer Hydroxylgruppe und anschließender Umlagerung der Ringsubstituenten gebildet wird, zumal diese β -Ketosäure beim Gelbbrandkäfer die Vorstufe für weitere Pygidialdrüsensubstanzen darstellt [21].

Experimenteller Teil

Die GC-MS-Spektren wurden mit einem Massenspektrometer 3200 F-003 der Firma Finnigan mit GC-System 9500 aufgenommen (Ionisierungsenergie 70 eV; Trägergas 17,5 ml He/min; CI-Bedingungen: Finnigan CI-Ionenquelle, $6,66 \times 10^{-4}$ b Isobutan über make-up Einlaß, Quelltemperatur 130 °C). Die gaschromatographischen Untersuchungen wurden mit einem Gaschromatographen Aerograph 3700 der Firma Varian (Gepackte Säulen) sowie einem Gerät Fractovap 2101 AC der Firma Carlo Erba durchgeführt (Glaskapillarsäulen); beide Geräte wurden mit FID betrieben.

Vierzig Hinterleibspitzen von *L. minutus* wurden in 5 ml CH_2Cl_2 mit einem Homogenisator auf einem handwarmen Wasserbad zerdrückt. Die erhaltene Suspension wurde zentrifugiert und der

Überstand dreimal mit 2,5 ml 40-proz. KOH extrahiert. Die Lösung wurde mit HCl sauer gestellt und dreimal mit 8 ml CH_2Cl_2 extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden i. V. eingengt.

Ein aliquoter Teil des Extraktes wurde bei 0 °C mit 1 ml einer frisch destillierten etherischen Diazomethanolösung versetzt. Überschüssiges Reagenz wurde mit N_2 abgeblasen und der Rückstand mit 25 μl CH_2Cl_2 aufgenommen. 1 μl dieser Lösung wurde zur gaschromatographischen Analyse verwendet.

Ein aliquoter Teil des Extraktes wurde in einer Conic-Ampulle mit Teflonschraubkappe mit 45 μl MSTFA versetzt. Es wurde 45 min auf 60 °C erwärmt und 1 μl der erhaltenen Lösung zur GC-Analyse verwendet.

Bedingungen für die Gaschromatographie: 2 m $\times$ 6 mm Glassäulen, 3% OV 101 auf Chromosorb W/HP 80-100 mesh, 3% OV 225 auf Gaschrom Q 100 bis 120 mesh, 8% SP 1000 auf Gaschrom Q 100 bis 120 mesh, Durchfluß 25 ml N_2 /min; $T_{\text{inj}} = T_{\text{Det}} = 230$ °C; Empfindlichkeit 10^{-11} A/mV.

Methylierter Extrakt von *L. minutus*

Fraktion I

MS: m/z (%) = 156 (3,4), 124 (33,7), 96 (43,8), 82 (56,7), 74 (79,8), 59 (69,1), 55 (100), 43 (40,4), 41 (71,9).

Fraktion III

MS: m/z (%) = 175 (CI, $M+1$), 125 (6,3), 124 (5,3), 103 (97,6), 83 (15,6), 74 (56,5), 71 (56,6), 61 (31,8), 55 (37,1), 43 (100).

Fraktion IV

MS: m/z (%) = 139 (7,2), 138 (6,6), 103 (100), 74 (59,9), 71 (49,7), 61 (25,1), 55 (41,3), 43 (99,4), 41 (44,3).

Fraktion V

MS: m/z (%) = 139 (7,4), 138 (6,8), 103 (100), 74 (45,7), 71 (51,2), 61 (27,2), 55 (39,5), 43 (92,6), 41 (45,0).

Fraktion VI

MS: m/z (%) = 203 (CI, $M+1$), 153 (3,5), 152 (3,5), 103 (100), 74 (41,7), 71 (42,4), 61 (24,4), 55 (24,5), 43 (82,8), 41 (37,2).

