

华山松大小蠹成虫粪便挥发性物质分析

吴绍平, 陈 辉*, 吴 琼

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要:采用固相微萃取(SPME)和气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术,对华山松大小蠹(*Dendroctonus armandi* Tsai et Li)成虫新鲜粪便和华山松韧皮部中的挥发性物质进行了分析。结果表明,华山松大小蠹雌雄成虫新鲜粪便和华山松韧皮部中挥发性物质以倍半萜类物质最多,其次是单萜类物质,而未见有二萜类物质,华山松大小蠹雌雄成虫粪便和华山松韧皮部中挥发性物质在成分和含量上都有较大差别,粪便中单萜类物质含量明显高于韧皮部,而倍半萜含量则低于韧皮部。此外,6,6-二甲基-2-甲氧基-双环[3.1.1]庚-2-烯、1,3,3-三甲基-2-羟基-双环[2.2.1]庚烷、2,3-二甲基-3-甲氧基-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷等 15 种挥发性物质仅存在于华山松大小蠹成虫粪便中;4,6,6-三甲基-(1s)-双环[3.1.1]庚-3-烯-2-酮、1,3,3-三甲基-2-酮-双环[2.2.1]庚烷、对位烯丙基-苯甲醚等 8 种挥发性物质只存在于雌性成虫粪便中;3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇、2,2,3-三甲基-1-乙氧基-3-环戊烯和二叔丁基对甲酚仅存在于雄性成虫粪便中。为下一步研究华山松大小蠹成虫对寄主华山松的选择性和华山松大小蠹信息素提供一定的理论基础。

关键词:华山松大小蠹粪便;挥发性物质;固相微萃取;气质联用

中图分类号:S763.38 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2012)05-0111-06

Volatile Compounds in the Frass of Adult Chinese White Pine Beetle

WU Shao-ping, CHEN Hui*, WU Qiong

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Volatile compounds from phloem of healthy Chinese white pine (*Pinus armandi* Franch) and fresh frass of Chinese white pine beetle (*Dendroctonus armandi* Tsai et Li) were extracted by solid-phase microextraction and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results show that the most substances were sesquiterpenes, followed by monoterpenes, no diterpenes were detected in frass and phloem. There was significant difference both in constituents and contents between beetle adult frass and trees phloem. The content of monoterpene was much more but the sesquiterpene was less in frass of Chinese white pine beetle than those in phloem of healthy Chinese white pine. Fifteen substances such as 6,6-dimethyl- bicyclo[3.1.1] hept-2-ene-2-carboxaldehyde, 1,3,3-trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 2,3-dimethyl-tricycle [2.2.1.0(2,6)] heptane-3-methanol, and so on were detected only in adult *D. armandi* frass, of which eight substances such as 4,6,6-trimethyl-(1S)-bicycle[3.1.1]hept-3-en-2-one, 1,3,3- trimethyl-bicycle[2.2.1]heptan-2-one, pallyl-anisole were only detected in female frass and 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol, 2,2,3-trimethyl-3-cyclopentene-1-acetaldehyde, butylated hydroxytoluene in male frass, which provided theoretical basis to the host selection of adults *D. armandi* to Chinese white pine and secretion of *D. armandi* pheromone.

收稿日期:2011-12-22 修回日期:2012-02-16

基金项目:国家林业公益性行业科研专项(201004077);国家自然科学基金项目(31170607);教育部长江学者和创新团队发展计划资助(IRT1035)。

作者简介:吴绍平,男,硕士研究生,研究方向:森林保护学。E-mail: wushaoping1986@163.com

* 通讯作者:陈辉,男,教授,主要研究方向:森林昆虫学。E-mail: chenhui@nwsuaf.edu.cn

Key words: *Dendroctonus armandi* frass; volatile compound; solid phase micro-extraction; GC-MS

华山松大小蠹(*Dendroctonus armandi* Tsai et Li)属鞘翅目,齿小蠹科,海小蠹亚科,大小蠹属,为我国特有种,分布于陕西、四川、甘肃、湖北和河南等地区,是我国秦岭巴山林区优质针叶树种华山松的毁灭性先锋害虫,主要选择入侵危害 30 a 以上的健康华山松主干,并在共生蓝变真菌(*Leptographium qinlingensis* Tang et Chen)的协同作用下,使被害树势迅速衰弱,诱发次生性小蠹虫的大量入侵危害^[1-3]。

