

侧柏挥发性化学成分的鉴定及其对双条杉天牛的触角电位反应

孔祥波¹, 张真¹, 王鸿斌¹, 杨杰², 胡玉田²

(1. 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态环境重点实验室, 北京 100091;
2. 北京市昌平区林业保护站, 北京 102200)

摘要:行为试验发现侧柏对双条杉天牛有很强的引诱作用。采用顶空吸附采样方法林间采集侧柏不同部位的挥发性成分,经热脱附吹扫捕集-气相色谱-质谱联用分析,发现侧柏释放的挥发性成分主要由脂肪族的绿叶成分和单萜烯组成。固相微萃取和水蒸汽蒸馏采集侧柏韧皮成分,分析发现其主要成分由单萜烯、倍半萜烯及其衍生物组成,两种采样方法的采样效果有一定的差异。触角电位研究表明,双条杉天牛触角对挥发性绿叶成分正戊醇、正己醇、2-乙基-1-己醇和1-辛烯-3-醇有很强的触角电位反应;对醛类化合物触角电位反应较弱;对单萜烯类化合物香桉烯、侧柏醇和(-)-柠檬烯有很强的触角电位反应。双条杉天牛对小蠹虫的信息素都有很强的触角电位反应,特别是对3-甲基-2-环己烯-1-醇及其酮类化合物。含6个碳或8个碳的醇类成分与马鞭草烯酮结合和侧柏挥发性的单萜烯类成分对双条杉天牛寻找寄主的行为可能有很大影响。

关键词:侧柏;双条杉天牛;萜烯;固相微萃取;触角电位

中图分类号:S763 **文献标识码:**A

Analysis of *Platycladus orientalis* Volatiles and Their Electroantennogram Responses with *Semanotus bifasciatus*

KONG Xiang-bo¹, ZHANG Zhen¹, WANG Hong-bin¹, YANG Jie², HU Yur-tian²

(1. Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF; The Key Laboratory of Forest Ecology and Environment, State Forestry Administration, Beijing 100091, China; 2. Forest Plant Protection Station of Chang Ping District, Beijing, Beijing 102200, China)

Abstract: Behavioral tests revealed that *Semanotus bifasciatus* was easy to be attracted to its host trees species, *Platycladus orientalis*. The volatiles emitted from different parts of *P. orientalis* were collected outdoors by headspace sampling *in situ* and analyzed by Thermodesorption Cold Trap (TCT)-GC-MS. Two major classes of compounds, aliphatics [mainly green-leaf volatiles (GLVs)] and monoterpenes, existed in the host tree species investigated. Sesquiterpenes and monoterpenes (and their derivatives) sampled from the phloem by the solid phase microextraction (SPME) and hydrodistillation made up the major part of whole volatile blends. However, differences could be found with respect to a few components of the blend. Electroantennograms from the antennae of *S. bifasciatus* were recorded in response to compounds presented in the headspace of *P. orientalis* and other sources. The antennae responded strongly to green leaf alcohols: 1-Pentanol, Hexanol, 2-ethyl-1-Hexanol and 1-Octen-3-ol; but a little EAG amplitudes were observed to aldehydes; Better antennal responses to Sabinene, Thujanol and (-)-Limonene were found. In addition, the antennae were more sensitive to that of bark beetle pheromones than some monoterpenes and alcohols, especially the compounds 3-methyl-2-cyclohexen-1-ol and 3-methyl-2-cyclohexen-1-one. The blends of C6 and C8 alcohols plus

收稿日期: 2004-12-28

基金项目: 国家自然科学基金部分资助(30300275); 国家“973”项目部分资助(2002CB111400)

作者简介: 孔祥波(1971—),男,山东荣成人,博士,主要从事化学生态学研究。

verbenone together with monoterpenes might play an important role in host selection of *S. bifasciatus*.

Key words: *Platycladus orientalis*; *Semanotus bifasciatus*; terpene; SPME; electroantennogram

双条杉天牛(*Semanotus bifasciatus* Motschulsky)严重危害侧柏(*Platycladus orientalis* (L.) Franco)、桧柏(*Sabina chinensis* (L.) Ant.)、扁柏(*Chamaecyparis taiwanensis* Masam.)等植物,在国内主要分布在北京、河北、山西、辽宁、山东、台湾等地^[1]。由于双条杉天牛幼虫期生活的隐蔽性,针对幼虫期的防治措施很难取得理想的效果。成虫羽化后,在扩散、寻找适宜的寄主、取食和交配的过程中,都面临着被寄生、恶劣环境条件或有限的可利用资源的威胁。但双条杉天牛成虫可以充分利用寄主植物释放的挥发性化学成分或其它刺激信号准确、有效地寻找到寄主^[2]。近年来根据成虫的行为特点,探索双条杉天牛种群大面积综合治理的有效途径受到广泛关注^[3-5]。

