

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ОБЪЕДИНЕННЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ
"НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ ХИМИЗАЦИИ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙС"

К. В. Лебедева,
В. А. Миняйло, Ю. Б. Пятнова

ФЕРОМОНЫ НАСЕКОМЫХ



ИЗДАТЕЛЬСТВО "НАУКА"

Москва 1984

Лебедева К.В., Миняйло В.А., Пятнова Ю.Б. **Феромоны насекомых.** М.: Наука, 1984

В книге обобщены данные многочисленных публикаций по феромонам насекомых, представляющим собой сложные органические соединения, вырабатываемые экзокринными железами животных и влияющие на поведение, рост и развитие особей того же вида. Отражено современное состояние работ по выделению и идентификации феромонов, методам их синтеза и способам тестирования.

Для биохимиков, энтомологов и специалистов, работающих в области химических средств защиты растений.

Ответственный редактор
чл.-кор. АН СССР Н.Н. МЕЛЬНИКОВ

ПРЕДИСЛОВИЕ

Феромоны — химические вещества, выделяемые во внешнюю среду одними организмами и вызывающие у воспринимающих их других организмов специфические реакции, поведенческие или физиологические.

Функционально феромоны очень разнообразны: поповые, феромоны агрегации, следовые, феромоны тревоги и т.д. В этой книге речь будет идти лишь о двух группах феромонов насекомых — половых и феромонах агрегации, причем из половых феромонов будут рассматриваться только те, которые обладают привлекающим действием. В дальнейшем под словом феромоны, если особо не оговорено, следует понимать только эти вещества.

Половые феромоны — средство коммуникации между половыми партнерами. Будучи выделенными особями одного пола, они вызывают у особей другого пола поведенческие ответы, способствующие спариванию. Феромоны агрегации обуславливают сосредоточение обоих полов. Агрегация может иметь разное назначение: обеспечивать встречу половых партнеров, сосредоточивать популяцию с целью занятия подходящего субстрата для размножения или с целью совместного преодоления сопротивления растения-хозяина, концентрировать популяцию в укрытиях и т.д.

Выбор для рассмотрения в данной монографии феромонов только двух групп — половых и агрегации — обусловлен наибольшей перспективностью этих феромонов для использования в защите растений. Эти феромоны обеспечивают сближение насекомых, первоначально разделенных определенным пространством. На расстоянии феромон является часто единственной связующей нитью между особями вида. Ее нетрудно оборвать, манипулируя синтетическим феромоном.

Существуют два основных способа использования феромонов насекомых против насекомых. Во-первых, можно привлечь насекомое с помощью феромона и уничтожить до того, как оно сможет обнаружить естественный источник феромона (например, полового партнера). Во-вторых, насытив синтетическим феромоном воздух, можно помешать насекомому находить естественные источники феромона. В обоих случаях будут нарушены жизненно важные функции насекомого, в первую очередь размножение. Первый способ (ловушка с феромоном) может быть использован и для надзора за насекомыми.

В настоящее время постепенно изменяется общая концепция защиты растений. В качестве главной цели начинает выступать не уничтожение вредителей, а управление их численностью. Упор делается на восстановление, сохранение и поддержание, насколько возможно, саморегуляции биоценозов, тех сил в биоценозах, которые способны сдерживать массовое размножение вредителей. Эта цель, очевидно, может быть достигнута только комплексом соответствующих средств и приемов, подобранных на основе глубоких знаний о процессах в биоценозе.

В эту концепцию, получившую название интегрированной защиты растений, очень хорошо вписываются в качестве одного из компонентов феромо-

ны насекомых. Интегрированная защита основывается на точных сведениях о популяциях насекомых. Такие сведения могут быть получены с помощью ловушек с феромонами. Интегрированная защита предполагает использование как можно более избирательных средств воздействия на вредителей. Феромоны в настоящем смысле слова позволяют управлять вредителями, не затрагивая или затрагивая в минимальной степени все другие организмы в биоценозе. Феромоны не ядовиты, к тому же количества их, которые необходимы для достижения эффекта, невелики. Расход на гектар за сезон при использовании метода насыщения атмосферы составляет всего лишь десятки граммов. При этом феромоны как летучие вещества не остаются на обработанной территории, а развеиваются потоками воздуха в пространстве.

