

# Die Pygidialdrüse der Wassertreter (Coleoptera: Haliplidae): Morphologie, Chemie, Funktion und phylogenetische Bedeutung

Konrad Dettner & Marion Böhner

## ABSTRACT

Contrib. Nat. Hist. 12: 437–460.

The pygidial gland of Crawling Water Beetles (Coleoptera: Haliplidae): Morphology, Chemistry, Function and Phylogenetic Significance. – The minute paired abdominal pygidial glands of crawling water beetles (Coleoptera: Haliplidae) were analyzed morphologically and chemically by prechromatographic derivatizations. Apart from the already known phenylacetic acid (3) in *Peltodytes caesus*, *P. rotundatus*, *Brychius elevatus*, *Haliplus* (*Neohaliplus*) *lineatocollis*, *Haliplus* (*Haliplus*) *ruficollis*, *H. (Haliplus) heydeni*, *Haliplus* (*Liaphlus*) *fulvus*, *H. (Liaphlus) flavicollis*, and *H. (Liaphlus) laminatus* the following antimicrobial and the body surface wetting compounds were analyzed for the first time: 3-hydroxyoctan- (1) and 3-hydroxydecanoic acids (2), 4-hydroxy- (4) and 3-hydroxyphenylacetic acids (6), phenyllactic acid (5) and benzoic acid (7). Especially by regarding the glandular tissue, the collecting channel, and the gland reservoir a phylogenetic arrangement of the taxa *Brychius*, the subgenus *Neohaliplus* and the remaining representatives of the genus *Haliplus* indicates that they represent a monophylum with *Peltodytes* and *Neohaliplus* as primitive representatives. In contrast the gland morphology of both *Peltodytes* representatives resembles the Geadephaga whereas the subgenera *Liaphlus* and *Haliplus* are mostly derived.

## KURZFASSUNG

Die winzigen, im Abdomen gelegenen paarigen Pygidialdrüsenkomplexe der Wassertreter (Coleoptera: Haliplidae) werden morphologisch und chemisch (prächromatographische Derivatisierung) analysiert. Neben der bereits bekannten Phenyllessigsäure (3) werden bei *Peltodytes caesus*, *P. rotundatus*, *Brychius elevatus*, *Haliplus* (*Neohaliplus*) *lineatocollis*, *Haliplus* (*Haliplus*) *ruficollis*, *H. (Haliplus) heydeni*, *Haliplus* (*Liaphlus*) *fulvus*, *H. (Liaphlus) flavicollis*, und *H. (Liaphlus) laminatus* erstmals folgende vor allem antimikrobielle und die Benetzung der Körperoberfläche erhöhende Verbindungen per GC-MS im Mikromassstab identifiziert: 3-Hydroxyoctan- (1)

sowie 3-Hydroxydecansäure (2), p-Hydroxy- (4) und m-Hydroxyphenyllessigsäure (6), Phenylmilchsäure (5), und Benzoesäure (7). Drüsenmorphologische Daten unter Berücksichtigung des Drüsengewebes, des Sammelkanals und des Drüsenreservoirs gestatten eine phylogenetische Einordnung der untersuchten Taxa, indem *Brychius*, die UG. *Neohaliplus* sowie die restlichen Vertreter der G. *Haliplus* ein Monophylum bilden, wobei sich die beiden erstgenannten Gattungen durch Primitivmerkmale auszeichnen. Die Drüsenmorphologie beider *Peltodytes*-Vertreter ähnelt den Geadephaga, wohingegen sich die Vertreter der Untergattungen *Liaphlus* und *Haliplus* durch mehrere abgeleitete Charaktere auszeichnen.

Keywords: pygidial glands, phylogeny Hydradephaga, Haliplidae, crawling water beetles, Coleoptera, hydroxy acids, phenyllactic acid, *Peltodytes*, *Brychius*, *Haliplus*.

## Einleitung

In den letzten Jahren konnten bei den aquatischen adephagen Käfern, den Hydradephaga, bahnbrechende neue Erkenntnisse gewonnen werden, denn es wurden mit den Aspidytidae und Meruidae erstmals zwei für die Wissenschaft neue Familien beschrieben. Die durch eine disjunkte Verbreitung in China und Südafrika gekennzeichneten "cliff-Wasserkäfer" Aspidytidae sind eindeutig der Gruppe der Dytiscoidea zuzuordnen. Allerdings können sie einerseits als die Schwestergruppe der Amphizoidae ((Dytiscidae + (Aspidytidae + Amphizoidae)) + Hygrobiidae) (Balke & al. 2005) oder zum anderen als Schwestergruppe aller übrigen Dytiscoidea (((Dytiscidae + Hygrobiidae) + Amphizoidae) + Aspidytidae) aufgefasst werden (s. Abb. 6, Beutel & al. 2006). Eine weitere neue Hydradephagenfamilie, die Meruidae wurde 2005 von Spangler & Steiner aus Venezuela beschrieben. Ihre phylogenetische Einordnung (s. Abb. 6) erfolgte 2006 durch Beutel & al. als Schwestergruppe der Noteridae (Meru + (*Phreatodytes* + restliche Noteridae)). Um die Phylogenie der zwei neuen Familien innerhalb der Hydradephaga bzw. Adephaga klären zu können, ist es dringend erforderlich, auch die Phylogenie der etwas kleineren Familien Gyrinidae, Haliplidae aber auch der terrestrischen Adephaga (inklusive Dytiscoidea, Carabidae, Cicindelidae, Rhysodidae, Trachypadidae) mit klassischen und modernen Methoden zu ermitteln.

Es wird allgemein angenommen, dass adephage Käfer ursprünglich eine terrestrische Lebensweise aufwiesen. Inwieweit die wasserlebenden adephagen Vertreter (Hydradephaga) eine mono- oder polyphyletische Gruppe darstellen, wird jedoch kontrovers diskutiert (siehe z. B. Ribera & al. 2002). Aufgrund der molekularen Untersuchungen hochvariabler Regionen der 18S rRNA

von 84 Hydradephagenspecies ergeben sich klare Hinweise auf die Monophylie dieser Gruppe, d. h. eine einmalige Besiedelung des aquatischen Lebensraumes.

Da mittlerweile ein breiter Satz von larvalen und imaginalen Merkmalen über die obengenannten Taxa, d. h. sämtliche Hydradephaga vorliegt (Beutel & Leschen 2005), ist es wünschenswert, vermehrt auch anatomische, cytologische oder naturstoffchemische Daten bei solchen Analysen zu berücksichtigen, um deren Eignung für phylogenetische Zwecke zu überprüfen. Da die paarigen, seitlich hinter den 8. Abdominaltergiten ausmündenden Pygidialdrüsen zum Grundbauplan der Adephaga gehören, ist es naheliegend, solche Drüsenmerkmale zu erfassen, um deren phylogenetische Aussagekraft zu testen (Dettner 1987). Dies ist umso mehr von Bedeutung, als mittlerweile chemische Befunde über diese exokrine Drüse zu den Noteridae (Dettner 1985, 1997a, 2005a), Dytiscidae (Dettner 1985, 1987), Hygrobiidae (Dettner 1985, 1997b, 2005b), Amphizoidae (Dettner 1990, 2005c), Gyrinidae (Dettner 1985, 1987) sowie zahlreichen Carabidae (Dettner 1987; Francke & Dettner 2005, Will & al. 2000), Cicindelidae (Francke & Dettner 2005) und sogar den Trachypachidae (Attygalle & al. 2004) vorliegen.

Auch über die Morphologie der Pygidialdrüsen zahlreicher Ge- und Hydradephaga sind wir seit den bahnbrechenden Arbeiten von Forsyth sehr gut unterrichtet [Forsyth 1968 (Dytiscidae, Noteridae, Haliplidae, Gyrinidae), 1970 (Cicindelidae, Amphizoidae, Hygrobiidae), 1972 (Carabidae)].

Bei einer Haliplidenspezies, bei *Haliphus ruficollis*, wurde die Grob- und Feinstruktur dieser Drüse durch Forsyth bereits 1968 näher beschrieben. Das nierenförmige, vorne bis ins 5. Abdominalsegment reichende Drüsenreservoir weist eine laterale, hinter dem 8. Tergit gelegene Öffnung nach aussen auf. Der zuleitende Sammelkanal zum Drüsengewebe entspringt unmittelbar hinter der Öffnung des Drüsenreservoirs. In diesem Bereich entspringen auch die das Reservoir bedeckenden Muskelstränge. Der Drüsen Schlauch ist verdickt und liegt dem Drüsenreservoir auf. Im Inneren des Drüsen Schlauchs befindet sich ein sekretableitender Sammelkanal, welcher Tubuli in die Peripherie des Drüsen Schlauchs zu den Drüsenzellen entsendet (Abb. 1). Chemisch ist für zwei Haliplidenarten bislang die Präsenz von Phenyllessigsäure per GC-MS (Dettner 1985) und per Geruch (Kovac & Maschwitz 1990) bekannt geworden. Ausserdem weiss man, dass sich Halipliden mit dem Pygidialdrüsensekret einreiben, um den Subelytralraum hydrophob und frei vor Mikroorganismen zu halten (Kovac & Maschwitz 1990) und um ihre Körperoberfläche besser mit Wasser benetzen zu können (Eintauchhilfe, Dettner 1985).

Das Anliegen der vorliegenden Studie bestand darin, mehr über die Morphologie, Chemie und phylogenetische Bedeutung der Halipliden-Pygidialdrüse

bei ausgewählten, aus Mitteleuropa verfügbaren Spezies der Wassertreter in Erfahrung zu bringen. Dabei sollte anhand dieser winzigen Komplexdrüsen auch geklärt werden, inwieweit der Merkmalskomplex Pygidialdrüse für die Einordnung der Familie innerhalb der Hydradephaga sowie intrafamiliär nützlich sein könnte. Da paarige Prothorakal-Wehrdrüsen bei den Haliplidae fehlen, stellen die Pygidialdrüsen die einzigen Komplexdrüsen dieser herbivoren (Larven) bzw. omnivoren (Imagines) Käferfamilie dar, deren funktionelle Bedeutung weiter aufzuklären ist.