Die präparierten Pygidialblasen wurden in eine Conic-Ampulle gegeben, mit 40 μl MSTFA überschichtet und 45 min bei 40 °C mit Ultraschall behandelt. Anschließend wurde 30 min auf 60 °C erhitzt und der Überstand gaschromatographisch untersucht. Gaschromatographische Bedingungen: 50 m $\times$ 0,6 mm AR-Glaskapillarsäule belegt mit SE 54; 1 b N_2 ; 80 °C 10 min dann Temperaturprogramm bis 220 °C, 2 °C/min; $T_{\text{inj}} = T_{\text{Det}} = 250$ °C; Empfindlichkeit 10^{-11} A/mV.

Silylierungsprodukte präparierter Pygidialblasen von L. minutus

149 (5,1), 75 (7,6), 74 (10,4), 72 (6,6), 59 (5,3), 45 (33,0).

Fraktion I

MS: m/z (%) = 275 (0,87), 233 (6,0), 189 (6,7), 159 (16,1), 147 (30,9), 75 (18,1), 73 (100), 45 (12,1).

Fraktion VII

MS: m/z (%) = 326 (9,9), 267 (9,6), 179 (84,0),

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die vielfältige Unterstützung dieser Arbeit. Der Konrad-Adenauer-Stiftung danken wir für ein Stipendium, das die Durchführung dieser Arbeit ermöglichte. Frau Dr. Krauss verdanken wir wertvolle Hinweise bei der Interpretation der Massenspektren.

-
- [1] H. Schildknecht, *Angew. Chem.* **82**, 17 (1970).
 [2] H. Schildknecht und R. Bühner, *Z. Naturforsch.* **23b**, 1209 (1968).
 [3] K. Dettner, *Biochem. Syst. Ecol.* **7**, 129 (1979).
 [4] K. Dettner und B. Hopstätter, *Entomolog. Z.* **90**, 225 (1980).
 [5] C. Wesenberg-Lund, *Biologie der Süßwasserinsekten*, Springer-Verlag, Berlin 1943, S. 299.
 [6] F. Balfour-Browne, *British Water Beetles*, Bd. 1, Ray Society, London 1940, S. 175.
 [7] D. J. Forsyth, *Trans. R. Ent. Soc. London* **120**, 159 (1968).
 [8] R. Ryhage und E. Stenhagen, *Ark. Kemi* **15**, 545 (1960).
 [9] J. Seibl, *Massenspektrometrie*, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main 1970, S. 103.
 [10] W. K. Rohwedder, A. F. Marbroux und E. Selke, *J. Phys. Chem.* **69**, 1711 (1965).
 [11] T. M. Groff, H. Rakoff und R. T. Holman, *Ark. Kemi* **29**, 179 (1968).
 [12] H. Henecka, in: Houben-Weyl, *Methoden der organischen Chemie*, Bd. 8, Thieme Verlag, Stuttgart 1952, S. 511.
 [13] F. Adickes und G. Andresen, *Liebigs Ann. Chem.* **555**, 41 (1944).
 [14] H. Schildknecht, K. Koob, D. Krauss und B. Weber, in Vorbereitung.
 [15] S. Tamura, K. Ohkuma und T. Hayashi, *J. Agric. Chem. Soc. Jpn.* **26**, 410 (1952).
 [16] H. Schildknecht und K. Koob, *Angew. Chem.* **82**, 181 (1970).
 [17] H. Schildknecht und K. Koob, *Angew. Chem.* **83**, 110 (1971).
 [18] U. Maschwitz, K. Koob und H. Schildknecht, *J. Insect Physiol.* **16**, 387 (1970).
 [19] Henkel und Cie GmbH (Erf. R. Osberghaus, C. H. Krauch, G. Kolaczinski und G. Koppensteiner), D.O.S. 2312280 (26. 7. 1974), C. A. **82**, 64554j.
 [20] Y. Iwanami und T. Iwadare, *Bot. Gaz.* **140**, 1 (1979).
 [21] H. Krebs, Dissertation, Heidelberg 1974.
 [22] E. G. Burmeister, *Zoomorph.* **85**, 165 (1976).
 [23] A. Zimmermann, *Coleopterorum Catalogus*, Schenking, Berlin 1910–1933, S. 71.
 [24] D. Sharp, *Scient. Trans. Roy. Dubl. Soc.* **2**, 923 (1882).
 [25] H. König, Staatsexamenarbeit, Heidelberg 1975.