棉红铃虫性信息素中异构体比例的测定

朱育新 吴元伟 郭广忠 谈忠兴 林国强 周维善

(中国科学院上海有机化学研究所)

李文谷

(中国科学院上海昆虫研究所)

棉红铃虫 (*Pectinophora gossypiella* Saund.) 性信息素的结构,已在 1973 年由 Hummel 等用了 120 万头蛾子,鉴定为顺,顺-和顺,反-7,11-十六双烯-1-醇乙酸酯 (7,11-16:OAc) 的两个几何异构体 (1a 和 1b)^[1]:

并由田间试验表明 1a 和 1b 的等量混合物,对雄蛾有较强的引诱活性^[1,2]。我们用合成的棉红铃虫性信息素^[3a,b],在历年的田间试验中,却观察到 1a 的含量略高于 1b,例如 1a:1b 为 60:40,对雄虫的引诱活性更佳。在非洲也有人发现,1a 和 1b 的比例为 55—60:45—40 时,在田间的诱蛾效果优于其它比例^[4]。据此,我们进行了棉红铃虫性信息素组分比例的测定。为避免耗用大量的昆虫进行分离和鉴定,我们采用了摘取雌蛾性信息素腺体漂洗^[5]和气-质检测方法。从昆虫腺体(产卵器)中^[6]直接分离信息素,可省去大量昆虫的收集和冗长的分离步骤。有时性信息素腺体漂洗液可不必纯化,直接用于气相层析或质谱检测,并且又不致遗漏其它组分。近年来用此法已发现了若干性信息素的新组分或其它有关化合物。在我们的实验中,每批雌蛾用量仅为 50—100 头。

方法和材料

气-质联机型号: JMSD 300-JMA 2000。气相层析柱: (1) 5% OV-1 的玻璃柱 (1.4 米 × 2.7 毫米或 1 米 × 2.7 毫米)。 (2) 3% XE-60 的玻璃柱 (4 米 × 2.0 毫米)。 (3) 用 DEGS 涂复的 Scot 毛细管柱 (40 米 × 0.25 毫米玻璃柱)。

标准样品 1a (Z_7 , Z_{11-16} :OAc) 和 1b (Z_7 , E_{11-16} :OAc), 2a (Z_7 , Z_{11-16} :OH), 2b (Z_7 , E_{11-16} :OH) 系由我所合成,经气相层析鉴定其纯度大于 95%。1c (E_7 , Z_{11-16} :OAc) 和 1d (E_7 , E_{11-16} :OAc) 由江苏省金坛昆虫激素研究所合成。所用的有机溶剂均为分析纯级,再经二次重蒸。

棉红铃虫雌蛾(先是用交配过和未交配过的混合雌蛾,以后又将交配前、后的雌蛾分别处理),由越冬代滞育幼虫经加温 (28—30℃) 羽化后 2—4 天,以手压挤出雌蛾性信息素腺体,用小镊子连产卵器一起摘取后置于有机溶剂中,漂洗 1—2 分钟后滤出清液。越冬代雄蛾蛹羽化

本文 1980 年 9 月 29 日收到。

后,剪取其触角,作触角电位谱 (EAG) 用^[7]。

结 果

(1) 1 (7, 11-16:OAc) 和 2 (7, 11-16:OH)* 的鉴定

1 a. Z₇, Z₁₁ b. Z₇, E₁₁

2 a. Z₇, Z₁₁ b. Z₇, E₁₁

雌蛾腺体的乙醚漂洗液和漂洗液经柱层析收集的活性馏分,所作的 EAG (图 1a、1b) 表明,乙醚漂洗液和经柱层析后的活性馏分有特征的 EAG 感应。

图 1 棉红铃虫雄蛾的 EAG

(1 横格=0.5 秒, 1 纵格=1 毫伏)

