

Designer-Lipide auf dem Wachs einer Schildlaus (Coccoidea, Eriococcidae)

Gunther Tschuch¹, Peter Lindemann², Willi Rettig³, Laurence A. Mound⁴ & Gerald Moritz¹

¹ Institut für Zoologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

² Institut für Pharmazeutische Biologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

³ Institut für Pharmazeutische Chemie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

⁴ CSIRO Entomology, Canberra

Abstract: Structured lipids on a coccid wax (Coccoidea, Eriococcidae).

A thick protective mass of wax filaments covers each female of the sap-sucking bug, *Callococcus banksiae* (Maskell) (Coccoidea, Eriococcidae). These waxy masses, measuring up to 10mm in diameter, are sometimes abundant in eastern Australia on the stems of the host plant (*Kunzea ericoides*), and the wax is of interest biologically for two reasons. First, unlike many coccid species that secrete waxy coverings, ants do not attend *C. banksiae* despite often walking near them on the plant stems. Second, a particular species of thrips, *Teuchothrips fuscipennis* (Moulton) (Phlaeothripidae) breeds beneath the waxy mass, and the larvae and adults move quickly and freely between the wax filaments without adhering in any way. The wax surface is the subject of current investigations, for which this report on taylor-made triglycerides provides a base.

Key words: *Callococcus*, *Teuchothrips*, triglycerides.

Gunther Tschuch, Gerald Moritz, Institut für Zoologie der Martin-Luther-Universität, Domplatz 4, D-06099 Halle, E-mail: tschuch@zoologie.uni-halle.de

Peter Lindemann, Institut für Pharmazeutische Biologie der Martin-Luther-Universität, Hoher Weg 8, D-06099 Halle

Willi Rettig, Institut für Pharmazeutische Chemie der Martin-Luther-Universität, Hoher Weg 8, D-06099 Halle

Laurence A. Mound, CSIRO Entomology, GPO Box 1700, Canberra A. C. T. 2601, Australien

Maßgeschneiderte Triglyceride, die aus zwei kurzkettigen und einem langkettigen Acylrest bestehen, werden seit einigen Jahren als so genannte Designer-Lipide produziert, vorwiegend für den Einsatz in Medizin und Diätik. Zunehmend finden entsprechende Triglyceride aber auch als Zusatzstoffe für Nahrungsmittel Verwendung, um deren physikochemische Eigenschaften gezielt zu verändern. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass eine Schildlausart solche Triglyceride ebenfalls funktionell einsetzt.

Die Weibchen von *Callococcus banksiae* (MASKELL) umgeben sich, wie für Schildläuse nicht ungewöhnlich, mit einer Masse aus Wachsfäden. Diese Masse bedeckt zeitweise die Äste des ostaustralischen Kanuka-Strauches (*Kunzea ericoides*). Im Gegensatz zu den Wachsausscheidungen anderer australischer Schildläuse, meiden foragierende Ameisen das Wachs von *C. banksiae*. Das hängt damit zusammen, dass die Wachsfäden dieser Art aufgrund ihrer besonderen Zusammensetzung „klebrig“ sind.

Außerdem interessant ist, dass sich Thysanopteren der Art *Teuchothrips fuscipennis* (MOULTON) (Phlaeothripidae) in der Umgebung der Schildläuse und im Wachs aufhalten. Sie können sich frei und problemlos auf dem Wachs bewegen ohne festzukleben.

Material und Methoden

Äste von Kanuka mit Wachsfäden von *C. banksiae* wurden Anfang Februar 2003 und Mitte Dezember 2004 auf dem Gelände des Royal Botanical Garden und dem CSIRO in Canberra geschnitten, luftdicht verpackt und nach etwa einer Woche untersucht. Das Wachs wurde zunächst mit Methanol bzw. Hexan abgewaschen. Der restliche Wachskörper konnte mittels Ultraschall vollständig in Ethylacetat gelöst werden.

Der für die Analyse der Sekrete verwendete Gas-Chromatograph war ein HP 5890, gekoppelt mit einem 5972 MSD Quadrupol-Massenspektrometer (Elektronenstoßionisation bei 50 eV). Die Trennung erfolgte in einer Kapillarsäule HP5-MS (30 m, ID 0,25 mm) mit dem Trägergas Helium bei unterschiedlichen Temperaturprofilen. Die Auswertung der Massenspektren erfolgte mit dem Programm AMDIS. Die Analyse der Massenspektren der Triglyceride erfolgte nach CHRISTIE (2003).

