

鳞翅目昆虫的信息素研究新进展*

唐睿^{1,2**} 张钟宁^{1***}

(1. 中国科学院动物研究所 农业虫害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101;

2. 农业部-CABI 生物安全联合实验室 中国农科院植物保护研究所, 北京 100193)

摘要 在昆虫信息素研究领域当中, 鳞翅目昆虫的性信息物质相关研究开展得的最早, 也较为详尽。目前全世界已经鉴定出来有超过了 1 572 种蛾类的信息素组分, 各个种间信息素的比例和组分都不尽相同, 这正是生物多样性在化学信息联络方面的完美体现。人类对昆虫信息素的研究已经持续了半个多世纪, 昆虫信息素的研究一直是化学生态学的一个重要课题, 总结出的很多经典方法与结论, 对于指导农业实际生产和相关产业生活都具有指导意义。本文综述了昆虫信息素的研究概况、研究方法以及应用现状, 力求为进一步深入研究提供参考。

关键词 信息素, 鳞翅目, 生物合成, 结构鉴定

An overview of recent progress in lepidopteran pheromone researches

TANG Rui^{1,2**} ZHANG Zhong-Ning^{1***}

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2. MoA-CABI Joint Laboratory for Bio-safety, Institute of Plant Protection,

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract In the field of insect pheromone research, working on Lepidoptera sex pheromone is a major task with the longest history and is relatively better studied. To date, sex pheromone components are identified in over 1 572 species. There are differences among species in terms of both ingredient and proportion, which, perfectly indicates biodiversity from aspect of chemical communication in insects. Study of insect pheromones has always been an important theme in the field of chemical ecology since it started profoundly half a century ago. Many applications and outputs about insect pheromones today improve our lives from different aspects. We provide an overview on recent insect pheromone studies with mainly focusing on classifying, biosynthesis, identification and applications. Further research prospects are also discussed.

Key words pheromones, Lepidoptera, biosynthesis, chemical analysis, apply with pheromones

自从家蚕 *Bombyx mori* 雌蛾的信息素 (Pheromone) ——蚕蛾醇 Bombykol 在 20 世纪 60 年代被首次分离并鉴定以来 (Butenandt *et al.*, 1961), 昆虫的嗅觉通讯作为一个热门的研究课题, 直到现在已持续了 50 多年。在此期间, 昆虫的化学信息物质 (Semiochemicals) 的鉴定、

合成以及应用等研究工作都得到了迅速的发展。目前有很多化学信息物质在世界各个国家都被广泛使用作为直接或者间接的害虫防治手段 (Boo and Park, 2005)。

昆虫信息素领域的研究可以追溯到 19 世纪末期, 鳞翅目的昆虫因为其多样性和广泛的分布

* 资助项目: 973 国家重点基础研究发展计划 (No. 2009CB119204) 和中国捐赠 CABI 发展基金

**E-mail: r.tang@cabi.org

***通讯作者, E-mail: zhangzn@ioz.ac.cn

收稿日期: 2013-12-20, 接受日期: 2014-05-14

以及超过 150 000 种的庞大数量,其种群特异的信息素系统被广泛地研究。全世界已经有超过 530 种的鳞翅目雌性信息素被鉴定出来,而近十年就有超过 70 种不同的鳞翅目信息素被鉴定和合成,包括雄性蛾类和蝶类的信息素(Ando *et al.*, 2004)。由于鳞翅目昆虫种群数量大,分布广泛,包含多种害虫,使得对其化学信息物质的研究越来越受关注,利用信息素对害虫进行综合防治的方法也越来越受重视。本文重点综述了鳞翅目昆虫信息素的研究概况、研究方法以及应用现状,力求为进一步深入研究提供参考。

1 鳞翅目昆虫的雌性信息素特征

全世界目前已鉴定出 1 572 种蛾类的信息素组分(Byers, 2002),各个种间信息素的比例和组分都不尽相同,这正是生物多样性在化学信息联络方面的完美体现(Wei *et al.*, 2006)。

在众多的信息素组分中,具有长直链(C10-C18)的伯醇及其衍生物(酸和醛)普遍存在于鳞翅目昆虫中。这类组分被称为 TYPE1,它组成了约 75%的已知的信息素成分,被广泛报道存在于几乎所有的双孔亚目(Ditrysia)的总科中。这些总科包括了很多害虫,例如麦蛾总科的马铃薯麦蛾 *Phthorimaea operculella*,卷叶蛾总科的茶小卷叶蛾 *Adoxophyes honmai* 和苹果蠹蛾 *Cydia pomonella*,螟蛾总科的二化螟 *Chilo suppressalis* 和欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis*,夜蛾总科的粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 和烟芽夜蛾 *Heliothis virescens*。在前三个总科中,只有极少数组分是被鉴定出不属于 TYPE1 的成分,而在夜蛾总科中,雌性信息素的主要成分往往不是 TYPE1 化合物(Ando *et al.*, 2004)。

长链(C17-C23)的多烯烃及它们生成的环氧化合物组成了第二类主要的信息素成分,即 TYPE2(Millar, 2000)。这一类信息素组分缺乏末端的官能团,占到所有信息素组分的 15%,并且发现于某些高度进化的种群中,包括尺蛾总科(Geometroidea)和夜蛾总科(Noctuoidea)。而毒蛾科(Lymantriidae)、灯蛾科(Arctiidae)

的种群通常性信息素成分中同时包含了 TYPE1 及 TYPE2 类的化合物,如美国白蛾 *Hyphantria cunea* 含有 4 种主要性信息素组分,其中两种属于 TYPE1 类化合物,而另外两种则属于 TYPE2 类化合物(Su *et al.*, 2008)。

其他类型的信息素组分与第一类和第二类相比,属于有侧链的第三类信息素化合物。这类化合物见于夜蛾总科的鳞翅目昆虫,而且毒蛾科昆虫的信息素具有显著的特别结构。蛾类信息素的不同类型如图 1(Wei *et al.*, 2006)。

2 鳞翅目昆虫的雄性信息素

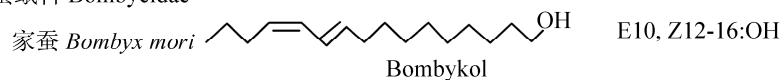
鳞翅目昆虫中的很多雄性个体,还可以通过位于胸腹、腿部或者翅膀的气味腺释放出性信息素。这些腺体各式各样,从简单的鳞片到香鳞、嗅觉扇、肋间毛、羽刷、性刷等(Birch and Poppy, 1990)。雄性信息素的组成也与雌性性信息素差别较大,同时缺乏种群差异性。如图 2(Ando *et al.*, 2004),在各种蛾类昆虫中,夜蛾科的几个种内鉴定出了苯甲醛、苯甲醇以及 2-苯基乙醇;而在几个灯蛾科种的性刷当中发现戴纳醛(1a)和羟基戴纳醛(1b);蝙蝠蛾总科(Hepialoidea)的蝙蝠蛾科(Hepialidae)中未曾报道雌性性信息素成分,可却在雄蛾中发现了异二氢吡喃(2a-c)和二环缩醛(3a-c & 4a-c)(Schulz *et al.*, 1990);在裳蛾亚科(Noctuidae: Catocalinae)中还发现了原本属于第二类性信息素的成分 Z3,Z6,Z9-21:H(Heath *et al.*, 1988),同时有实验表明大量的 Z3,Z6,Z9-21:H 对同种雄蛾具有吸引作用(Heath *et al.*, 1983),暗示了一种未知的同性相互作用机制。

3 鳞翅目昆虫的信息素与种间生殖隔离

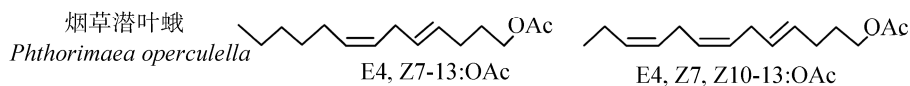
鳞翅目近缘种之间存在种间生殖隔离,而表现在信息素方面,虽然信息素的结构有相似的地方,但是为增强种间的信息素差异,雌蛾的性信息素成分往往是多种组分的混合物。这种混合不止是特异性选择某些化合物,同时也在各个成分