双条杉天牛寄主植物侧柏中的挥发性绿叶成分和类异戊二烯成分在防御害虫入侵和引诱害虫聚集方面都起重要作用。本研究拟解决以下两方面的问题:(1)不同采样方法分析比较双条杉天牛寄主植物不同部位的挥发性成分。(2)确定寄主植物成分中具有较高触角电位活性的化合物,寻找可能的双条杉天牛益它素化合物。

1 材料和方法

1.1 饵木诱集双条杉天牛试验

2002年3月上旬在昌平建材绿化基地,利用直径5~8 cm,长60 cm的新鲜侧柏饵木诱集双条杉天牛成虫。林间饵木设置是:每10根一堆,间隔20 m,共设置3个饵木诱集点,放在受双条杉天牛危害的侧柏林阳坡。每天下午记录诱集到的双条杉天牛成虫数。

1.2 寄主植物气味的提取

1.2.1 水蒸汽蒸馏萃取法

取新鲜的侧柏韧皮部100 g,粉碎后放到1 000 mL的蒸馏瓶中,加600 mL蒸馏水,水蒸汽蒸馏24 h。馏分用二氯甲烷萃取,无水硫酸钠干燥24 h。取1 μ L进行质谱分析。

1.2.2 固相微萃取法

将粉碎的侧柏韧皮部放到三角瓶中,瓶口用Parafilm膜封住。固相微萃取(SPME)注射器针头刺破Parafilm膜,悬在三角瓶上部,推出纤维头(100 μ m PDMS纤维头),顶空吸附侧柏韧皮部释放的气味2

h。吸附的样品立即进行质谱(SPME-GC/MS)分析。

1.2.3 林间顶空吸附采样

将侧柏树叶、树干(8~12 cm \times 25 cm)、饵木(5~8 cm \times 60 cm)用采样袋(Ziploc, 25.0 cm \times 32.5 cm)包住,大气采样仪(QC-1型,北京市劳动保护科学研究所)进气口端以硅胶管连接采样管(Chrompack, 0.6 mm \times 16 cm,吸附剂:Tenax GR, 60~80目,100 mg 采样管⁻¹),出气口端与硅胶管直接相连,并且进气口端的采样管与出气口端的硅胶管都被密封在采样袋中。调节大气采样仪气体流速,以50 mL \cdot min⁻¹的气体流速采样30 min为一个重复,每个处理重复3次。采样管两端用Parafilm膜封住,密封在Ziploc采样袋中。采样管带回实验室,放到-18 $^{\circ}$ C的低温冰箱中保存或直接进行质谱分析。

1.3 质谱分析

水蒸汽蒸馏和固相微萃取提取的化合物在Finnigan Trace GC Ultra和Trace DSQ MS上分析。使用DB-5 MS(30 m \times 0.25 mm ID \times 0.25 μ m film thickness, J & W Scientific)毛细管柱进行分析。升温程序是:40 $^{\circ}$ C停留1 min,然后以8 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹程序升温至250 $^{\circ}$ C,在此条件下保持10 min。氦气做载气,流速是1.0 mL \cdot min⁻¹。无分流进样,分流阀1 min后打开。气相色谱进样口温度是220 $^{\circ}$ C,SPME纤维头在进样器中停留1 min,进行样品热脱附。传输线温度是250 $^{\circ}$ C,质谱(EI, 70 eV)离子源温度是200 $^{\circ}$ C,检测器电压是1 150 V,发射电流是300 μ A。进样后3 min Xcalibur Data System (Ver. 1.4)软件开始采集数据,全扫描质量数范围是41~650 amu,每秒扫描5次。

顶空吸附采集的样品经热脱附吹扫捕集(Chrompack CP-4010PTI/TCT)-气质联用(Finnigan Voyager GC/MS)分析,毛细管色谱柱是DB-5 MS(60 m \times 0.32 mm \times 0.5 μ m film thickness, J & W Scientific),升温程序是:40 $^{\circ}$ C保持3 min,然后以6 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹的升温速率升到250 $^{\circ}$ C,最后在270 $^{\circ}$ C保持5 min。柱头压是20 kPa,在250 $^{\circ}$ C的条件下进行热脱附10 min, -120 $^{\circ}$ C的冷阱收集热脱附的样品,在1 min内冷阱温度由-120 $^{\circ}$ C升到260 $^{\circ}$ C,将热脱附的样品进样分析。做全扫描质谱分析(EI, 70 eV),全扫描质量数范围是19~431 amu。离子源温度是200

