

## О ВЫДЕЛЕНИИ ПОЛОВОГО ФЕРОМОНА КОЛЬЧАТОГО ШЕЛКОПРЯДА *MALACOSOMA NEUSTRIA L.*

Г. Г. МЕЛИКЯН, Б. Г. КОВАЛЕВ, В. П. КОНЮХОВ, Г. Х. АЗАРЯН  
и Ш. О. БАДАНЯН

Институт органической химии АН Армянской ССР, Ереван  
Всесоюзный научно-исследовательский институт биологических методов  
защиты растений, Кишинев

Институт защиты растений МСХ Армянской ССР, Ереван

Поступило 27 XI 1979

Экстракт, полученный из последних сегментов брюшек половозрелых самок кольчатого шелкопряда *Malacosoma neustria L.*, анализирован методом ГЖХ на колонках с НЖФ SE-30 и XE-60. Проведена микропрепаративная газовая хроматография с последующим тестированием отобранных фракций методом электроантеннографии (ЭАГ) и в туннельном ольфактометре. Совокупностью методов ГЖХ и ЭАГ показано, что половой феромон является смесью двух соединений — децен-1-илацетата и додецен-1-ола с предположительной *цис*-конфигурацией двойных связей в положении 5.

Рис. 4, библиографические ссылки 6.

Кольчатый шелкопряд *Malacosoma neustria L.* — один из широко распространенных вредителей, повреждающих все плодовые и многие лесные породы [1]. Распространен в Палеарктике, в европейской части СССР (кроме Крайнего Севера), на Кавказе, Дальнем Востоке и в Сибири. Необходимость эффективной борьбы с кольчатым шелкопрядом обусловила проведение настоящей работы по выделению полового феромона данного вида.

Биоматериал в виде куколок был собран в природе в Севанском районе Армянской ССР.

Суточную активность и время наступления половой зрелости самок кольчатого шелкопряда определяли поведенческими реакциями в туннельном ольфактометре. Массовый направленный полет самцов на самок однодневного возраста наблюдали в промежутке с 12.00 до 14.00 час. Для извлечения полового феромона препарировали последние сегменты брюшек однодневных половозрелых самок, содержащие железу, продуцирующую феромон, и экстрагировали их хлористым метиленом.

ГЖХ анализ сырого экстракта проводили на колонке с неполярной НЖФ SE-30 в комбинированном температурном режиме (рис. 1), а микропрепаративную газовую хроматографию проводили с отбором 2-минутных фракций, которые тестировали методом ЭАГ [2, 3]. Наи-



больший ответ антенн самцов наблюдали для фракций 4—6 и 6—8 мин. (рис. 1), проявивших высокую аттрактивность при тестировании в ольфактометре. По ГЖХ картине сырого экстракта в области 4—8 мин. имеются два пика. ГЖХ анализ активных фракций 4—6 и 6—8 мин. на колонке с SE-30 показал наличие двух пиков с временами удерживания 4,8 и 7,8 мин. (рис. 2).

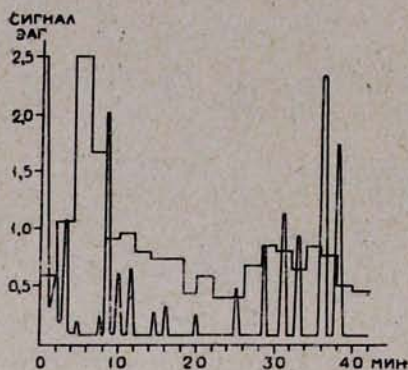


Рис. 1. Хроматограмма сырого экстракта на колонке с SE-30 при температурном режиме  $16,5^{\circ}$  ( $36 \text{ мин.}$ ),  $16,5 \rightarrow 210^{\circ}$  ( $4^{\circ}/\text{мин}$ ) и ответы антенн самцов на 2-минутные фракции.

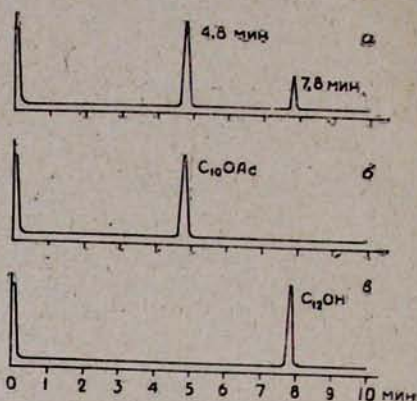


Рис. 2. Анализ ГЖХ активной фракции 4—6 мин. (а), децен-1-илацетата (б) и додецен-1-ола (в) на колонке с SE-30 при  $160^{\circ}$ .

