

BEITRÄGE ZUR ÖKOLOGISCHEN CHEMIE XXXIV¹⁾

ISOLIERUNG VON OBERFLÄCHENSUBSTANZEN AUS VICIA FABA L. IM RAHMEN
VON UNTERSUCHUNGEN ZUR INSEKT-WIRTS-PFLANZEN-BEZIEHUNG

K. Nöcker-Wenzel, W. Klein und F. Klingauf

Institut für ökologische Chemie
der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH, München
5205 St. Augustin 1

Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn
53 Bonn, Nussallee 9

(Received in Germany 5 October 1971; received in UK for publication 15 October 1971)

Nur wenige phytophage Insekten können unterschiedlichste Pflanzen aus zahlreichen Familien befallen; in der Regel ist der Kreis der Nahrungspflanzen eines Schädlings eng begrenzt. Neben Farbe, Form und anderen Eigenschaften einer Pflanze beeinflussen insbesondere ihre chemischen Charakteristika das Präferenzverhalten von Insekten.

An Attraktivstoffen sind für Blattläuse bisher lediglich zwei Glykoside und ein Alkaloid bekannt, die jeweils als weitgehend wirtspflanzenspezifisch angesehen werden:

Sinigrin für die Kohllaus, Brevicoryne brassicae (L.)²⁾;

Sparteïn für die Besenginsterlaus, Acyrtosiphon spartei (Koch)³⁾;

Phlorizin für die Apfelblattläuse, Aphis pomi DeGeer und Rhopalosiphum insertum (Walk.)⁴⁾.

Unsere Untersuchungen richteten sich in erster Linie auf die Isolierung, Strukturaufklärung und quantitative Analyse peripher vorliegender Pflanzenstoffe und deren biologische Wirkung. Eine ausführliche Zusammenfassung der bisherigen Arbeiten über die Pflanzenkutikula geben Martin und Juniper (1970)⁵⁾. Hier finden sich auch Hinweise auf ihren Einfluß beim Befall von Pflanzen

durch Krankheiten und Schädlinge.

Als Parasit-Wirt-Paar wurde die auf krautige Leguminosen spezialisierte Grüne Erbsenlaus, Acyrtosiphon pisum (Harris) und die Dicke Bohne, Vicia faba L., ausgewählt. Zunächst mußten die Pflanzenextraktionsmethoden entwickelt werden, mit denen man im wesentlichen nur solche Stoffe erfaßt, die der Blattlaus bei der äußeren Prüfung der Pflanze begegnen. Daher wurde auf die sonst übliche Homogenisierung des Pflanzenmaterials vor der Extraktion verzichtet. Als schonendste Methode wurde die Adsorption von Aerosolen angewandt. Bei diesem Verfahren wurde jeweils eine halbe Stunde lang wassergesättigte Luft über abgeschnittene Bohnenpflanzen geleitet und die mitgeführten Substanzen in einer Waschflasche mit Chloroform adsorbiert (Extrakt L). Eine intensivere Extraktion erfolgte mit Wasser (Extrakt W). Die abgeschnittenen Pflanzen wurden ca. 10 sec in Wasser geschwenkt und die wässrige Phase mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Die Extraktion mit Petroläther (Extrakt P) erbrachte die höchsten Ausbeuten an Extrakt, gewährleistet jedoch von den drei benutzten Methoden am wenigsten, daß keine Substanzen aus dem Zellmaterial mitextrahiert werden. Wie beim Wasserextrakt wurden die Pflanzen ca. 10 sec in Petroläther geschwenkt. Die Extrakte wurden jeweils zur Trockne eingedampft.

Die Ausbeuten der verschiedenen Extraktionsverfahren waren naturgemäß sehr unterschiedlich. An Aerosolen wurden aus 1 kg frischer Pflanzen chromatographisch nachweisbare, aber nicht wägbare Mengen erhalten. Durch Wasserextraktion konnten je Kilogramm frischen Pflanzenmaterials 1-5 mg Extrakt gewonnen werden.

Ein gaschromatographischer Vergleich der Extrakte ergab folgendes Bild: Der Petrolätherextrakt bestand im wesentlichen aus 9 Komponenten unterschiedlicher Konzentration: 1(0,677), 2(0,725), 3(0,760), 4(0,805), 5(0,848), 6(0,888), 7(0,944), 8(1,000) und 9(1,075). Die Angaben in Klammern sind relative Retentionswerte bezogen auf die Komponente 8.

Eine andere Zusammensetzung zeigte der Wasserextrakt. Während auch hier im Retentionsbereich 0,67 - 0,94 des Petrolätherextrakts kleinere Peaks zu finden waren, ergab die Gaschromatographie zwei neue Peaks mit sehr kurzer Retentionszeit, 10 (0,168) und 11 (0,187).

Der Extrakt L enthält die gleichen Substanzen wie der Petrolätherextrakt - jedoch in annähernd einheitlicher Konzentration. Wegen der geringen Ausbeuten wurden die Extrakte L und W nur zu chromatographischen Vergleichszwecken gebraucht. Zur Isolierung von Substanzen wurde nur der Petrolätherextrakt verwendet.