发射电流是 150 μA , 传输线温度是 250 $^{\circ}\text{C}$ 。

分析化合物的鉴定是通过与标准化合物比较保留时间和质谱图或与 Nist02 谱库中的标准谱图进行比较, 对化合物进行初步定性。

1.4 触角电位分析

将双条杉天牛雄虫或雌虫触角从基部切下, 端部切掉 2~3 mm, 触角两端连接在装有银丝的玻璃电极记录电极和参比电极上, 玻璃电极内充满昆虫生理盐水 (NaCl , 7.5 g L^{-1} ; KCl , 0.35 g L^{-1} ; CaCl_2 , 0.21 g L^{-1})。触角悬在“L”型玻璃管 (0.9 cm ID \times 9 cm) 管口 0.5 cm 处, 处于连续、湿润的空气中 (空气流速: 900 mL min^{-1})。将 1 μL 测试化合物的正己烷溶液 20 μL 均匀地滴加到巴斯德管中的滤纸条 (0.5 cm \times 3.0 cm) 上。根据样品的化学性质, 将所测试的样品分成 3 组, 每组均以 20 μL 正己烷做对照。每组中的样品随机进行触角电位刺激, 每次刺

激的气体量是 2 mL, 刺激时间大约是 0.2 s, 2 个样品刺激的时间间隔是 40 s。且每测试 3 个样品后就测试 1 次对照, 每个样品触角电位测试重复 12 次。样品触角电位测试值与对照平均值的差值作为测试样品触角电位测试的绝对值, 12 次触角电位测试的绝对值的平均值进行比较研究。

2 结果与分析

寄主植物挥发物是双条杉天牛进行寄主定位的重要嗅觉刺激物, 也是其重要的信息化学物质。3 月上旬至 4 月下旬, 利用饵木诱集双条杉天牛成虫试验结果说明: 侧柏木段散发的气味对双条杉天牛有很强的引诱能力, 双条杉天牛能够检测寄主植物气味而发生聚集作用 (如图 1)。侧柏饵木监测双条杉天牛成虫的发生期表明: 在 2002 年 3 月 10 日左右有一个羽化高峰, 3 月末又有一个小的羽化高峰。

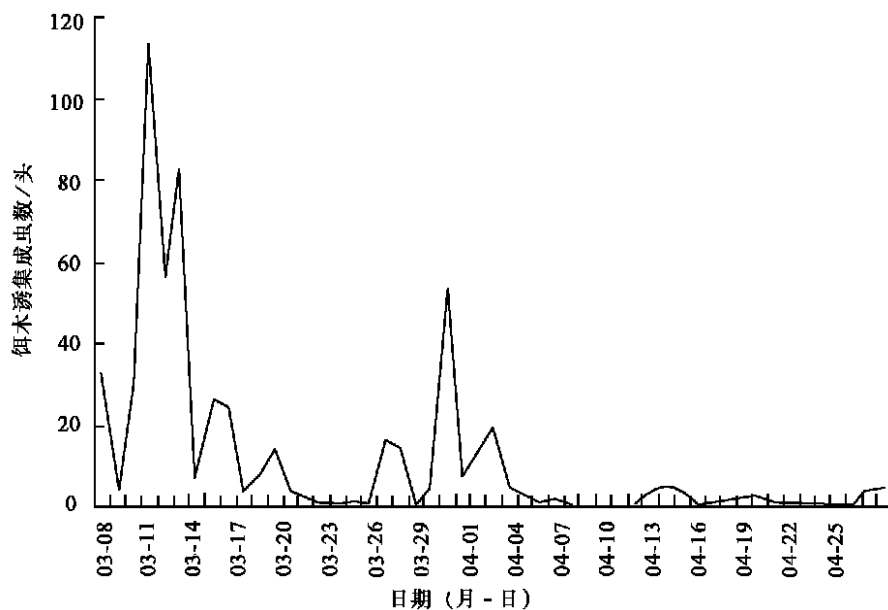


图1 侧柏饵木挥发性气味林间对双条杉天牛的诱集情况

顶空吸附采集双条杉天牛寄主植物侧柏饵木和树叶的挥发性成分, 发现了脂肪族的绿叶成分 (如正己醛、壬醛和 2-乙基-1-己醇) 和单萜烯成分, 没有发现倍半萜和二萜等其它化合物 (表 1)。饵木和树叶中的挥发性成分、含量都非常相似, 例如, 饵木和树叶中 3 种挥发性绿叶成分的含量都低于 7%。单萜烯成分中, 3-萜烯的含量最高, 约占分析样品总含量的 32%; 其次是 -蒎烯, 占分析样品总含量的 24%

~28%; 香桉烯含量约占总含量的 11%; 侧柏烯占 7% 左右; -蒎烯含量约占 5%~6%。其它单萜烯成分如蒎烯、月桂烯和 DL-柠檬烯含量都很低。树干挥发性成分分析发现, 3-萜烯含量最高, 约占分析样品总含量的 49%, 其次是 -蒎烯和 -蒎烯, 3 种单萜烯成分大约以 12:4:3 的比例存在。树干挥发性成分中没有发现香桉烯、侧柏烯、蒎烯和月桂烯, 但小分子量的醇、醛化合物多于树叶和饵木中的成分。