A 类型1 TYPE1

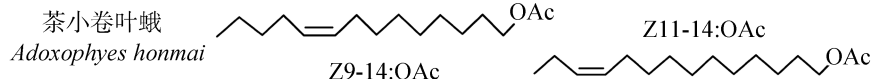
蚕蛾科 Bombycidae



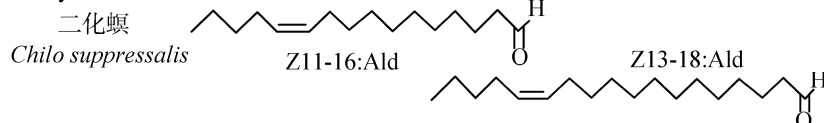
麦蛾科 Gelechiidae



卷蛾科 Tortricidae

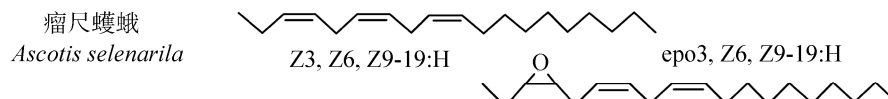


螟蛾科 Pyralidae

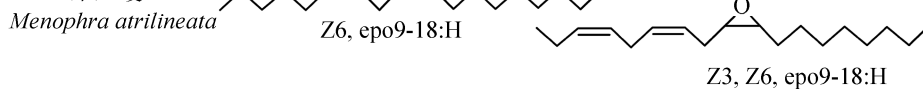


B 类型2 TYPE2

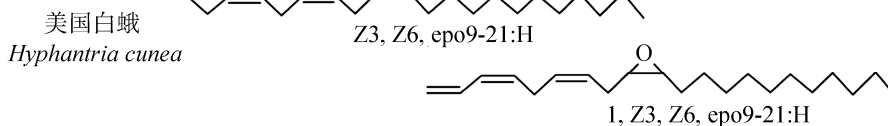
尺蛾科 Geometridae



桑尺蠖

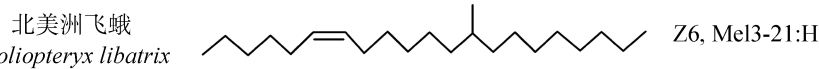


灯蛾科 Arctiidae



C 其他类型 Others

夜蛾科 Noctuidae



毒蛾科 Lymantriidae

舞毒蛾



灯蛾科 Arctiidae

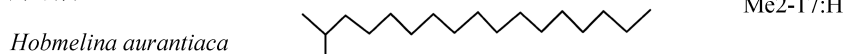


图 1 鳞翅目性信息素的不同类型 (修改自 Wei 等, 2006)

Fig. 1 Representative lepidopteran pheromones and their abbreviations (from Wei *et al.*, 2006)

A. TYPE1, 其分子结构具有末端功能基团; B. TYPE2, 其分子结构不具有末端功能基团; C. Others, 其分子结构具有甲基侧链。

A. TYPE1 components with a terminal functional group; B. TYPE2 components without a terminal functional group; C. Others with a methyl-branched chain.

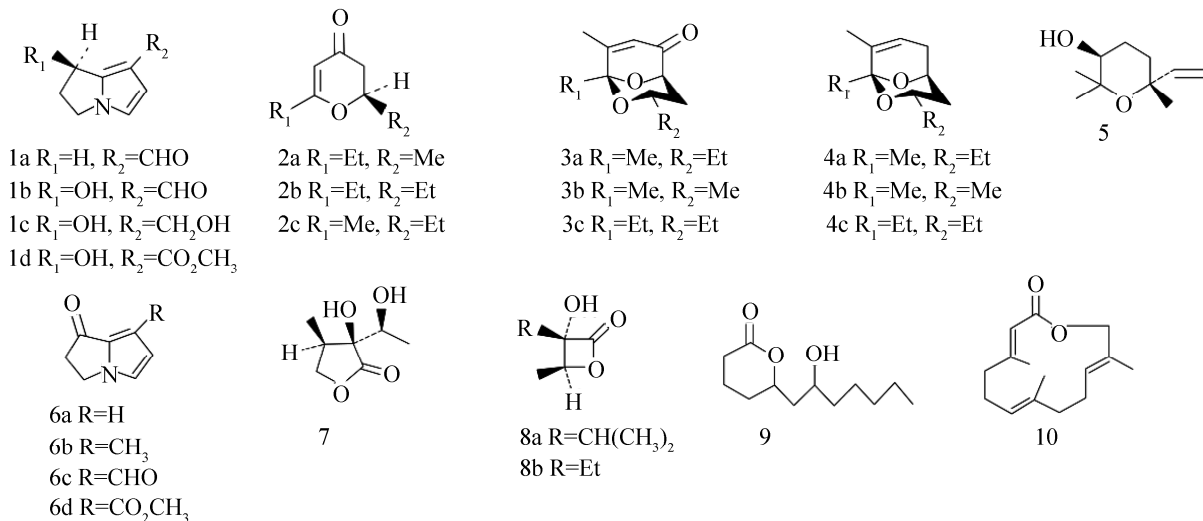


图 2 蛾类与蝶类中具有代表性的雄性性信息素 (Ando 等, 2004)

Fig. 2 Representative sex pheromones produced by male moths and butterflies (from Ando *et al.*, 2004)

的比例上有所区别。如茶小卷叶蛾和日本棉褐带卷叶蛾 *Adoxophyes orana fasciata* 被认为是卷叶蛾新种中具有不同寄主趋向的两个变异种, Tamaki 等 (1979) 发现前者的雌蛾在茶园分泌的性信息素成分包含 Z9-14:OAc 和 Z11-14:OAc 两个成分且比例为 7:4, 而后者雌蛾在苹果树上分泌的信息素包含了以上两种组分而比例却是 13:4 (Tamaki *et al.*, 1971)。其后的研究又在茶小卷叶蛾中鉴定出了另外两种新的组分 (E11-14:OAc & Me10-12:OAc), 均为乙酯。

很多研究都证实了近缘种昆虫信息素在种间具有区别的事实。例如杆野螟属的新种 *Ostrinia* spp. 中, 包括了欧洲玉米螟在内的 20 个种当中具有对信息素组分 Z11-14:OAc 和 E11-14:OAc 的多态性组合: Z 构型为主的 97:3 和 E 构型为主的 4:96 (Klun *et al.*, 1973; Kochansky *et al.*, 1975)。而亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 当中则具有异构体组合 Z12-14:OAc + E12-14:OAc (1:1~3:2) (Ando *et al.*, 1980)。另外 6 种杆野螟属的昆虫分布遍布日本, 它们的信息素组分也得到了证实, 其中包括了 Z 型和 E 型的 11-14 乙酯的不同组合 (Ishikawa *et al.*, 1999)。异构体的不同比例混合说明这些种间通过信息素成分的不同体现出生殖隔离的存在, 同

时也为我们对其进行进化系统学研究提供了基础。这其中只有亚洲玉米螟信息素中包含了 12 碳的不饱和化合物, 这一现象暗示出这一种当中存在了一个独特的去饱和酶, 其后的研究证实了在亚洲玉米螟和欧洲玉米螟当中确实存在两种脱氢酶, 分别是 $\Delta 11$ 脱氢酶和 $\Delta 14$ 脱氢酶, 它们利用了不同的转录控制机理来运作, 分别对应产生 11 位上的不饱和脂肪链以及 12 位上的不饱和脂肪链 (Roelofs *et al.*, 2002)。

然而, 鳞翅目近缘种昆虫之间的生殖隔离也并非绝对的。铃夜蛾属 (*Helicoverpa*) 与实夜蛾属 (*Heliothis*) 之间的杂交实验可以产生多种结果: a) 可交配却无后代, 如澳洲棉铃虫 *H. punctigera* 分别与美洲棉铃虫 *H. zea* 和棉铃虫 *H. armigera* 的杂交 (Hardwick, 1965); b) 可交配产生杂交代, 但是某一性别的杂交代保持不育, 如 *Heliothis subflexa* 雌虫与烟芽夜蛾雄虫杂交产生可育雌虫和不育雄虫 F_1 , 且 F_1 雌虫回交产生的后代同样为可育雌虫及不育雄虫, 雄虫保持不育 (Laster, 1972); c) 可杂交产生后代, 且后代回交可育, 如棉铃虫与美洲棉铃虫可以杂交产生可育的子代 F_1 , 只是交配成功率较低 (Laster and Sheng, 1995)。在棉铃虫和烟青虫 *H. assulta* 中鉴定出的两种性信息素组分均为顺