Известно, что среди половых феромонов насекомых отряда *Lepidoptera* преобладают высшие непредельные спирты и ацетаты с нормальной углеродной цепью [4, 5]. Поэтому для предварительной оценки природы выделенных активных компонентов полового феромона проводили параллельный ГЖХ анализ первичных непредельных спиртов и их ацетатов, а также альдегидов с нормальной цепью из 12—18 углеродных атомов. Оказалось, что два пика, присутствующие по ГЖХ во фракциях 4—6 и 6—8 мин., по временам удерживания совпадают соответственно с  $C_{10}$ -ацетатом и  $C_{12}$ -спиртом (рис. 2).

Для подтверждения проведенной качественной идентификации активных компонентов полового феромона проводили ГЖХ анализ сырого экстракта на колонке с НЖФ средней полярности ХЕ-60 в комбинированном температурном режиме (рис. 3). При микропрепаративном разделении отбирали 1-минутные фракции, тестированием которых методом ЭАГ получена кривая с двумя максимумами при 4—5 и 9—11 мин. (рис. 3). В указанных условиях ГЖХ эксперимента времена удерживания заведомых  $C_{10}$ -ацетата и  $C_{12}$ -спирта составляют соответственно 4,4 и 10,2 мин. Активные фракции 4—5 и 9—11 мин. идентифицированы с  $C_{10}$ -ацетатом и  $C_{12}$ -спиртом и на колонке с SE-30, причем времена удерживания при  $150^{\circ}$  составляют соответственно 7,5 и 10,6 мин.



Для предварительной оценки природы двойных связей активных компонентов проводили ЭАГ тестирование синтетических изомеров положения и геометрических изомеров децен-1-илацетатов и додецен-1-олов (рис. 4). Наибольший отзет антенн самцов наблюдался на *цис*-5-децен-1-илацетат и *цис*-5-додецен-1-ол.

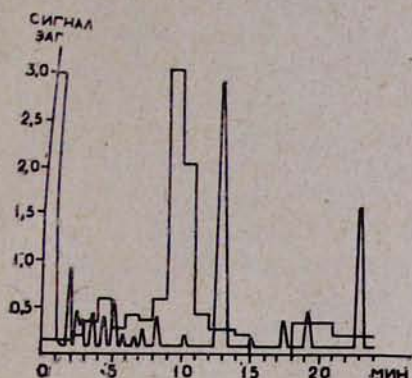


Рис. 3. Хроматограмма сырого экстракта на колонке с ХЕ-60 при температурном режиме  $14^{\circ}$  (15 мин.)  $140 \rightarrow 210^{\circ}$  ( $2^{\circ}/\text{мин}$ ) и ответы антенн самцов на 1- и 3-минутные фракции.

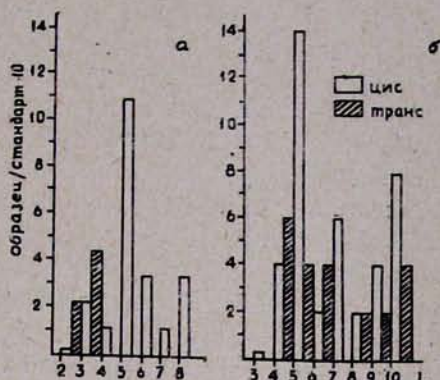


Рис. 4. Нормализованные ответы антенн самцов на ряды синтетических децен-1-илацетатов (а) и додецен-1-олов (б) с различным положением двойной связи (L).

Таким образом, половой феромон кольчатого шелкопряда *Malacosoma neustria* L. является смесью двух соединений — децен-1-илацетата и додецен-1-ола, с предположительной *цис*-конфигурацией двойных связей в положении 5. Работа по окончательному установлению структуры обоих компонентов полового феромона будет продолжена.

### Экспериментальная часть

Анализ ГЖХ проводили на хроматографе «Хром-41» с пламенно-ионизационным детектором на стеклянных колонках длиной 2,5 м и внутренним диаметром 3 мм, наполненных 5% SE-30 и 4% ХЕ-60 на хроматоне N-AW-DMCS (0,200—0,250 мм). Газ-носитель — азот, 45 мл/мин. Антеннограммы записывали по методике и на установке, аналогичным описанным в работе [6]. Сигналы ЭАГ — средние от трех измерений — приведены в мВ и нормализованы по формуле, описанной в [3].

*Определение суточной активности самок кольчатого шелкопряда.* В туннельном ольфактометре поочередно помещали самцов 1- и 2-дневного возраста и самок 1-, 2- и 3-дневного возраста. Поведение особей изучали в промежутке времени с 10-00 до 17-00 час. каждые 30 мин. Интенсивный лет самцов наблюдали с 12-00 до 14-00 час. на самок 1-дневного возраста. Двух- и трехдневные самки привлекали самцов, но в значительно меньшей степени. В процессе работы поведенческие тес-



ты проводили с 1-дневными самцами, отличающимися наибольшей активностью.

