

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2017.06.003

## 蜀柏毒蛾性信息素及其林间诱集效果初步研究

周建华<sup>1</sup>, 韦 卫<sup>2</sup>, 赵莉茵<sup>2</sup>, 肖银波<sup>1</sup>, 范成治<sup>1</sup>, 贾玉珍<sup>1</sup>, 马 娟<sup>3</sup>

(1. 四川省林业科学研究院, 成都 610081; 2. 中国科学院动物研究所, 农业虫鼠害  
综合治理国家重点实验室, 北京 100080; 3. 阆中市林业局, 阆中 637400)

**摘 要:** 采取正己烷溶剂浸提法提取蜀柏毒蛾处女雌蛾性信息素腺体中的性信息素, 运用气相色谱-触角电位联用仪(Gas Chromatography-electroantennographic Detection, GC-EAD) 测定蜀柏毒蛾雄蛾触角对雌蛾性信息素腺体提取物中性信息素成分的活性反应, 并运用气相色谱-质谱联用仪(Gas Chromatograph-Mass Spectrum, GC-MS) 鉴定其活性反应成分。GC-EAD 结果显示雄蛾触角对雌蛾性信息素腺体提取物中的 2 种成分有较好的反应。GC-MS 分析结果表明能引起雄蛾触角电生理反应的成分为顺-9-十八碳烯醛和顺-9-十八碳烯醇。林间试验表明, 顺-9-十八碳烯醛和顺-9-十八碳烯醇诱芯对蜀柏毒蛾有相近的诱集效果, 表明顺-9-十八碳烯醛和顺-9-十八碳烯醇是蜀柏毒蛾性信息素主要成份。通过对复合组分配方顺-9-十八碳烯醛: 顺-9-十八碳烯醇 = 1: 9 (200 μg)、顺-9-十八碳烯醛: 顺-9-十八碳烯醇 = 9: 1 (200 μg) 和单组分配方顺-9-十八碳烯醛 (200 μg)、顺-9-十八碳烯醇 ((200 μg) 4 种配方诱芯林间诱集效果试验, 结果 4 种配方均具有一定的诱集效果, 但复合组分诱集效果比单组分诱集效果好。

**关键词:** 蜀柏毒蛾; 性信息素; 成分鉴定; 林间诱集

中图分类号: S763.3 文献标识码: A 文章编号: 1003-5508(2017)06-0009-04

## A Preliminary Study of the Identification of Components of Sex Pheromone from *Parocneria orientalis* Chao and its Trapping Effects in the Field

ZHOU Jian-hua<sup>1</sup> WEI Wei<sup>2</sup> ZHAO Li-lin<sup>2</sup> XIAO Yin-bo<sup>1</sup>  
FAN Cheng-zhi<sup>1</sup> JIA Yu-zhen<sup>1</sup> MA Juan<sup>3</sup>

(1. Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081, China;

2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents,  
Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;

3. Langzhong Forestry Bureau, Langzhong 637400, China)

**Abstract:** The sex pheromone was extracted from sex pheromone glands of virgin female moths of *P. orientalis* by n-hexane. The sensitive reaction of male moths antenna to the crude sex pheromone was detected by GC-EAD and the components of the sex gland extracts that consistently elicited antennal responses were identified by GC-MS. The results indicated that male moths antenna had sensitive reaction to two components of the extracts, which were Z-9-Octadecenal and Z-9-Octadecenol. In field trials, traps baited with either Z-9-Octadecenal or Z-9-Octadecenol alone caught a similar amount of male moths, which meant that Z-9-Octadecenal and Z-9-Octadecenol were the main components of the sex pheromone of *Parocneria orientalis*. The combination of Z-9-Octadecenal and Z-9-Octadecenol in 1:9 or 9:1 ratio caught more males than single component traps.