9-16 烷烯醛(Z)-9-hexadecenal 和顺 11-16 烷烯醛(Z)-11-hexadecenal, 但是二者在比例上不同: 棉铃虫中(Z)-9-HDAL:(Z)-11-HDAL 为 2.1:100; 而烟青虫中(Z)-9-HDAL:(Z)-11-HDAL 为 1:739:100 (Wang *et al.*, 2005)。在实验室中棉铃虫与烟青虫可成功杂交产生可育后代 (Wang and Dong, 2001), 且后代的信息素比例为(Z)-9-HDAL:(Z)-11-HDAL = 4.0:100, 进一步研究发现杂交代中硬脂酸与软脂酸均可被利用为合成信息素的底物, 而在棉铃虫中只有硬脂酸能够被利用, 因此(Z)-9-HDAL 在杂交代中的比例有所提高 (Wang *et al.*, 2005)。

4 鳞翅目昆虫信息素的体内合成

昆虫的信息素合成基本上分成几个模式: 蛾类模式、蝇类模式、蜚蠊模式和甲虫模式。信息素的合成途径包含了改变后的脂肪酸代谢途径和类异戊二烯代谢途径, 同时包括了内分泌的调节作用。在蛾类昆虫中, 信息素的合成是被 PBAN 神经肽所诱导的, 而保幼激素用来调节甲虫和蜚蠊的信息素合成, 蝇类则是利用蜕皮激素进行类似的调控。

昆虫体内信息素合成的位置各异, 相关腺体的亚显微结构也曾被报道过 (Billen *et al.*, 1998)。若通过示踪法在腺体中找到信息素的前体物质, 就能说明其在信息素合成当中所起到的作用, 而这一方法现在被当成了一种模式方法。在蛾类昆虫中, 信息素的释放腺体通常是特化的上皮细胞, 通常处于腹部的第 8 到第 9 体节之间 (Blomquist and Vogt, 2003), 目前已经确定这些细胞在很多种类的蛾类当中被当作含氧信息素组分的合成位置 (Bjostad *et al.*, 1987; Jurenka *et al.*, 2003)。绛色细胞的作用是在昆虫体内合成烃类化合物 (Wigglesworth, 1970), 一旦合成结束, 这些化合物就被运脂蛋白运送到全身, 同时烃类的信息素物质被周围的表皮腺体细胞释放出来 (Schal *et al.*, 1998)。鞘翅目的信息素合成位置分化较大, 通常是位于腹部位置 (Tillman *et al.*, 1999)。比较特化的腺体是存

在的, 例如雄性露尾甲 *Carpophilus freemani* 用来分泌聚集信息素的特化的绛色细胞就处于气管中, 并且信息素成分也在那里得到释放; 小蠹虫合成单萜类信息素的位置位于中肠, 细胞同时参与了消化和信息素合成两个过程, 信息素在粪便中得到释放 (Hall *et al.*, 2002)。蝇类与蜚蠊类昆虫合成烃类信息素的位置与蛾类相似, 由绛色细胞合成, 而后通过运脂蛋白和淋巴液运送到表皮细胞并且释放 (Gu *et al.*, 1995; Schal *et al.*, 2001)。

1983 年, 粉纹夜蛾的主要信息素组分合成途径第一次被报道 (Bjostad and Roelofs, 1983), 因为其主要成分是具有偶数碳原子的直链化合物, 所以有人猜测其合成途径应该是某种改变了的脂肪酸合成途径。在信息素合成中的关键作用酶均为合成 TYPE1 型含氧信息素的碳链而起作用的脂肪酸合酶, 对碳骨架的修饰包括利用脱饱和酶去饱和从而形成双键, 使用特定的 β 型氧化酶来缩短碳链的长度, 引入含氧官能团的反应则需要氧化酶, 还原酶和乙酰基转移酶等。所有酶类在每个种中都用来合成和调配出特定比例的混合物, 即特定种的信息素成分 (Jurenka, 2004)。

在 TYPE1 类信息素合成途径中, 起到关键作用的脂肪酸合酶通常是乙酰辅酶 A 羧化酶和脂肪酸合酶, 这些酶与通常机体里的脂肪酸合成酶类似, 产生的产物为棕榈酸 (16 碳) 与硬脂酸 (18 碳), 且硬脂酸占比较多的比重 (Bjostad and Roelofs, 1983; Tang *et al.*, 1989; Jurenka *et al.*, 1991, 1994)。这些偶数碳链的底物被脱饱和酶和链缩短酶共同作用产生出信息素化合物 (图 3)。

在昆虫中, 缩短碳链的途径在酶催化水平上尚无定论, 这些途径被认为与脊椎动物的经典途径有所相似, 而催化这些作用的酶系定位于过氧化物酶体中, 是参与 β 型氧化作用途径的酶的一部分 (Jurenka, 2004)。其中起作用的关键酶包括乙酰辅酶 A 氧化酶和 3-氧化酰基辅酶 A 硫解酶 (van den Bosch *et al.*, 1992)。这些酶都能够起到缩短碳链的作用, 且都是通过从乙酰辅酶

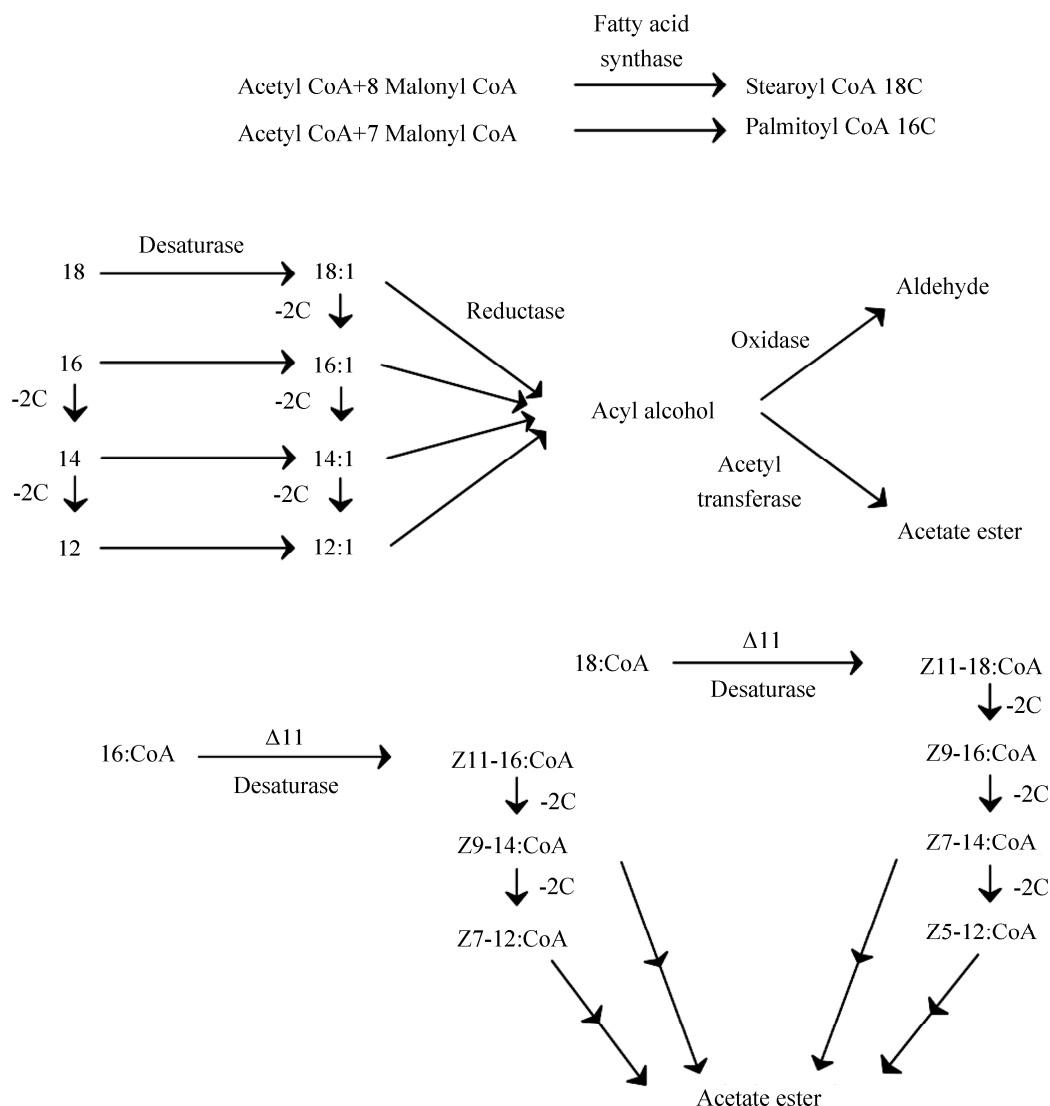


图3 雌蛾中醇类、醛类以及乙酸酯类信息素成分的通常合成途径 (Jurenka, 2004)

Fig. 3 General biosynthetic pathways for the production of alcohol, aldehyde, and acetate ester pheromone components in female moths (from Jurenka, 2004)

上：饱和脂肪酸的产生；中：产生单不饱和脂肪酸和通过限制性切割产生出合成醇类的中间产物。醛类与乙酸酯类信息素则是由氧化酶和乙酰转移酶分别作用产生的；下：粉纹夜蛾中乙酸酯类信息素成分的合成途径。辅酶 A 的派生物被去饱和并乙酰化产生了乙酸酯。

Top: Production of saturated fatty acids; Middle: Production of monounsaturated fatty acids and limited chain shortening produces intermediate compounds that can be reduced to an alcohol. Aldehyde and acetate ester pheromones are produced by an oxidase and acetyl-transferase, respectively. Bottom: Biosynthetic pathway for the production of the acetate ester pheromone components in the cabbage looper moth, *Trichoplusia ni*. The CoA derivatives are reduced and acetylated to form the acetate esters. Additional pheromone components include 12:OAc and 11 - 12:OAc.