表 1 不同采样分析方法鉴定双条杉天牛寄主植物侧柏的成分及其相对含量

化合物	侧柏韧皮成分/ %		顶空采样 (30 min)		
	固相微萃取 (2 h)	水蒸汽蒸馏 (24 h)	侧柏不同部位挥发性成分/ %		
			饵木	树干	树叶
正戊醛 Pentanal	-	-	-	0.88	-
正戊醇 1-Pentanol	-	-	-	0.20	-
甲苯 Toluene	-	0.08	-	0.29	-
正己醛 Hexanal	-	-	4.60	8.61	6.62
糠醛 Furfural	-	0.13	-	3.19	-
三环砜 Tricyclene	-	0.07	-	-	-
侧柏烯 -Thujene	1.82	2.59	7.56	-	6.06
正庚醛 Heptanal	-	-	-	1.02	-
*-蒎烯 -Pinene	4.62	5.32	28.09	16.21	24.27
香桉烯 Sabinene	-	-	11.26	-	11.21
-葑烯 -Fenchene	1.32	1.40	-	-	-
茨烯 Camphene	-	0.13	1.02	-	0.58
*-水芹烯 -Phellandrene	0.97	2.46	-	-	-
*-蒎烯 -Pinene	1.01	0.61	4.97	12.5	6.06
正辛醛 Octanal	-	-	-	1.13	-
*-月桂烯 -Myrcene	2.06	2.09	3.38	-	2.05
3-萜烯 3-Carene	6.90	11.52	32.09	48.94	31.57
2-乙基己醇 2-ethyl-1-Hexanol	-	-	2.11	2.31	4.27
*-松油烯 -Terpinene	1.21	2.60	-	-	-
P-伞花烃 p-Cymene	1.77	3.65	-	0.75	-
DL-柠檬烯 DL-Limonene	3.02	5.83	2.10	2.40	4.07
壬醛 Nonanal	-	-	2.87	1.57	3.24
*-松油烯 -Terpinene	1.67	5.02	-	-	-
1,4-桉树脑 1,4-Cineole	0.12	-	-	-	-
异松油烯 Terpinolene	2.68	4.99	-	-	-
3,4-二甲基苯乙炔 3,4-dimethyl-Styrene	0.31	-	-	-	-
4-萜品醇 4-Terpineol	1.20	12.84	-	-	-
甲基异丙苯酚 p-Cymen-8-ol	0.17	0.95	-	-	-
-松油醇 -Terpineol	0.23	2.80	-	-	-
乙酸冰片酯 (-)-Bornyl acetate	0.89	0.93	-	-	-
诺卜醇 Nopol	-	2.49	-	-	-
桃金娘烯基乙酸酯 (-)-Myrtenyl acetate	-	0.64	-	-	-
乙酸萜品酯 -Terpinyl acetate	0.96	0.49	-	-	-
衣兰烯 Ylangene	3.28	-	-	-	-
-萜澄加油烯 -Cubebene	1.18	-	-	-	-
异长叶烯 Isolongifolene	0.52	-	-	-	-
-榄香烯 -Elemene	-	3.07	-	-	-
-柏木烯 -Cedrene	0.93	3.04	-	-	-
-石竹烯 -Caryophyllene	-	1.05	-	-	-
-柏木烯 -Cedrene	15.14	2.03	-	-	-
罗汉柏烯 Thujopsene	21.12	10.87	-	-	-
-布黎烯 -Bulnesene	-	0.53	-	-	-
-橐吾烯 -Humulene	3.30	0.96	-	-	-
-花柏烯 -Chamigrene	-	0.26	-	-	-
-芹子烯 -Selinene	0.68	0.15	-	-	-
-芹子烯 -Selinene	1.35	0.21	-	-	-
-长叶烯 -Longipinene	4.22	0.77	-	-	-
叩巴烯 (+)-Cuparene	2.92	0.92	-	-	-
榄香醇 Elemol	-	0.18	-	-	-
-榄香烯 -Elemene	-	0.16	-	-	-
雪松醇 Cedrol	6.84	6.17	-	-	-
-桉叶醇 -Eudesmol	1.21	-	-	-	-
乙酸柏木酯 Cedryl acetate	4.38	-	-	-	-

表示不同分析方法鉴定的寄主植物成分相对含量是各成分的积分面积与总积分面积的比值。

表示固相微萃取和水蒸汽蒸馏两种采样方法采集侧柏韧皮成分经 Finnigan Trace GC 和 Trace DSQ 气相色谱-质谱联用分析(详见材料和方法)。

表示顶空吸附采样方法采集的寄主成分经 Chrompack CP4010 PTV TCT 和 Finnigan Trace GC, Trace Voyager 热脱附吹扫捕集-气相色谱-质谱联用分析(详见材料和方法)。