- a. 乙醚漂洗液;
- b. 柱层析后活性馏份, 10FE**;
- c. 合成的性信息素 1, 1 微克

图 2 OV-1 柱气相层析图

- a. 雌蛾腺体漂洗液;
- b. 合成品 (1+2).
- 1. 7, 11-16:OAc;
- 2. 7, 11-16:OH

将上述漂洗液 (1 微升、5FE) 直接作气相层析 (图 2 a), 同合成品 (图 2 b) 的保留时间 t_R

对照, 图 2 a 中的主峰即化合物 1, 经测算每头雌蛾约含 10 毫微克; 另一弱峰系 1 的羟基化合物 2, 其含量甚微。

将漂洗液注入 OV-1 柱的气-质联机中作多离子 (MID) 检测, 进样量为 0.1 FE. 并分别选择 1 和 2 的分子离子峰 m/e 280 和 238, 及一般长碳链脂肪醇乙酸酯的特征离子 m/e 61 作检测离子 (图 3 a). 可以观察到在图 3 a 中的 m/e 280 和 61 的 t_R 值同图 3 b 中合成品 1 的相应检测离子的 t_R 值完全相同; 图 3 a 中的 m/e 238 的 t_R 值和图 3 b 中合成品 2 的也完全一致. 由此证明了在雌蛾性信息素腺体中存在着 1 和 2. 再从 5 FE 乙醚漂洗液所得质谱 (图 4 a、c) 和标准品 1, 2 的质谱 (图 4 b、d) 比较. 确证在腺体中的两个组分为 1 和 1 的羟基化合物 2.

(2) 交配后雌蛾腺体中信息素组分的含量测定

由于 2 在雌蛾腺体中存在量甚微且不恒定, 因此估计 1 和 2 的含量与雌蛾交配前后的时间有关. 于是把交配和未交配的雌蛾腺体漂洗液, 分别作气-质谱. 除选择分子

图 3 OV-1 柱多离子检测的质量色谱图

(柱温 140℃, 汽化温度 230℃, 离子源温度 180℃, 联接管温度 150℃, He 气压力 0.8 公斤)

- a. 雌蛾腺体漂洗液 0.1 FE;
- b. 1 和 2 合成品各 1 毫微克

* 系 1 a、1 b 和 2 a、2 b 的混合物。

** FE=雌蛾当量。

图4 质谱图 70 eV

a. 性信息素 17,11-16:OAc; b. 合成品 17,11-16:OAc; c. 性信息素 27,11-16:OH; d. 合成品 27,11-16:OH

离子 m/e 280 外,还选择特征离子 m/e 220 (M^+-60) 61、81 和 55 来检测 1; 选择 m/e 238、220、81、55 来检测 2。从合成品 1、2 的质量色谱(图 5a)和交配前、后的雌蛾腺体漂洗液的质量色谱(图 5b、c)中,各检测离子的 t_R 值及 TIM (总离子流)的峰面积比,证明在交配后雌蛾腺体中存在着约 80% 的 2 和 20% 的 1(图 5b);而未交配的雌蛾腺体中只有 1,即使有 2 存在也由于含量极低而检测不出。由此可知 2 是雌蛾在交配后所产生的。

图5 OV-1 柱的多离子检测的质量色谱图(柱温 150℃, 其它条件同图 4)

a. 合成品 1+2; b. 交配后雌蛾腺体漂洗液 10FE; c. 未交配的雌蛾腺体漂洗液 10FE

(3) 1a 和 1b 以及 2a 和 2b 的比例测定

取 100FE 未交配过雌蛾的乙醚漂洗液,先经过硅胶层析初步纯化,再通过微量制备气相层析纯化,并以 EAG 跟踪活性馏分,最后得到总量为 800 毫微克的性信息素。

取上述纯化之性信息素正己烷液 1.25 微升 (12.5 FE, 100 毫微克)作 DEGS 毛细管柱气-质谱。取 m/e 280, 220, 81 和 61 为检测离子作质量色谱(图 6b)。可以看到,经毛细管柱分离后,原来在 OV-1 柱出现的一个峰(图 5c)被清楚地分离成两个峰,其 t_R 值分别为 27.2 分和 25.8 分。经和合成品 (1a、1b、1c、1d 的 t_R 值分别为 27.2、25.8、26.4 和 24.8 分)对照(图 6a),证实在未交配过雌蛾腺体中得到的两个峰,即是 1 的几何异构体 1a 和 1b,且检测不到另外两个几何异构体 1c 和 1d。又根据图 7b 中总离子流和各检测离子的峰面积之比,证明 1a 和 1b 之比为 58—55:42—45。用 XE-60 作交配过的雌蛾腺体漂洗液的质量色谱,可证明 2a 和 2b 的比也是 58—55:42—45(图 7)。