A 中移去乙酰基团来实现的。在很多蛾类昆虫中均发现了限制性碳链缩短反应于很多信息素合成的过程中出现, 这一证据是通过同位素标记前体和质谱分析所得到的, 稳定的同位素标记能够

使得研究者们发现被标记的同位素跟随前体并在最终信息素产物中出现。例如使用氘标记的长链脂肪酸如 (16, 16, 16) -2H₃-棕榈酸并且追踪其在腺体内的信息素合成, 最终可以发现氘同

位素位于更短链的信息素成分中 (14C 或 12C) (Bjostad *et al.*, 1987; Jurenka, 2003)。

在有些种当中,链缩短反应也参与了调节信息素比例这一环节 (Jurenka, 2003)。例如黄地老虎 *Agrotis segetum*, 其瑞典和津巴布韦种群存在信息素比例的不同: 瑞典种群的信息素比例为 Z9-14: OAc/Z7-12: OAc/Z5-10: OAc = 29: 59: 12, 而津巴布韦的种群的对应信息素比例则为 2: 20: 78。通过标记研究发现链缩短酶参与了调节信息素比例的过程 (Wu *et al.*, 1998), 很显然在瑞典的种群中,链缩短的反应能力较弱。这项研究表明了链缩短酶的改变是对信息素成分比例最大的影响因素之一。事实上,在脱饱和酶和链缩短酶的共同作用下,能够产生出很多中间产物,用以合成特定的信息素产物。

雌性蛾类的信息素合成中涉及了很多去饱和化反应,目前所知的去饱和反应包括了以饱和脂肪酸和单一不饱和脂肪酸作为底物的反应: 对饱和脂肪酸的脱饱和酶包括 $\Delta 5$ (Foster and Roelofs, 1996)、 $\Delta 9$ (Martinez *et al.*, 1990; Abad *et al.*, 2001)、 $\Delta 10$ (Foster and Roelofs, 1988)、 $\Delta 11$ (Bjostad and Roelofs, 1983) 和 $\Delta 14$ (Zhao *et al.*, 1990), 这些脱饱和酶配合链缩短反应可以合成出目前所发现的所有位置的单不饱和脂肪酸碳骨架。通过加上不同的官能团,例如乙酸酯、醇和醛等,可以为信息素增加更多不同的可能组分。有的中间化合物能够通过两种或多种不同的途径进行反应,因此即使脱饱和化和链缩短反应在很多蛾类昆虫中都有发现,但是单个种当中的链缩短反应顺序和脱饱和类型都需要单独通过实验跟踪才能够确定。

有的信息素组分是二烯烃,这些组分是通过两种脱饱和酶共同作用的结果,也有的情况下是单个脱饱和酶与围绕双键的异构化作用共同产生的。有的 6, 9 位双键构型的二烯烃是通过亚油酸反应获得的。用以单不饱和乙酰辅酶 A 脱饱和的酶类包括 $\Delta 5$ (Ono *et al.*, 2002)、 $\Delta 9$ (Martinez *et al.*, 1990; Abad *et al.*, 2001)、 $\Delta 11$ (Foster and Roelofs, 1988)、 $\Delta 12$ (Arsequell *et al.*, 1990; Jurenka, 1997) 和 $\Delta 13$ (Arsequell

et al., 1990), 这些酶可以连续反应从而生成二烯烃 (Foster and Roelofs, 1988; Jurenka, 1997) 或者通过单个脱饱和酶脱饱和之后再行异构化以获得共轭二烯烃 (Ando *et al.*, 1988; Löfstedt and Bengtsson, 1988; Rodríguez *et al.*, 2002)。

继粉纹夜蛾的 $\Delta 11$ 脱饱和酶的编码基因被第一个发现之后 (Knipple *et al.*, 1998), 蛾类的很多种脱饱和酶编码基因就被陆续的发现了, 因为其同源性, 很多的脱饱和酶编码基因得到了克隆 (Knipple *et al.*, 2002), 并且在很多缺乏内源脱饱和酶的酵母系中得到了表达以研究其功能——这类酵母无法单独在未添加不饱和脂肪酸的培养基上生长, 而一旦通过插入了可表达的脱饱和酶序列之后, 它们就可以正常生长。在酵母生长过后的培养基中, 能够分离得到特定双键位置和特定碳链长度的不饱和脂肪酸, 从而证明了脱饱和酶具有特异性去饱和的作用。

雌蛾几乎不会使用单一组分化合物作为其信息素成分, 通常信息素是由若干具有种群特异性的精细比例的化合物组成, 这些化合物的合成与调节都是在信息素合成途径中完成的。种间信息素的成分和比例差异从根本上是因为合成途径中起关键作用的酶和酶系的组合 (Jurenka, 2003)。例如在粉纹夜蛾中, 关键酶是 $\Delta 11$ 脱饱和酶, 其偏好利用 16 辅酶 A 并主要产生 Z11-16 辅酶 A 和 Z11-18 辅酶 A (Knipple *et al.*, 1998), 而 $\Delta 11$ 脱饱和酶作用后的产物可以通过 β 氧化作用产生短链的中间物, 在众多底物中, Z11-16 辅酶 A 会率先被利用来合成 Z7-12 辅酶 A (Jurenka *et al.*, 1994), Z7-12 辅酶 A 继而被还原为醇, 再由乙酰基转移酶转化产生出乙酸酯, 也就是信息素成分。而其信息素的次要组分, 则是由 $\Delta 11$ 脱饱和酶和链缩短酶的特异性来决定了其较少的合成量。红带卷蛾 *Argyrotaenia velutinana* 利用 7 种乙酸酯的混合物作为信息素组分, 起关键作用的酶是 $\Delta 11$ 脱饱和酶, 这个酶能够同时产生 Z 和 E 构型的 11-14 辅酶 A 并且比例约为 6: 1 (Liu *et al.*, 2002), 然而在之后的合成途径中产生了对 Z 构型的特异性于是最终产物变成了 Z11 比 E11-14 辅酶 A 比例为 92

: 8, 这里的特异性酶是乙酰基转移酶决定的, 因为其对 Z 构型具有专一选择性 (Jurenka and Roelofs, 1989)。而在欧洲玉米螟中, 其中一系所产生的信息素组分为 Z:E=1:99 (E 系), 另一系则产生信息素 Z:E=97:3 (Z 系), 在两个系当中 $\Delta 11$ 脱饱和酶均产生约 Z:E=30:70 的比例中间物 (Bjostad *et al.*, 1987; Roelofs *et al.*, 2002), 通过腺体内标记的脂肪酸实验发现底物被选择性的合成入产物当中, 表明还原酶具有底物选择特异性 (Zhu *et al.*, 1996)。因此, 在欧洲玉米螟的信息素中, 最终产物具有 Z 和 E 两种构型是由 $\Delta 11$ 脱饱和酶起的作用, 而最终产物的比例则是由特异性的还原酶所决定的。