收稿日期: 2017-10-10

基金项目: 林业公益性行业科研专项(201004003)项目资助。

作者简介: 周建华(1964-), 男, 四川彭州人, 研究员, 研究方向为森林病虫害。E-mail: 760686496@qq.com。

**Key words:** *Parocneria orientata*, Sex pheromone, Component identification, Trapping

蜀柏毒蛾 (*Parocneria orientata* Chao) 是四川省第一大林业有害生物, 每年发生面积达 33 万  $\text{hm}^2$ , 给林业生产造成巨大损失<sup>[1]</sup>。目前, 该害虫的监测主要采用林间样线和样地的人工调查。由于该害虫空间分布的特殊性, 加之人工调查受时间和人力限制, 造成林间调查的准确性和时效性较差<sup>[2]</sup>。

采用昆虫性信息素对目标害虫进行监测预警, 已在国内外得到广泛研究与应用<sup>[3]</sup>。目前对蜀柏毒蛾的研究主要在其生物学、生态学特性和化学生物防治技术方面, 对其性信息素成分及其林间应用的研究还未见有文献报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试虫源

实验所用蜀柏毒蛾采自于德阳市旌阳区新中集镇。2010年5月上旬在当地柏树林树冠上采蛹, 将蛹单独存放于装有湿土的玻璃管(高8 cm, 内径2.3 cm)内, 用纱布封口。将玻璃瓶带回室内逐日检查羽化情况, 室内温度  $28 \pm 3^\circ\text{C}$ , 相对湿度  $60\% \pm 5\%$ 。待蛹羽化分雌雄后, 雌雄分别置于养虫笼(长40 cm, 宽40 cm, 高50 cm)中, 用8 cm直径的培养皿供10%的蜂蜜水, 并给予自然光周期, 雄蛾待用于GC-EAD分析, 处女雌蛾待用作提取性信息素。

#### 1.1.2 主要仪器

美国 Agilent Technologies 公司 HP6890N/5973N 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS); 美国 Agilent Technologies 7890A 气相色谱仪-荷兰 Syntech 触角电位联用仪(GC-EAD)。

### 1.2 雌蛾性信息素粗提物提取时间

将装有羽化的蜀柏毒蛾处女雌蛾的养虫笼放置实验室, 经观察雌蛾在羽化后第1天凌晨进入求偶期, 通过羽化1 d~3 d的观察, 每天5 h~8 h为求偶高峰, 此时雌蛾性信息素腺体部分外伸, 周围雄蛾振翅欲飞相当活跃, 与报道的蜀柏毒蛾处女雌蛾的性信息素产生和释放节律相近<sup>[4]</sup>, 此时为雌蛾性信息素提取最佳时间。

### 1.3 雌蛾性信息素粗提物的提取

实验采取溶剂浸提法, 所用溶剂为质谱分析纯正己烷。羽化后第2天~第3天5:00至7:50时间段共采集处于求偶期的处女雌蛾36头, 待其性信息

素腺体外伸时用手轻轻挤压雌蛾腹部, 迫使其完全伸出性信息素腺体, 用手术剪剪下腺体, 将腺体放入预先装有1.5 mL质谱分析纯正己烷的样品瓶(内径0.5 cm, 高3.2 cm)内, 室温下静止浸提30 min后将腺体取出。36头雌蛾性信息素腺体浸提结束后, 将浸提液用无水硫酸钠干燥过滤, 然后用氮气浓缩至0.036 mL, 用瓶塞密封后置入冰箱中低温( $-6^\circ\text{C}$ )保存备用。

### 1.4 雌蛾性信息素提取物的GC-EAD分析

将羽化后第2 d~第3 d的蜀柏毒蛾雄蛾触角用解剖剪剪下, 将触角顶端剪除约0.5 mm, 处理后触角长度约6 mm, 用导电硅胶将触角与EAG探头(PRG-2)叉状触角固定器的两个银电极联接, 然后将电极插入EAG探头中。分离毛细柱为DB-5MS(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ , J&W Scientice, Folsom, CA), 出口端接分流器(OSS-2, SGE, 澳大利亚), 分流比1:2, 分流的化合物一部分导入FID氢火焰离子检测器, 另一部分经过加热套吹向触角, 用GC-EAD软件(Syntech, The Netherlands)同步记录气相色谱和触角电位图。

气相色谱检测器为FID氢火焰离子检测器, 载气为氮气, 无分流进样, 进样量2  $\mu\text{L}$ 。升温程序为: 起始温度 $50^\circ\text{C}$ , 保持2 min, 以 $5^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 $280^\circ\text{C}$ , 保持2 min, 最后以 $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 $320^\circ\text{C}$ , 保持5 min。进样口温度 $220^\circ\text{C}$ , 检测器温度 $280^\circ\text{C}$ 。记录到的信号经放大器(UN-06, Syntech)连接到IDAC转换器(Auto Spike, IDAC2/3, Syntech), 再接到计算机的硬件采集卡上, 通过计算机软件(EAD版本2.3, Syntech)采集和分析数据。至少记录到8头蜀柏毒蛾雄蛾触角在同一保留时间对处女雌蛾性信息素腺体提取物的反应。