图6 毛细管柱的多离子检测的质量色谱图

(DEGS 柱, 柱温 175℃, 汽化温度 250℃, 离子源温度 180℃, 联接管温度 150℃, He 气压力 2 公斤, 无分流注射 1.25 微升)

- a. 合成品, 各 50 毫微克: 1a Z_7 , $Z_{11-16}:OAc$ t_R 27.2 分; 1b Z_7 , $E_{11-16}:OAc$ t_R 25.8 分;
1c E_7 , $Z_{11-16}:OAc$ t_R 26.4 分; 1d E_7 , $E_{11-16}:OAc$ t_R 24.8 分。
b. 雌蛾腺体漂洗液 12.5 FE, 100 毫微克

图7 XE-60 柱多离子检测的质量色谱图

(柱温 160℃, 汽化温度 250℃, 离子源温度 180℃, 联接管温度 150℃, He 气压力 1.4 公斤)
进样: 雌蛾腺体漂洗液 25 FE, 200 毫微克

(4) 2 对 1 的抑制作用

为了解化合物 2 在棉红铃虫行为学上的作用以及对化合物 1 在引诱雄蛾效应上的影响,

表1 2,7,11-16:OH 对 1,7,11-16:Ac 的抑制作用试验

样品(微克)		诱蛾量*				总 计	抑制率(%)
1,7,11-16:AC 2,7,11-16:OH		1	2	3	4		
30	0	36	79	35	98	248	0
30	0.5	3	7	11	26	47	81.0
30	2.5	0	4	0	2	6	97.6
30	10.0	0	2	2	0	4	98.4

* 每一水盆诱捕器两夜的累计诱蛾数 (1980 年 8 月)。

我们首先作了 EAG 试验,表明雄蛾对 2 无明显 EAG 感应。田间试验中 2 对 1 的抑制作用见表 1。每一诱捕器置 30 微克 1, 4 次重复,两天共诱蛾 248 头;而在诱捕器中掺进 0.5 微克 2 后,诱蛾量急剧下降,至 47 头,抑制率达到 81%;当加进 2.5 微克和 10 微克 2 后,则几乎完全抑制了 1 的引诱雄蛾活性。联系到上述在交配过雌蛾腺体中 2 含量大于 1,说明 2 很可能是雌蛾在交配后所产生的天然性信息素的抑制剂。

结 语 和 讨 论

我们通过摘取棉红铃虫雌蛾性信息素腺体以及气-质分析,证明在性信息素腺体中,化合物 1a 的含量高于化合物 1b,其比例为 58—55/42—45。此结果同我们历年来田间试验的结果相符。此外还发现存在着化合物 1 的羟基化合物 2,并证明 2 是雌蛾在交配后生成的。田间试验证明,2 是棉红铃虫性信息素的天然抑制剂,它的存在强烈地抑制了化合物 1 对雄蛾的引诱作用。由于交配过棉红铃虫雌蛾的求偶率明显下降,可保证较多的雄蛾飞向未交配过的雌蛾。这在棉红铃虫的进化过程中,对保证种的延续和繁殖具有适应性意义(特别是在低种群密度情况下)。关于在体内醇化合物 2 的产生,可能是由一种酶使其乙酰基化合物 1 水解而成的。这种酶似由交配刺激而发生的。但尚待实验证明。棉红铃虫雌蛾在交配后分泌的这种信息素 2,有可能作为田间防治手段,来抑制雌、雄蛾间的交配^[8]。

参 考 文 献

- [1] Hummel, H. E., Lyle, K. et al., *Science*, 181(1973), 873.
- [2] Bierl, B. A., Beroza, M., *J. Econ. Entomol.*, 67(1974), 211.
- [3] a. 周维善,化学通报, 1975, 1:41.
b. 中国科学院上海有机化学研究所、上海昆虫研究所,化学学报, 38(1980), 584.
- [4] Henrick, C. A., *Tetrahedron*, 33(1977), 1845.
- [5] Klun, J. A., Plimmer, J. R. et al., *Science*, 204(1979), 1328.
- [6] Hill, A. S., *J. Chem. Ecol.*, 3(1977), 369.
- [7] Roelofs, W. L. & Someau, A., *J. Insect Physiology*, 17(1971), 1969.
- [8] Klun, J. A., Chapman, O. L. et al., *Science*, 181(1973), 661.