

文章编号: 1001-1498(2007)03-0428-05

## 华山松树皮挥发性诱虫活性物质成分分析

陈 敏, 李永和\*, 王晓佳

(西南林学院保护生物学学院, 云南 昆明 650224)

关键词: 华山松; 树皮; 木蠹象; 成分分析

中图分类号: S791.241

文献标识码: A

### Analysis of Volatile Constituents in *Pinus amandii* Bark with GC/MS

CHEN Min, LI Yong-he, WANG Xiao-jia

(The Faculty of Conservation Biology, Southwest Forestry College, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract:** In this study, steam distillation was used to extract the volatile constituents from the bark of *Pinus amandii*. The volatile constituents and *Pissodes punctatus* were used for laboratory test by "Y" olfactometer. The chemical constituents of the volatile oil were identified with GC/MS method. 6.25% volatile constituents showed strong attractiveness to *Pissodes punctatus* in the laboratory, and 65 compounds were identified mainly including such chemical compound as Limonene (29.27%), Benzene (17.81%), 1R- $\alpha$ -Pinene (16.08%), 3-Methylhexane (7.15%), and Heptane (5.55%), beta-Pinene (5.67%), Caryophyllene (3.27%), beta-Myrcene (3.1%) and etc.

**Key words:** *Pinus amandii*; bark; *Pissodes punctatus*; compounds of volatile

华山松 (*Pinus amandii* Franch) 是中国亚热带西部地区的山地针叶林, 在云南主要分布在滇西北、滇中部和东北中山山地。华山松是良好的经济树种, 可作为建筑、家具等的优良用材; 此外, 华山松立木可采脂, 树皮制烤胶, 种子是优质的食用油和干果<sup>[1]</sup>。作为云南省和长江上游防护林体系的重要造林树种和主要用材树种, 其种植面积已占全省森林面积近70%, 占长江防护林面积的40%。华山松能合成和释放低分子量的次生代谢物质, 其中挥发性物质占很大比例, 这类物质作为一种行为暗示的化学信号在植物与昆虫之间起着重要的作用<sup>[2]</sup>。这些挥发性物质使蛀干害虫 (如小蠹虫) 高效、精确的找到寄主树木, 减少因迁移、定居过程中面临的各种威胁<sup>[3]</sup>。Thomas等人<sup>[4]</sup>研究发现轻微损伤或风折等造成的寄主损伤有利于小蠹虫快速寻找到寄主树木。李宗波等人<sup>[5]</sup>

提取了华山松松脂的挥发性成分, 发现在树脂挥发油中, 蒎烯、蒎烯等含量很高。国外许多研究证实, 蒎烯对小蠹虫有很强的引诱作用, 蒎烯也能激活小蠹虫的信息素使其表现出活性<sup>[6]</sup>。

华山松木蠹象 (*Pissodes punctatus* Langor and Zhang) 属鞘翅目 (Coleoptera), 象甲科 (Curculionidae), 木蠹象属 (*Pissodes*)<sup>[7]</sup>, 是危害华山松纯林的一种蛀干害虫, 对华山松林危害极为严重。雷桂林等人<sup>[8]</sup>研究发现, 该虫最喜为害15~30年生, 粗皮高度0.5~1.0m的华山松健康植株, 取食和产卵喜欢在表皮光滑、水分充足的部位上进行。本研究旨在采用水蒸气蒸馏法和气相色谱-质谱-计算机联用技术, 研究华山松树皮挥发性成分的组成, 为揭示华山松木蠹象寄主选择与树木挥发性物质间的相互关系奠定基础。

收稿日期: 2006-11-21

基金项目: 云南省“十五”科技攻关项目 (2003NG12) 资助

作者简介: 陈敏 (1981-), 女, 重庆石柱人, 森林保护学专业硕士研究生, 主要从事森林病虫害综合管理研究。

\* 通讯作者。

## 1 材料和方法

### 1.1 华山松树皮挥发性物质的提取

华山松健康木采自云南省会泽县国营者海林场华山松人工林。树皮用蒸馏水洗净晾干,剪成 5 mm 的小段。称取 300 g 放入同时蒸馏萃取装置,石油醚为萃取剂。同时蒸馏萃取 3 h,旋转蒸发仪浓缩除去石油醚,萃取液用无水硫酸钠干燥,得到无色透明油状液体 (22.5 g),出油率为 7.5%。

