



УДК 595.787-114.7:547.382.2.06

ПОЛОВОЙ ФЕРОМОН САМОК КОЛЬЧАТОГО ШЕЛКОПРЯДА
MALACOSOMA NEUSTRIA L.

Котохов В. П., Ковалев Б. Г.

Всесоюзный научно-исследовательский институт биологических методов
защиты растений, Кишинев

В экстракте самок кольчатого шелкопряда *Malacosoma neustria L.* газожидкостной хроматографией, масс-спектрометрией, тестированием методом электроантеннограмм обнаружены *цис-5, транс-7*-додекадиеналь (I), *транс-5, цис-7*-додекадиеналь (II), *цис-5, транс-7*-додекадиен-1-ол (III), *транс-5, цис-7*-додекадиен-1-ол (IV), ацетат *цис-5, транс-7*-додекадиен-1-ола (V), ацетат *транс-5, цис-7*-додекадиен-1-ола (VI) в соотношении 0,3 : 1,6 : 0,1 : 1,0 : 0,8 : 0,6 соответственно. В туннельном ольфактометре самцы реагировали на альдегид (II) и на смесь альдегида (II) и спирта (IV) в соотношении 1 : 1. В поле наибольшее количество самцов было отловлено в ловушки с альдегидом (II), несколько меньшее количество — на смесь веществ (II) и (IV) в соотношении 3 : 1. В качестве полового феромона для самцов кольчатого шелкопряда можно рекомендовать приманку из *транс-5, цис-7*-додекадиенала (II) в количестве 1 мг.

Кольчатый шелкопряд *Malacosoma neustria L.* (семейство *Lasiocampidae*) — вредитель плодовых и лесных пород, широко распространенный в Европейской части СССР, на Кавказе, Дальнем Востоке и в Сибири [1]. Выделение и идентификация полового феромона этого вида ведется с целью его практического использования в системе защитных мероприятий.

Известны половые феромоны двух североамериканских видов рода *Malacosoma*. Для *M. californica* идентифицированы два компонента феромона — *цис-5, транс-7*-додекадиеналь (II) и *цис-5, транс-7*-додекадиен-1-ол (IV) [2], для *M. distria* — один компонент: *транс-5, цис-7*-додекадиеналь (I) [3].

Ранее сообщалось [4], что при делении экстракта самок кольчатого шелкопряда с помощью газожидкостной хроматографии (ГЖХ) и тестировании фракций методом электроантеннограмм (ЭАГ) были обнаружены два вещества с наибольшими ЭАГ-ответами, которые ошибочно идентифицировали как ацетаты *цис-5*-децен-1-ола и *цис-5*-додецен-1-ола. Однако дальнейшее исследование с использованием для ГЖХ колонок с жидкокристаллической фазой жидкий кристалл Н-6 (гидрохино-бис-(*n*-гептилоксибензоат)) и стеклянной капиллярной колонки с высокоэффективной фазой ОУ-275 позволило уточнить состав и природу полового феромона самок кольчатого шелкопряда. Использовали известную методику предварительного изучения экстракта полового феромона самок кольчатого шелкопряда [4].

Экстракт (CH_2Cl_2) последних сегментов брюшек только что отродившихся самок подвергали микропрепаративному делению ГЖХ на колонке с жидкокристаллической фазой, отбирая 2-минутные фракции в течение 32 мин. Каждую фракцию тестировали методом ЭАГ на антеннах самцов кольчатого шелкопряда. Наибольшие ответы были получены на фракции с временем удерживания 8–10 (А) и 14–16 мин (Б), которые соответствовали времени удерживания сопряженных диеновых альдегидов и спиртов с 12 атомами углерода в цепи (рис. 1). ЭАГ-активные фракции из экстракта выделяли микропрепаративным способом на колонке с жидкокристаллической фазой и анализировали с помощью ГЖХ на колонке с той же фазой. Фракция А содержала два компонента, по времени удерживания одинаковые с временем удерживания *транс-5, цис-7*-додекадиена-