表示该化合物的质谱保留时间及特征离子与标准化合物一致,未标记 * 表示该化合物的质谱特征离子与 Nist 02 谱库中标准化合物的特征离子一致,下同。

表示分析样品中未发现这种成分,全表同。

固相微萃取和水蒸汽蒸馏分析侧柏韧皮部分,除发现大量单萜烯成分外,还发现了许多倍半萜类化合物及其氧化物或酯,但两种分析方法都没有发现脂肪族的绿叶成分(表 1)。固相微萃取采样方法采集侧柏韧皮成分,罗汉柏烯的含量最高(21.12%),其次是 -柏木烯(15.14%)。3-萜烯和 -

蒎烯的含量都高于 4.5%,大约以 7:5 的比例存在。除雪松醇成分外,其它各成分的含量都低于 4.5%。水蒸汽蒸馏采样方法采集侧柏韧皮部分,4-萜品醇的含量最高(12.84%),其次是 3-萜烯(11.52%)和罗汉柏烯(10.87%)。3-萜烯与 -蒎烯、DL-柠檬烯、-松油烯和异松油烯大约以 2:1:1:1 的比例存

在。从采样能力看,2种采样方法存在一定的差异。

触角电位值经 T 检验发现,双条杉天牛雌雄虫仅对小蠹烯醇的触角电位反应有显著差异,对其它测试化合物雌雄虫之间的触角电位值差异不显著。从雌雄虫触角电位值合并计算分析发现,绿叶成分中的醇类化合物如 1-辛烯-3-醇 (1.58 ± 0.70 mV)、2-乙基-1-己醇 (1.16 ± 0.57 mV)、正己醇 (1.14 ± 0.90 mV)、正戊醇 (0.75 ± 0.67 mV) 都有很强的触角电位反应,其触角电位反应值明显高于醛类化合物。在测试的单萜烯成分或其氧化物中,双条杉天牛雌虫触角电位反应都比雄虫敏感。其中雌雄虫触角对侧柏醇都有很好的触角电位反应 (1.73 ± 0.58 mV; 1.34 ± 0.98 mV),但是双条杉天牛雌虫触角对香桉烯反应最强 (2.24 ± 0.82 mV),对 (-)-柠檬烯的触角电位反应再次之 (1.37 ± 1.44 mV)。从合并的雌雄虫触角电位值分析,双条杉天牛对其它测试的萜烯类化合物的电位反应值都低于 0.5 mV,例如 R-(+)- α -蒎烯 (0.42 ± 0.21 mV)、(1S)-(-)- β -蒎烯 (0.43 ± 0.68 mV) 和 α -松油烯 (0.45 ± 0.41 mV) 的触角电位值大约是 S-(-)- β -蒎烯的 4 倍; (+)-柠檬烯、3-萜烯和玟烯的触角电位值在 $0.3 \sim 0.4$ mV 之间; α -松油烯和 P-伞花烃的触角电位值都低于 0.3 mV。对测试的 6 种小蠹虫信息素成分,双条杉天牛雌虫触角比雄虫敏感。从合并的雌雄虫触角电位值分析,双条杉天牛对 3-甲基-2-环己烯-1-醇反应最强 (2.10 ± 1.58 mV),对小蠹二烯醇和 3-甲基-2-环己烯-1-酮的触角电位反应值相似,分别为 1.24 ± 0.99 mV 和 1.12 ± 1.80 mV;对小蠹烯醇、马鞭草烯酮和马鞭草烯醇的触角电位值都小于 0.9 mV。

3 讨论

挥发性绿叶成分是叶表面脂类化合物的氧化产物,能在不同方面影响植食性昆虫的行为,例如搜寻寄主植物、对信息素的增效或抑制、利于天敌寻找寄主等。双条杉天牛雌雄虫对 1-辛烯-3-醇和正己醇都有很强的触角电位反应,但在寄主植物(表 1)或雌雄虫体不同部位的提取物中均未发现这两种成分(数据另行发表)。有报道 1-辛烯-3-醇是 *Ariolimax columbianus* 的取食抑制剂^[6],也对纵坑切梢小蠹 (*Tomicus piniperda* L.) 和横坑切梢小蠹 (*T. minor* Hartig) 有抑制作用^[7]。所以推断 1-辛烯-3-醇可能是双条杉天牛非寄主植物释放的绿叶成分,双条杉天