Die vorliegende Arbeit wurde für den Gedenkband für den leider viel zu früh verstorbenen Kollegen, Herrn Prof. Dr. Konrad Thaler/Innsbruck verfasst. Der weltweit bekannte österreichische Arachnologe war nicht nur an den Spinnentieren, sondern generell an der Taxonomie, Phylogenie, Zoogeographie und Ökologie der terrestrischen Arthropoden interessiert, wobei die alpine Fauna besondere Berücksichtigung fand (Dettner 2005d). In Innsbruck, aber auch in Halle und Dresden hatte ich mehrfach persönlichen Kontakt mit ihm, als es darum ging, die Dreiländertagung der DGaE, SEG und der ÖEG in Innsbruck zu organisieren. Bei einer gemeinsamen alpinen Exkursion in Nordtirol im Bereich Seefeld wurde deutlich, dass Herr Thaler auch an Beobachtungen fasziniert war, welche nicht direkt in sein Arbeitsgebiet fielen. Bei diesen Bergwanderungen konnten ihm mehrfach die Abgabe von stinkenden Wehrsekreten aus den Abwehrdrüsen der Weberknechte oder aus den Pygidialdrüsen bzw. Prothorakalwehrdrüsen land- und wasserlebender adephter Käfer demonstriert werden. Als Exkursionsleiter war er begeistert, für ihn völlig neue Facetten über alpine Arthropoden zu erfassen. Dieser zurückhaltende, bescheidene und sympathische Kollege wird all denjenigen, die ihn kennenlernen durften, in bleibender Erinnerung bleiben.

## Material und Methoden

Es wurden folgende, in der Umgebung von Bayreuth (Nordbayern) sowie in Norditalien (*Peltodytes rotundatus*: Stazzema, Apuanische Alpen, Toskana) aufgesammelte Haliplidenarten untersucht (van Vondel 1997): *Brychius elevatus* (PANZER, 1794), *Peltodytes caesus* (DUFTSCHMID, 1805), *P. rotundatus* (AUBÉ, 1836), *Haliplus* (*Neohaliplus*) *lineatocollis* (MARSHAM, 1802), *Haliplus* (*Haliplus*) *ruficollis* (DEGEER, 1774), *Haliplus* (*Haliplus*) *heydeni* WEHNCKE, 1875, *Haliplus* (*Liaphlus* ?) *laminatus* (SCHALLER, 1783), *Haliplus* (*Liaphlus*) *fulvus* (FABRICIUS, 1801), *Haliplus* (*Liaphlus*) *flavicollis* STURM, 1834. Von den nachgenannten Spezies standen für die GC-MS-Untersuchungen folgende Zahlen präparierter Drüsenreservoirs (Klammerwerte) zur Verfügung: *Haliplus flavi-*

*collis* (160), *H. fulvus* (40), *H. heydeni* (5), *H. laminatus* (60), *H. ruficollis* (80), *H. lineatocollis* (60), *Peltodytes caesus* (80), *P. rotundatus* (35), *Brychius elevatus* (6).

Die Bestimmung der Imagines erfolgte nach Holmen (1987) und van Vondel (1997). Frischpräparate der präparierten Drüsenkomplexe wurden zum Teil nach Vitalfärbung mit Methylenblau, zum Teil nach 24stündiger Mazeration mit 5% Kalilauge lichtmikroskopisch untersucht (Olympus BH-2).

Zur GC-MS-Untersuchung wurden die präparierten Pygidialdrüsen in Reacti-Vials mit ca. 50 µl einer etherischen Diazomethanlösung versetzt, wobei eine Entfärbung eintritt. Anschliessend wurde der Ether entfernt und der Rückstand mit Aceton aufgenommen. Pro Extrakt wurden 1 µl in den Injektor des Kapillargaschromatographen Vega 2 (Carlo Erba) überführt, welcher mit einer ITD 800 (Finnigan MAT) gekoppelt war (Trärgas He; Ionisierungsenergie: 70 eV). Ausser den EI-Massenspektren wurden CI-Messungen mit Methanol durchgeführt. Für die DB 1701-Kapillarsäule (17 m) wurde folgendes Temperaturprogramm verwendet: Von 50 °C bis 265 °C (Heizrate 5 °C/min).

Die Pygidialdrüsensekrete ausgewählter Haliplidae wurden ausserdem mit den zwei Derivatisierungsmitteln MSTFA (N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoroacetamid) und TMSH (Trimethylsulfoniumhydroxid in Methanol) umgesetzt. Hierbei wurden wenige durch Mikropräparation sauber gewonnene Drüsen vor der GC-MS-Analyse mit MSTFA (*Brychius elevatus*, *Haliplus heydeni*) bzw. mit TMSH (Macherey-Nagel; *Peltodytes rotundatus*, *Haliplus ruficollis*) versetzt. MSTFA führt bei –OH- bzw. –COOH-Gruppen zur Trimethylsilylierung, wohingegen TMSH in entsprechender Weise Methylierungen herbeiführt. Mehrere in Pyridin/Tetrahydrofuran (1:1) zerstoßene Drüsenreservoirs wurden mit je 10 µl MSTFA versetzt und es wurde 12 h bei 40 °C erwärmt. Die GC-Analyse erfolgte wieder mit einem mit FID versehenen VEGA 2-Kapillargaschromatographen (s. o.), in dessen Injektor jeweils 0.4 µl der jeweiligen Lösungen überführt wurde. Für die hierbei benutzte OV 101-Kapillarsäule (15 m) wurde folgendes Temperaturprogramm verwendet: Von 60 °C bis 190 °C (Heizrate 3 °C/min). Bei der dritten prächromatographischen Derivatisierung wurden mit Dichlormethan zerstoßene Drüsen (je ca. 20 µl) in einem Reacti-Vial mit je 30 µl TMSH versetzt, wobei nach 5 min jeweils 1 µl des Gemisches in den Injektor (über eine Optic 2 Injektorsteuerung von Atas) eines GCQ<sup>TM</sup>-Systems (Finnigan MAT) überführt wurden (Trärgas He; Ionisierungsenergie: 70 eV). Für die HT5-Kapillarsäule (25 m; ID 0.22 mm) wurde folgendes Temperaturprogramm verwendet: Von 50 °C bis 280 °C (Heizrate 10 °C/min).

## Ergebnisse

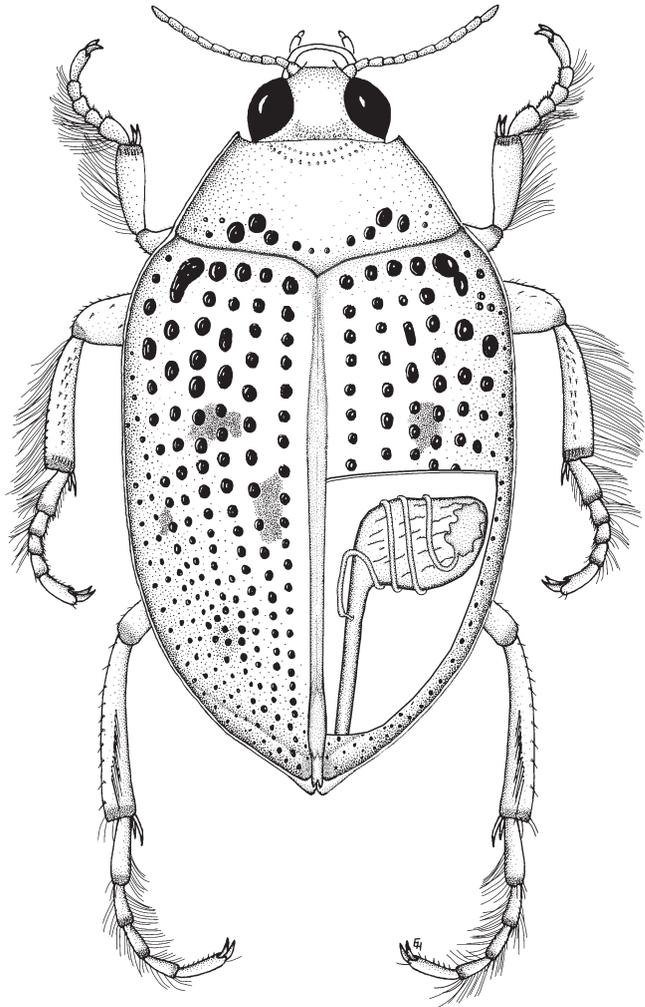
### Morphologie der Pygidialdrüsen

Das Drüsenreservoir von *Peltodytes caesus* ist nierenförmig (Abb. 2a; Länge/Breite: 780/350  $\mu\text{m}$ ), die umgebenden Muskelstränge sind quer zum Reservoir angeordnet und gehen nicht von einem gemeinsamen Ausgangspunkt im Bereich der Reservoiröffnung aus. Der extrem lange Sammelkanal (Länge 1900  $\mu\text{m}$ ), weist vereinzelt und isoliert Drüsengewebe auf und mündet weit entfernt von der Öffnung des Reservoirs, d. h. proximal in den kurzen Ausführungsgang (Länge 290  $\mu\text{m}$ ). Das Drüsengewebe ist verzweigt, weicht deutlich ab von allen anderen untersuchten Haliplidenspezies und ähnelt partiell dem Drüsengewebe bestimmter Carabidae (Forsyth 1972). Die Pygidialdrüse von *P. rotundatus* weicht etwas von den bei *P. caesus* beschriebenen Verhältnissen ab (Abb. 2b). Der Sammelkanal ist auch bei dieser Spezies extrem lang und das endständige Drüsengewebe ist breit und liegt dem Reservoir flächig auf (Abb. 1). Offenbar ist der Sammelkanal fast durchgehend von einer dünnen Schicht Drüsengewebes umgeben, welche lediglich an der Einmündungsstelle zum Reservoir fehlt (s. Vergrößerung Abb. 2b). Auch bei dieser Spezies mündet der Sammelkanal deutlich entfernt von der Drüsenöffnung in den Ausführungsgang des Reservoirs.

Der Drüsenschlauch von *Brychius elevatus* ist länglich oval und apikal verzweigt (Abb. 2c; Länge 1670  $\mu\text{m}$ ). Die das Reservoir umgebenden Muskelstränge gehen offenbar von einem gemeinsamen Ausgangspunkt im Bereich der Drüsenöffnung aus, eine genaue Darstellung war aufgrund von Materialmangel nicht möglich. Der relativ kurze Sammelkanal (770  $\mu\text{m}$ ) mündet in unmittelbarer Nähe der Reservoiröffnung in den kurzen (380  $\mu\text{m}$ ) Ausführungsgang. Das Drüsenreservoir ist lang (1000  $\mu\text{m}$ ) und schmal (240  $\mu\text{m}$ ). Die Tubuli der Drüsenzellen münden einzeln in den Sammelkanal.