小蠹虫作为全球森林生态系统内持续发生的重大害虫,能够充分利用寄主树木萜烯类挥发性化合物合成自身聚集信息素,以及在共生真菌的作用下合成抗聚集信息素和告警信息素,以达到对寄主树木韧皮部和木质部组织内种群数量的调节,并且可以通过粪便向外界传递,调节小蠹虫的行为^[3,10-11]。

到目前为止,尽管许多小蠹虫的信息素已被广泛研究和鉴定^[12-15,19-20],但对仅分布于我国的华山松大小蠹信息素及相关成分没有被充分地研究和揭示,严重制约了对华山松大小蠹种群密度和发生实施信息素控制。

固相微萃取(Solid Phase Microextraction, SPME)是目前被用于植物和昆虫信息素等挥发性物质研究常用的分析技术^[6-7],是在固相萃取的基础上发展而来。1989年由加拿大 C. L. Arthur^[4]等研究小组首次提出,该技术集吸附、浓缩、解析和进样于一体,以固体吸附材料为载体吸附待测物质,无需液体萃取溶剂,能与气相色谱和高效液相色谱实现在线联用^[5],与传统方法相比具有分析速度快、灵敏度高、重现性好等优点。丁保福^[9]等(2009)利用固相微萃取结合气质联用技术,对光肩星天牛幼虫虫粪挥发性成分进行了分析,在虫粪中发现了多种萜烯类化合物。

本研究旨在通过固相微萃取-气质联用技术,研究华山松大小蠹雌、雄成虫粪便与健康华山松韧皮部中挥发性物质在组成和含量上的差异,为进一步探索华山松大小蠹信息素合成与分泌、华山松大小蠹对寄主华山松的选择与韧皮部萜烯类物质的转化机制,以及对华山松大小蠹种群密度的信息素调控提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 采样地概况

华山松大小蠹样品采自秦岭火地塘林场,火地塘林场位于秦岭南坡宁陕县境内,地理坐标为

33°25'~33°29'N、108°25'~108°30'E,海拔 1 500~2 450 m,属于秦岭南坡山地温带气候。主要成林树种有华山松(*Pinus armandi*)、油松(*Pinus tabulaeformis*)、华北落叶松(*Larix principis-rupprechtii*)、锐齿栎(*Quercus aliena* var. *acuteserrata*)、红桦(*Betula albo-sinensis*)和牛皮桦(*Betula utilis*),其中华山松多以点、片状与油松、锐齿栎、红桦和牛皮桦构成混交林或形成华山松纯林。

1.2 样品处理

从野外砍伐韧皮部内含有华山松大小蠹幼虫的华山松木段,带回实验后,栽于装有沙子的盆中,用尼龙网罩住后室内培养,在培养过程中每天向树皮表面喷水 2~3 次以保持树皮湿润,待幼虫成熟并从树皮下飞出后,收集成虫。将刚羽化出飞的华山松大小蠹成虫按性别分别装入 2.5 mL 离心管中(离心管之前已扎孔,避免密闭环境导致华山松大小蠹的窒息),每个离心管中装入 4 只同性别的成虫,然后将新鲜健康华山松树皮韧皮部剪成 1 cm×2.5 cm(厚度约 2 mm)块状,沿 1 cm 边卷曲后塞入管中,并保持韧皮部卷层间空隙刚好适宜虫子钻入为宜。每种性别的成虫各收集 30 管,并在管壁标记雌雄,置于黑暗环境中 25℃饲养 48 h。分别收集离心管中雌雄虫的粪便各 1 g,并分别装入预先准备好的 3 mL 进样瓶中密封;同时取粉碎的健康华山松韧皮部 1 g 装入另一干净的进样瓶中密封,每个样品重复 3 次,室温下放置 4~6 h 后。将预先脱附处理的 PDMS 萃取头插入收集到的华山松大小蠹雌雄成虫粪便和健康华山松韧皮部样品瓶的顶部,25℃萃取 30 min,立即拔出萃取头插入色谱仪进样口(260℃)脱附 3 min。经气质联用仪分析和质谱计算机数据系统检索,通过核对标准质谱图确认各成分,用面积归一化法确证各成分相对含量。