### 1.5 雌蛾性信息素成分的GC-MS分析

蜀柏毒蛾处女雌蛾性信息素腺体提取物(36个雌虫当量, 36FE)的组分鉴定在Agilent 6890N-5973N GC/MS上进行, 色谱柱为DB-5MS毛细管柱(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu\text{m}$ , J&W Scientice, Folsom, CA), 进样量2  $\mu\text{L}$ , 无分流进样。升温程序为起始温度 $50^\circ\text{C}$ , 保持2 min, 以 $5^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 $280^\circ\text{C}$ , 保持2 min, 最后以 $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 $320^\circ\text{C}$ 。电离方式EI, 电离能量为70 eV, 离子源发生器温度为 $250^\circ\text{C}$ , 质量扫描范围为

30 amu ~ 500 amu。活性成分的鉴定是通过 GC-MS 总离子流色谱图与 GC-EAD 图谱比较之后,根据联机的 Nist02 数据库检索并结合质谱图中分子离子峰和碎片离子峰来定性。

## 1.6 性信息素诱芯诱集试验

### 1.6.1 性信息素诱芯的配制

顺-9-十八碳烯醛(中国科学院动物所提供)、顺-9-十八碳烯醇(中国科学院动物所提供)分别按以下4种比例:顺-9-十八碳烯醛:顺-9-十八碳烯醇 = 1:9(200 $\mu$ g)、顺-9-十八碳烯醛:顺-9-十八碳烯醇 = 9:1(200 $\mu$ g)、顺-9-十八碳烯醛(200 $\mu$ g)和顺-9-十八碳烯醇(200 $\mu$ g),分别加入 100 ml 分析纯石油醚为溶剂配制成的4种配方溶液,利用硅橡胶塞诱芯(昆虫性信息素诱芯专用型)作为性信息素成份载体,将上述4种配方溶液,用注射器将溶液注入橡胶塞的凹处,每个橡胶塞注入量 2 ml,待溶剂挥发后,即配制成了4种蜀柏毒蛾性信息素诱芯密封低温保存备用。

### 1.6.2 性信息素诱芯林间诱集试验

用塑料瓦棱板制成三棱柱形诱捕器,诱捕器截面 19 cm  $\times$  19 cm  $\times$  21 cm,棱长 25 cm,将一涂有粘虫胶的蜡纸板 21 cm  $\times$  25 cm 插入诱捕器内使其位于底部,用大头针将诱芯钉在胶版中央。

5月,在蜀柏毒蛾羽化期,在德阳市旌阳区新中基镇选择蜀柏毒蛾发生危害重实验林 13.33 hm<sup>2</sup> 左

右,进行低温保存备用4种不同配方的蜀柏毒蛾性信息素诱芯及空白对照诱集效果试验。

每种配方诱芯的诱捕器放置数量为30个(重复3次,每组10个),诱捕器之间的距离为10m,悬挂高度为1m,诱捕器之间随机排列。从7:00开始诱集,每24hr对诱捕器内诱到的成虫数量进行统计,诱集时间为5d,诱集结束时对诱捕器上的蜀柏毒蛾成虫进行识别计数统计。

试验数据采用 DPS 7.05 软件进行方差分析,用 Duncan 氏新复极差法比较差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 蜀柏毒蛾性信息素成分 GC-EAD 和 GC-MS 分析结果

用 GC-MS 分析蜀柏毒蛾处女雌蛾性信息素腺体提取物(36FE),发现提取物中含有较多的杂质,其中多为长链烷烃和油酸类。

由 GC-EAD 图谱(图1)可知在保留时间 33.68 min(A 气谱峰)和 34.43 min(B 气谱峰)时,存在着能引起蜀柏毒蛾雄蛾触角电生理反应的活性物质。按照 GC-EAD 测试中同样的毛细管气相色谱分析条件对蜀柏毒蛾处女雌蛾性信息素腺体提取物进行了 GC-MS 分析,得到提取物的总离子流色谱图(图2)。