Указанные выше и другие возможности и достоинства феромонов уже не предположительны, а доказаны массой работ. Сегодня феромоны уже "работают" в защите растений в разных странах. Широко применение ловушек с феромонами в надзоре за вредителями, некоторые феромоны используются как средства непосредственного управления численностью вредителей путем насыщения атмосферы.

Половые привлекающие вещества насекомых давно рассматривались как потенциальное средство борьбы с вредителями. Однако только идентификация в 1959 г. первого феромона положила начало подведению реальной основы практического применения феромонов. Для практического применения необходимо иметь синтетические феромоны. Поэтому в качестве первых шагов на пути к применению феромонов их надо идентифицировать, а затем научиться синтезировать в промышленном масштабе. Сегодня успехи химии феромонов, на которых основывается их применение, несомненно велики. В 1965 г. были сведения о строении половых феромонов трех видов насекомых, в 1972 г. — уже 37 видов, а сейчас — более 200 видов. Для идентификации первого феромона потребовались десятилетия работы и сотни тысяч насекомых. Сейчас иногда удается определить структуру феромона, используя только сотни насекомых. Новые возможности для идентификации — результат разработки и совершенствования специфических методических подходов, пригодных для изучения феромонов. Что касается химии, то наиболее ценно широкое применение высокочувствительных инструментальных методов, особенно масс-спектрометрии, а также микрохимических методов. Феромоны ведь обычно содержатся в насекомых в ничтожно малых количествах, измеряемых нанограммами. Не меньшее значение имело создание эффективных методов биологического тестирования феромонов, которое сопровождается буквально каждый шаг работы химика. Разработаны различные методы синтеза феромонов, феромоны некоторых важнейших вредителей в ряде стран выпускаются для практического использования.

Интересным представляется сравнение химии феромонов и инсектицидов. Учитывая нынешние требования к инсектицидам и существующую методологию их поиска путем отбора из массы синтетических соединений, новый инсектицид с каждым годом получить все труднее и обходится он все дороже. В идентификации феромонов наблюдаются противоположные тенденции. Структура и соответственно синтез инсектицидов также часто не менее сложны, чем у феромонов.

Надо сказать, что литературы по феромонам, особенно по химии феромонов, на русском языке немного. В условиях большого интереса к феромонам, когда постоянно расширяется круг работающих в этой области, возникает особая потребность в разного рода сводках и обзорах. За рубежом опубликовано значительное число интересных книг и отдельных

обзоров по феромонам насекомых, затрагивающих разные стороны предмета, в том числе химию. У нас опубликован в 1976 г. перевод информативной сводки Джекобсона (вышедшей за рубежом в 1972 г.) "Половые феромоны насекомых", в которую включены материалы по химии феромонов. Кроме нее, по химии феромонов опубликовано лишь несколько небольших обзоров. По методам биологического тестирования феромонов обзорных публикаций у нас пока нет (кстати, они единичны и за рубежом).

Предлагаемая книга ставит целью частично восполнить недостаток обзорной литературы по феромонам. Авторы старались не только и не столько осветить успехи в химии феромонов, сколько показать основную методологию, благодаря которой они стали возможны. Предпринята попытка проанализировать методы работы, показать их возможности и ограничения. В конце концов это наиболее важно для движения вперед. В связи с ограниченным объемом книги авторы не ставили задачи дать более или менее исчерпывающий обзор литературы. Приводятся лишь некоторые примеры из массы имеющихся, которые показались авторам пригодными для иллюстрации тех или иных затрагиваемых вопросов. Только в разделе об идентификации авторы пытались по возможности полнее отразить выполненные исследования.