1.3 气相色谱(gas chromatography, GC)与质谱(mass spectrometry, MS)

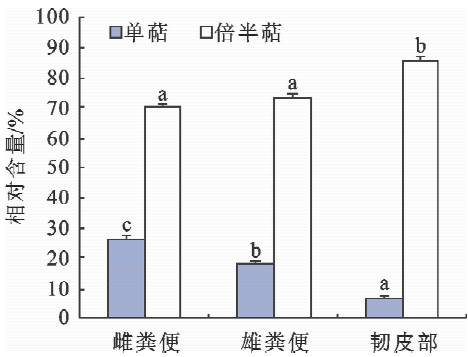
GC 条件:程序升温 40℃,保持 2.5 min;以 6℃/min 升至 240℃,保持 10 min;进样口 250℃;传输线 280℃;载气为 He,流速 1.0 mL/min。MS 条件:EI 源,70 eV;离子源温度 250℃,质量扫描范围 35~400 amu;发射电流 100 μA,检测电压 1.4 kV。质谱标准库:NIST 库。试验所用仪器为 TRACE DSQ GC-MS 联用仪(美国 Finnigan 公司);色谱柱:DB217 (30 m×0.25 mm×0.25 μm),弹性石英毛细管柱;手动固相微萃取装置(美国 Supelco 公司),100 μm PDMS 萃取纤维头。

1.4 数据处理及统计分析

利用 SPSS16.0 进行差异显著性分析(LSD),最低显著水平 $p\leq 0.05$ 。

2 结果与分析

华山松大小蠹雌雄成虫粪便和健康华山松韧皮部总离子流气相色谱图分别检测出色谱峰为 45 种、41 种和 32 种,单萜和倍半萜的含量和种类最多,占总挥发性物质的 91% 以上,但未检测到二萜物质,其中在华山松大小蠹雌性成虫粪便、雄性成虫粪便和健康华山松韧皮部中单萜含量分别为 26.05%、17.97% 和 6.7%,而倍半萜的含量分别为 70.17%、73.67% 和 85.81%。成虫粪便中的单萜含量明显高于韧皮部,而倍半萜含量却明显低于韧皮部($p=0.010$, $p=0.000$)(图 1);华山松大小蠹成虫粪便中单萜类物质种类也明显多于韧皮部,但倍半萜类物质种类差异不大(图 2)。



注:误差线代表标准误,不同字母表示差异显著($p\leq 0.05$)。
图 1 华山松大小蠹雌雄成虫粪便与健康华山松韧皮部中萜类物质含量的差异

Fig. 1 Difference of terpene contents between male and female *D. armandi* frass and healthy phloem of *P. armandi*

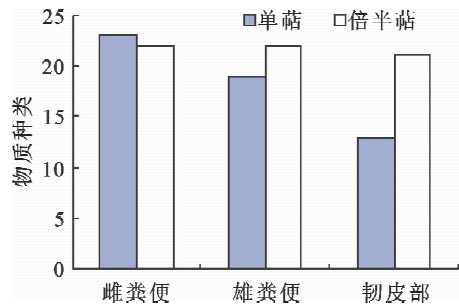


图 2 华山松大小蠹雌雄成虫粪便与健康华山松韧皮部中萜类物质种类差异

Fig. 2 Difference of terpene constituents between male and female *D. armandi* frass and phloem of healthy *P. armandi*

从健康华山松韧皮部挥发性物质主要成分可以看出,健康华山松韧皮部中单萜类物质主要包括 1R- α -蒎烯、4-甲基-1-(1-甲基乙基)-(R)-3-环己烯-1-醇和 6,6-二甲基-双环[3.1.1]-2-甲氧基-庚-2-烯等