Auch der Pygidialdrüsenkomplex von *Haliphus (Neohaliphus) lineatocollis* (Abb. 2d) weicht morphologisch ab von den Verhältnissen sowohl bei *Brychius/Peltodytes* (Abb. 2a–c) als auch bei den Untergattungen *Haliphus/Liaphlus* (Abb. 2e–h). Das Drüsenreservoir von *Neohaliphus* ist nicht nierenförmig und mit seinem kurzen Ausführungsgang prinzipiell wie bei *Peltodytes* geformt (Länge: 400  $\mu\text{m}$ , Breite: 250  $\mu\text{m}$ ). Die strahlenförmig angeordneten Muskelbänder laufen kurz vor der Drüsenöffnung zusammen. Der Drüsenschlauch ist stark verlängert (Länge 1160  $\mu\text{m}$ ; Breite 50  $\mu\text{m}$ ), der stark verkürzte Sammelkanal (Länge 60  $\mu\text{m}$ ) mündet unmittelbar hinter der Reservoiröffnung in den ver-

Abb. 1. Habitus von *Peltodytes rotundatus* sowie Position eines Pygidialdrüsenkomplexes mit Drüsenreservoir, Reservoirausführgang sowie um das Reservoir gewickelten Sammelkanal mit endständigem Drüsengewebe.



kürzten Ausführgang (Länge 180  $\mu\text{m}$ ). Die Tubuli der Drüsenzellen münden separat in den Sammelkanal.

Die Morphologie der Pygidialdrüsen zeigt zwischen den Untergattungen *Haliplus* und *Liaphlus* keine Unterschiede (Abb. 2e–h). Bei den untersuchten Spezies *Haliplus (Haliplus) ruficollis* (Abb. 2e), *Haliplus (Liaphlus) laminatus* (Abb. 2h), *Haliplus (Liaphlus) fulvus* (Abb. 2f), *Haliplus (Liaphlus) flavicollis* (Abb. 2g) ist der Pygidialdrüsenkomplex so aufgebaut, wie von Forsyth (1968) für *H. ruficollis* beschrieben. Der Drüsenschlauch ist oval, kompakt (Länge: 620–870  $\mu\text{m}$ , Breite: 140–240  $\mu\text{m}$ ). Der extrem verlängerte Sammelkanal (Länge 970–1140  $\mu\text{m}$ ) weist keine zirkulären Drüsenzellen auf und mündet unmittelbar hinter der Drüsenöffnung in den Reservoirausführgang. Der relativ

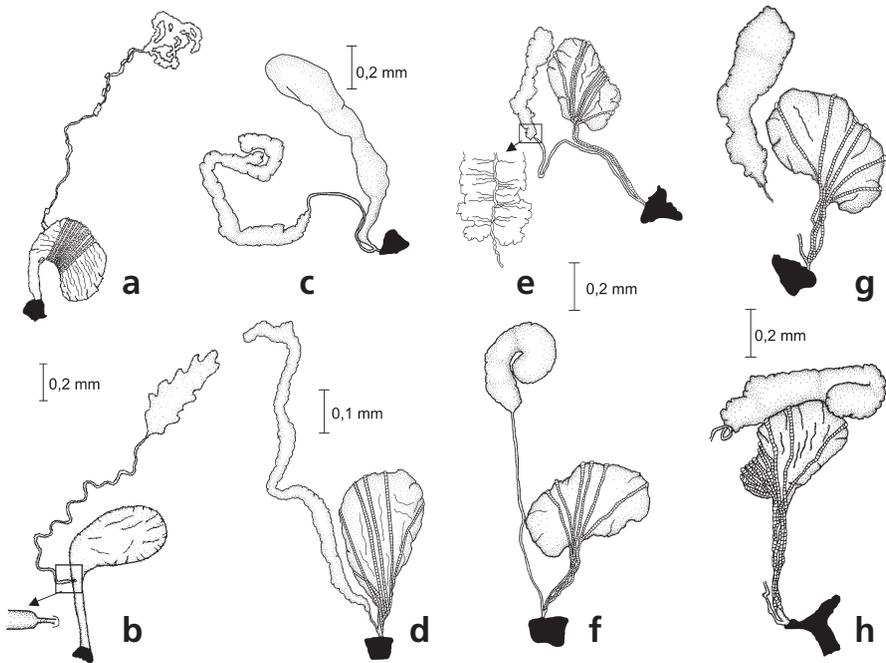


Abb. 2. Morphologie der Pygidialdrüsenkomplexe (Drüsenreservoir, Drüsenausführgang, Drüsen-  
gewebe, Sammelkanal) bei den untersuchten europäischen Vertretern der Wasserreter (Haliplidae).  
– a: *Peltodytes caesus*; – b: *P. rotundatus*; – c: *Brychius elevatus*; – d: *Haliplus (Neohalplus) lineato-*  
*collis*; – e: *Haliplus (Haliplus) ruficollis*; – f: *Haliplus (Liaphlus) fulvus*; – g: *Haliplus (Liaphlus) flavi-*  
*collis*; – h: *Haliplus (Liaphlus?) laminatus*. Muskulatur nicht eingezeichnet in b und c. Vergrößerungen  
des Sammelkanals (b, e) und des Drüsenorgans (e).

lange (200–600 µm) und schmale Ausführgang des Drüsenreservoirs ent-  
springt auf der Innenseite des Drüsenreservoirs. Die strahlenförmig ange-  
ordneten, das Reservoir umgebenden Muskeln entspringen im Bereich der  
Drüsenöffnung (Abb. 2e–h), entleerte Drüsenreservoirs sind vollständig von  
Muskelgewebe bedeckt. Die Tubuli der Drüsenzellen treten einzeln in den Zen-  
tralkanal ein (s. Abb. 2e).

### Chemie der Pygidialdrüsen

In den Totalionenstromchromatogrammen der mit Diazomethan methylier-  
ten Pygidialdrüsensekrete tauchten in einigen Fällen auch nicht methylierte  
bzw. nur partiell methylierte Produkte auf. Dies dürfte in erster Linie darauf  
zurückzuführen sein, dass einzelne, z. T. winzige und eingetrocknete Drüsen-  
reservoirs nicht homogenisiert werden konnten, d. h. nicht mit der etheri-

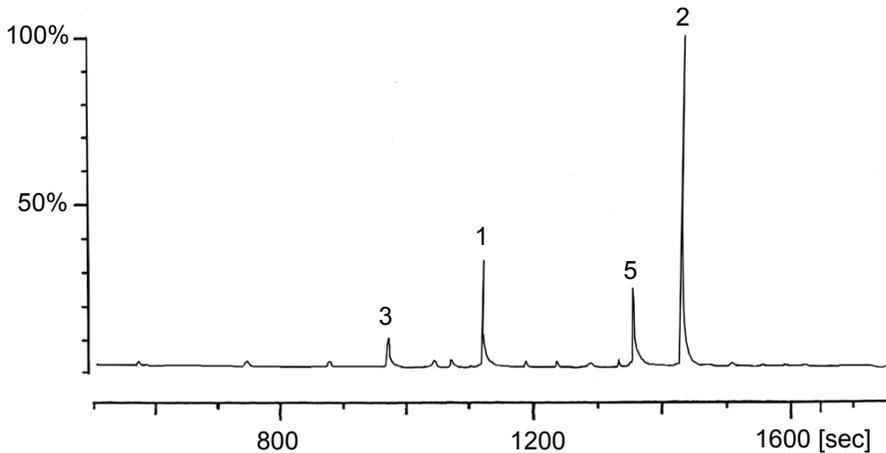


Abb. 3. Totalionenstromchromatogramm des mit Diazomethan behandelten Pygidialdrüsensekretes von *Haliphus (Liaphlus) flavicollis* (s. Material und Methoden).

schen Diazomethanolösung in Berührung kamen. In allen Fällen wurde jedoch nachgewiesen, dass im nativen Drüsensekret die nicht derivatisierten Drüsen-substanzen vorlagen.

Die beiden Hauptkomponenten (**1**, **2**; Abb. 3–4) im Sekret aller untersuchten Spezies (ausser *Peltodytes rotundatus*) wiesen prominente Fragmente im EI-Massenspektrum bei  $m/z$  103 und  $m/z$  74 auf (Tab. 1). Die chemische Ionisation ergab protonierte Molekülionen von  $m/z$  175 und 203, weshalb Komponente **1** die Molekülmasse 174, Komponente **2** die Molekülmasse 202 aufweist. Ein Vergleich der EI-Massenspektren sowie der Retentionszeiten von Drüsen-substanzen und authentischen Verbindungen ergab, dass es sich bei den Hauptkomponenten in der Halipliden-Pygidialdrüse um 3-Hydroxyoctansäure (=  $\beta$ -Hydroxyoctansäure; **1**) und 3-Hydroxydecansäure ( $\beta$ -Hydroxydecansäure, **2**) handelt. Zwischen der D- und L-Form dieser Verbindungen konnte nicht unterschieden werden.

Weiterhin wurde in geringen Mengen Phenylelessigsäuremethylester (**3**; Abb. 3–4) im derivatisierten Sekret aller untersuchter Haliplidae identifiziert (Tab. 1). Das EI-Massenspektrum von **3** war durch ein Molekül bei  $m/z$  150 (chemische Ionisation:  $151 = M + 1$ ) sowie Fragmente bei  $m/z$  91 (100) und 65 (20) charakterisiert, was durch Vergleich der Retentionszeiten und der Fragmentierungsmuster von authentischem Phenylelessigsäuremethylester bestätigt werden konnte. Überdies wird der Geruch des rohen Pygidialdrüsensekretes der Halipliden durch die beiden oben genannten  $\beta$ -Hydroxycarbonsäuren (Geruch stechend, fussschweissartig) sowie durch Phenylelessigsäure (Geruch süßlich, honigartig) bestimmt.