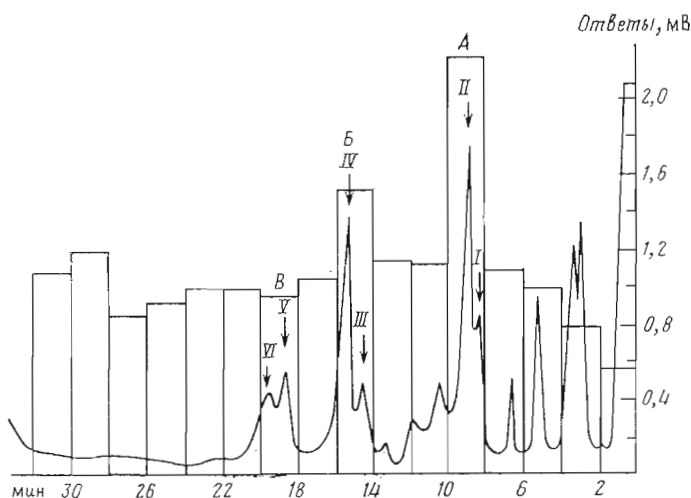


Рис. 1. Хроматограмма экстракта самок кольчатого шелкопряда на колонке с жидкокристаллической фазой. Стрелками показаны места выхода синтетических образцов: I — *цис*-5,*транс*-7-додекадиеналь, II — *транс*-5,*цис*-7-додекадиеналь, III — *цис*-5,*транс*-7-додекадиен-1-ол, IV — *транс*-5,*цис*-7-додекадиен-1-ол, V — ацетат *цис*-5,*транс*-7-додекадиен-1-ола, VI — ацетат *транс*-5,*цис*-7-додекадиен-1-ола. Прямоугольниками изображены ответы антенн самок кольчатого шелкопряда на 2-минутные фракции экстракта

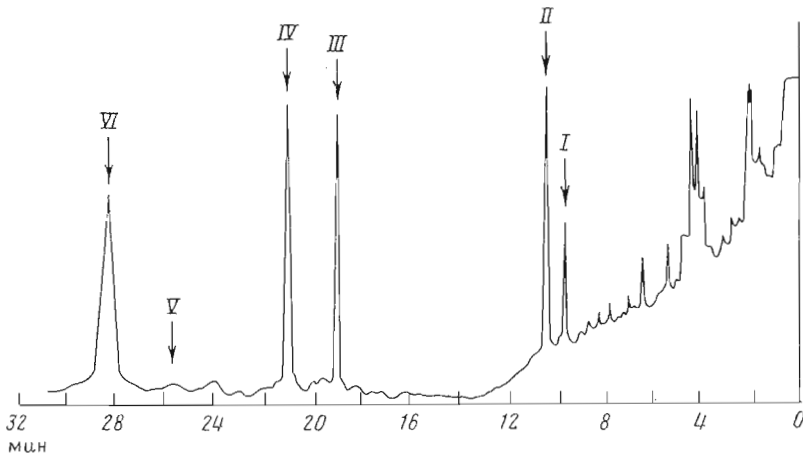


Рис. 2. Хроматограмма экстракта самок кольчатого шелкопряда на колонке с фазой ОУ-275. Стрелками указан выход соответствующих синтетических образцов (I)–(VI)

ля (II) и *цис*-5,*транс*-7-додекадиеналь (I). Фракция Б включала также два вещества, одинаковых по времени удерживания с *транс*-5,*цис*-7-додекадиен-1-олом (IV) и *цис*-5,*транс*-7-додекадиен-1-олом (III). В составе экстракта были обнаружены ГЯХ еще два компонента фракции В. При тестировании методом ЭАГ на фракцию В были получены слабые ответы (рис. 1). По времени удерживания вещества совпадали с ацетатами *транс*-5,*цис*-7-додекадиен-1-ола (VI) и *цис*-5,*транс*-7-додекадиен-1-ола (V).

Структуры веществ фракций А–В изучали с помощью масс-спектрометрии. На капиллярной колонке хроматомасс-спектрометра с фазой ХЕ-60 не наблюдали деления геометрических изомеров этих веществ. Известно, что масс-спектры геометрических изомеров идентичны [5]. Поэтому снимали масс-спектры вещества (II) и фракции А, вещества (IV) и фракции Б, фракции В и вещества (VI), которые оказались попарно идентичными (таблица). Наличие в масс-спектрах этих фракций фрагментов, приведенных в таблице, характеризует вещества фракции А как

Сравнение интенсивностей масс-спектров синтетических веществ (I), (III), (V) и фракций А – В экстракта полового феромона самок кольчатого шелкопряда (m/z (J , %))

Фракция А	Ион	Вещество (II)
180 (32)	$M^{+\bullet}$	180 (15)
151 (16)	$[M-CHO]^+$	151 (17)
136 (50)	$[M-Cu_3CHO]^+$	136 (50)
123 (15)	$[M-(Cu_2)_2CHO]^+$	123 (20)
109 (32)	$[C_8H_{12}]^+$	109 (23)
96 (88)	$[C_7H_{11}]^+$	96 (69)
95 (100)	$[C_7H_{10}]^+$	95 (86)
80 (82)	$[C_6H_8]^+$	80 (100)
Фракция Б	Ион	Вещество (IV)
182 (10)	$M^{+\bullet}$	182 (36)
164 (27)	$[M-H_2O]^+$	—
136 (52)	$[M-C_2H_5OH]^+$	136 (39)
121 (39)	$[C_9H_{13}]^+$	121 (31)
109 (18)		109 (20)
96 (100)		96 (89)
79 (52)		79 (100)
Фракция В	Ион	Вещество (VI)
224 (42)	$M^{+\bullet}$	224 (52)
164 (27)	$[M-Cu_3COOH]^+$	164 (35)
136 (52)	$[C_{10}H_{16}]$	136 (62)
121 (49)		121 (41)
96 (100)		96 (65)
79 (62)		79 (100)