牛可能与种子象 (*Ceutorhynchus assimilis* Paykull) 一样具有对 1-辛烯-3-醇特异性反应的嗅觉细胞^[8],据此识别寄主植物和非寄主植物。黑山大小蠹 (*Dendroctonus ponderosae* Hopkins)、云杉八齿小蠹 (*Ips typographus* L.) 和纵坑切梢小蠹等鞘翅目 (Coleoptera) 的非寄主植物的树皮中都释放正己醇,其单独或与顺-3-己烯-1-醇或反-2-己烯-1-醇混合能强烈抑制这 3 种小蠹虫对信息素或益它素的行为反应^[9,10]。正己醇也可能是双条杉天牛识别非寄主植物的指示化合物。双条杉天牛对醛类化合物的触角电位反应都不高,推测其可能对双条杉天牛的行为反应没有抑制^[7]。双条杉天牛对马鞭草烯酮的触角电位反应是 0.89 ± 0.65 mV,其能够对十几种小蠹虫的引诱剂产生抑制作用^[11],与非寄主的绿叶成分混合抑制效果更明显^[9,12]。需要进一步研究马鞭草烯酮、正己醇和 1-辛烯-3-醇影响双条杉天牛的行为机制。

由于侧柏饵木对双条杉天牛有很好的引诱活性(图 1),所以饵木挥发性成分、比例对双条杉天牛的行为反应非常重要。有报道表明,双条杉天牛雌雄虫对侧柏挥发油中的萜烯类化合物有强烈的趋性,其活性成分是由 α -蒎烯、 β -蒎烯、侧柏烯、冬青油烯、 β -蒎烯、月桂烯、 β -萜烯、 α -松油烯、对伞花烃、柠檬烯、 α -松油烯、萜品油烯和斧柏烯组成^[3]。本项研究结果中,水蒸汽蒸馏和固相微萃取方法也发现了以上这些萜烯成分,同时发现了许多倍半萜类化合物及其氧化物。顶空采样分析表明,饵木中几种主要萜烯成分是 3-萜烯、 β -蒎烯、香桉烯、侧柏烯和 α -蒎烯,以 16:14:5:4:3 的比例存在,其与树叶挥发性萜烯成分比例基本一致(表 1)。蔡世民等^[3]的试验结果表明, α -蒎烯和 β -蒎烯及其 1:1 的混合物对双条杉天牛无引诱活性。本项研究室内触角电位测试表明,香桉烯、侧柏醇、(-)-柠檬烯和 α -蒎烯都有很好的触角电位反应活性(表 2)。双条杉天牛可能象其它昆虫一样通过检测植物主要挥发性成分的比例来判断其是否适宜取食、产卵^[13]。最初根据固相微萃取方法分析的侧柏成分进行双条杉天牛的林间引诱试验,结果基本上没有引诱活性。可能的原因是:(1)初步的林间引诱剂筛选试验带有很大的盲目性,配制的诱芯成分不完全,比例不合适从而影响了引诱效果。(2)类加州十齿小蠹 (*Ips paraconfusus* Lanier) 的雄虫在侵入时产生的虫粪中有信息素存在^[14~16]。进一步研究发现类加州十齿小蠹的雄虫在完成坑道构建后,能利用寄主植物中的香叶烯产生聚集信息素小蠹烯醇和小蠹二烯醇^[17,18],

利用寄主植物的(-)- β -蒎烯产生聚集信息素顺式马鞭草烯醇^[19,20]。双条杉天牛是否象类加州十齿小蠹一样存在聚集信息素,需要进一步研究双条杉天牛后肠及虫粪提取物的电生理活性及行为反应活性。初步的触角电位研究表明,双条杉天牛对小蠹虫的聚集信息素成分小蠹烯醇、小蠹二烯醇和马鞭草烯醇有很

好的触角电位反应活性(表 2)。(3)研究用的诱芯载体是特殊工艺制作的塑料小瓶,对萜烯类化合物的释放速率约是 100 mg \cdot 24 h⁻¹。这种释放速率是否高于林间寄主植物的背景气味,是否达到天牛嗅觉的检测阈值,需要进一步研究。