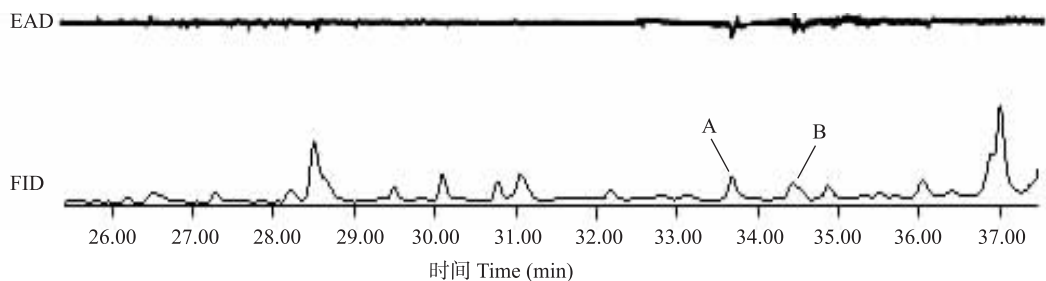


图1 蜀柏毒蛾雄蛾触角对处女雌蛾性信息素腺体提取物的 GC-EAD 反应

Fig.1 GC-EAD responses of *Parocneria orientalis* male antennae to sex pheromone gland extracts from virgin females

用 GC-EAD 的 GC 图谱与 GC-MS 总离子流色谱图进行对比,GC-EAD 的 GC 图谱 A 气谱峰对应的 GC-MS 分析给出蜀柏毒蛾性信息素化学成分为顺-9-十八碳烯醛,而 GC-EAD 的 GC 图谱 B 气谱峰对应的蜀柏毒蛾性信息素化学成分为顺-9-十八碳烯醇。顺-9-十八碳烯醛和顺-9-十八碳烯醇的 GC-MS 的成分峰的面积比为 0.48:0.52。鉴于昆虫性信息素结构有较大的相似性,多数为长链不饱和醇、乙酸酯、醛或酮类,链长一般为 10(18 碳<sup>[6]</sup>),故初步分析得出蜀柏毒蛾性信息素成分为顺-9-十八碳烯

醛和顺-9-十八碳烯醇。

### 2.2 蜀柏毒蛾性信息素诱芯林间诱集

4种配方蜀柏毒蛾诱芯对蜀柏毒蛾5d的诱集效果(见表1),均表现出诱集性,其中顺-9-十八碳烯醛:顺-9-十八碳烯醇 = 1:9配方诱集效果最好;顺-9-十八碳烯醛:顺-9-十八碳烯醇 = 1:9(200 $\mu$ g)和顺-9-十八碳烯醛:顺-9-十八碳烯醇 = 9:1(200 $\mu$ g)之间诱集效果差异不显著;但顺-9-十八碳烯醛:顺-9-十八碳烯醇 = 1:9(200 $\mu$ g)和顺-9-十八碳烯醛:顺-9-十八碳烯醇 = 9:1(200 $\mu$ g)与顺-9-十八碳烯醇

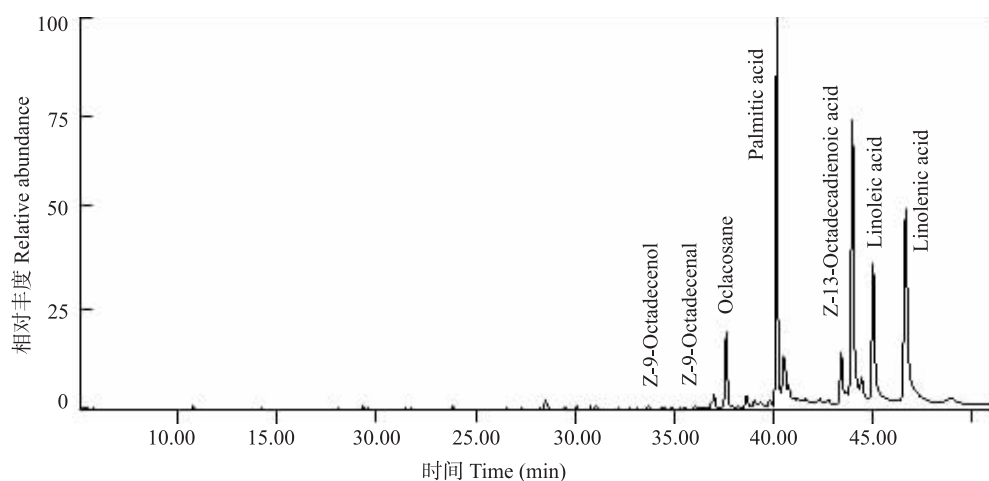


图2 蜀柏毒蛾处女雌蛾性信息素腺体提取物的总离子流图

Fig.2 Total ion chromatogram of sex pheromone gland extracts from virgin females of *Parocneria orientalis*