Der Extrakt P wurde an Kieselgel mit den Laufmitteln Petroläther, Petroläther/Chloroform und Benzol säulenchromatographisch aufgetrennt. Dabei konnten bisher drei dünnenschichtchromatographisch einheitliche Fraktionen isoliert werden - I, II und III -, wovon I auch im Extrakt L nachgewiesen werden konnte.

Die nachfolgende spektroskopische Analyse ergab, daß es sich in allen drei Fällen um Homologengemische handelte:

I. IR: 2960, 2925, 2850, 1470, 1460 cm^{-1}

NMR: $> 8,5 \tau$

MS: m^+ : 380, 408, 436, 464. Alkylfragmente.

I ist ein Gemisch von $n\text{-C}_{27}\text{H}_{56}$, $n\text{-C}_{29}\text{H}_{60}$, $n\text{-C}_{31}\text{H}_{64}$, $n\text{-C}_{32}\text{H}_{66}$ und $n\text{-C}_{33}\text{H}_{68}$. Die Homologen $n\text{-C}_{28}\text{H}_{58}$, $n\text{-C}_{30}\text{H}_{62}$ sowie Kohlenwasserstoffe mit $C < 27$ liegen offensichtlich nur in Spuren vor.

II. IR: 2945, 2900, 2840, 1730, 1450, 1235 cm^{-1}

NMR: $> 8,5 \tau$, 8τ (s), 6τ (m)

MS: m^+ : 340, 368, 396, 424, 280, 308, 336, 364; 116. Alkylfragmente.

II ist ein Gemisch der Essigsäureester mit den Alkoholresten $n\text{-C}_{20}\text{H}_{41}\text{O}^-$, $n\text{-C}_{22}\text{H}_{45}\text{O}^-$, $n\text{-C}_{24}\text{H}_{49}\text{O}^-$ und $n\text{-C}_{26}\text{H}_{53}\text{O}^-$. Die Hauptkomponente ist nach dem Massenspektrum der Essigsäure-n-tetracosylester.

III. IR: 2930, 2860, 1465, 1355 cm^{-1}

NMR: $> 8,45 \tau$, $6,3-6,5 \tau$ (m)

MS: $m-18$: 252, 280, 308, 336, 364, 392. Alkylfragmente.

III ist ein Gemisch der Alkohole $n\text{-C}_{18}\text{H}_{37}\text{OH}$, $n\text{-C}_{20}\text{H}_{41}\text{OH}$, $n\text{-C}_{22}\text{H}_{45}\text{OH}$, $n\text{-C}_{24}\text{H}_{49}\text{OH}$, $n\text{-C}_{26}\text{H}_{53}\text{OH}$ und $n\text{-C}_{28}\text{H}_{57}\text{OH}$. Die Hauptkomponente ist das n-Tetracosanol.

Eine gaschromatographische Analyse der Fraktion I zeigte, daß es sich bei den Peaks 1, 3, 5, 7, 8 und 9 um Kohlenwasserstoffe handelt. Durch Vergleich mit n-Paraffinen konnte folgende Zuordnung bestätigt werden:

1: n-C₂₅H₅₂; 3: n-C₂₇H₅₆; 5: n-C₂₉H₆₀; 7: n-C₃₁H₆₄; 8: n-C₃₂H₆₆; 9: n-C₃₃H₆₈.

Nach gaschromatographischer Analyse treten diese Kohlenwasserstoffe auch im Extrakt L auf. Da dieser als Modell für Freilandbedingungen angesehen werden kann, muß man annehmen, daß auch hochmolekulare Kohlenwasserstoffe unter natürlichen Umweltbedingungen von Pflanzen in die Atmosphäre abgegeben werden.

Die Gesamtextrakte sowie die isolierten Homologengemische wurden auf ihre biologische Wirkung untersucht. Zum Vergleich wurden ein Petrolätherextrakt von Raps (einer Nichtwirtspflanze), die n-Paraffine C₂₃H₄₈, C₂₈H₅₈ und C₃₂H₆₆ sowie als Kontrolle Wasser getestet⁶⁾. Hierbei zeigten sich signifikante Attraktivwirkungen bei dem Extrakt L, der Fraktion I sowie dem n-Paraffin C₃₂H₆₆.

Obwohl die das Blatt bedeckenden Wachsschichten oft große Ähnlichkeiten aufweisen, kann wegen der teilweise recht spezifischen Reaktion der verwendeten Blattläuse auf einzelne Komponenten angenommen werden, daß auch geringe Unterschiede in der Zusammensetzung der Wachsüberzüge einen Einfluß auf die Wirtswahl haben⁶⁾.

LITERATURVERZEICHNIS

1. XXXIII. Mitteilung

I. Kerner, W. Klein, F. Korte: Photochemische Reaktionen von 1,1-Dichlor-2(p,p'-dichlorphenyl)äthylen (DDE) im Druck

2. R.J.D. Wensler (1962) Nature 195, 830

3. B.D. Smith (1966) Nature 212, 213

4. F. Klingauf (1971) Z. ang. Entomologie 68, 41

5. J.T. Martin und B.E. Juniper (1970) Edward Arnold London

6. F. Klingauf, K. Nöcker-Wenzel und W. Klein (1971) Z. Pflanzenkrankh. u. Pflschutz (im Druck)