### 1.2 挥发性物质的生物测定

挥发性物质的室内生物测定装置为“Y 型嗅觉仪”。将华山松挥发油与正己烷按体积比 1:0.1:5:1:10:1:15:1:20:1:25:1:30:1:35 配置 8 个不同浓度的混合液。“Y 型嗅觉仪”一臂放混合液,另一臂放正己烷作为对照,滤纸作为载体。测试时,先将压气泵电源接通,调节流量计,使两边气流流速相同,均为 20 L·h<sup>-1</sup>。将华山松木蠹象成虫逐头放入,观察其趋向行为,3 min 内第一次进入某一臂,定为对这一侧的气味有趋性。

### 1.3 挥发性物质成分 GC-MS 分析

GC-MS 分析测试条件:色谱柱:HP-5MS (60 m × 0.32 mm × 0.25 μm);载气:He,流速:1.0 mL·min<sup>-1</sup>;进样温度:240 °C;接口温度:250 °C;质量扫描范围:35 ~ 455 amu;离子源:EI 源;电子能量:70 eV。按此分析测试条件,对华山松树皮挥发性成分进行 GC-MS 分析,各化合物质量分数的确定为面积归一化法。化合物定性分析是根据 GC-MS 联用所得质谱信息经计算机用 Wiley, NIST98 谱库与标准

谱图对照、解析,最终确认其中的化学成分。

## 2 结果与分析

### 2.1 华山松木蠹象对华山松树皮挥发性物质的嗅觉反应

生物测试结果 (表 1) 表明,华山松木蠹象成虫对体积比 (华山松挥发性物质:正己烷) 为 1:10, 1:15, 1:20 的挥发性物质混合液表现出较强的趋性,其中对体积比为 1:15 的提取液混合物的趋性最强,可达到 100%。由此表明:华山松木蠹象对一定浓度的华山松挥发性物质有很强的趋性。华山松作为华山松木蠹象的寄主植物,其挥发性物质在空气中稀释成一定浓度,对华山松木蠹象具有很强的引诱作用。

表 1 华山松木蠹象对不同浓度华山松树皮挥发油的选择反应

不同浓度组合	选择率 / %	sig (2-tailed)	不同浓度组合	选择率 / %	sig (2-tailed)
1:0	0	0.000**	1:20	80	0.028*
CK	100		CK	20	
1:5	41	0.224	1:25	67	0.093
CK	59		CK	33	
1:10	86	0.001**	1:30	64	0.007**
CK	14		CK	36	
1:15	100	0.009**	1:35	40	0.124
CK	0		CK	60	

每组处理测试 60 头,每 20 头为一重复;对结果做 t 检验,0.01 < sig < 0.05 时,认为华山松木蠹象对不同浓度组合和对照之间选择反应存在显著差异,记作 \*; sig < 0.01 时,认为存在极显著差异,记作 \*\*;无 \* 者为差异不显著。CK 为对照。