Komponenten	1	2	3	4	5	6	7
Arten	$\beta$ -Hydroxy- octansäure	$\beta$ -Hydroxy- decansäure	Phenyllessigsäure	p-Hydroxy- phenyllessigsäure	Phenylmilchsäure	m-Hydroxy- phenyllessigsäure	Benzoessäure
<i>Peltodytes caesus</i>	+	+	+	+			
<i>Peltodytes rotundatus</i>		+	+	+		(+)	
<i>Brychius elevatus</i>	+	+	+				+
<i>Haliplus (Neohaliplus) lineatocollis</i>	+	+	+	+			
<i>Haliplus (Haliplus) ruficollis</i>	+	+	+	+		(+)	
<i>Haliplus (Liaphlus?) laminatus</i>	+	+	+		+		
<i>Haliplus (Liaphlus) flavicollis</i>	+	+	+		+		
<i>Haliplus (Liaphlus) fulvus</i>	+	+	+				
<i>Haliplus (Haliplus) heydeni</i>	+	+	+		+?		+

Tab. 1. In den Pygidialdrüsen der Haliplidae nachgewiesenen Substanzen (Klammerwerte: Substanz nur in Spuren vorhanden).

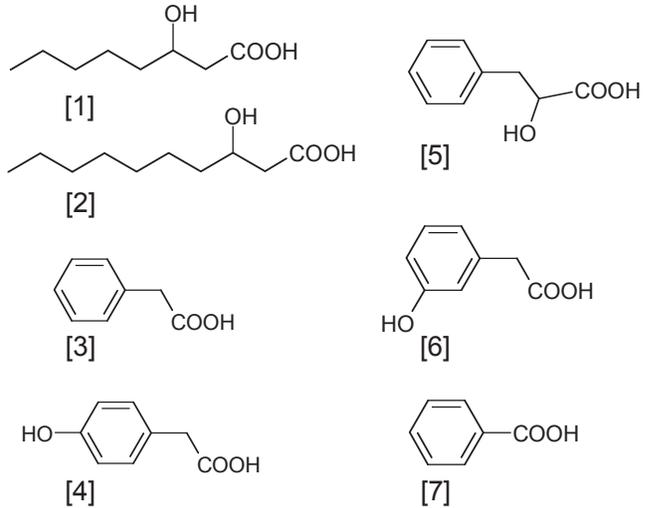
In den Totalionenstromchromatogrammen der mit Diazomethan methylierten Sekrete von *H. (Neohaliplus) lineatocollis*, *H. ruficollis*, *Peltodytes rotundatus* und *P. caesus* (Abb. 4) konnte eine aromatische Verbindung (**4**) mit Molekülmasse 180 (CI 181) identifiziert werden, welche Bruchstücke bei  $m/z$  121 (100), 91 (55), 180 (22), 77 (20), 78 (15) aufwies. Ein Vergleich (Retentionszeit, EI-Massenspektrum) mit authentischem p-Methoxyphenyllessigsäuremethylester konnte die Identität beider Verbindungen aufzeigen.

Vier der fünf untersuchten Vertreter der Untergattungen *Liaphlus* und *Haliplus* (Tab. 1) wiesen in ihrem derivatisierten Pygidialdrüsensekret 2-Hydroxyphenylpropionsäuremethylester (liegt in Drüse vor als Phenylmilchsäure = 2-Hydroxyphenylpropionsäure, **5**; Abb. 3–4) auf. Bei der Derivatisierung wurde die 2-Hydroxygruppe offenbar nicht methoxyliert. Diese Verbindung lieferte im EI-Massenspektrum Fragmente bei  $m/z$  91 (100), 162 (20), 161 (20), 103 (18), 65 (19), und 77 (13) und wies ein identisches MS sowie dieselbe Retentionszeit wie authentische Phenylmilchsäure auf. Aufgrund der geringen Mengen der 3-Phenylmilchsäure konnte nicht zwischen der D- und L-Form dieser Verbindung unterschieden werden.

Schliesslich wurden bei den Umsetzungen der Pygidialdrüsenreservoirs mit TMSH und MSTFH noch zwei weitere Komponenten (**6**, **7**, Tab. 1, Abb. 4) in geringen Mengen identifiziert. Sowohl *Peltodytes rotundatus* als auch *Haliplus ruficollis* enthielten im TMSH-Ansatz je zwei aromatische Verbindun-

**Abb. 4. Identifizierte  
Pygidialdrüsensub-  
stanzen der Haliplidae.**

- 1: 3-Hydroxyoctan-  
säure;
- 2: 3-Hydroxydecan-  
säure;
- 3: Phenyllessigsäure;
- 4: p-Hydroxyphenyl-  
essigsäure;
- 5: Phenylmilchsäure
- 6: m-Hydroxyphenyl-  
essigsäure;
- 7: Benzoesäure.



gen mit den Molekülmassen 180. Während die beiden Verbindungen mit der höheren Retentionszeit (574 sec) durch Vergleich der EI-Massenspektren mit authentischen Komponenten als p-Methoxyphenyllessigsäuremethylester (in der Drüse vorliegend als p-Hydroxyphenyllessigsäure (4) identifiziert werden konnten, entpuppte sich die Komponente mit der kürzeren Retentionszeit (564 sec) als m-Methoxyphenyllessigsäuremethylester (in der Drüse vorliegend als m-Hydroxyphenyllessigsäure (6). Das EI-Massenspektrum von m-Methoxyphenyllessigsäuremethylester war durch Fragmente bei  $m/z$  121 (100), 180 (60), 91 (55), 77 (25), 65 (17), 51 (10), 122 (10), 148 (5) charakterisiert und konnte massenspektroskopisch und im Retentionszeitvergleich von authentischem o-Methoxyphenyllessigsäuremethylester [base peak  $m/z$  91, 93 (30), 148 (25); 535 sec] unterschieden werden.

Sowohl *Brychius elevatus* als auch *Haliplus heydeni* enthielten weiterhin im MSTFH-Ansatz Spuren von Benzoesäure (7), was durch Retentionszeitvergleich (*B. e.*: 575 sec; *H. h.*: 573 sec) mit authentischem Benzoesäure-trimethylsilylether (576 sec) bestätigt werden konnte.

## Diskussion

### Morphologie der Pygidialdrüsen

Die Arbeiten von Forsyth (1968, 1970, 1972) haben aufgezeigt, dass der Drüsenkomplex der Pygidialdrüsen bei den Hydradephaga dadurch gekennzeichnet ist, dass der eigentliche Drüsenschlauch länglich bzw. bandförmig ausgebildet ist, denn die je nach Spezies 1–2 Typen von Drüsenzellen sind zirkulär um den Sammelkanal angeordnet. Diese Verhältnisse finden sich bei den Dytiscidae (s. a. Dettner 1985, Forsyth 1968), Noteridae (Forsyth 1968), Gyrinidae (Forsyth 1968), Amphizoidae (Forsyth 1970) und Hygrobiidae (Forsyth 1970) sowie bei den Haliplidengattungen *Brychius* (Abb. 2c) und *Haliplus* (*Neohaliplus*) (Abb. 2d). Interessanterweise weist auch der Drüsenschlauch der terrestrischen Cicindelidae eine tubuläre Form auf (Forsyth 1970). Bei den Carabidae aber auch bei der Haliplidengattung *Peltodytes* (Abb. 2a–b) ist der Drüsenkomplex hingegen apikal verbreitert und verzweigt (Tab. 2, **Merkmal 2**) und auf den proximalen Teil des Sammelkanals beschränkt. Dies ist nach Forsyth (1972) und Will & al. (2000) beispielsweise bei *Abax*, *Agonum*, *Anthia*, *Bembidion*, *Brachinus*, *Broscus*, *Carabus*, *Catapiesis*, *Chlaenius*, *Cychrus*, *Dercylus*, *Harpalus*, *Metabletus*, *Metrius*, *Mormolyce*, *Nebria*, *Notiophilus*, *Pasi-machus*, *Paussus*, *Rhysodes* und *Tefflus* der Fall. Sofern der Drüsenkomplex eine kompakte Form aufweist, zeigen die mit KOH aufgehellten Präparate bei den Gattungen *Clivina*, *Blethisa*, dass eine Verzweigung der Drüsenzellen vorliegt. Lediglich bei *Elaphrus* und *Dyschirius* findet sich ein kompakter Drüsenkomplex mit unverzweigten Drüsenzellen, im Gegensatz zu allen Hydradephaga und Cicindelidae ist der Sammelkanal im Drüsenbereich dieser beiden Taxa jedoch aufgetrieben (*Dyschirius*) oder quergestellt (*Elaphrus*) (Forsyth 1972).

Für alle Carabidae gilt weiterhin (Forsyth 1972): Der vom Drüsengewebe zum Reservoir führende Sammelkanal mündet nicht nahe an der Reservoiröffnung, d. h. nicht distal, sondern im proximalen Bereich ins Reservoir. Dies trifft auch für die Haliplidengattung *Peltodytes* (Abb. 2a–b) sowie für die Cicindelidae zu, welche bezüglich des Drüsenschlauchs ansonsten eher den Hydradephaga (excl. *Peltodytes*) ähneln. Im Gegensatz zu den Geadephaga (incl. Cicindelidae) mündet der Sammelkanal des Drüsenschlauchs bei den Hydradephaga (excl. *Peltodytes*) nahe der Reservoiröffnung in den Ausführgang des Reservoirs (Tab. 2, **Merkmal 1**). Dies trifft nach Forsyth (1968, 1970) und Dettner (1985) beispielsweise für die Dytiscidae *Acilius*, *Colymbetes*, *Copelatus*, *Hyphydrus*, *Laccophilus* (Schildknecht & al. 1983), *Nebrioporus* (= *Potamonectes*), *Stictotarsus*, die Noteridae (*Noterus*), Gyrinidae (*Gyrinus*), Hali-