表 2 双条杉天牛雌虫和雄虫对寄主植物气味或小蠹虫信息素的触角电位反应

刺激物	纯度/ %	刺激量/ μ L	触角电位反应 (毫伏数,平均数 \pm 标准偏差)		T 检验 (雌虫:雄虫)
			雌虫(N=12)	雄虫(N=12)	
无水乙醇 Alcohol	99.7	1	0.04 \pm 0.05	0.10 \pm 0.09	NS
正戊醇 n-Pentanol	98	1	0.37 \pm 0.39	1.06 \pm 0.73	NS
仲戊醇 Sec Amyl alcohol	95	1	0.24 \pm 0.27	0.64 \pm 0.50	NS
异戊醇 isopentanol	98.5	1	0.14 \pm 0.20	0.22 \pm 0.13	NS
正己醇 Hexanol	98	1	0.84 \pm 0.64	1.44 \pm 1.10	NS
DL-3-甲基-2-丁醇 DL-3-methyl-2-butanol	98	1	0.22 \pm 0.18	0.18 \pm 0.12	NS
2-甲基-3-丁烯-2-醇 2-methyl-3-buten-2-ol	98	1	0.09 \pm 0.06	0.08 \pm 0.05	NS
2-乙基-1-己醇 2-ethyl-1-Hexanol	99	1	1.34 \pm 0.53	0.99 \pm 0.62	NS
1-辛烯-3-醇 1-Octen-3-ol	98	1	2.00 \pm 0.52	1.16 \pm 0.61	NS
正戊醛 1-Pentanal	98	1	0.10 \pm 0.08	0.05 \pm 0.05	NS
正己醛 Hexanal	96	1	0.19 \pm 0.30	0.33 \pm 0.18	NS
壬醛 Nonanal	95	1	0.32 \pm 0.36	0.55 \pm 0.17	NS
辛醛 Octanal	99	1	0.51 \pm 0.30	0.53 \pm 0.23	NS
R(+)- α -蒎烯 (1R)-(+)-Alpha-Pinene	98	1	0.50 \pm 0.10	0.38 \pm 0.26	NS
S(-)- α -蒎烯 (1S)-(-)-Alpha-Pinene	98	1	0.19 \pm 0.18	0.07 \pm 0.11	NS
(1S)-(-)- β -蒎烯 (1S)-(-)-Beta-Pinene	98	1	0.98 \pm 1.17	0.16 \pm 0.09	NS
(+)-柠檬烯(+)-Limonene	95	1	0.44 \pm 0.05	0.29 \pm 0.23	NS
(-)-柠檬烯(-)-Limonene	92	1	1.37 \pm 1.44	0.53 \pm 0.29	NS
月桂烯 Myrcene	90	1	0.65 \pm 0.60	0.16 \pm 0.15	NS
(+)-3-葑烯(+)-3-Carene	东京化成	1	0.61 \pm 0.44	0.23 \pm 0.21	NS
-松油烯 alpha-Terpinene	90	1	0.75 \pm 0.66	0.29 \pm 0.21	NS
-松油烯 gamma-Terpinene	98+	1	0.22 \pm 0.16	0.19 \pm 0.16	NS
莰烯 Camphene	95	1	0.47 \pm 0.52	0.21 \pm 0.05	NS
侧柏醇 Thujanol	92	1	1.73 \pm 0.58	1.34 \pm 0.98	NS
P-伞花烃 P-Cymene	99+	1	0.41 \pm 0.34	0.09 \pm 0.05	NS
香桉烯 Sabinene	98	1	2.24 \pm 0.82	0.89 \pm 0.62	NS
小蠹烯醇 Ipsenol	ICN	1	1.22 \pm 0.51	0.26 \pm 0.26	*
小蠹二烯醇 Ipsdienol	ICN	1	1.83 \pm 0.90	0.45 \pm 0.29	NS
3-甲基-2-环己烯-1-醇 3-methyl-2-cyclohexen-1-ol	96	1	2.63 \pm 1.74	1.21 \pm 0.88	NS
3-甲基-2-环己烯-1-酮 3-methyl-2-cyclohexen-1-one	98	1	2.69 \pm 2.04	1.17 \pm 0.88	NS
马鞭草烯酮 L(-)-Verbenone	94	1	1.27 \pm 0.58	0.40 \pm 0.34	NS
马鞭草烯醇 (s)-cis-Verbenol	95	1	0.81 \pm 0.23	0.44 \pm 0.32	NS

表示雌雄虫触角电位值经 T 检验(双尾)在 $\alpha = 0.05$ 的水平下没有显著差异。

表示雌雄虫触角电位值经 T 检验(双尾)在 $\alpha = 0.05$ 的水平下有显著差异。

不同的采样方法所获得的寄主植物成分是有差异的(表 1)。顶空吸附采样只采集到挥发性绿叶成分和单萜烯成分,这种采样方法能够真实反应寄主植物周围的挥发性成分,且采集到的化合物明显少于固相微萃取和水蒸汽蒸馏两种采样方法。但是如果采样条件控制不严格或没有选用适宜的吸附剂,

会造成微量成分的缺失,难以比较不同处理间的差异。奇怪的是固相微萃取和水蒸汽蒸馏两种方法都没有检测到挥发性绿叶成分,这可能是由于样品前处理时或水蒸汽蒸馏方法反应条件剧烈造成易挥发的小分子量的绿叶成分损失掉了。固相微萃取与常规的水蒸汽蒸馏方法相比,两种采样方法都采集到

了大量的倍半萜及其氧化物,采样效果差异不大。但固相微萃取采样方法操作简单、方便,优于水蒸汽蒸馏采样。

对双条杉天牛触角电位比较研究,筛选出触角电位反应强烈的化合物如1-辛烯-3-醇、2-乙基-1-己醇、香桉烯、侧柏醇和(-)-柠檬烯等,然后进一步研究双条杉天牛对这些化合物的生物学特性,确认寄主植物挥发性成分中对双条杉天牛重要的化合物,可能获得有效的双条杉天牛植物引诱剂,从而降低林间设置饵木诱集监测双条杉天牛的工作量,为双条杉天牛大面积综合治理奠定基础。