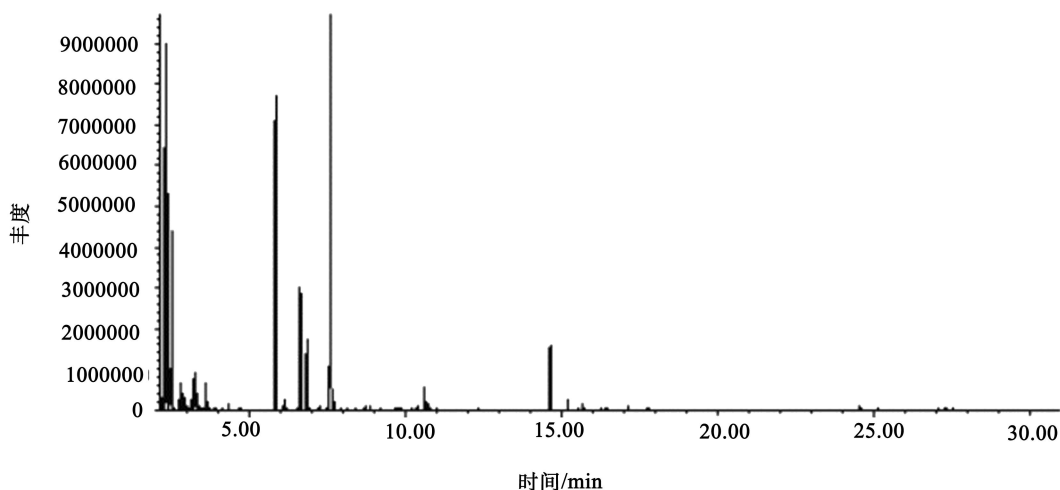


图 1 华山松树皮挥发性物质 GC-MS 总离子流

## 2.2 华山松树皮挥发性物质总离子流图

从华山松树皮挥发油的总离子流图(图 1)中可检测出约 65 个色谱峰,鉴定出 63 种化合物,所鉴定的成分占挥发油色谱峰总峰面积约 98.76%。其余成分因其质谱信息量不足而未确认其结构。

## 2.3 华山松树皮挥发性物质的成分分析

定性定量分析结果(表 2)表明,华山松树皮挥

发性物质中含量最多的是柠檬烯(29.27%),其次是苯(17.81%)以及 1R-蒎烯(16.08%),3-甲基己烷(7.15%),正庚烷(5.55%),蒎烯(5.67%),石竹烯(3.27%),月桂烯(3.1%),上述 8 种化合物的含量占总量的 87.90%。

表 2 华山松树皮挥发性物质成分

峰号	保留时间 /min	化合物名称	化学式	相对含量 /%
1	2.293	Benzene 苯	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	17.81
2	2.352	Hexane, 3-methyl- 3-甲基己烷	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	7.15
3	2.528	Heptane 正庚烷	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub>	5.55
4	2.634	2-Hexene, 3-methyl-, (Z)- (Z)-3-甲基-2-己烯	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub>	0.01
5	2.828	Hexane, 2,4-dimethyl- 2,4-二甲基己烷	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	0.68
6	2.875	Cyclopentane, ethyl- 乙基环戊烷	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub>	0.18
7	3.004	Cyclopentane, 1,2,3-trimethyl-, (1.alpha.,2.alpha.,3.beta.)-(1.,2.,3.)-1,2,3-三甲基环戊烷	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	0.13
8	3.122	Heptane, 4-methyl- 4-甲基庚烷	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	0.32
9	3.175	Heptane, 2-methyl- 2-甲基庚烷	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	1.27
10	3.269	Heptane, 3-methyl- 3-甲基庚烷	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	1.33
11	3.363	Cyclohexane, 1,2-dimethyl-, cis- 顺式-1,2-二甲基环己烷	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	0.21
12	3.481	Cyclopentane, 1-ethyl-3-methyl-, cis- 顺式-1-乙基-3-甲基环戊烷	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	0.09
13	3.522	Cyclopentane, 1-ethyl-2-methyl- 1-乙基-2-甲基环戊烷	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	0.11
14	3.604	Octane 正辛烷	C <sub>8</sub> H <sub>18</sub>	0.89
15	3.716	Cyclohexane, 1,4-dimethyl- 1,4-二甲基环己烷	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	0.08
16	3.857	Hexane, 2,2,5-trimethyl- 2,2,5-三甲基己烷	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub>	0.05
17	3.916	Heptane, 2,4-dimethyl- 2,4-二甲基庚烷	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub>	0.02
18	3.951	Cyclopentane, 1-ethyl-2-methyl-, cis- 顺式-1-乙基-2-甲基环戊烷	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub>	0.02
19	4.328	Benzene, chloro- 氯苯	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Cl	0.24
20	4.557	Ethylbenzene 乙基苯	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	0.04
21	4.687	p-Xylene 1,4-二甲苯	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	0.12
22	5.046	Styrene 苯乙烯	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub>	0.01
23	5.087	Benzene, 1,3-dimethyl- 1,3-二甲苯	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	0.03
24	5.604	Tricyclo[2.2.1.0 <sup>2,6</sup> ]heptane, 1,7,7-trimethyl- 1,7,7-三甲基-三环[2.2.1.0 <sup>2,6</sup> ]庚烷	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.05
25	5.675	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- 2-甲基-5-(异丙基)双环[3.1.0]-2-己烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.02
26	5.822	1R- alpha -Pinene 1R-蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	16.08
27	6.093	Camphene 蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.45
28	6.287	Benzaldehyde 苯甲醛	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O	0.06
29	6.534	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- 4-甲基-1-(异丙基)双环[3.1.0]-2-己烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.05
30	6.61	. beta -Pinene 蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	5.67
31	6.822	. beta -Myrcene 月桂烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3.1
32	7.222	3-Carene 3-萜烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.17
33	7.334	(+)-4-Carene (+)-4-萜烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.04
34	7.487	Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- 对异丙基甲苯	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	0.1
35	7.592	Limonene 柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	29.27
36	7.698	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- (E)-3,7-二甲基-1,3,6-三辛烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.37
37	7.898	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl- 3,7-二甲基-1,3,7-三辛烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.08