---

<b>Merkmal 1</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Sammelkanal der Pygidialdrüse mündet distal, nahe an der Reservoiröffnung (Haliplidae excl. <i>Peltodytes</i> Abb. 2c–h, Hygrobiiidae, Dytiscidae, Amphizoidae)</li> <li>○ Sammelkanal der Pygidialdrüse mündet weiter proximal vom Reservoirausführgang, wie bei Geadephaga und <i>Peltodytes</i> Abb. 2a,b (Haliplidae)</li> </ul>
<b>Merkmal 2</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Drüsenschlauch länglich und bandförmig, Drüsenzellen zirkulär um den Sammelkanal angeordnet (Haliplidae: <i>Brychius</i>, <i>Neohalipus</i>, <i>Haliplus</i> Abb. 2c–h, Dytiscidae, Noteridae, Gyrinidae, Amphizoidae)</li> <li>○ Drüsenschlauch apikal verbreitert und verzweigt, auf den proximalen Teil des Sammelkanals beschränkt (Haliplidae: <i>Peltodytes</i> Abb. 2a,b, Geadephaga, z. B. <i>Carabus</i>, <i>Trachypachus</i>, <i>Harpalus</i>)</li> </ul>
<b>Merkmal 3</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Muskelschicht des Drüsenreservoirs auf das eigentliche Reservoir beschränkt, zirkulär um Reservoir angeordnet (Haliplidae: <i>Peltodytes</i> Abb. 2a)</li> <li>○ Muskeln des Drüsenreservoirs entspringen an Reservoiröffnung und ziehen von dort aus zur Reservoiroberfläche (Haliplidae: <i>Brychius</i>, <i>Neohalipus</i>, <i>Haliplus</i>, Abb. 2d–h, Geadephaga, Hydradephaga ausser <i>Peltodytes</i>)</li> </ul>
<b>Merkmal 4a</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Ausführgang des Drüsenreservoirs schmal und lang (Abb. 2e–h)</li> <li>○ Ausführgang des Drüsenreservoirs kurz (Abb. 2c–d)</li> </ul>
<b>Merkmal 4b</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Reservoir gedungen, nierenförmig, vom längeren Reservoirausführgang abgesetzt (Haliplidae: <i>Haliplus</i> Abb. 2e–h)</li> <li>○ Reservoir verengt sich allmählich zum kurzen Ausführgang (Haliplidae: <i>Brychius</i>, <i>Neohalipus</i> Abb. 2c–d)</li> </ul>
<b>Merkmal 5 (?)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Vorkommen von Phenylmilchsäure (5) (und m-Hydroxyphenylelessigsäure 6 ?) exklusiv bei der Gattung <i>Haliplus</i> (ausser UG. <i>Neohalipus</i>), Tab. 1, Abb. 4</li> <li>○ Fehlen von Phenylmilchsäure (und m-Hydroxyphenylelessigsäure) in restlichen adephagen Käfern, Tab. 1</li> </ul>

---

**Tab. 2. Merkmale 1–5 zur Erstellung eines Stammbaumes der Haliplidengattungen basierend auf der Pygidialdrüsenmorphologie (ausgefüllte Kreise: Synapomorphien; leere Kreise: Plesiomorphien; ? : Synapomorphie fraglich).**

plidae (*Brychius*, UG. *Neohalipus*, *Haliplus*), Amphizoidae (*Amphizoa*) und Hygrobiiidae (*Hygrobia*) zu und wird als abgeleitetes Merkmal gedeutet (Plesiomorphie bei Carabidae).

Die Ausprägung der Muskelschicht auf dem Drüsenreservoir hat sicherlich vor allem mit der Viskosität (dünnflüssig, Paste) und der Art der Sekretabgabe zu tun. Die Muskelfaser-Insertion an der Öffnung des Drüsenreservoirs (Geadephaga, Hydradephaga ausser *Peltodytes*, Abb. 2d–h) ist im Gegensatz zu der zirkulären, auf das eigentliche Reservoir beschränkten Anordnung der Muskelfasern (Haliplidae: *Peltodytes*; Abb. 2a) sicher als primitiv zu interpretieren (Tab. 2, **Merkmal 3**). Bei den meisten Adephaga und den Haliplidengattungen *Peltodytes*, *Brychius*, und der UG. *Neohalipus* verengt sich das Drüsenreservoir allmählich zur Ausfuhröffnung hin (Abb. 2a–d), d. h. der Ausfüh-

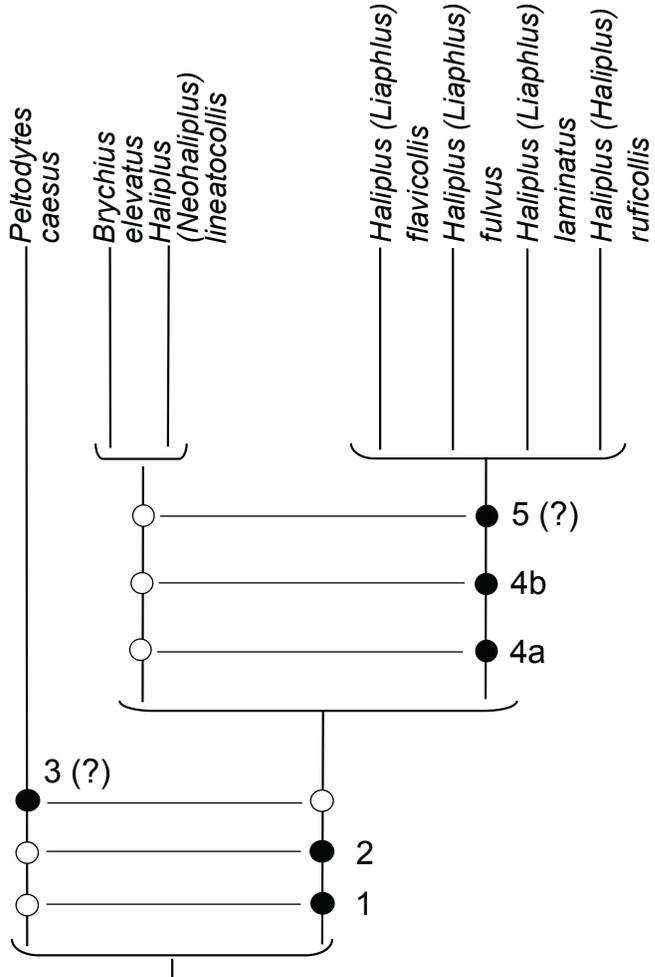
gang des Reservoirs ist relativ kurz. Hingegen ist der Ausführgang des Drüsenreservoirs bei der Gattung *Haliplus* (exklusive Gattung *Neohaliplus*) schmal und relativ lang (Tab. 2, **Merkmal 4a**). Bei der Gattung *Haliplus* (ausser UG. *Neohaliplus* !) verengt sich weiterhin das kompakte, nierenförmige Reservoir schlagartig und ist vom längeren Reservoirausführgang abgesetzt (Tab. 2, **Merkmal 4b**, abgeleitetes Merkmal). Hingegen verengt sich das Reservoir der Pygidialdrüse bei den Gattungen *Brychius* und *Neohaliplus* allmählich zum kurzen Ausführgang (Plesiomorphie). Die **Merkmale 4a** und **4b** sind miteinander gekoppelt.

Einige der drüsenmorphologischen Merkmale lassen sich derzeit noch nicht unter phylogenetischen Gesichtspunkten interpretieren. Dies gilt beispielsweise für nackte, d. h. nicht mit Drüsenzellen assoziierte (siehe Carabidae, UG. *Haliplus* ohne UG. *Neohaliplus*; Abb. 2e–f), lange Sammelkanäle, während der Sammelkanal von *Peltodytes caesus* kleinflächig von Drüsengewebe umgeben ist (Abb. 2a). Auch kann nicht beurteilt werden, ob es sich bei den Verzweigungen der länglichen, bandförmigen Drüsenschläuche (z. B. *Brychius elevatus*, Abb. 2c) um ein primitives oder ein abgeleitetes Merkmal handelt.

## Chemie und Funktion der Pygidialdrüsen

Die in Halipliden erstmals als Hauptkomponenten nachgewiesenen  $\beta$ -Hydroxysäuren sind in der Natur weit verbreitet und finden sich beispielsweise in der Milch (Parks 1977, Kettenlänge  $C_6$ – $C_{16}$ ), im menschlichen Blut (Pfordt & Spittler 1980), im Bürzeldrüsensekret der Ringeltaube (Jakob 1977), im Metathorakaldrüsensekret von Blattschneiderameisen (Maschwitz & al. 1970;  $C_6$ ,  $C_8$ ,  $C_{10}$ ), in der Mandibeldrüse von *Apis cerana japonica* (Matsuyama & Sasagawa 2004) oder im Pygidialdrüsensekret von Schwimmkäfern der Gattung *Laccophilus* (Schildknecht & al. 1983). Überdies stellen diese Verbindungen wichtige Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen dar (z. B. *Azobacter*: Kaneshiro & Marr 1963, *Lactobacillus*: Sjögren et al. 2003, *Serratia*: Bishop & Still 1962, *Zoogloea*: Hiraishi & al. 1992). Generell ist eine bakterizide, fungizide, keim- und wachstumshemmende Wirkung dieser  $\beta$ -Hydroxysäuren nachgewiesen, wobei insbesondere  $C_8$  und  $C_{10}$ -Hydroxysäuren (= "myrmic acids") wirksam sind (Iizuka & al. 1979, Iwanati & Iwadare 1978, 1979). Es ist deshalb nicht verwunderlich, dass  $\beta$ -Hydroxycarbonsäuren in industriellen Reinigungsmitteln, Desinfektionsmitteln für Krankenhäuser oder als Konservierungsmittel für kosmetische Artikel zum Einsatz kommen (Osberghaus & al. 1974). Es kann vermutet werden, dass Komponenten **1** und **2** die

Abb. 5. Verwandtschaftsbeziehungen der Arten/Gattungen der Haliplidae auf der Basis von Merkmalen des Pygidialdrüsenkomplexes (Synapomorphien 1–5: ausgefüllte Kreise; s. Tab. 2; ?: Synapomorphie fraglich).