总之, 种群特异性的信息素产物混合物的产生是受到了脱饱和酶、链缩短酶、还原酶和乙酰基转移酶共同作用的结果, 酶系的不同奠定了最终产物特异化的基础。

5 鳞翅目昆虫信息素的鉴定方法

雌性蛾类的性腺通常位于第 8 到第 9 腹节的节间膜上 (Ma and Roelofs, 2002), 取下腺体之后, 通常将之放在非极性的溶液中进行浸提, 例如正己烷或正戊烷。为了减少脂肪或者其他成分的干扰, 浸提时间通常在几分钟左右。提取信息素选择求偶期 (Calling) 的雌蛾, 挥发性的信息素组分可以被吸附到 Porapak Q, Tenax, 活性炭, 玻璃棉, 玻璃微珠或玻璃毛细管内 (Tóth and Buser, 1992)。这类顶空吸附方法的优势在于可以持续性的取得信息素样本, 然而这类方法在信息素成分鉴定上使用的不多, 因为这种方法对亲脂性的信息素成分吸收率比较低, 况且这类成分本来就属于微量组分。

除了以上的方法之外, 固相微萃取技术 (SPME) 也得到了应用并且用来提取了鳞翅目的信息素成分包括: Z10-14 乙酸酯以及细蛾科的 *Phyllonorycter sylvella* 的其他信息素组分 (Borg-Karlson and Mozuraitis, 1996), 斑幕潜叶蛾 *Phyllocnistidae blancardella* 中的 E10-12 乙酸酯以及其他组分 (Mozuraitis *et al.*, 2000), *Phyllonorycter heegerella* 中的 Z8-14 乙酸酯以

及其他组分 (Mozuraitis *et al.*, 2000), 蛀茎夜蛾 *Sesamia nonagrioides* 中的 Z11-16 乙酸酯以及其他组分 (Frérot *et al.*, 1997) 以及 *Phtheochroa cranaodes* 中的 E3, Z5-12 乙酸酯和其他组分 (Norin, 2001)。前 3 种的信息素组分是通过将 SPME 吸附剂置于交配期雌蛾腹部突出的腺体上方几毫米处维持 2~3 h 提取到的, 而蛀茎夜蛾的信息素组分则是通过将吸附剂在雌虫体表腺体的位置附近轻微摩擦 5 min 之后得到的。

除了使用雄虫进行风洞或者 Y 型嗅觉仪进行选择实验之外, 雌性信息素的引诱活性亦可以通过电生理实验来进行检测。例如, 触角电位 (EAG) 实验, 就是测量并记录昆虫触角在受到化合物刺激之后从底端到顶端所产生的电压峰值的一种方法 (Visser, 1979), 这是生物测定中一个很重要的方法。测量雄虫对雌虫或者其他昆虫的触角电生理 EAG 数值这一方法, 现在已经被广泛应用来证实具有生理活性的化合物, 这一方法的优势在于 EAG 实验可以很轻易的在任何自然状态下的昆虫中完成, 并且可以在明亮的环境中进行实验。由于数个具有活性的化合物可以在较短的时间内连续进行测定, 所以整个信息素组分的混合物可以通过一次注射进入带有毛细管柱的 GC-EAD 系统中 (Arn, 1975), 现在的电子放大器已经能将电脉冲扩大很多, 甚至有的 EAD 反应峰值可以高过 FID 的峰值 (Ando *et al.*, 2004)。在多组分的 GC-EAD 试验中, 尺蛾科的桑尺蠖 *Hemerophila artilineata* 雄虫触角甚至可以被 0.01 ng 的同种主要信息素组分 (Z3, Z6, epo9-18:H) 所刺激产生峰值 (Pu *et al.*, 1999), 而这个剂量在 FID 中几乎检测不到。在所研究种的信息素成分含量很少的情况下, 使用色谱分离检测具有 EAG 活性的成分这一方法为我们提供了阐明信息素结构和组分信息的有效手段。例如, 在未使用光谱分析法的情况下, 利用 GC-EAD 技术成功在皮克 (pg) 量级检测出了马栗潜叶蛾 *Cameraria ohridella* 的一种新信息素组分 E8, Z10-14:Ald (Svatoš *et al.*, 1999)。

将腺体切下并浸提之后得到的样本, 可以直

接使用气质联用 GC-MS 分析方法来进行分析且不需要进行纯化, 通常的 EI 设定在 70 eV 左右, 而可以记录到的信息素谱图通常能至少达到 ng 等级的剂量。具有较大腺体的昆虫, 例如夜蛾科的种, 具有 10~100 ng 的信息素含量 (Komoda *et al.*, 2000), 所以一头雌蛾当量的提取物就足以测出整个完整的主要成分质谱图并且还能获得次要成分的很多信息。尽管个体大小与其信息素含量的相关性并没有定论, 但是小型的鳞翅目种当中, 例如细蛾总科和巢蛾总科中的潜叶蛾个体中的信息素含量就非常少, 有时甚至少于 1 pg (Gries *et al.*, 1993; Svatoš *et al.*, 1996; Ferrao *et al.*, 1998), 这种情况下就需要使用大量雌蛾来进行样本的提取。

鳞翅目的信息素成分是挥发化合物, 所以气相色谱 GC 通常被用来进行信息素的分离和检测, 而高效液相色谱 HPLC 则可以用来定量分析某些含有共轭双烯的信息素成分, 例如蚕蛾醇。紫外检测器可以以高灵敏度专一的检测出共轭双烯, 另外, HPLC 还可以有效的纯化生物合成实验中的放射性标记组分 (Ozawa *et al.*, 1993)。HPLC 包含正相与逆相条件, 可以用来分离多数的亲脂性 C10~C23 的信息素成分, 其分离度取决于碳链长度和双键的数量 (有时也取决于双键的构型) (Nishida *et al.*, 2003)。最后, 在紫外 210 nm 附近的吸收峰, 1 mg 的 TYPE1 单烯乙酸和醛以及 TYPE2 的共轭双烯化合物都能够被检测出来, 通过 RID 在 1 mg 量级记录每个组分。经过 HPLC 的分离之后, 具有环氧的组分可以继续进行之后的手性柱分析, 以分析其绝对构型。

液相色谱 LC 也可以用来纯化制备的 TYPE2 类信息素。这一类中单环氧的化合物是被 3-间氯过氧苯甲酸系统的氧化 Z3, Z6, Z9-三烯和 Z6, Z9-二烯所产生的, 这一加氧步骤并没有位置特异性, 于是从三烯和二烯制得的是 3 种环氧二烯和二种环氧单烯的混合物。将混合物注入中压液相色谱 MPLC 柱中之后, 位置异构化合物会按照 6,7-, 9,10-和 3,4-环氧二烯的顺序洗提 (Qin *et al.*, 1997), MPLC 的分离效果比使用 ODS

柱的 HPLC 要好。相对的, 两种环氧单烯化合物在经过多次 MPLC 柱之后只能勉强被分离开 (Ando *et al.*, 1995), 而逆相的 HPLC 则能更加有效的分离这两种化合物。LC 也可以用来分离从 Z3, Z6, Z9-三烯衍生出的二环氧信息素组分 (Yamazawa *et al.*, 2001)。

目前, LC-MS 方法被广泛的用以分析极性组分, 例如有人证实了 LC-MS 可以用来分析 TYPE 2 信息素组分, 他们使用了飞行时间质谱和电喷射离子化 (ESI) 系统 (Yamazawa *et al.*, 2003), 结果发现 Z3, Z6, Z9 环氧二烯出现了 3 个系列碎片峰分别是 $[M+NH_4]^+$, $[M+H]^+$ 和 $[M-OH]^+$, 都具有高度的可分辨性, 能够指示出其分子式。另外, 3,4-环氧的 m/z M-57 和 M-71 特征峰以及 9,10-环氧的 m/z M123 特征峰均能够检测到, 但是没有检测到 6,7-环氧的特征峰。通过性腺提取和 LC-MS 分析, 桑尺蠖的主要信息素组分得到了鉴定 (Yamazawa *et al.*, 2003)。

TYPE2 类的信息素中环氧信息素的对映体可以通过手性 GC 柱分离出来, 但是其应用范围非常狭窄, 包括了: 使用了 b-环状糊精派生物作为液相的定制色谱用来对天然 3,4-和 6,7-环氧二烯进行立体化学鉴定 (Szöcs *et al.*, 1993); 使用了 a-环状糊精柱 (ChiralDEX A-PH) 的能够分离 3,4-环氧二烯的色谱柱 (Ando *et al.*, 1997) 等。