(续表 2)

峰号	保留时间 /min	化合物名称	化学式	相对含量 /%
38	8.128	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- 1-甲基-4-(异丙基)-1,4-环己二烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.06
39	8.698	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- 1-甲基-4-(1-甲基亚乙烯基)环己烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.23
40	8.863	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- 3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.22
41	9.186	Fenchol 葑醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.06
42	9.798	Camphor 2-萘酮	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.08
43	10.086	Bicyclo[3.1.1]heptan-3-one, 2,6,6-trimethyl-, (1.alpha.,2.alpha.,5.alpha.)-(1,2,5,6)-2,6,6-三甲基-双环[3.1.1]-3-庚烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.08
44	10.169	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-(1S-endo)-1,7,7-三甲基-1-双环[2.2.1]庚-2-醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.21
45	10.369	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-(R)-4-甲基-1-(异丙基)-3-环己烯-1-醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.34
46	10.604	(+)-alpha-Terpineol (p-menth-1-en-8-ol)		1.12
47	10.669	Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethenyl)-, (3R-trans)-3-甲基-6-(异丙基)环己烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.04
48	10.722	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol, 6,6-dimethyl- 6,6-二甲基-双环[3.1.1]-2-庚烯-2-醇	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.41
49	10.804	Isobomeol 异冰片酯	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	0.10
50	10.975	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl- 4,6,6-三甲基-双环[3.1.1]庚-3-乙二胺-2-酮	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	0.11
51	11.098	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, trans 反式-2-甲基-5-(1-甲基亚乙烯基)-2-环己烯-1-醇	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.06
52	11.357	Benzene, 2-methoxy-4-methyl-1-(1-methylethyl)- 2-甲氧基-4-甲基-1-(异丙基)异丙苯	C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O	0.03
53	11.569	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-(S)-2-甲基-5-(异丙基)环己烯-1-酮	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.05
54	12.304	Isobomyl acetate 醋酸异冰片酯	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	0.10
55	12.445	Tridecane 十三烷	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub>	0.02
56	13.874	.alpha-Cubebene 萜澄茄油烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.03
57	14.621	Caryophyllene 石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	3.27
58	15.18	.alpha-Caryophyllene 石竹烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.51
59	15.533	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)-7-甲基-4-亚甲基-1-(异丙基)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘(1,4a,8a)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.13
60	15.657	Gemacrene D 大牻牛儿烯 D	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.38
61	15.727	Butanoic acid, 3-methyl-, 2-phenylethylester		0.08
62	15.768	Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]-		0.04
63	15.962	Naphthalene, 1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)-(1,4a,8a)-4,7-二甲基-1-(异丙基)-1,2,4a,5,6,8a-六氢萘	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.08
64	16.262	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-, (1.alpha.,4a.alpha.,8a.alpha.)-7-甲基-4-亚甲基-1-(异丙基)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘(1,4a,8a)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.08
65	16.415	Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)-(1S-顺式)-4,7-二甲基-1-(异丙基)-1,2,3,5,6,8a-六氢萘	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.18

华山松树皮挥发性物质的组成为主要为萜类化合物(58.97%)、芳香族化合物(18.84%)、烷烃类(18.15%)、醇类(1.30%)、烯炔类(1.00%)、酯类