Ergebnisse und Diskussion

Der Wachskörper besteht aus einer einzigen oder einem Gemisch aus nur sehr wenigen Verbindungen mit einem einheitlichen Schmelzpunkt um 90 °C. Aufgrund der gemessenen Schmelzenthalpie können Alkane ausgeschlossen werden. Der Wachskörper löst sich kaum in Methanol und Hexan, relativ gut aber in Ethylacetat. Bei GC-MS-Untersuchungen finden sich lediglich Ethyl- und Methylester der Octacosansäure (C28), freie aliphatische unverzweigte Fettsäuren mit 20 und weniger C-Atomen sowie deren Ethyl- und Methylester. Alle genannten Stoffe haben jedoch einen Schmelzpunkt weit unter 90 °C. Alles deutet darauf hin, dass die gesuchte Substanz nicht durch den Gaschromatographen hindurch kommt. Erste weitere Untersuchungen deuten darauf hin, dass der Wachskörper ein Ester aus einer langkettigen aliphatischen Säure (eventuell C28) und einem mindestens ebenso langen Alkohol ist. Der Wachskörper ist nach Abwaschung mit Methanol nicht mehr adhäsiv. Der Grund für die „Klebrigkeit“ der Wachsfäden muss folglich in der methanollöslichen Oberflächenbeschichtung liegen.

Die Abwaschung der Wachsfäden enthält eine große Anzahl an Komponenten. Bisher konnten über 60 Substanzen identifiziert werden. Insbesondere ist die Identität sämtlicher Substanzen mit einer Abundanz von mehr als 5 % im Totalionenchromatogramm aufgeklärt worden. Gefunden wurden unverzweigte gesättigte Fettsäuren mit einer geraden Anzahl an C-Atomen von C8 bis C20 sowie deren Methylester. Weiterhin enthält die Abwaschung je eine einfach ungesättigte Hexadecansäure und eine Octadecansäure sowie deren beide Methylester (alle mit Retentionszeiten unter 18,6 min und daher nicht in Abb. 1 enthalten). Alkane sind in der Auswaschung relativ selten. Es finden sich lediglich einige verzweigte Alkane mit sehr geringer Abundanz sowie Heptacosan (Substanz 1 in Abb. 1), Nonacosan (3, größte Abundanz unter den Alkanen) und Hentriacontan (5). Substanz 2 ist Squalen und Substanz 6 ist der auch im Wachskörper gefundene Methylester der Octacosansäure. Viele kleinere und größere Peaks mit Retentionszeiten zwischen 18,6 min und 43,5 min im gesamten Bereich von Abb. 1 sind Hexadecyl- und Octadecylester aus gesättigten Säuren mit 6 bis 18 C-Atomen (gerade Anzahlen). Diese Ester sind aus Gründen der besseren Übersicht in Abb. 1 nicht mit Nummern versehen worden.

Über die Hälfte der Substanzen aus der Abwaschung sind Triglyceride. Neben 1,2,3-Tris-octanoyloxypropan (Substanz 4; mit drei Octansäureresten: R_1 , R_2 und $R_3 = 8$) finden sich fast alle überhaupt möglichen Kombinationen, bei denen die Triglyceride Säurereste mit 2 (Essigsäure), 6, 8, 10, 14 und 16 C-Atomen besitzen und eine molekulare Gesamtmasse zwischen 498 und 694 haben (Substanzen 7 bis 32 in Abb. 1). In Tab. 1 sind alle diese Triglyceride mit ihren diagnostischen Massenpeaks dargestellt. Lediglich die drei Substanzen, bei denen keine Retentionszeit vermerkt ist, konnten nicht gefunden werden. Fett hervorgehoben ist die Hauptkomponente (17) aus der Oberflächenabwaschung, ein Triglycerid aus den zwei mittelkettigen Fettsäuren (MCFAs) Hexan- und Octansäure und einer langkettigen Fettsäure (LCFA), der Hexadecansäure. Es konnte bisher nicht geklärt werden, welcher der Fettsäurereste sich an Position 2 am Glycerin befindet. Auch kann derzeit noch keine Aussage über Stereoisomere gemacht werden.