13 种;倍半萜类物质主要包括十氢-4,8,8-三甲基-9-甲叉基-1,4-亚甲基萹、可巴烯和丁子香烯等 21 种(表 1)。这一结果与陈霞^[19]等(2005),李宗波^[18]等(2006)对华山松树脂和针叶挥发性物质的研究结果存在基本一致,但也存在一定差异,后者研究发现华山松树脂挥发油同时含有单萜、倍半萜和二萜三类物质,其中单萜类物质以 1R- α -蒎烯和 β -蒎烯含量最高,倍半萜类物质以三甲基十氢萹含量最高,二萜类物质主要为含量较少海松二烯和二萜烯。华山松大小蠹雌雄成虫粪便挥发性物质主要成分由 1R- α -蒎烯、1,7,7-三甲基-1R-双环[2.2.1]庚烷-2-酮、1,7,7-三甲基-双环[2.2.1]庚烷-2-醇、十氢-4,8,8-三甲基-9-甲叉基-1,4-亚甲基萹、可巴烯、丁子香烯等 48 种物质组成,其中华山松大小蠹雌雄成虫粪便中单萜类物质分别为 23 和 19 种,倍半萜均为 22 种。

尽管华山松大小蠹雌雄成虫粪便和华山松韧皮部单萜和倍半萜类挥发性物质组成上具有相似性,但在含量上存在明显差异。雌性成虫粪便中的 1R- α -蒎烯、 β -蒎烯、1-甲基-5-(1-甲基乙基)-环己烯、1,7,7-三甲基-1R-双环[2.2.1]庚烷-2-酮等 14 种物质和雄性成虫粪便中的 1R- α -蒎烯、 β -蒎烯、1-甲基-5-(1-甲基乙基)-环己烯等 13 种物质明显高于华山松韧皮部组织中的含量,而雌性成虫粪便中的 α -长叶蒎烯、 α -草澄茄油烯和可巴烯等 17 种物质和雄性成虫粪便中的 1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)-环己烯、可巴烯、丁子香烯等 14 种物质含量明显低于韧皮部组织;1,3,3-三甲基-2-酮-双环[2.2.1]庚烷、对位烯丙基-苯甲醚、1-乙基-1-甲基-2-(1-甲基乙基)-4-(1-甲基亚乙基)-环己烷等 8 种物质仅存在于华山松大小蠹雌性成虫粪便中,3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇、2,2,3-三甲基-1-乙醛基-3-环戊烯、二叔丁基对甲酚只存在于华山松大小蠹雄性成虫粪便中。

3 结论与讨论

固相微萃取技术在挥发性物质的提取上具有准确性高,重现性好,能够更加真实地反应所萃取样品中挥发性物质的真实成分和各成分比例^[16],成为近年来挥发性物质研究的主要手段。本研究通过固相微萃取和气质联用技术对华山松大小蠹雌雄成虫粪便和华山松韧皮部挥发性物质的分析,确定了华山松大小蠹雌雄成虫粪便和华山松韧皮部挥发性物质主要以单萜和倍半萜等萜烯类物质为主,而未检测到二萜物质,这与张蕾蕾^[17](2011)、李宗波^[18](2006)、陈霞^[19](2005)采用水蒸馏法提取华山松韧皮部和华山松树脂中挥发油的检测结果认为华山松

表 1 华山松大小蠹粪便及健康华山松韧皮部挥发性物质组分

Table 1 Volatile compounds in frass of *Dendroctonus armandi* and phloem of health *Pinus armandi*