(0.20%)、酮(0.24%)和醛(0.06%)。由图 2 可见,萜类化合物占了挥发性物质总量的 50%以上。

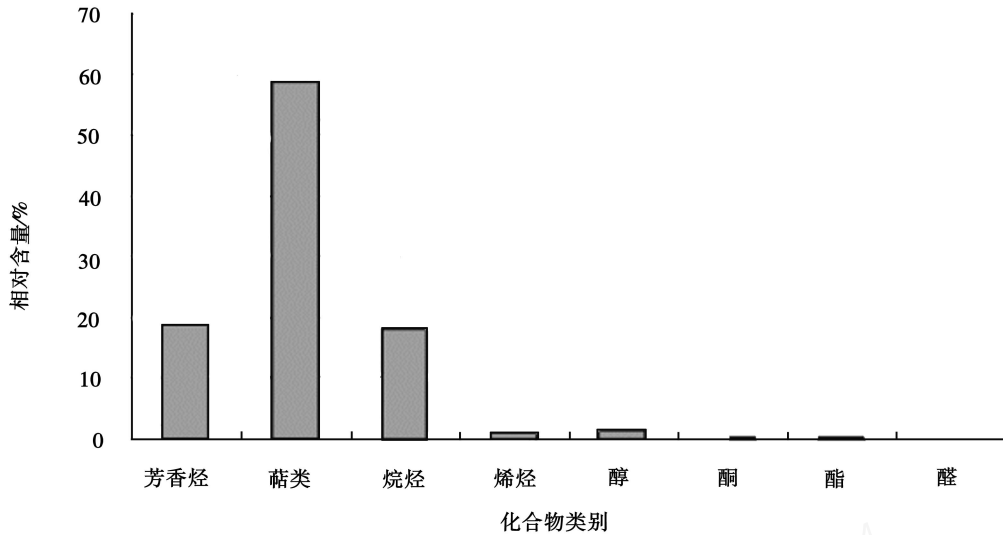


图 2 华山松树皮挥发性物质类别及相对含量

### 3 讨论

(1) 华山松木蠹象对华山松危害极为严重, 尤其喜爱取食健康华山松。研究证明, 华山松木蠹象对华山松健康木的高度选择性与华山松健康木的次生代谢物中挥发性物质成分有密切的关系。但在对华山松木蠹象寄主的研究中, 华山松木蠹象对华山松以外的其它 17 个松科树种也进行取食<sup>[9]</sup>。华山松和这些松科树种是具有相同的挥发性物质在引诱华山松木蠹象, 还是具有相同的其它引诱因素, 有待进一步研究。

(2) 华山松木蠹象对华山松不同浓度挥发性物质选择率的不同表明, 华山松木蠹象对来自不同浓度的挥发性气味具有不同的敏感性和选择性。华山松木蠹象对一定浓度的华山松挥发油有极强的趋性, 但对浓度过高的挥发油则产生忌避性。证明寄主挥发性物质的浓度对昆虫嗅觉有很大影响, 这对利用寄主植物挥发性物质生产运用昆虫趋避剂有很大的启示。

(3) 华山松挥发性物质中, 萜类化合物占了总量的 50% 以上, 很可能诱虫活性物质主要为萜类化合物。但昆虫的触角对某些含量甚微的物质也很敏感, 而且多种成分的综合作用也可能对

华山松木蠹象的行为产生影响。因此有必要进一步对华山松树皮提取的所有挥发性物质成分进行单一和综合的生测试验, 以证明这些物质有无引诱或忌避作用。

#### 参考文献:

- [1] 云南森林编写委员会. 云南森林 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1986: 115 ~ 118
- [2] 邓晓军, 陈晓亚, 杜家纬. 植物挥发物质及其代谢工程 [J]. 植物生理和分子生物学学报, 2004, 30(1): 11 ~ 18
- [3] 陈辉. 化学信息素对小蠹虫入侵危害的调控 [J]. 林业科学, 2003, 39(6): 154 ~ 158
- [4] 沃斯特 W E, 斯塔克 R W, 伍德 D L. 松树与小蠹虫生态系统 - 害虫综合治理 [M]. 梁其伟 (译). 北京: 中国林业出版社, 1991
- [5] 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
- [6] 闫争亮, 孙江华, 张忠宁. 外来入侵林业害虫大小蠹的侵袭以及相关化学物质 [J]. 昆虫知识, 2003, 40(5): 399 ~ 404
- [7] Langor D W, Situ Y X, Zhang R. Two new species of *Pissodes* (Coleoptera: Curculionidae) from China [J]. The Canadian Entomologist, 1999, 131: 593 ~ 603
- [8] 雷桂林, 段兆尧, 冯志伟, 等. 华山松木蠹象的危害性分析 [J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(3): 62 ~ 63
- [9] 段兆尧, 雷桂林, 王莉萍, 等. 华山松木蠹象危害特性的初步研究 [J]. 云南林业科技, 1998, 84(3): 81 ~ 85