Mit großer Wahrscheinlichkeit wirken dieses und ähnliche Triglyceride als Adhäsiv auf der Oberfläche des Wachskörpers. Der LCFA-Rest ist hydrophob, während die beiden MCFA-Reste hydrophil sind. Die Hauptkomponente (7) und einige weitere Triglyceride dürften bei 20 °C noch flüssig sein. Dies legen Untersuchungen von CARTER & MALKIN (1939) und JACKSON & LUTTON (1957) an ähnlichen Triglyceriden nahe. Sie fanden heraus, dass die Schmelzpunkte solcher Substanzen dann am niedrigsten sind, wenn die zwei LCFA-Reste 6 oder 8 C-Atome lang sind. Dieses Verhalten ist unabhängig von der Position des MCFA-Rests.

Ähnliche Triglyceride wurden bei Insekten bisher nur bei Solitärbienen der Gattung *Anthophora* gefunden (NORDEN et al. 1980). Wie es *Teuchothrips fuscipennis* schafft, nicht auf den Wachsfäden festzukleben, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

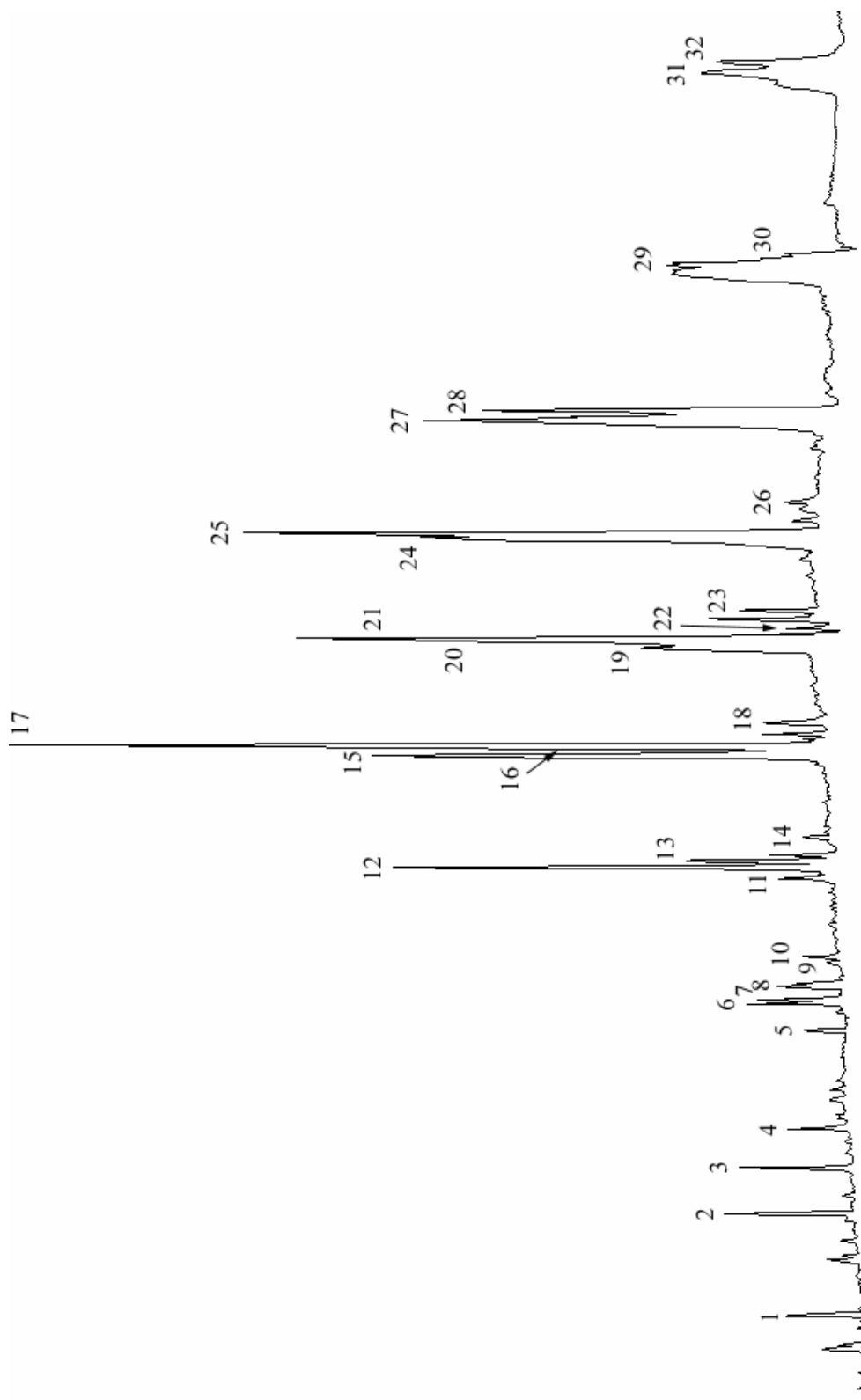


Abb. 1: Totalionenchromatogramm einer Methanol-Abwaschung des Wachskörpers (x-Achse: Retentionszeit 18,6 min bis 43,5 min)