核磁共振法 1H NMR 极少被用来对天然信息素成分进行分析, 因其对样本含量和纯度都有很高的要求, 而 GC-MS 则没有这些限制。然而在 TYPE1 和 TYPE2 类信息素中的双键和氧环的构型是无法用质谱来检测的, E 构型的两个烯质子之间的耦合常数 (约 15 Hz) 比 Z 构型的耦合常数 (约 10 Hz) 要高, 顺式氧环的两个质子之间耦合常数 (约 5 Hz) 比反式氧环的两个质子之间的耦合常数 (约 2.5 Hz) 高。松异舟蛾 *Thaumetopoea pityocampa* 的 Z 型双键信息素组分 11, Z13-16 乙酸酯 (Guerrero *et al.*, 1981) 和棉古毒蛾 *Orgyia postica* 的反式氧环信息素组分 Z6, Z9, t-epo11-21:H (Wakamura *et al.*, 2001) 均在天然产物中通过 FT-NMR 成功进行

了鉴定。这两个种的信息素浓度很高,在 NMR 分析中使用了约 10 mg 的化合物,但是这种方法对提取物纯度有较高要求。

6 展望

近几年来,随着经典方法的成熟和对模式昆虫研究的深入,鳞翅目信息素的研究变得更加深入和专一。一方面,随着仪器设备的进步,对于以前很难掌握和鉴定的微量组分的功能研究,将信息素的研究补充得更加完善,并且从长程作用与近距离作用等多方面综合解释了鳞翅目信息素在整个定位和交配过程中各个组分所起的作用 (Zhang *et al.*, 2012)。同时,为了考察信息素对昆虫的细微影响,传统的生测方法也在不断地改进,例如近几年来 3D 风洞技术的引入 (Fry *et al.*, 2008; Jantzen and Eisner, 2008; Spitzen *et al.*, 2008; Almbro and Kullberg, 2009; Lancey and Cardé, 2011), 通过多点电子摄像头同步记录昆虫在风洞内的飞行行为,并通过软件生成其飞行的轨迹,之后通过多参数统计分析来考察昆虫在飞行中轨迹的细微改变从而发现引诱化合物的潜在功能。这种 3D 风洞目前对于信息素次要组分的功能分析具有非常值得期待的前景。

另一方面,对作用机制的探讨也成为了鳞翅目信息素研究领域越来越受到重视的课题。昆虫对包括信息素在内的化学物质的识别是主要通过嗅觉系统完成的,昆虫的嗅觉系统极度灵敏及专一,可以分辨出甚至几个分子的活性化合物。在整个过程中,负责运送化合物通过亲水性液体的气味结合蛋白 (Odorant binding protein, OBP) 起到了重要的作用,能够运送信息素组分的气味结合蛋白被称为信息素结合蛋白 (Pheromone binding protein, PBP) (Wang *et al.*, 2002)。传统的 OBP 研究方法繁琐且昂贵,例如直接分离纯化和同位素标记等。在引入了分子生物学技术之后,OBP 的研究开始改变,克隆替代了提取,抗体鉴定替代了同位素标记 (Wang *et al.*, 2002)。分子生物学的方法也同样应用在了 PBAN 神经肽的研究中,通过分子克隆和表达找

出其作用机制,同时通过重组病毒和开发类似物等方法,将 PBAN 神经肽的研究成果投入到了害虫治理领域 (Yang and Zhang, 2004)。

应用方面,信息素有多种多样的应用方法,包括用于虫情监测、大量诱杀、干扰交配、配合治虫、害虫检疫及虫种鉴定等 (Meng, 2000)。信息素释放载体直接影响到了信息素诱芯的效率,所以这一方面的研究和改进也在不断地进行着,从早期的塑料,到应用广泛成本低廉的橡胶头,再之后使用毛细管等介质,以及共同加工生成的缓释介质等,信息素诱芯介质的研究主要为了提高其持效性的同时降低开发成本。

当前的昆虫信息素研究工作,都各自具有规范的方法及手段,而在应用方面,也有不少昆虫的性信息素诱剂具有商业成品,但是多数害虫的性诱剂仍然面临开发成本高,推广难的问题。未来的性诱剂研究工作,可以考虑与不同的挥发性植物化合物相结合起来,以起到降低成本,提高效率的作用 (Tang *et al.*, 2012); 另一方面,将寄主植物-害虫-天敌三者结合起来,把信息素研究的尺度从实验室扩大到整个生态系统,也是如今化学生态研究的一个趋势。

参考文献 (References)

- Abad JLS, Camps F, Fabriàs G, 2001. Stereospecificity of the (Z)-9 desaturase that converts (E)-11-tetradecenoic acid into (Z,E)-9,11-tetradecadienoic acid in the biosynthesis of *Spodoptera littoralis* sex pheromone. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 31(8): 799–803.
- Almbro M, Kullberg C, 2009. The downfall of mating: the effect of mate-carrying and flight muscle ratio on the escape ability of a pierid butterfly. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 63(3): 413–420.
- Ando T, Hase T, Arima R, Uchiyama M, 1988. Biosynthetic pathway of bombykol, the sex pheromone of the female silkworm moth. *Agr. Biol. Chem.*, 52(2): 473–478.
- Ando T, Inomata S, Yamamoto M, 2004. Lepidopteran sex pheromones. *Top. Curr. Chem.*, 239: 51–96.
- Ando T, Kishi H, Akashio N, Qin XR, Saito N, Abe H, Hashimoto S, 1995. Sex attractants of geometrid and noctuid moths: Chemical characterization and field test of monoepoxides of 6,9-dienes and related compounds. *J. Chem. Ecol.*, 21(3): 299–311.
- Ando T, Ohtani K, Yamamoto M, Miyamoto T, Qin XR, Witjaksono,

1997. Sex pheromone of Japanese giant looper, *Ascotis selenaria* cretacea: Identification and field tests. *J. Chem. Ecol.*, 23(10): 2413–2423.
- Ando T, Saito O, Arai K, Takahashi N, 1980. (Z)-12-tetradecenyl and (E)-12-tetradecenyl acetates-sex pheromone components of oriental corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *Agr. Biol. Chem.*, 44(11): 2643–2649.
- Arn H, 1975. The electroantennographic detector-a selective and sensitive tool in the gas chromatographic analysis of insect pheromones. *Z. Naturforsch.*, 30: 722–725.
- Arsequell G, Fabriàs G, Camps F, 1990. Sex pheromone biosynthesis in the processionary moth *Thaumetopoea pityocampa* by delta-13 desaturation. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 14(1): 47–56.
- Billen J, Ito F, Maile R, Morgan ED, 1998. The mandibular gland, probably the source of the alarm substance in *Leptanilla* sp. (Hymenoptera, Formicidae). *Naturwissenschaften*, 85(12): 596–597.
- Birch MC, Poppy GM, 1990. Scents and eversible scent structures of male moths. *Annu. Rev. Entomol.*, 35: 25–58.
- Bjostad LB, Roelofs WL, 1983. Sex-pheromone biosynthesis in *Trichoplusia ni*-key steps involve delta-11 desaturation and chain-shortening. *Science*, 220(4604): 1387–1389.
- Bjostad LB, Wolf WA, Roelofs WL, 1987. Pheromone Biochemistry. London: Academic Press. 77.
- Blomquist JG, Vogt RG, 2003. Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. London: Elsevier Academic Press. 177.
- Boo KS, Park KC, 2005. Insect semiochemical research in Korea: Overview and prospects. *Appl. Entomol. Zool.*, 40(1): 13–29.
- Borg-Karlson AK, Mozuraitis R, 1996. Solid phase micro extraction technique used for collecting semiochemicals. Identification of volatiles released by individual signalling *Phyllonorycter sylvella* moths. *Z. Naturforsch. C*, 51(7/8): 599–602.
- Butenandt A, Beekmann R, Hecker E, 1961. Über den sexuallockstoff des seidenspinners, I der biologische test und die isolierung des reinen sexual-lockstoffes bombykol. *Z. Naturforsch.*, 14b: 283–284.
- Byers JA, 2002. Internet programs for drawing moth pheromone analogs and searching literature database. *J. Chem. Ecol.*, 28(4): 807–818.
- Ferrao P, Gries G, Wimalaratne PC, Maier C, Gries R, Slessor K, Li J, 1998. Sex pheromone of apple blotch leafminer, *Phyllonorycter crataegella*, and its effect on *P. mespilella* pheromone communication. *J. Chem. Ecol.*, 24(12): 2059–2078.
- Foster SP, Roelofs WL, 1988. Sex pheromone biosynthesis in the leafroller moth *Planotortix excessana* by $\Delta 10$ desaturation. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 8(1): 1–9.
- Foster SP, Roelofs WL, 1996. Sex pheromone biosynthesis in the tortricid moth, *Ctenopseustis herana* (Felder & Rogenhofer). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 33(2): 135–147.
- Frérôt B, Malosse C, Cain AH, 1997. Solid-phase microextraction (SPME): A new tool in pheromone identification in lepidoptera. *J. High Res. Chrom.*, 20(6): 340–342.
- Fry SN, Rohrseitz N, Straw AD, Dickinson MH, 2008. TrackFly: virtual reality for a behavioral system analysis in free-flying fruit flies. *J. Neurosci. Methods*, 171(1): 110–117.
- Gries G, McBrien HL, Gries R, Li J, Judd GJR, Slessor KN, Borden JH, Smith RF, Christie M, Troubridge JT, Wimalaratne PDC, Underhill EW, 1993. (E4,E10)-dodecadienyl acetate: Novel sex pheromone component of tentiform leafminer, *Phyllonorycter mespilella* (Hübner) (Lepidoptera: Gracillariidae). *J. Chem. Ecol.*, 19(8): 1789–1798.
- Gu X, Quilici D, Juarez P, Blomquist GJ, Schal C, 1995. Biosynthesis of hydrocarbons and contact sex-pheromone and their transport by lipophorin in females of the German-cockroach (*Blattella germanica*). *J. Insect Physiol.*, 41(3): 257–267.
- Guerrero A, Camps F, Coll J, Riba M, Einhorn J, Descoins C, Lallemand JY, 1981. Identification of a potential sex pheromone of the processionary moth, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera, Notodontidae). *Tetrahedron Lett.*, 22(21): 2013–2016.
- Hall GM, Tittiger C, Andrews GL, Mastick GS, Kuenzli M, Luo X, Seybold SJ, Blomquist GJ, 2002. Midgut tissue of male pine engraver, *Ips pini*, synthesizes monoterpenoid pheromone component ipsdienol de novo. *Naturwissenschaften*, 89(2): 79–83.
- Hardwick DF, 1965. The corn earworm complex. *Mem. Entomol. Soc. Can.*, 97(40): 5–247.
- Heath RR, Landolt PJ, Leppla NC, Dueben BD, 1988. Identification of a male-produced pheromone of *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) attractive to conspecific males. *J. Chem. Ecol.*, 14(4): 1121–1131.
- Heath RR, Tumlinson JH, Leppla NC, McLaughlin JR, Dueben B, Dundulis E, Guy RH, 1983. Identification of a sex pheromone produced by female velvetbean caterpillar moth. *J. Chem. Ecol.*, 9(5): 645–657.
- Ishikawa Y, Takanashi T, Huang Y, 1999. Comparative studies on the sex pheromones of *Ostrinia* spp. in Japan: the burdock borer, *Ostrinia zealis*. *Chemoecology*, 9(1): 25–32.
- Jantzen B, Eisner T, 2008. Hindwings are unnecessary for flight but essential for execution of normal evasive flight in Lepidoptera. *Proc. National Acad. Sci.*, 105(43): 16636–16640.