Феромонология — еще совсем молодая ветвь на древе науки. И химикам, и биологам предстоит еще много работы, которую они должны делать "рука об руку". Отмечая успехи химии и указывая на важность химических работ, авторы согласны с высказыванием Г. Шори¹, что идентификация феромона лишь открывает дверь для биологических исследований, на которых только и может основываться успех его применения. Еще раз подчеркнем, что феромоны не панацея и не решают всех проблем защиты растений, но то, что они должны и займут надлежащее место в современных системах защиты растений, не вызывает сомнений. Авторы считали бы свою задачу выполненной, если бы эта книга помогла дальнейшему развитию исследований феромонов и продвижению их в практику защиты растений в нашей стране.

¹ Shorey H.H. — In: Chemical control of insect behaviour — theory and application. New York: Wiley Interscience, 1977, p. 1—6.

УКАЗАТЕЛЬ СОКРАЩЕНИЙ

Для сокращения названий структур, относящихся к алифатическим длинноцепочечным молекулам, были приняты сокращения с использованием латинских букв. Для указания места двойной связи в молекуле используются цифры, а для пространственного положения двойной связи перед цифрой — буквы Z (цис) и E (транс) (окончания: A — ацетат, Ad — кислота, AL — аль, F — формиат, OL — ол).

- Ac — ацетил
 AcOH — уксусная кислота
 Bu — бутил
 Bz — бензил
 Cnt — контан
 DA — деканолацетат
 Z5DA — Z-5-деценилацетат
 Z3DAd — Z-3-деценовая кислота
 DDA — додеканолацетат
 E7DDA — E-7-додеценилацетат
 E8E10DDDOL — E-8, E-10-додекадиенол
 DDO L — додеканол
 Z9DDOL — Z-9-додеценол
 Z7EC11ON — Z-7-эйкозен-11-он
 Et — этил
 EtOH — этанол
 Z11HDDA — Z-11-гексадеценилацетат
 HDAL — гексадеканаль
 Z9HDAL — Z-9-гексадеценаль
 Z7HAd — Z-7-гексадециловая кислота
 Z7E11HDDA — Z-7, E-11-гексадекадиенилацетат
 E10Z12HDDAL — E-10, Z-12-гексадекадиеналь
 E10E12HDDOL — E-10, E-12-гексадекадиенол
 Z7HDM E — метиловый эфир 7-гексадециновой кислоты
 Z11HDOL — Z-11-гексадеценол
 Z6HEC11ON — Z-6-генэйкозен-11-он
 Z1,6HECD11ON — Z-1,6-генэйкозадиен-11-он
 Z3Z6Z9HETr — Z-3, Z-6, Z-9-генэйкозатриен
 Z11HpDA — Z-11-гептадеценилацетат
 HPLC — жидкостная хроматография под давлением
 Me — метил
 10MeDDA — 10-метилдодеканолацетат
 Z2Me7, BEpoxuOD — Z-2-метил-7,8-эпоксиоктадекан
 14Me8HDA — 14-метил-8-гексадециловая кислота
 14ME8HDAL — 14-метил-8-гексадеценаль
 14Me8HDM E — метиловый эфир 14-метил-8-гексадециновой кислоты
 MeOH — метанол
 MeS — метансульфонил
 NC — нонакозан
 Z7ND11ON — Z-7-нонадецен-11-он
 OC-октакозан
 Z3E13ODDA — Z-3, E-13-октадекадиенилацетат
 ODOL — октадеканол
 PDAd — пентадекановая кислота
 Ph — фенил
 Pr — пропил
 Py — пиранил
 Pyr — пиридин
 TDA — тетрадеканолацетат
 TDAL — тетрадеканаль
 Z7TDAL — Z-7-тетрадеценаль
 E3Z5TDDAd — E-3, Z-5-тетрадекадиеновая кислота
 Z9E12TDDOL — Z-9, E-12-тетрадекадиенол
 Tr — трифенилметил
 Z7TrC11ON — Z-7-трикозен-11-он
 E4Z7Tr DDA — E-4, Z-7-тридекадиенилацетат
 Tr DOL — тридеканол
 E4Z7Z10Tr DTr A — E-4, Z-7, Z-10-тридекатриенилацетат
 Ts — толуолсульфонил
 TsOH — толуолсульфокислота
 AF — агрегационный феромон
 АЮГ — аналог ювенильного гормона
 БМ — буровая мука
 БСИ — N-бромсукцинимид
 ГЖХ — газо-жидкостная хроматография
 ГЖХ-МС — хроматомасс-спектрометрия
 ГМФТ — гаексаметилфосфортриамид
 ДГП — дигидропиран
 ДМФА — диметилформамид
 ДМСО — диметилсульфоксид
 ДНФГ — динитрофенилгидразин
 Мв — милливольт
 Me — метил
 МИД — умножитель ионного детектора
 МФ — многофункциональный феромон
 СИ-НБК — м-хлорнадбензойная кислота
 ПИД — пламенно-ионизационный детектор
 ПФ — половой феромон
 РГЖХ — реакционная газо-жидкостная хроматография
 СГ — силикагель
 ТГФ — тетрагидрофуран
 ТСХ — тонкослойная хроматография
 ХИ — химическая ионизация
 ЗАГ — электроантеннография или электроантеннограмма
 ЭВ — электронвольт
 ЭУ — электронный удар
 ЮГ — ювенильный гормон