Oberfläche der Halipliden wie bei *Laccophilus*-Arten vor mikrobiellem Befall schützen (Dettner 1985, Kovac & Maschwitz 1990, Schildknecht & al. 1983), den Subelytralraum im Bereich der Stigmen frei halten (Kovac & Maschwitz 1990) und gleichzeitig auch als "Eintauchhilfe" dienen, wenn Halipliden nach Landaufenthalten ins Wasser zurückkehren (Dettner 1985). Dies wird auch durch ein charakteristisches Putz- und Eintauchverhalten der Haliplidenimagines untermauert (Brancucci 1977, Dettner 1985). Prinzipiell wäre auch denkbar, dass die im Drüsensekret als Hauptkomponenten vorhandenen  $\beta$ -Hydroxycarbonsäuren auf die Körperoberfläche gebracht, Polyester bilden und die Tiere dadurch epizoische Organismen in eine sich verfestigende Masse einschliessen. Selbstverständlich müssten diese festen Makromoleküle

von Zeit zu Zeit von der Körperoberfläche entfernt werden, z. B. beim Wiedereintauchen ins Wasser. Über entsprechende, auf der Basis von Glykoproteiden und aromatischen Verbindungen aus Pygidialdrüsen basierende Mechanismen wurde bereits bei den Dytiscidae (echte Wasserkäfer) berichtet (Schildknecht 1971, Schildknecht & Bühner 1968).

Die stark nach Honig riechende aromatische Säure **3** (PAA) ist bei Pflanzen (z. B. Früchte oder pflanzliche Öle wie *Mentha*-, Neroli- oder Rosenöl; Martinetz & Hartwig 1998) und Tieren weit verbreitet. Sie wirkt als Pflanzenwuchsstoff, ist schwach giftig und hat eine ausgesprochen antimikrobielle Wirkung. Wichtige Vorkommen in Tieren sind die Metathorakaldrüsen der Ameisen, die Mandibeldrüsen der Bienenkönigin oder die Pygidialdrüsen der Cicindelidae, Dytiscidae und Noteridae (s. Dettner & Schwinger 1977, Francke & Dettner 2005). Auch Bakterien wie z. B. *Azospirillum brasilense* synthetisieren Phenylelessigsäure (PAA) aus Phenylalanin (über Phenylbrenztraubensäure, Phenylacetaldehyd; Somers & al. 2005). Interessanterweise wird hier die PAA-Synthese durch die Indol-3-pyruvatdecarboxylase angeregt, welche primär den Pflanzenwuchsstoff Indol-3-essigsäure (IAA) produziert. Bemerkenswerterweise kommen bei den hydradephagen Noteridae und Dytiscidae (hier UF. Hydroporinae) sowohl PAA als auch IAA als Hauptkomponenten zusammen in den Pygidialdrüsen vor (Dettner & Schwinger 1977, Dettner 1985).

p-Hydroxyphenylelessigsäure (**4**) wurde erstmals in Halipliden identifiziert, kommt jedoch auch in den Pygidialdrüsen der Noteridae (Dettner 2005a) und Dytiscidae (nur Hydroporinae, s. Dettner 1985) vor. Die bei zwei Haliplidenspezies in Spuren vorhandene m-Hydroxyphenylelessigsäure (**6**) wurde erstmals bei Insekten identifiziert. Über ihre Funktion ist wenig bekannt. Sie ist jedoch als allelopathische Substanz (phytotoxische Wirkung) aus trockenen Blättern von *Acacia*-Arten bekannt (Chou & al. 1998) und kommt neben p-Hydroxyphenylelessigsäure im Blutplasma des Menschen vor (Davis & al. 1982).

Die bei der Gattung *Haliplus* identifizierte Phenylmilchsäure (**5**) ist neu für hydradephage Käfer und ist wohl erstmals in Insektendrüsen gefunden worden. Im Leberstoffwechsel des Menschen wird Phenylmilchsäure bei an Phenylketonurie erkrankten Personen synthetisiert (Wachtel 2005). Hier wird Phenylalanin entweder in Phenylbrenztraubensäure oder Phenylethylamin, Phenylacetaldehyd und Phenylelessigsäure (PAA) überführt. Ausserdem kann hier Phenylbrenztraubensäure in Phenylmilchsäure aber auch in o-Hydroxyphenylelessigsäure verstoffwechselt werden. In der Haliplidenpygidialdrüse konnten weder o-Hydroxyphenylelessigsäure, noch Phenylbrenztraubensäure oder Phenylacetaldehyd nachgewiesen werden. Auch im Heidehonig kann Phenylmilchsäure zusammen mit anderen Aromaten wie Phenylelessigsäure, Mandelsäure oder Benzoesäure nachgewiesen werden (Ohe & Ohe 1998).

Ausserdem produzieren Mikroorganismen wie *Lactobacillus plantarum* Phenylmilchsäure (Lavermicocca & al. 2003), welche eine starke fungizide Wirkung gegen zahlreiche Pilze und hier insbesondere Vertreter der Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Fusarium* entfaltet. Bei *Lactobacillus plantarum* kommen 3-Phenyl-L-Milchsäure und 3-Phenyl-D-Milchsäure im Verhältnis 9:1 vor (Ström & al. 2002).

Die ebenfalls in geringen Mengen nachgewiesene Benzoesäure (7) ist weit verbreitet bei Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen. Sie kann nach Goodwin (1976) beispielsweise aus Verbindungen wie Benzaldehyd (Bakterien), Benzoyl- $\beta$ -D-Glucuronsäure (Säuger), Hippursäure (Säuger), Hydroxybenzoesäuren (Pflanzen, Tiere, Pilze), Ornithursäure (Wirbeltiere), Protocatechusäure (Bakterien) oder Salicylsäure (Pflanzen) hergestellt werden.

Bereits von Young wurde auf das helle Farbmuster bei manchen Imagines der Halipliden hingewiesen, was als Warnfarbe interpretiert werden könnte (siehe Mousseau & Roughley 2007). Zwar ist bei manchen Dytisciden bekannt, dass allein bei Reizung der Tiere oder beim Einfrieren geringe Mengen des stark riechenden Inhalts der Pygidialdrüsen abgegeben werden. Dies ist bei mit Warnfarben versehenen Insekten durchaus zu erwarten. Aufgrund der geringen Körpergrösse der Halipliden dürfte es für den Menschen jedoch sehr schwierig sein, geringe Mengen des eventuell abgegebenen Drüsenmaterials geruchlich wahrnehmen zu können.

### **Phylogenetische Stellung der Haliplidengattungen innerhalb der Haliplidae**

Fundierte auf Larval- und Imaginalmerkmalen basierende Daten zur Phylogenie der Haliplidengattungen wurden von Beutel & Ruhnau (1990; Imaginalmerkmale), Beutel (1997, Larval- u. Imaginalmerkmale) präsentiert und von Roughley (2002) sowie van Vondel (2005) zusammengefasst. Demnach repräsentiert *Peltodytes* die Schwestergruppe der restlichen Gattungen, während die Fliesswassergattung *Brychius* die Schwestergruppe des Monophylum (*Algophilus* + *Aperaliplus* + Teilen der *Haliplus*untergattungen *Liaphlus* + *Paraliaphlus*) und der Gattung *Haliplus* (ohne Vertreter der UG. *Liaphlus* + *Paraliaphlus*) darstellt. Darüberhinaus ist dem obengenannten Monophylum auch ein Artenkomplex zuzuordnen, welcher die Gattung *Algophilus* sowie die äthiopischen Vertreter der *africanus*-Gruppe der UG. *Liaphlus* umfasst. Diese Daten zeigen, dass die Gattung *Haliplus* sowie die UG. *Liaphlus* jeweils nicht monophyletisch sind. Schliesslich dürfte die europäische Untergattung *Neohaliplus* ein Taxon repräsentieren, welches sich vom *Algophilus*-*Aperaliplus*-*Haliplus*-Komplex getrennt hat.

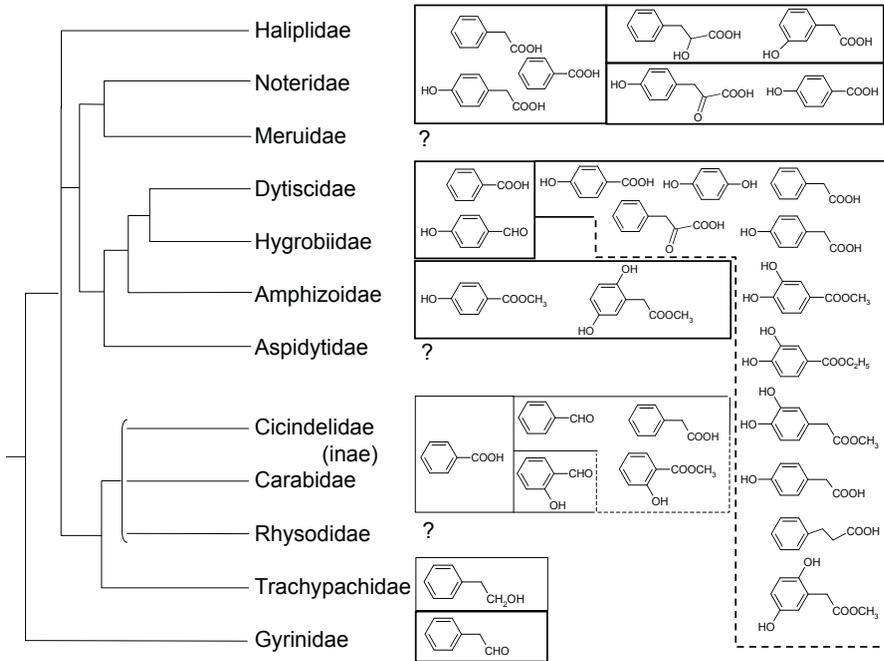
Eine weitere phylogenetische Studie befasst sich mit der Chromosomenstruktur diverser Haliplidengattungen (Powell & Angus 2006). Hier weist der Karyotyp der Gattung *Brychius* 19 Paar Autosomen und ein XO Geschlechtschromosomsystem (Plesiomorphie) auf und ähnelt somit den Carabidae. Auch der Karyotyp der Gattung *Peltodytes* war durch ein XO-Geschlechtschromosomsystem (Plesiomorphie) charakterisiert, erwies sich jedoch mit der enormen Entwicklung von Heterochromatin gleichzeitig als hochaberrant. Die restlichen Vertreter der Gattung *Haliplus* waren durch ein XY-System (Synapomorphie) gekennzeichnet.