Tab. 1: Triglyceride mit ihren molaren Massen und diagnostischen Massenpeaks. RT – Retentionszeit; Nr – Nummer in Abb. 1. Die Hauptkomponente ist fett hervorgehoben (siehe Text).

R ₁	R ₂	R ₃	M	M-18R ₁ CO	R ₁ CO +74	M- R ₁ COO	R ₂ CO	R ₂ CO +74	M- R ₂ COO	R ₃ CO	R ₃ CO +74	M- R ₃ COO	RT in min	Nr	
8	8	10	498	480	127	201	355	127	201	355	155	229	327	26,11	7
6	6	14	498	480	99	173	383	99	173	383	211	285	271	26,34	8
2	10	14	498	480	43	117	439	155	229	327	211	285	271	26,77	9
2	8	16	498	480	43	117	439	127	201	355	239	313	243	26,86	10
8	10	10	526	508	127	201	383	155	229	355	155	229	355	28,25	11
6	8	14	526	508	99	173	411	127	201	383	211	285	299	28,45	12
6	6	16	526	508	99	173	411	99	173	411	239	313	271	28,57	13
2	10	16	526	508	43	117	467	155	229	355	239	313	271	28,97	14
8	8	14	554	536	127	201	411	127	201	411	211	285	327	30,42	15
6	10	14	554	536	99	173	439	155	229	383	211	285	327	30,46	16
6	8	16	554	536	99	173	439	127	201	411	239	313	299	30,61	17
2	14	14	554	536	43	117	495	211	285	327	211	285	327	30,99	18
8	10	14	582	564	127	201	439	155	229	411	211	285	355	32,31	19
8	8	16	582	564	127	201	439	127	201	439	239	313	327	32,48	20
6	10	16	582	564	99	173	467	155	229	411	239	313	327	32,51	21
2	14	16	582	564	43	117	523	211	285	355	239	313	327	32,98	23
10	10	14	610	592	155	229	439	155	229	439	211	285	383	?	
8	10	16	610	592	127	201	467	155	229	439	239	313	355	34,24	24
6	14	14	610	592	99	173	495	211	285	383	211	285	383	34,35	25
2	16	16	610	592	43	117	551	239	313	355	239	313	355	43,89	26
10	10	16	638	620	155	229	467	155	229	467	239	313	383	?	
8	14	14	638	620	127	201	495	211	285	411	211	285	411	36,33	27
6	14	16	638	620	99	173	523	211	285	411	239	313	383	36,53	28
10	14	14	666	648	155	229	495	211	285	439	211	285	439	?	
8	14	16	666	648	127	201	523	211	285	439	239	313	411	39,11	29
6	16	16	666	648	99	173	551	239	313	411	239	313	411	39,28	30
10	14	16	694	676	155	229	523	211	285	467	239	313	439	42,45	31
8	16	16	694	676	127	201	551	239	313	439	239	313	439	42,67	32

Literatur

- CARTER, M.G.R. & MALKIN, T. (1939): An X-ray and thermal examination of the glycerides. Part VII. Unsymmetrical mixed triglycerides. – J. Chem. Soc. (London) 1939: 1518-1521.
- CHRISTIE, W.W. (2003): Lipid analysis: Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. 3rd edition. – The Oily Press, Bridgwater: 416 pp.
- GULLAN, P.J. & KOSZTARAB, M. (1997): Adaptions in scale insects. – Ann. Rev. Entomol. 42: 23-50.
- JACKSON, F.L. & LUTTON, E.S. (1952): The polymorphism of 1-stearyl- and 1-palmitoyldiacetin, -dibutyryl-, -dicaproyl and 1-stearoyldipropionin. – J. Am. Chem. Soc. 74: 4827-4829.
- NORDEN, B., BATRA, S.W.T., FALES, H.M., HEFETZ, A. & SHAW, G.J. (1980): *Anthophora* bees: Unusual glycerides from maternal Dufour's gland serve as larval food and cell lining. – Science 207: 1095-1097.