参考文献:

- [1] 肖刚柔. 中国森林昆虫[M]. 北京:中国林业出版社,1992:500~501
- [2] 周至明,王葶哲. 北京地区双条杉天牛的发生及防治[J]. 林业科学(昆虫专辑),1983:124~125
- [3] 蔡世民,黄平一,黄竞芳. 侧柏提取物对双条杉天牛引诱作用的初步研究(D)[J]. 北京林业大学学报,1989,11(3):71~78
- [4] 孙月琴,骆有庆,金幼菊,等. 侧柏挥发性物质的采集与鉴定[A]. 见:吴孔明,陈晓峰. 昆虫学研究进展[M]. 北京:中国科学技术出版社,2000:220~224
- [5] 孙月琴,骆有庆,金幼菊,等. 侧柏挥发性物质对双条杉天牛引诱作用的初步研究[A]. 见:吴孔明,陈晓峰. 昆虫学研究进展[M]. 北京:中国科学技术出版社,2000:225~230
- [6] Wood W F, Archer C L, Largent D L. 1-Octen-3-ol, a banana slug antifeedant from mushrooms[J]. Biochem Syst Ecol, 2001, 29: 531~533
- [7] Schlyter F, Zhang Q H, Anderson P, et al. Electrophysiological and behavioural responses of pine shoot beetles, *Tomicus piniperda* and *T. minor* (Coleoptera: Scolytidae), to non-host leaf and bark volatiles[J]. The Canadian Entomologist, 2000, 132: 965~981
- [8] Blight M M, Pickett J A, Wadhams L J, et al. Antennal perception of oilseed rape, *Brassica napus* (Brassicaceae) volatiles by the cabbage seed weevil *Ceutorhynchus assimilis* (Coleoptera: Curculionidae)[J]. J Chem Ecol, 1995, 21: 1649~1664
- [9] Borden J H, Wilson I M, Gries R, et al. Volatiles from the bark of trembling aspen, *populus tremuloides* Michx. (Salicaceae) disrupt secondary attraction by the mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins (Coleoptera: Scolytidae)[J]. Chemecology, 1998, 8: 69~75
- [10] Zhang Q H, Schlyter F, Birgersson G. Bark volatiles from non-host deciduous trees of spruce bark beetle, *Ips typographus* (L.) (Coleoptera: Scolytidae): Chemical and electrophysiological analysis[J]. Chemecology, 2000, 10: 69~80
- [11] Borden J H, Chong L J, Savoie A, et al. Responses to green leaf volatiles in two biogeoclimatic zones by striped ambrosia beetle, *Trypor dendron lineatum*[J]. J Chem Ecol, 1997, 23: 2479~2491
- [12] Borden J H, Chong L J, Earle T J et al. Protection of lodgepole pine from attack by the mountain pine beetle *Dendroctonus ponderosae* (Coleoptera: Scolytidae) using high doses of verbenone in combination with nonhost bark volatiles[J]. The forestry chronicle, 2003, 79: 685~691
- [13] Visser J H. Host odor perception in phytophagous insects. Annu Rev Entomol, 1986, 31: 121~144
- [14] Wood D L, Browne L E, Silverstein R M, et al. Sex pheromones of bark beetles. I. Mass production, bio-assay, source and isolation of the sex pheromones of *Ips confusus* (LeC.) [J]. J Insect Physiol, 1966, 12: 523~536
- [15] Wood D L, Bushing R W. The olfactory response of *Ips confusus* (LeC.) to the secondary attraction in the laboratory[J]. Can Entomol, 1963, 95: 1066~1078
- [16] Silverstein R M, Rodin J O, Wood D L. Sex attractants in frass produced by male *Ips paraconfusus* in ponderosa pine[J]. Science, 1966, 154: 509~510
- [17] Byers J A, Wood D L, Browne L E, et al. Relationship between a plant compound myrcene and pheromone production in the bark beetle *Ips paraconfusus*[J]. J Insect Physiol, 1979, 25:477~482
- [18] Hendry L B, Piatek B, Browne L E, et al. *In vivo* conversion of a labelled host plant chemical to pheromone of the bark beetle *Ips paraconfusus*[J]. Nature, 1980, 284:485
- [19] Byers J A. Pheromone biosynthesis in the bark beetle *Ips paraconfusus* during feeding or exposure to vapors of host plant precursors[J]. Insect Biochem, 1981, 11: 563~569
- [20] Renwick J A A, Hughes P R, Krull I S. Selection production of *cis* and *trans*-verbenol from (-) and (+) alpha pinene by a bark beetle[J]. Science, 1976, 191: 199~201