Die bisher erfassten drüsenchemischen und insbesondere die drüsenmorphologischen Daten können den von Beutel & Ruhnau (1990), von Beutel (1997) und Beutel & al. (2006) für die Haliplidae erstellten Stammbaum voll unterstützen, denn in allen Fällen repräsentieren *Peltodytes* und *Brychius* Primitivgruppen und auch die UG. *Neohaliplus* (s. Beutel & al. 2006) lässt sich eindeutig von den anderen *Haliplus*-Untergattungen separieren. Die chemischen Merkmale lassen es nicht zu, die diversen Haliplidengattungen phylogenetisch zu gruppieren. Möglicherweise ist das Vorkommen von Phenylmilchsäure (Tab. 2, **Merkmal 5**) auf die Gattung *Haliplus* (untersuchte Untergattungen *Haliplus*, *Liaphlus*) beschränkt. Da bei der GC-Untersuchung von *Haliplus heydeni* (Tab. 1) noch keine Phenylmilchsäurereferenz zur Verfügung stand, kann über die Präsenz dieser Verbindung bei dieser Spezies keine definitive Aussage gemacht werden kann.

## **Phylogenetische Stellung der Haliplidae im Vergleich zu anderen Hydradephaga**

Während die für Haliplidae typischen  $\beta$ -Hydroxysäuren nur noch bei Vertretern der Laccophilinae (Dytiscidae; Schildknecht & al. 1983) auftauchen, finden sich, von  $\beta$ -Hydroxysäuren biogenetisch wahrscheinlich abgeleitete, 2-en-Carbonsäuren ausserdem noch bei *Platambus* (Dytiscidae; Dettner 1985) und bei den Carabidengattungen *Oodes* (Oodini) und *Moriosomus* (Morionini) (Will & al. 2000).

Auch die für Haliplidae so charakteristischen aromatischen Verbindungen sind bei fast allen Gruppen der Geadephaga und Hydradephaga vertreten (Abb. 6). Allerdings dominiert die Vielfalt aromatischer Pygidialdrüsen-substanzen speziell bei den Hydradephaga (Dettner 1985). Bei *Trachypachus gibbsii* (Trachypachidae s. Beutel & Arndt 2005; Attygalle & al. 2004) konnten neben 2-Phenylethanol dessen Ester mit Methacryl- und Ethacrylsäure identifiziert werden. Interessanterweise leitet sich dieser Alkohol biosynthetisch



**Abb. 6. Verwandtschaftsbeziehungen der adephagen Käfer unter besonderer Berücksichtigung der Hydradephaga (links; nach Beutel & al. 2006) sowie Vorkommen aromatischer Pygidialdrüsen-substanzen (Dettner 1985; Francke & Dettner 2005; Dettner & Luthardt unveröff.; vorl. Arbeit). Boxenumrandung unterbrochen: Substanzen kommen ausschliesslich vor bei den Dytiscidae (oben) bzw. Cicindelidae (unten). Fette Umrandung der Boxen: Die dargestellten aromatischen Drüsenkomponenten kommen bei allen untersuchten Taxa der jeweiligen Käferfamilie meist in grossen Mengen vor. Dünne Umrandung der Boxen: Die dargestellten aromatischen Verbindungen sind nur bei einzelnen Arten der entsprechenden Familie und oft nur in geringen Mengen nachweisbar. ?: Die Pygidialdrüsen der Meruidae, Aspidytidae und Rhyssodidae wurden bislang noch nicht chemisch untersucht.**

vor allem von Phenylacetaldehyd ab (Goodwin 1976). Auch bei den Cicindelidae (manchmal Cicindelinae, s. Arndt & al. 2005) wurden aus Pygidialdrüsen neben Benzaldehyd und Salicylsäuremethylester sogar Benzoe- und Phenyl-essigsäure identifiziert (s. Francke & Dettner 2005). Darüber hinaus enthalten die oben erwähnten Carabidengattungen *Oodes* und *Moriosomus* (nach Arndt & al. 2005: Harpalinae) Benzoesäure und Salicylaldehyd als aromatische Pygidialdrüsen-substanzen (Will & al. 2000). Schliesslich konnte auch bei den Sesquiterpene und 3-Methylbutanol-1 produzierenden Taumelkäfern (Gyrinidae) die Synthese von Phenylacetaldehyd in den Pygidialdrüsen nachgewiesen werden (Dettner & Luthardt, unveröff.), wobei bislang die prinzipielle Biosynthese des Aldehyds aus Phenylessigsäure, 2-Phenylethanol oder Phenylbrenztraubensäure aufgezeigt wurde (Goodwin 1976). Sowohl die Hygrobiidae als

auch Amphizoidae enthalten als Schwestergruppen der Dytiscidae aromatische Pygidialdrüsensubstanzen wie Benzoesäure und p-Hydroxybenzaldehyd (Hygrobiidae, s. Dettner 1997b, 2005b) oder p-Hydroxybenzoesäuremethylester und Homogentisinsäuremethylester (Amphizoidae s. Dettner 1990, 2005c).

Folglich gehören aus aromatischen Aminosäuren abgeleitete, antimikrobiell wirksame Aromaten zum Grundbauplan der Adephega, allerdings werden bei den Geadephaga eher aliphatische Drüsensubstanzen zum Einsatz gebracht und Aromaten tauchen in geringen Mengen nur bei einzelnen Spezies zusammen mit Aliphaten auf. Hingegen sind sämtliche Spezies der Hydradephaga durch eine breite Palette aromatischer Pygidialdrüsensubstanzen als Hauptkomponenten gekennzeichnet (Dettner 1985).

Die Pygidialdrüsenchemie der Haliplidae ähnelt stark den Dytiscidae und Noteridae (Abb. 6) und ist typisch für Vertreter der Hydradephaga. Sie scheint sich allerdings wenig dafür zu eignen, die phylogenetische Stellung dieser Familie im Vergleich zu anderen Ge- und Hydradephaga zu ermitteln. Exklusiv bei Halipliden und zwar bei den untersuchten abgeleiteten Taxa, den Vertretern der Gattung *Haliplus* findet sich Phenylmilchsäure (Tab. 2, **Merkmal 5**), welche nach Goodwin (1976) bei Bakterien und Pflanzen aus Phenylbrenztraubensäure gebildet wird. Auch die m-Hydroxyphenyllessigsäure (**6**) gehört zu solch erratisch verbreiteten Naturstoffen (**Merkmal 5**), allerdings konnte deren Präsenz nicht in allen untersuchten Taxa überprüft werden.

Es wäre wünschenswert, wenn zukünftig chemische und morphologische Pygidialdrüsenmerkmale auch für andere Taxa, wie z. B. *Apteraliplus*, *Algophilus* (Haliplidae) oder vor allem Vertreter der Meruidae, Aspitytidae, Gyridae oder Rhysodidae erfasst würden. Weiterhin sollte mittels molekularer Datensätze versucht werden, etwas mehr über die Phylogenie innerhalb der Haliplidae bzw. zwischen Haliplidae und anderen, wenig erforschten Ge- und Hydradephaga in Erfahrung zu bringen.

## Dank

Für ihre Mithilfe bei der Erstellung der Abbildungen und des Manuskriptes danken wir ganz herzlich Frau Elisabeth Helldörfer (Bayreuth), Frau Andrea Liehr (Bayreuth), Frau Elke Rummel (Bayreuth) und Frau Silke Wagner (Bayreuth). Für die Verbesserung des Manuskriptes danken wir weiterhin einem unbekanntem Reviewer sowie Herrn Dr. Christian Kropf (Bern).

## Literatur

- Arndt, E., Beutel, R.G., & Kipling, W. (2005): Carabidae. — In: Beutel, R.G. & Leschen, R.A.B. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie Band IV Arthropoda: Insecta, Teilband 38: Coleoptera, Beetles, Vol. 1, pp. 119–146, De Gruyter, Berlin.
- Attygalle, A.B., Wu, X., Rzicka, J., Rao, S., Garcia, S., Herath, K., Meinwald, J., Maddisson, D. & Will, K. W. (2004): Defensive chemicals of two species of *Trachypachus* MOTSCHULSKI. — Journal of Chemical Ecology 30: 577–588.
- Balke, M., Ribera, I. & Beutel, R.G. (2005): The systematic position of Aspidytidae, the diversification of Dytiscoidea (Coleoptera, Adephaga) and the phylogenetic signal of third codon positions. — Journal of Zoological Systematics 43: 223–242.
- Beutel, R.G. (1997): Über Phylogenese und Evolution der Coleoptera (Insecta), insbesondere der Adephaga. — Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg (NF) 31: 1–164.
- Beutel, R.G. & Arndt, E. (2005): Trachypachidae. — In: Beutel, R.G. & Leschen, R.A.B. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie Band IV Arthropoda: Insecta, Teilband 38: Coleoptera, Beetles, Vol. 1, pp. 115–119, De Gruyter, Berlin.
- Beutel, R.G. & Leschen, R.A.B. (Hrsg.) (2005): Teilband 38: Coleoptera, Beetles, Vol. 1. — In: Kristensen, N.P. & Beutel, R.G. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie Band IV Arthropoda: Insecta, De Gruyter, Berlin.
- Beutel, R.G. & Ruhнау, S. (1990): Phylogenetic Analysis of the Genera of Haliplidae (Coleoptera) based on characters of adults. — Aquatic Insects 12: 1–17.
- Beutel, R.G., Balke, M. & Steiner Jr., W.E. (2006): The systematic position of Meruidae (Coleoptera, Adephaga) and the phylogeny of the smaller aquatic adephagan beetle families. — Cladistics 22: 102–131.
- Bishop, D.G. & Still, J.L. (1962): Fatty acid metabolism in *Serratia marcescens* II. The occurrence of hydroxy acids. — Biochemical and Biophysical Research Communications 7: 337–341.
- Brancucci, M. (1977): Die Dytisciden und die Oberflächenspannung des Wassers. — Deutsche Entomologische Zeitschrift (NF) 24: 423–424.
- Chou, C.H., Fu, C.Y., Li, S.Y. & Wang, Y.F. (1998): Allelopathic potential of *Acacia confusa* and related species in Taiwan. — Journal of Chemical Ecology 24: 2131–2150.
- Davis, B.A., Durden, D.A. & Boulton, A.A. (1982): Plasma concentrations of p- and m-hydroxyphenylacetic acid and phenylacetic acid in humans: gas chromatographic – high – resolution mass spectrometric analysis. — Journal of Chromatography 230: 219–230.
- Dettner, K. (1985): Ecological and Phylogentic Significance of Defensive Compounds from Pygidial Glands of Hydradephaga (Coleoptera). — Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 137: 156–171.
- Dettner, K. (1987): Chemosystematics and evolution of beetle chemical defenses. — Annual Review of Entomology 32: 17–48.
- Dettner, K. (1990): Chemische Abwehr bei der ursprünglichen Käferfamilie der Amphizoidae – ein Beitrag zur Evolution der Pygidialdrüse der Hydradephaga. — Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Allgemeine und angewandte Entomologie 7: 519–526.
- Dettner, K. (1997a): Noteridae — In: Schwoerbel, E. & Zwick, P. (Hrsg.), Brauer Süßwasserfauna Europas, pp. 97–126, Gustav Fischer, Stuttgart.