диеновые альдегиды, фракции Б – как диеновые спирты и фракции В – как диеновые ацетаты с 12 атомами углерода в цепи. В экстракте самок кольчатого шелкопряда методом ГЖХ на стеклянной капиллярной колонке с фазой OV-275 обнаружены вещества, по времени удерживания одинаковые с временем удерживания веществ (I)–(VI) в соотношении 1,6 : 0,3 : 1,0 : 0,1 : 0,8 : 0,6 соответственно (рис. 2).

Биологическую активность компонентов (I)–(VI) полового феромона самок кольчатого шелкопряда сравнивали с активностью известных синтетических диеновых альдегидов, спиртов и их ацетатов, содержащих двойную связь в положениях 5, 7 и имеющих 12 углеродных атомов в цепи. Тестирование проводили методом ЭАГ на антеннах самцов этого вида и по поведенческим реакциям в туннельном ольфактометре (рис. 3). Из рис. 3 видно, что на *транс*-5,*цис*-7-додекадиеналь (I) получен самый большой ответ (2,06 мВ). *транс*-5,*цис*-7-Додекадиен-1-ол (IV) имеет несколько больший ответ, чем его геометрический изомер (III). Ацетаты (V) и (VI) дали слабые ответы. Известно, что когда компонентами полового феромона являются спирты и ацетаты, то ЭАГ-ответы на спирты получают более слабые, чем на их ацетаты [6]. В туннельном ольфактометре на альдегид (II) самцы совершали направленный полет, достигали приманки. На спирт (IV) самцы совершали направленный полет, зависали в воздухе, на приманку не садились. При объединении этих двух веществ самцы совершали направленный полет, зависали в воздухе, садились на приманку и искали самку.

Таким образом, на основании изложенного выше можно заключить, что активными компонентами полового феромона кольчатого шелкопряда являются *транс*-5,*цис*-7-додекадиеналь (II) и *транс*-5,*цис*-7-додекадиен-1-ол (IV). Эти вещества по отдельности и в смеси друг с другом испы-

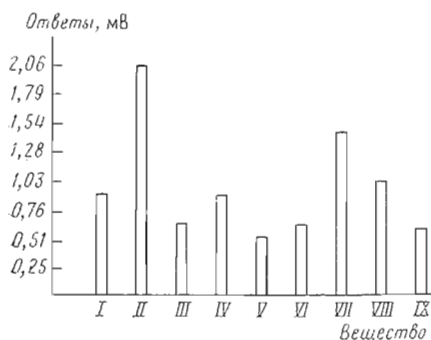


Рис. 3. Ответы антенн самцов кольчатого шелкопряда на некоторые синтетические вещества: (I) – (VI) – см. подпись к рис. 1, VII – транс-5,7-додекадиеналь, VIII – цис-5,7-додекадиеналь, IX – ацетат цис-5,7-додекадиен-1-ола

тывали в полевых условиях. На пять ловушек с альдегидом (II) было отловлено 35 самцов кольчатого шелкопряда, на такое же количество ловушек со спиртом (IV) – только три самца, на смесь компонентов (II) и (IV) в соотношении 3:1 отловили 22 самца. Роль спирта (IV), соотношение компонентов и количество их в композиции полового феромона необходимо выяснять в дальнейших полевых и лабораторных испытаниях.

Экспериментальная часть

Газохроматографические исследования проводили на приборе «Хром-41» (ЧССР) с пламенно-ионизационным детектором. Использовали набивную колонку из стекла длиной 2,5 м, внутренним диаметром 3 мм с жидкокристаллической фазой «жидкий кристалл Н-6» (гидрохино-бис(*n*-гептилоксибензоат)) на хромосорбе W-AW-HDCS 80–100 мш и стеклянную капиллярную колонку с фазой OV-275, длиной 40 м, внутренним диаметром 0,25 мм. Капиллярную колонку готовили по описанной методике * [7]. Режим работы на набивной колонке: температура термостата 145°С, расход газа-носителя (азот) 35 мл/мин, скорость ленты 1 см/мин; на капиллярной колонке: температура термостата 110°С, расход газа-носителя (азот) 3 мл/мин. Масс-спектры снимали на хроматомасс-спектрометре отечественного производства МХ-1321. Использовали стеклянную капиллярную колонку с фазой ХЕ-60 длиной 50 м, внутренним диаметром 0,22 мм. Хроматографировали при температуре термостата 160°С в течение 24 мин, далее с программированием температуры 2°/мин до 180°С, при расходе газа-носителя (гелий) 1 мл/мин. Спектры снимали при энергии ионизации 19 эВ, температуре источника ионов, трубки напуска, камеры масс-анализатора 180°С.