*Получение сырого экстракта.* Экстракцию последних сегментов брюшек однодневных самок проводили хлористым метиленом при  $+4^{\circ}$ . Продолжительность экстракции составляла 24 часа. Стандартная методика состояла в фильтровании раствора через слой ваты, промывании остатка небольшим количеством растворителя и упаривании фильтрата до определенного объема. Тестирование в ольфактометре показало высокую аттрактивность сырого экстракта, нанесенного на фильтровальную бумагу. Последнюю сохранили в качестве эталона в герметичной посуде на холоду.

*Определение применимости метода ГЖХ.* Для проверки устойчивости активных компонентов полового феромона в условиях ГЖХ анализа вводили сырой экстракт из 30 самок в колонку с SE-30 при  $180^{\circ}$  и собирали компоненты на выходе колонки в стеклянный капилляр длиной 30 см, внутренним диаметром 1 мм, охлажденным до  $-80^{\circ}$ . Содержимое капилляра тщательно смывали эфиром, эфирный слой нанесли на фильтровальную бумагу, тестирование которой в ольфактометре показало высокую аттрактивность, сравнимую с активностью сырого экстракта. На основании этого в качестве рабочего метода был выбран метод газо-жидкостной хроматографии.

Для аналитической ГЖХ использовали экстракт, полученный из 3 самок и растворенный в 1 мкл сероуглерода.

Микропрепаративной газовой хроматографии подвергали сырой экстракт, полученный из 30 самок и растворенный в 10 мкл сероуглерода. Одно- и двухминутные фракции отбирали в охлажденные стеклянные капилляры указанных выше размеров.

## ՕՂԱԿԱՎՈՐ ՄԵՏԱՔՍԱԳՈՐԾԻ MALACOSOMA NEUSTRIA L. ՍԵՌԱԿԱՆ ՖԵՐՈՄՈՆԻ ԱՆՋԱՏՄԱՆ ՄԱՍԻՆ

Գ. Գ. ՄԵԼԻՔՅԱՆ, Բ. Գ. ԿՈՎԱՅՈՎ, Պ. Վ. ԿՈՆՅՈՒԿՈՎ,  
Գ. Խ. ԱԶԱՐՅԱՆ և Շ. Հ. ԲԱԴԱՆՅԱՆ

Օղակավոր մետաքսագործի սեռահասուն էգերի փորրիկի վերջին սեզմենտներից ստացված էքստրակտը հետազոտված է զազ-հեղուկային ըրոմատոգրաֆիայի մեթոդով SE-30 և XE-60 հեղուկ ֆազաներով լցված աշտարակների վրա: Միկրոպրեպարատիվ զազային ըրոմատոգրաֆիայի օգնությամբ անշտոված են մեկ- և երկուրոպեանոց ֆրակցիաներ, որոնք ուսումնասիրված են թունելային օլֆակտոմետրում և էլեկտրոնտենոգրաֆիայի մեթոդով: Գազ-հեղուկային ըրոմատոգրաֆիայի և էլեկտրոնտենոգրաֆիայի տվյալների հիման վրա գտնված է, որ օղակավոր մետաքսագործի սեռական ֆերոմոնը բաղկացած է երկու նյութից՝ ցիս-5-դեցեն-1-իլ ացետատից և ցիս-5-դոդեցեն-1-ոլից:



# THE ISOLATION OF THE SEX PHEROMONE OF MALACOSOMA NEUSTRIA L.

G. G. MELIKIAN, B. G. KOVALYOV, V. P. KONYUKHOV,  
G. Kh. AZARIAN and Sh. O. BADANIAN

The extract obtained from the abdominal last segment of the puberty females of *Malacosoma Neustria* L has been studied by GLC on two columns equipped with SE-30 and XE-60. One- and two-minute fractions have been isolated by micropreparative gas chromatography and tested by electroantennographic (EAG) method and in a tunnel olfactometer. It has been established, based on GLC and EAG data, that the sex pheromone of *Malacosoma Neustria* L. contains two compounds, i. e. decen-1-yl acetate and dodecen-1-ol with a supposed *cis*-configuration of the double bonds in the positions 5.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений, под ред. акад. В. П. Васильева, т. II, Изд. «Урожай», Киев, 1974, стр. 354.
2. W. L. Roelofs, J. P. Tette, E. F. Taschenberg, A. J. Comeau, *Insect. Physiol.*, 17, 2235 (1971).
3. В. А. Миняйло, Б. Г. Ковалев, В. Д. Бедный, в сб. «Хеморецепция насекомых», № 3, Вильнюс, 1978, стр. 97.
4. C. A. Henrick, *Tetrah.*, 33, 1845 (1977).
5. R. Rossy, *Synthesis*, 1977, 817.
6. W. L. Roelofs, A. J. Comeau, *Insect. Physiol.*, 17, 1969 (1971).