		化合物	相对含量/%，n=3			
	中文名称	英文名称	分子式	雌性	雄性	韧皮部
1	1R- α -蒎烯	1R- α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	7.94±0.94b	3.95±0.28a	3.20±0.21a
2	β -蒎烯	Bicyclo[3. 1. 1]heptane, 6, 6-dimethyl-2-methylene-, (1S)	C ₁₀ H ₁₆	1.52±0.57b	0.62±0.19ab	0.24±0.03a
3	1-甲基-5-(1-甲基乙烯基)-环己烯	Cyclohexene, 1-methyl-5-(1-methylvinyl)-, (R)-	C ₁₀ H ₁₆	1.73±0.14b	0.45±0.42a	0.32±0.09a
4	1-甲基-3-(1-甲基)-苯	Benzene,1-methyl-3-(1-methylethyl)-	C ₁₀ H ₁₄	0.23±0.1	—	—
5	1, 3, 3-三甲基-2-酮-双环[2. 2. 1]庚烷	Bicyclo[2. 2. 1]heptan-2-one,1,3,3-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₆ O	0.18±0.05	—	—
6	芳樟醇氧化物(fr. 1)	Linalool oxide (fr. 1)	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.65±0.1	—	—
7	α -葑烯	α -Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	1.11±0.26a	1.28±0.29a	1.30±0.11a
8	α -长叶蒎烯	Tricyclo[5. 4. 0. 0(2,8)]undec-9-ene, 2, 6,6,9- tetramethyl-	C ₁₅ H ₂₄	1.66±0.25a	2.20±0.43a	2.25±0.16a
9	芳樟醇氧化物(fr. 2)	Linalool oxide (fr. 2)	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.66±0.17b	0.18±0.03a	—
10	八氢-1,7a,二甲基-5-(1-甲基)-1,2,4-亚甲基-茛	1,2,4-Metheno-1H-indene, octahydro-1,7a-dimethyl-5-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄	0.86±0.14a	0.74±0.14a	0.89±0.23a
11	可巴烯	Copaene	C ₁₅ H ₂₄	7.77±0.78a	7.56±1.66a	13.38±1.59b
12	十氢-1,5,5,8a-四甲基-1,2,4-亚甲基萹	1,2,4-Methenoazulene,decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl-	C ₁₅ H ₂₄	1.51±0.26b	0.25±0.04a	1.89±0.4b
13	1,7,7-三甲基-1R-双环[2. 2. 1]庚烷-2-酮	Bicyclo[2. 2. 1]heptan-2-one,1,7,7-trimethyl-, (1R)-	C ₁₀ H ₁₆ O	2.72±0.31a	2.40±0.61a	0.23±0.05a
14	八氢-4-甲基-8-甲叉基-7-(1-甲基)-1,4,-亚甲基-茛	1, 4-Methano-1H-indene, octahydro-4-methyl-8-methylene-7-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄	1.38±0.19b	1.49±0.4b	1.56±0.04a
15	2,6,6-三甲基双环[3. 1. 1]庚烷-3-酮	Bicyclo[3. 1. 1]heptan-3-one,2,6,6-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₆ O	1.47±1.36a	1.02±0.14a	0.09±0.01a
16	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	C ₁₀ H ₁₈ O	—	0.19±0.04	—
17	十氢-4,8,8-三甲基-9-甲叉基-1,4-亚甲基萹	1, 4-Methanoazulene, decahydro-4, 8, 8-trimethyl-9- methylene-	C ₁₅ H ₂₄	35.29±1.47a	39.69±1.22a	39.01±2.27a
18	1,3,3-三甲基-双环[2. 2. 1]庚烷-2-醇	Bicyclo[2. 2. 1]heptan-2-ol,1,3,3- trimethyl-	C ₁₀ H ₁₈ O	0.15±0.04a	0.22±0.1a	—
19	八氢-7-甲基-3-甲叉基-4-(1-甲基)-1H-环戊二烯骈[1,3]环丙烷[1,2]苯	1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropane[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methylene-4-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄	0.50±0.18a	0.47±0.18a	0.26±0.03a
20	丁子香烯	Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	6.97±0.47a	5.07±1.44a	9.1±0.61a
21	4-甲基-1-(1-甲基)-(R)-3-环己烯-1-醇	3-Cyclohexen-1-ol,4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	C ₁₀ H ₁₈ O	0.71±0.04a	0.82±0.19a	0.93±0.23a
22	6,6-二甲基-2-甲基-双环[3. 1. 1]-庚-2-烯	Bicyclo[3. 1. 1]hept-2-ene-2-carboxaldehyde, 6,6-dimethyl-	C ₁₀ H ₁₄ O	0.61±0.07ab	1.36±0.42b	—
23	六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基)-萘	Hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-,Naphthalene, 1S-	C ₁₅ H ₂₄	0.37±0.14a	0.32±0.1a	0.51±0.22a
24	7, 11-二甲基-3-亚甲基-(Z)-1,6,10-十二烯	1, 6, 10-Dodecatriene, 7, 11-dimethyl-3-methylene-, (Z)-	C ₁₅ H ₂₄	2.15±0.43a	2.19±0.25a	3.53±0.63a
25	对位烯丙基-苯甲醚	Anisole, p-allyl-	C ₁₀ H ₁₂ O	0.48±0.18	—	—
26	八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-异丙基)-萘	Naphthalene,octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄	1.36±0.13ab	3.34±1.07b	0.76±0.17a
27	1,7,7-三甲基-双环[2. 2. 1]庚烷-2-醇	Bicyclo[2. 2. 1]heptan-2-ol, 1, 7, 7-trimethyl-, (1S-endo)-	C ₁₀ H ₁₈ O	2.14±0.14b	4.46±0.63c	0.39±0.15a
28	4,6,6-三甲基-(1s)-环[3. 1. 1]庚-3-烯-2-酮	Bicyclo[3. 1. 1]hept-3-en-2-one,4,6,6-trimethyl-, (1S)-	C ₁₀ H ₁₄ O	2.31±0.36	—	—
29	六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基)-萘	Naphthalene, hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄	7.08±0.26a	6.87±0.64a	10.02±1.18b
30	2,2,3-三甲基-1-乙醛基-3-环戊烯	3-Cyclopentene-1-acetaldehyde,2,2,3-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₆ O	—	0.20±0.03	—