Имаго кольчатого шелкопряда *M. neustria* L. получали на естественном корме в лабораторных условиях, используя листья тополя. Последние сегменты брюшек только что отродившихся самок экстрагировали хлористым метиленом. Экстракт деkantировали, кончики заливали повторно и хранили отдельно при 4°С. Экстракт 10 кончиков брюшек последних сегментов самок составлял 10 нг. Для выяснения поведенческих реакций самцов выдерживали 2 сут в условиях измененного времени дня и ночи (16 ч ночь и 8 ч день).

Отбор биологически активных фракций феромона. Экстракт 35 кончиков брюшек самок кольчатого шелкопряда в количестве 35 нг фракционировали на колонке с жидкокристаллической фазой, 2-минутные фракции отбирали в охлаждаемые капилляры в течение 32 мин и тестировали методом ЭАГ [8]. Наибольшие ответы получали на фракции с временем удерживания 8–10 мин (2,23 мВ) и 14–16 мин (1,27 мВ). Вещества фракций с наибольшими ответами вымывали из капилляров эфиром и анализировали ГЭХ на колонке с той же фазой. Для этой цели смыв из капилляров делили на две равные части и уваривали отдувкой азотом до 1 мкл. Часть смыва одной порцией вносили в испаритель хроматографа. Время удерживания веществ фракций на хроматограмме сравнивали с временем удерживания веществ известного строения. Результаты приведены на рис. 1.

Идентификация компонентов полового феромона самок кольчатого шелкопряда. Хлорметиленовый экстракт 40 последних сегментов кончиков брюшек только что отродившихся самок концентрировали отдувкой азотом и одной порцией в количестве 40 нг вносили в испаритель хроматографа. Использовали стеклянную капиллярную колонку с фазой OV-275. Компоненты полового феромона идентифицировали сравнением их времени удерживания с временем удерживания образцов веществ заведомого строения (рис. 1).

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильев В. П. Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений. Киев: Урожай, 1974. С. 354.

* Авторы статьи выражают благодарность д-ру хим. наук Э. А. Мистрюкову (ИОХ, Москва) за методическую помощь по приготовлению стеклянных капиллярных колонок.

2. Underhill E. W., Chisholm M. D., Steck W. // Can. Entomol. 1980. V. 112. № 6. P. 629-631.
3. Chisholm M. D., Underhill E. W., Steck W., Slessor K. N., Grant G. G. // Environ. Entomol. 1980. V. 9. № 3. P. 278-282.
4. Меликян Г. Г., Ковалев Б. Г., Колюхов В. П., Азарян Г. Х., Баданян Ш. О. // Арм. хим. журн. 1980. Т. XXXIII. № 6. С. 519.
5. Будзикевич Г., Джерасси К., Уильямс Д. Интерпретация масс-спектров органических соединений. М.: Мир, 1966. С. 16-21.
6. Roelofs W. L. // Ecol. Bull. 1980. № 31. P. 25-40.
7. Шкова Е. Л., Миструков Е. А. // Chromatographia. 1971. V. 53. № 3. P. 422.
8. Миняйло В. А., Ковалев Б. Г., Бедный В. Д. // Хеморецепция насекомых. Вильнюс: Мокслас, 1978. № 3. С. 97-101.

Поступила в редакцию
28.VII.1986

После доработки
30.VI.1987

SEX PHEROMONE OF *MALACOSOMA NEUSTRIA* L. FEMALES

KONYUKHOV V. P., KOVALEV B. G.

All-Union Research Institute of Biological Protection of Plants, Kishinev

By means of gas-liquid chromatography, chromatomass-spectrometry and electro-antennography, the extract from *Malacosoma neustria* L. females was shown to contain *cis*-5,*trans*-7-dodecadienal (I), *trans*-5,*cis*-7-dodecadienal (II), *cis*-5,*trans*-7-dodecadien-1-ol (III), *trans*-5,*cis*-7-dodecadien-1-ol (IV), *cis*-5,*trans*-7-dodecadienyl acetate (V), *trans*-5,*cis*-7-dodecadienyl acetate (VI) in the ratio 0,3:1,6:0,1:1,0:0,8:0,6. In olfactometer tunnels, males were found to respond to aldehyde (II) and to equimolar mixture of aldehyde (II) and alcohol (IV). The majority of males was caught in the field with the use of (II) and 3:1 mixture of (II) and (IV).