- Jurenka R, 2004. Insect pheromone biosynthesis. *Top. Curr. Chem.*, 239: 97–132.
- Jurenka RA, 1997. Biosynthetic pathway for producing the sex pheromone component (Z,E)-9,12-tetradecadienyl acetate in moths involves a Δ 12 desaturase. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*, 53(6): 501–505.
- Jurenka RA, 2003. Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. London: Elsevier Academic Press. 481.
- Jurenka RA, Haynes KF, Adlof RO, Bengtsson M, Roelofs WL, 1994. Sex pheromone component ratio in the cabbage looper moth altered by a mutation affecting the fatty acid chain-shortening reactions in the pheromone biosynthetic pathway. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 24(4): 373–381.
- Jurenka RA, Jacquin E, Roelofs WL, 1991. Control of the pheromone biosynthetic pathway in *Helicoverpa zea* by the pheromone biosynthesis activating neuropeptide. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 17(2/3): 81–91.
- Jurenka RA, Roelofs WL, 1989. Characterization of the acetyltransferase used in pheromone biosynthesis in moths: Specificity for the Z isomer in tortricidae. *Insect Biochem.*, 19(7): 639–644.
- Jurenka RA, Subchev M, Abad JL, Choi MY, Fabrias G, 2003. Sex pheromone biosynthetic pathway for disparlure in the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 100(3): 809–814.
- Klun JA, Chapman OL, Mattes KC, Wojtkows PW, Beroza M, Sonnet PE, 1973. Insect sex pheromones-minor amount of opposite geometrical isomer critical to attraction. *Science*, 181(4100): 661–663.
- Knipple DC, Rosenfield CL, Nielsen R, You KM, Jeong SE, 2002. Evolution of the integral membrane desaturase gene family in moths and flies. *Genetics*, 162(4): 1737–1752.
- Knipple DC, Rosenfield CL, Miller SJ, Liu W, Tang J, Ma PWK, Roelofs WL, 1998. Cloning and functional expression of a cDNA encoding a pheromone gland-specific acyl-CoA Δ 11-desaturase of the cabbage looper moth, *Trichoplusia ni*. *P. Natl. Acad. Sci.*, 95(26): 15287–15292.
- Kochansky J, Carde R T, Liebherr J, Roelofs WL, 1975. Sex pheromone of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae), in New York. *J. Chem. Ecol.*, 1(2): 225–231.
- Komoda M, Inomata SI, Ono A, Watanabe H, Ando T, 2000. Regulation of sex pheromone biosynthesis in three plusiinae moths: *Macdunnoughia confusa*, *Anadevidia peponis*, and *Chrysodeixis eriosoma*. *Biosci. Biotech. Bioch.*, 64(10): 2145–2151.
- Lacey ES, Cardé RT, 2011. Activation, orientation and landing of female *Culex quinquefasciatus* in response to carbon dioxide and odour from human feet: 3-D flight analysis in a wind tunnel. *Med. Vet. Entomol.*, 25(1): 94–103.
- Laster ML, 1972. Interspecific hybridization of *Heliothis virescens* and *H. subflexa*. *Environ. Entomol.*, 1(6): 682.
- Laster ML, Sheng CF, 1995. Search for hybrid sterility for *Helicoverpa zea* in crosses between the north American *H. zea* and *H. armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China. *J. Econ. Entomol.*, 88(5): 1288.
- Liu W, Jiao H, Murray NC, O'connor M, Roelofs WL, 2002. Gene characterized for membrane desaturase that produces (E)-11 isomers of mono- and diunsaturated fatty acids. *P. Natl. Acad. Sci.*, 99(2): 620–624.
- Löfstedt C, Bengtsson M, 1988. Sex pheromone biosynthesis of (E,E)-8,10-dodecadienol in codling moth *Cydia pomonella* involves E9 desaturation. *J. Chem. Ecol.*, 14(3): 903–915.
- Ma PWK, Roelofs WL, 2002. Sex pheromone gland of the female European corn borer moth, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera, Pyralidae): Ultrastructural and biochemical evidences. *Zool. Sci.*, 19(5): 501–511.
- Martinez T, Fabriás G, Camps F, 1990. Sex pheromone biosynthetic pathway in *Spodoptera littoralis* and its activation by a neurohormone. *J. Biol. Chem.*, 265(3): 1381–1387.
- Meng XZ, 2000. Progress on research and application of insect sex pheromone in China. *Entomol. Knowl.*, 37(2): 75–84.
- Millar JG, 2000. Polyene hydrocarbons and epoxides: a second major class of Lepidopteran sex attractant pheromones. *Annu. Rev. Entomol.*, 45: 575–604.
- Mozūraitis R, Būda V, Jonušaitė V, Borg-Karlson AK, Noreika R, 2000. Sex pheromones of *Phyllonorycter acerifoliella* and *P. heegerella* and communication peculiarities in three species of leafmining moths. *Entomol. Exp. Appl.*, 94(1): 15–23.
- Nishida T, Vang LV, Yamazawa H, Yoshida R, Naka H, Tsuchida K, Ando T, 2003. Synthesis and characterization of hexadecadienyl compounds with a conjugated diene system, sex pheromone of the persimmon fruit moth and related compounds. *Biosci. Biotech. Bioch.*, 67(4): 822–829.
- Norin T, 2001. Pheromones and kairomones for control of pest insects. Some current results from a Swedish research program. *Pure Appl. Chem.*, 73(3): 607–612.
- Ono A, Imai T, Inomata S, Watanabe A, Ando T, 2002. Biosynthetic pathway for production of a conjugated dienyl sex pheromone of a Plusiinae moth, *Thysanoplusia intermixta*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 32(6): 701–708.
- Ozawa AR, Ando T, Nagasawa H, Kataoka H, Suzuki A, 1993.