续表 1

化合物			相对含量/%, n=3			
中文名称	英文名称	分子式	雌性	雄性	韧皮部	
31 1-乙烯基-1-甲基-2-(1-甲基乙基)-4-(1-甲基亚乙基)-环己烷	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-	C ₁₅ H ₂₄	0.16±0.04	—	—	
32 3-甲氧基-2,4,6-三甲基-酚	Phenol, -methoxy-2,4,6-trimethyl-	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	0.16±0.04	—	—	
33 2,3-二甲基-3-甲氧基-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷	Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane-3-methanol, 2,3-dimethyl-	C ₁₀ H ₁₆	0.18±0.04ab	0.29±0.09b	—	
34 二氢紫苏醇	Trans-Shisool	C ₁₀ H ₁₈ O	0.16±0.02	—	—	
35 6,6-二甲基-双环[3.1.1]-2-甲氧基-庚-2-烯	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl-	C ₁₀ H ₁₆ O	1.09±0.08b	0.71±0.2ab	0.42±0.06a	
36 二叔丁基对甲酚	Butylated Hydroxytoluene	C ₁₅ H ₂₄ O	—	0.49±0.05	—	
37 石竹烯氧化物	Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0.62±0.03b	0.53±0.04c	—	
38 丁子香酚	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.27±0.03a	0.50±0.1a	0.36±0.05a	

注:“—”为未检测到,含量少于 0.5%且 3 种样品中同时出现的挥发性成分表格中未予列出。表中数值为 3 次重复的平均值,不同字母表示差异显著($p\leq 0.05$)。

挥发油中挥发性物质以萜烯类物质为主是一致的,但也存在一定差异。本研究发现华山松韧皮部中倍半萜类物质含量高于单萜类物质,且含量最高的几种挥发性物质均是倍半萜类物质(十氢-4,8,8-三甲基-9-甲亚基-1,4-亚甲基萘、可巴烯等),这与后者研究认为华山松韧皮部的萜烯类物质以单萜类为主的结果不同。这种差异是由于挥发性物质提取方法的不同,并且可能和倍半萜或二萜类物质类物质化学性质不稳定,高温条件下容易分解有关;但二者都证实二萜类物质在华山松韧皮部萜类物质中的含量相对单萜和倍半萜都是最少的。另外,曾一莹^[20]等(1992)对不同地区华山松韧皮部中的单萜和倍半萜类含量进行了研究,发现华山松韧皮部中的单萜类和倍半萜类组分具有明显的地域性差异,并认为云贵高原地区华山松韧皮部含单萜类物质较高,而秦岭巴山林区的华山松则以倍半萜类物质为主的类型。

谢寿安^[21]等(2010)在常温下以正己烷为萃取溶剂对野外采集的华山松大小蠹粪便的混合物中的物质进行了提取,经 GC-MS 鉴定出 33 种化学成分,其中 α -蒎烯、可巴烯等萜烯类化合物仅占物质总量的 22.02%,而海松酸、棕榈酸等有机酸总量为 34.21%。而本研究发现华山松大小蠹粪便中的挥发性物质以萜烯类化合物为主,占到总量的 91%以上,并且未检测到海松酸、棕榈酸等有机酸类物质。这些差别可能与收集挥发性物质方法及粪便采集的时间、地点和采集方法的不同有关。