- Dettner, K. (1997b): Hygrobiidae. — In: Schwoerbel, E. & Zwick, P. (Hrsg.), Brauer Süßwasserfauna Europas, pp. 127–147, Gustav Fischer, Stuttgart.
- Dettner, K. (2005a): Noteridae. — In: Beutel, R.G. & Leschen, R.A.B. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie Band IV Arthropoda: Insecta, Teilband 38: Coleoptera, Beetles, Vol. 1, pp. 72–81, De Gruyter, Berlin.
- Dettner, K. (2005b): Hygrobiidae. — In: Beutel, R.G. & Leschen, R.A.B. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie Band IV Arthropoda: Insecta, Teilband 38: Coleoptera, Beetles, Vol. 1, pp. 85–90, De Gruyter, Berlin.
- Dettner, K. (2005c): Amphizoidae. — In: Beutel, R.G. & Leschen, R.A.B. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie Band IV Arthropoda: Insecta, Teilband 38: Coleoptera, Beetles, Vol. 1, pp. 81–85, De Gruyter, Berlin.
- Dettner, K. (2005d): Prof. Dr. Konrad Thaler 1940–2005. — DGaE-Nachrichten 19: 165–167.
- Dettner, K. & Schwinger, G. (1977): Hohe 3-Indolyllessigsäure- und Phenyllessigsäure-Konzentrationen in den Pygidialdrüsen von Wasserkäfern (Dytiscidae). — Zeitschrift für Naturforschung 32c: 453–455.
- Forsyth, D.J. (1968): The structure of the defence glands in the Dytiscidae, Noteridae, Halplidae and Gyrinidae (Coleoptera). — Transactions of the Royal Entomological Society. London 120: 159–181.
- Forsyth, D.J. (1970): The structure of the defence glands of the Cicindelidae, Amphizoidae, and Hygrobiidae (Insecta: Coleoptera). — Journal of Zoology, London 160: 51–69.
- Forsyth, D.J. (1972): The structure of the pygidial defence glands of Carabidae (Coleoptera). — Transactions of the Zoological Society of London 32: 249–309.
- Francke, W. & Dettner, K. (2005): Chemical signalling in beetles. — in: Schulz, S. (Ed.), The Chemistry of Pheromones and other Semiochemicals I, pp. 85–166, Topics in Current Chemistry, vol. 240, Springer Heidelberg.
- Goodwin, B.L. (1976): Handbook of intermediary metabolism of aromatic compounds. — Chapman, London.
- Hiraishi, A., Shin, Y.K., Sugiyama, J. & Komagata, K. (1992): Isoprenoid quinones and fatty acids of *Zoogloea*. — Antonie Van Leeuwenhoek 61: 231–236.
- Holmen, M. (1987): The aquatic Adephaga (Coleoptera) of Fennoscandia and Denmark I. Gyrinidae, Halplidae, Hygrobiidae and Noteridae. — Fauna Entomologica Scandinavica 20: 1–168.
- Iizuka, T.; Iwadare, T. & Orito, K. (1979): Antibacterial activity of myrmicacin and related compounds on pathogenic bacteria in silkworm larvae, *Streptococcus faecalis* AD-4. — Journal of the Faculty of Agriculture Hokkaido University 59: 262–266.
- Iwanati, Y. & Iwadare, T. (1978): Inhibiting effects of myrmicacin on pollen growth and pollen tube mitosis. — Botanische Gazette (Chicago) 139: 42–45.
- Iwanati, Y. & Iwadare, T. (1979): Myrmic acids: a group of new inhibitors analogous to myrmicacin ( $\beta$ -hydroxydecanoic acid). — Botanische Gazette (Chicago) 140: 1–4.
- Jakob, J. (1977): Bürzeldrüsenlipide. — Fortschritte in der Chemie organischer Naturstoffe 34: 374–431.
- Kaneshiro, T. & Marr, A.G. (1963): Hydroxy fatty acids of *Azobacter agilis*. — Biochimica et Biophysica Acta 70: 217–277.
- Kovac, D. & Maschwitz, U. (1990): Secretion-grooming in aquatic beetles (Hydradeephaga): a chemical protection against contamination of the hydrofuge respiratory region. — Chemoecology 1: 131–138.

- Lavermicocca, P., Valerio, F. & Visconti, A. (2003): Antifungal activity of phenyllactic acid against molds isolated from bakery products. — *Applied and Environmental Microbiology* 69: 634–640.
- Martinetz, D. & Hartwig, R. (1998): Taschenlexikon der Riechstoffe. — 416 pp., H. Deutsch, Thun.
- Maschwitz, U., Koob, K. & Schildknecht, H. (1970): Ein Beitrag zur Funktion der Metathoracaldrüse der Ameisen. — *Journal of Insect Physiology* 16: 387–404.
- Matsuyama, S. & Sasagawa, H. (2004): A biosynthetic study on 3-hydroxyoctanoic acid in worker *Apis cerana japonica*. — Abstracts ESA Annual Meeting 2004.
- Mousseau, T. & Roughley, R.E. (2007): Taxonomy, Classification, Reconstructed Phylogeny and Biogeography of Nearctic Species of *Brychius* THOMSON (Coleoptera: Haliplidae). — *The Coleopterists Bulletin* 61: 351–397.
- Ohe, W. von der & Ohe, K. von der (1998): Heidehonig. Das Bieneninstitut Celle informiert (10). — *Niedersächsisches Landesinstitut für Bienenkunde* 1998: 1–3.
- Osberghaus, R., Krauch, C.H., Kolazinski, G. & Koppensteiner, G. (1974): Antimicrobial  $\beta$ -hydroxyalkanoic acids. — (Henkel und CIE, G.m.b.H.) *Ger. Offen.* 2, 312, 280 (Cl. A 61e, C 07c).
- Parks, O.W. (1977): Isolation and characterization of nonesterified 3-hydroxy acids in milk. — *Journal of Dairy Science* 60: 718–720.
- Pfordt, J. & Spittler, G. (1980): Carboxylic acids in human blood. — *Liebigs Annalen der Chemie* 22: 175–184.
- Powell, J.E. & Angus, R.B. (2006): A chromosomal investigation of some European species of Haliplidae (Coleoptera). — *Memorie della Societa Entomologica Italiana* 85: 173–185.
- Ribera, I., Hogan, J.E. & Vogler, A.P. (2002): Phylogeny of Hydradephagan Water Beetles Inferred from 18S rRNA Sequences. — *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 43–62.
- Roughley, R.E. (2002): 8. Haliplidae — in: Arnett, R.H., *The beetles of the United States*, 2. Edition, pp. 138–143, CRC, Boca Raton.
- Schildknecht, H. (1971): Evolutions-Spitzen in der Insekten-Wehrchemie. — *Endeavour* 30: 136–141.
- Schildknecht, H. & Bühner, R. (1968): Über ein Glykoprotein in den Pygidialwehrblasen des Gelbrandkäfers. — *Zeitschrift für Naturforschung* 23b: 1209–1213.
- Schildknecht, H., Weber, B. & Dettner, K. (1983): Über Arthropodenabwehrstoffe, LXV Die Chemische Ökologie des Grundschwimmers *Laccophilus minutus*. — *Zeitschrift für Naturforschung* 38b: 1078–1085.
- Sjögren, J., Magnusson, J., Broberg, A., Schnürer, J. & Kenne, L. (2003): Antifungal 3-Hydroxy Fatty Acids from *Lactobacillus plantarum* MiLAB 14. — *Applied and Environmental Microbiology* 69: 7554–7557.
- Somers, E., Ptacek, D., Gysegom, P., Srinivasan, M. & Vanderleyden, J. (2005): *Azospirillum brasilense* produces the auxin-like phenylacetic acid by using the key enzyme for indole-3-acetic acid biosynthesis. — *Applied and Environmental Microbiology* 71: 1803–1810.
- Spangler, P.J. & Steiner Jr., W.E. (2005): A new aquatic beetle family, Meruidae, from Venezuela (Coleoptera: Adephaga). — *Systematic Entomology* 10: 1365–3113.
- Ström, K., Sjögren, J., Broberg, A. & Schnürer, J. (2002): *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo(L-Phe-L-Pro) and cyclo(L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. — *Applied and Environmental Microbiology* 2002: 4322–4327.

Van Vondel, B.J. (1997): Insecta: Coleoptera: Haliplidae, — In: Schwoerbel, E. & Zwick, P. (Hrsg.), Brauer Süßwasserfauna Europas, 20/2, 3, 4. pp. 1–95, Gustav Fischer, Stuttgart.

Van Vondel, B.J. (2005): 7.2. Haliplidae Aubé, 1836 — In: Beutel, R.G. & Leschen, R.A.B. (Hrsg.), Handbuch der Zoologie Band IV Arthropoda: Insecta, Teilband 38: Coleoptera, Beetles, Vol. 1, pp. 64–72, De Gruyter, Berlin.

Wachtel, U. (2005): Phenylketonurie – eine Stoffwechselstörung und ihre Auswirkung auf die Kinderheilkunde. — Pädiatrie hautnah 7–11.

Will, K.W., Attygalle, A.B. & Herath, K. (2000): New defensive chemical data for ground beetles (Coleoptera: Carabidae): Interpretations in a phylogenetic framework. — Biological Journal of the Linnean Society 71: 459–481.

## **Adressen der Autoren:**

Prof. Dr. Konrad Dettner, Marion Böhner  
Universität Bayreuth, Lehrstuhl für Tierökologie II  
D–95440 Bayreuth, Deutschland

E-mail: [k.dettner@uni-bayreuth.de](mailto:k.dettner@uni-bayreuth.de)