- Reduction of the acyl group: the critical step in bombykol biosynthesis that is regulated in vitro by the neuropeptide hormone in the pheromone gland of *Bombyx mori*. *Biosci. Biotech. Bioch.*, 57(12): 2144–2147.
- Pu GQ, Yamamoto M, Takeuchi Y, Yamazawa H, Ando T, 1999. Resolution of epoxydienes by reversed-phase chiral HPLC and its application to stereochemistry assignment of mulberry looper sex pheromone. *J. Chem. Ecol.*, 25(5): 1151–1162.
- Qin XR, Ando T, Yamamoto M, Yamashita M, Kusano K, Abe H, 1997. Resolution of pheromonal epoxydienes by chiral HPLC, stereochemistry of separated enantiomers, and their field evaluation. *J. Chem. Ecol.*, 23(5): 1403–1417.
- Rodríguez S, Clapés P, Camps F, Fabriàs G, 2002. Stereospecificity of an enzymatic monoene 1,4-dehydrogenation reaction: conversion of (Z)-11-tetradecenoic acid into (E,E)-10,12-tetradecadienoic acid. *J. Org. Chem.*, 67(7): 2228–2233.
- Roelofs WL, Liu WT, Hao GX, Jiao HM, Rooney AP, Linn CE, 2002. Evolution of moth sex pheromones via ancestral genes. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 99(21): 13621–13626.
- Schal C, Sevala V, Carde RT, 1998. Novel and highly specific transport of a volatile sex pheromone by hemolymph lipophorin in moths. *Naturwissenschaften*, 85(7): 339–342.
- Schal C, Sevala V, De L, Capurro M, Snyder TE, Blomquist GJ, Bagnères AG, 2001. Tissue distribution and lipophorin transport of hydrocarbons and sex pheromones in the house fly, *Musca domestica*. *J. Insect Sci. (Tucson)*, 1: 1–11.
- Schulz S, Francke W, König WA, Schurig V, Mori K, Kittmann R, Schneider D, 1990. Male pheromone of swift moth, *Hepialus hecta* L. (Lepidoptera: Hepialidae). *J. Chem. Ecol.*, 16(12): 3511–3522.
- Spitzen J, Spoor CW, Kranenbarg S, Beeuwkes J, Grieco F, Noldus LPJJ, van Leeuwen JL, Takken W, 2008. Track3D: Visualization and flight track analysis of *Anopheles gambiae* s.s. mosquitoes. Proceedings of Measuring Behavior 2008. Maastricht, The Netherlands. 133–135.
- Su MW, Fang YL, Tao WQ, Yan GZ, Ma WE, Zhang ZN, 2008. Identification and field evaluation of the sex pheromone of an invasive pest, the fall webworm *Hyphantria cunea* in China. *Chin. Sci. Bull.*, 53(4): 555–560.
- Svatoš A, Attygalle A, Jham G, Frighetto RS, Vilela E, Šaman D, Meinwald J, 1996. Sex pheromone of tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Chem. Ecol.*, 22(4): 787–800.
- Svatoš A, Kalinová B, Hoskovec M, Kindl J, Hovorka O, Hrdý I, 1999. Identification of a new lepidopteran sex pheromone in picogram quantities using an antennal bioreceptor: (8E,10Z)-tetradeca-8,10-dienal from *Cameraria ohridella*. *Tetrahedron Lett.*, 40(38): 7011–7014.
- Szőcs G, Tóth M, Francke W, Schmidt F, Philipp P, König WA, Mori K, Hansson BS, Löfstedt C, 1993. Species discrimination in five species of winter-flying geometrids (Lepidoptera) based on chirality of semiochemicals and flight season. *J. Chem. Ecol.*, 19(11): 2721–2735.
- Tamaki Y, Noguchi H, Sugie H, Sato R, Kariya A, 1979. Minor components of the female sex-attractant pheromone of the smaller tea tortrix moth (Lepidoptera, Tortricidae) - Isolation and identification. *Appl. Entomol. Zool.*, 14(1): 101–113.
- Tamaki Y, Noguchi H, Yushima T, 1971. Two sex pheromones of the smaller tea tortrix: isolation, identification and synthesis. *Appl. Ent. Zool. Tokyo*, 6(3): 139–141.
- Tang JD, Charlton RE, Jurenka RA, Wolf WA, Phelan PL, Sreng L, Roelofs WL, 1989. Regulation of pheromone biosynthesis by a brain hormone in two moth species. *P. Natl. Acad. Sci.*, 86(6): 1806–1810.
- Tang R, Zhang JP, Zhang ZN, 2012. Electrophysiological and behavioral responses of male fall webworm moths *Hyphantria cunea* to herbivory-induced mulberry (*Morus alba*) leaf volatiles. *PLoS ONE*, 7(11): e49256.
- Tillman JA, Seybold SJ, Jurenka RA, Blomquist GJ, 1999. Insect pheromones-an overview of biosynthesis and endocrine regulation. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 29(6): 481–514.
- Tóth M, Buser HR, 1992. Simple method for collecting volatile compounds from single insects and other point sources for gas chromatographic analysis. *J. Chromatogr. A*, 598(2): 303–308.
- van den Bosch H, Schutgens RBH, Wanders RJA, Tager JM, 1992. Biochemistry of peroxisomes. *Annu. Rev. Biochem.*, 61: 157–197.
- Visser JH, 1979. Electroantennogram responses of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, to plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.*, 25(1): 86–97.
- Wakamura S, Arakaki N, Yamamoto M, Hiradate S, Yasui H, Yasuda T, Ando T, 2001. Posticure: a novel trans-epoxide as a sex pheromone component of the tussock moth, *Orgyia postica* (Walker). *Tetrahedron Lett.*, 42(4): 687–689.
- Wang CZ, Dong JF, 2001. Interspecific hybridization of *Helicoverpa armigera* and *H. assulta* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chin. Sci. Bull.*, 46(6): 490–492.
- Wang GR, Guo YY, Wu KM, 2002. Progress in the studies of antenna odorant binding proteins of insects. *Acta Entomol. Sin.*, 45(1): 131–137.
- Wang HL, Zhao CH, Wang CZ, 2005. Comparative study of sex pheromone composition and biosynthesis in *Helicoverpa*

- armigera*, *H. assulta* and their hybrid. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35(6): 575–583.
- Wei W, Zhao LL, Sun JH, 2006. Recent advances on Lepidopterous (moths) sex pheromones. *Acta Entomol. Sin.*, 49(5): 850–858.
- Wigglesworth VB, 1970. Structural lipids in the insect cuticle and the function of the oenocytes. *Tissue Cell*, 2(1): 155–179.
- Wu W, Zhu J, Millar J, Löfstedt C, 1998. A comparative study of sex pheromone biosynthesis in two strains of the turnip moth, *Agrotis segetum*, producing different ratios of sex pheromone components. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 28(11): 895–900.
- Yamazawa H, Nakajima N, Wakamura S, Arakaki N, Yamamoto M, Ando T, 2001. Synthesis and characterization of diepoxyalkenes derived from (3Z,6Z,9Z)-trienes: lymantriid sex pheromones and their candidates. *J. Chem. Ecol.*, 27(11): 2153–2167.
- Yamazawa H, Yamamoto M, Karasawa KI, Pu GQ, Ando T, 2003. Characterization of geometrid sex pheromones by electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Mass Spectrom.*, 38(3): 328–332.
- Yang H, Zhang JT, 2004. Recent advances of insect PBAN family neuropeptides. *Acta Parasitol. Med. Entomol. Sin.*, 11(2): 121–127.
- Zhang JP, Salcedo C, Fang YL, Zhang RJ, Zhang ZN, 2012. An overlooked component: (Z)-9-tetradecenal as a sex pheromone in *Helicoverpa armigera*. *J. Insect Physiol.*, 58(9):1209–1216.
- Zhao C, Löfstedt C, Wang X, 1990. Sex pheromone biosynthesis in the Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* (II): Biosynthesis of (E)- and (Z)-12-tetradecenyl acetate involves $\Delta 14$ desaturation. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 15(1): 57–65.
- Zhu JW, Zhao CH, Lu F, Bengtsson M, Löfstedt C, 1996. Reductase specificity and the ratio regulation of EZ isomers in pheromone biosynthesis of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26(2): 171–176.