一方面,对比华山松大小蠹雌雄成虫粪便与健康华山松韧皮部中的挥发性成分发现,倍半萜类物质在粪便中的含量均比韧皮部中的含量低,而单萜类物质则相反,且这种变化趋势在雌性成虫粪便中更为明显,这与华山松大小蠹雌性成虫先入侵健康

寄主树木,释放聚集信息素引诱雄性成虫的行为相吻合,也可能与华山松大小蠹取食华山松韧皮部后,在自身消化吸收和共生微生物的分解转化作用下对倍半萜及二萜类物质的利用率高于单萜类物质有关。另一方面,推测华山松韧皮部被华山松大小蠹成虫取食后,在其消化道内倍半萜类物质易于在消化道酶或是共生微生物的作用下分解为单萜类物质,本研究中发现的某些倍半萜和单萜类物质之间存在特定的转化关系,并且这种转化关系在雌性华山松大小蠹成虫体内表现的更为突出,陈辉^[3](2004)和 J. A. Byers^[11](1984)研究也认为小蠹类昆虫在共生真菌的联合作用下能够充分利用寄主萜烯类挥发性物质转化合成自身所需要的化学信息物质。

Q. H. Zhang^[22-23](2009,2010)研究光臀八齿小蠹和东方微齿小蠹信息素时发现,顺-马鞭烯酮和桃金娘烯醇分别对该 2 种小蠹虫行为具有调控作用,而在本研究中雌性华山松大小蠹粪便中也有发现顺-马鞭烯酮,同时在雌性和雄性华山松大小蠹成虫粪便中都发现了桃金娘烯醛,桃金娘烯醛和桃金娘烯醇存在直接的转化关系,该 2 种物质对华山松大小蠹是否具有类似作用,有待进一步研究。另外仅存在于华山松大小蠹粪便中的挥发性物质 3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇、2,2,3-三甲基-1-乙醛基-3-环戊烯等可能是华山松大小蠹与共生微生物对寄主华山松韧皮部中挥发性物质的转化,其转化的方式和对华山松大小蠹扩散行为的调控作用,有待于人工合成后的生物活性与引诱试验的进一步验证。

参考文献:

[1] 陈辉,唐明. 华山松大小蠹共生真菌对寄主树木的影响[J]. 林业科学, 1999, 35(6): 63-66.
CHEN H, TANG M. Effect of symbiotic fungi of *Dendrocto-*

nus armandi on host trees [J]. Scientia Silvae Sinicae, 1999, 35(6): 63-66. (in Chinese)

[2] 陈辉, 刘琳, 赵平娟. 秦岭华山松小蠹消化道结构与食性分化的研究[J]. 西北林学院学报, 2004,19(2): 89-92.

CHEN H, LIU L, ZHAO P J. Alimentary canal and feeding the habits division of *Pinus armandi* beetles in Qinling Mountains [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2004,19(2): 89-92. (in Chinese)

[3] 陈辉, 唐明, 朱长俊,等. 华山松大小蠹和共生真菌分泌酶组成分析[J]. 林业科学, 2004, 40(5): 123-126.

CHEN H, TANG M, ZHU C J, *et al.* The enzymes in the secretions of *Dendroctonus armandi* (Scolytidae) and their symbiotic fungus of *Leptographium qinlingensis*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2004,40(5): 123-126. (in Chinese)

[4] ARTHUR C L, PAWLISZYN J. Solid phase micro-extraction with thermal desorption using fused silica optical fibers [J]. Anal. Chem. , 1990,62: 2145-2148.

[5] LORD H, PAWLISZYN J. Evolution of solid phase microextraction technology [J]. Journal of Chrom-atography A, 2000, 885: 153-193.

[6] 卫爱黎. 常春油麻藤的显微观察及成分初探[J]. 中国民族民间医药杂志, 1999, 41(6): 351-353.

WEI A L. Histological characters and component primal examine of mucuna seperviens [J]. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 1999, 41(6): 351-353. (in Chinese)

[7] KATAOKA H, LORD H L, PAWLISZYN J. Applications of solid-phase micro-ex traction in food analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 880: 35-62.