(200  $\mu\text{g}$ )和顺-9-十八碳烯醛(200  $\mu\text{g}$ )的诱集效果差异显著。

表 14 种配方蜀柏毒蛾性信息素诱芯诱集效果

Tab. 1 The total of males trapped by lures with four kinds of different components

诱芯组成	诱集量(%)	差异显著性
顺-9-十八碳烯醛: 顺-9-十八碳烯醇 = 1:9(200 $\mu\text{g}$ )	29.35 $\pm$ 2.12	Aa
顺-9-十八碳烯醛: 顺-9-十八碳烯醇 = 9:1(200 $\mu\text{g}$ )	25.28 $\pm$ 0.52	Aa
顺-9-十八碳烯醛(200 $\mu\text{g}$ )	22.75 $\pm$ 1.02	Ab
顺-9-十八碳烯醇(200 $\mu\text{g}$ )	18.35 $\pm$ 0.48	Bc
CK1	1.95 $\pm$ 0.45	Dd

注:表中数据为平均值  $\pm$  标准差。不同大、小写字母分别表示在  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  水平下差异显著(Duncan氏新复极差法)。

### 3 讨论

采用正己烷溶剂浸提蜀柏毒蛾处女雌蛾性信息素腺体的方法取得了蜀柏毒蛾雄蛾触角具有显著电生理反应的活性粗提物<sup>[4]</sup>。从GC-EAD和GC-MS图谱来看,所采用的传统信息素溶剂浸提法可能造成性信息素成分受杂质干扰,造成微量成分的缺失<sup>[5]</sup>,这些微量成分可能是蜀柏毒蛾性信息素的关键成分,对诱集效果起到增效作用,大大提高其诱集效果。

从昆虫信息素数据库来看,鳞翅目昆虫中已鉴定性信息素的毒蛾科的昆虫有8属27种<sup>[6]</sup>,蜀柏毒蛾所属的柏毒蛾属的种类尚无鉴定。因此,GC-EAD和GC-MS方法来准确鉴定蜀柏毒蛾性信息素

成分,缺乏相关比对资料,对结果的精准性也带来相当难度。

对蜀柏毒蛾性信息成分的鉴定仍以GC-EAD和GC-MS分析,结合林间诱集试验进行验证。从试验结果分析,初步可以确定顺-9-十八碳烯醛和顺-9-十八碳烯醇是蜀柏毒蛾的性信息素主要成份,但其不同组分的诱集效果同蜀柏毒蛾处女雌蛾正己烷溶剂浸提法物诱芯比较,其诱集到的蜀柏毒蛾雄成虫的数量较少(另文发表),可能蜀柏毒蛾性信息素成分还有其他关键成分没有分析鉴定出来,所配制的蜀柏毒蛾性信息素诱芯组分还需不断优化调整。

**致谢** 本实验的GC-EAD分析和GC-MS分析分别在中国科学院动物研究所电生理实验室和化学分析室完成,并得到了中国科学院动物研究所王睿老师在实验测试方面的技术帮助,谨致谢意。

### 参考文献:

- [1] 冯波,周建华,等.一株蜀柏毒蛾无芽胞杆菌病原的鉴定与毒力研究[J].林业科学,2009,45(11):104~108.
- [2] 周建华,等.不同波长诱虫灯对蜀柏毒蛾成虫的诱集研究.四川林业科技,2013,34(6):69~71.
- [3] 蒙宪佐.我国昆虫信息素研究与应用的进展.昆虫知识,2000,37(2):75~84.
- [4] 张坤胜,杨伟,卓志航,等.蜀柏毒蛾生殖行为及性信息素产生与释放节律.昆虫学报,2006,55(1):46~54.
- [5] 孔祥波,赵莉茜,张真,等.松毛虫性信息素的固相微萃取及质谱和触角电位分析.昆虫学报,2010,53(8):857~863.
- [6] 韦卫,赵莉茜,孙江华.蛾类性信息素研究进展.昆虫学报,2006,49(5):850~858.