[8] 王荫长. 昆虫生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 448-480.

[9] 丁保福, 魏建荣, 赵建兴, 等. 光肩星天牛幼虫虫粪挥发物成分分析[J]. 环境昆虫学报, 2009, 31(3): 208-212.

DING B F, WEI J R, ZHAO J X, *et al.* Characterization of the volatile fraction emitted by larval frass of *Anoplophora glabripennis* by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Environmental Entomology, 2009, 31(3): 208-212. (in Chinese)

[10] BORDEN J H. Factors influencing the response of *Ips paraconsusus* to male attractant [J]. Can. Entomolo, 1967, 99: 1164-1193.

[11] BYERS J A. Male specific conversion of the host plant compound myrcene to the pheromone(+)-ipsdienol in the bark beetle *D. brevicomis*[J]. Journal of Chemical Ecology, 1982, 82: 363-372.

[12] GRAY D W. Field response of *Ips paraconfusus*, *Dendroctonus brevicomis*, and their predators to 2-methyl-3-buten-2-ol, a novel alcohol emitted by ponderosa pine [J]. Journal of Chemical Ecology, 2002, 8(28): 1583-1597.

[13] PURESWARAN D S, REGINE G, JOHN H B. Antennal responses of four species of tree-killing bark beetles (Coleoptera: Scolytidae) to volatiles collected from beetles, and their host and non-host conifers [J]. Chemoecology, 2004, 14: 59-66.

[14] PURESWARAN D S, SULIVAN B T, AYRES M P. Fitness consequences of pheromone production and host selection strategies in a tree-killing bark beetle (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) [J]. Oecologia, 2006, 148: 720-728.

[15] BORDEN J H. Aggregation pheromones[M]// MITTON J B, STURGEON K B, eds. Bark beetles in North American forest. Austin, TX: University of Texas Press, 1982: 74-139.

[16] PAWLISZYN J. New directions in sample preparation for analysis of organic compounds [J]. Trends Anal. Chem. , 1995, 14(3): 113-122.

[17] 张蕾蕾, 陈辉, 陈霞. 华山松大小蠹的入侵对华山松挥发物成分的影响[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(2): 114-118.

ZHANG L L, CHEN H, CHEN X. Effect of *Dendroctonus armandi* infection on the volatile constituents of *Pinus armandi* in Qinling Mountains[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(2): 114-118. (in Chinese)

[18] 李宗波, 陈辉, 陈霞. 华山松树脂挥发油化学成分分析[J]. 西北林学院学报, 2006, 21(2): 138-141.

LI Z B, CHEN H, CHEN X. Analysis of chemical constituents of volatile oil from resin of *Pinus armandi*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2006, 21(2): 138-141. (in Chinese)

[19] 陈霞, 陈辉, 高锦明. 秦岭油松针叶挥发性物质的成分分析[J]. 西北植物学报, 2005, 25(6): 1230-1233.

CEHN X, CHEN H, GAO J M. Constituents of the volatile materials from the needles of *Pinus tabulaeformis* in the Qinling Ranges [J]. Acta Bot. Boreal. , 2005, 25(6): 1230-1233. (in Chinese)

[20] 曾一鞏, 胡先菊. 华山松单萜和倍半萜组成的地理变异[J]. 林业科学, 1992, 28(2): 161-166.

ZENG Y H, HU X J. Geographic variation in components of monoterpene and sesquiterpene in *Pinus armandi*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 1992, 28(2): 161-166. (in Chinese)

[21] 谢寿安, 丁彦. 华山松大小蠹化学信息物质[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(1): 91-94.

XIE S A, DING Y. Semiochemicals of *Dendroctonus armandi* [J]. Journal of North East Forestry University, 2010, 38(1): 91-94. (in Chinese)

[22] ZHANG Q H, MA J H, ZHAO F Y, *et al.* Aggregation pheromone of the Qinghai spruce bark beetle, *Ips nitidus* Eggers [J]. J. Chem. Ecol. , 2009, 35(5): 610-617.

[23] ZHANG Q H, MA J H, ZHAO F Y, *et al.* Aggregation pheromone of the oriental spruce engraver *Pseudips orientalis* [J]. Agricultural and Forest Entomology, 2010, 1(13): 67-75.