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕРОМОНОВ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ

ВВЕДЕНИЕ

Более 20 лет прошло с тех пор, как из экстракта самки тутового шелкопряда *Bombyx mori* было выделено вещество, вызывающее бурную реакцию самца. Для его идентификации Бутенандту потребовалось 20 лет тщательного эксперимента и 0,5 млн девственных самок тутового шелкопряда. Этим первым из идентифицированных компонентов феромонов чешуекрылых оказался E-10, Z-12-гексадекадиенол (E10Z12HDDOL), названный "бомбиколом" [1]. Открытие, сделанное Бутенандтом, послужило толчком к поиску феромонов, привлекающих особь противоположного пола, у других видов насекомых. К настоящему времени идентифицированы основные компоненты феромонов около 120 различных видов чешуекрылых.

Феромоны относят к самым сильным из всех известных биологически активных веществ. Например, 1 мг диспарлур (Z-2-метил-7,8-эпоксиктадекана, Z2Me7,8EpoxyOD), феромона непарного шелкопряда *Lymantria (Porthetria) dispar*, привлекает самцов в условиях поля в течение трех месяцев [3]. Еще меньшими количествами вещества обходится самка в процессе привлечения самца, что ставит первую проблему в выделении и идентификации компонентов ее феромона. Эта проблема отчасти может быть решена накоплением большого количества биоматериала. Именно так она решалась к концу шестидесятых годов, когда были обнаружены компоненты феромонов в экстрактах сотен тысяч особей еще четырех видов насекомых: совки ни *Trichoplusia ni* (ацетат Z-7-додецена (Z7DDA) [4]), бабочки походного червя *Spodoptera frugiperda* (ацетат Z-9-тетрадецена (Z9TDOL) [5]), листовертки *Argyrotaenia velutinana* (ацетат Z-11-тетрадецена (Z11TDA) [6]) и вредителя цитрусовых *Argyrope leucotreta* (ацетат E-7-додецена (E7DDA) [7]).

Прогресс в области техники микроанализа, особенно техники инструментального анализа, позволил в последние 10 лет существенно сократить количество необходимого биоматериала. Использование высокоразрешающей капиллярной газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии под давлением, хроматомаксиметрии (ГЖХ-МС), масс-фрагментографии, особенно в сочетании с ЭВМ позволяет свести идентификацию компонентов феромона для некоторых видов насекомых к рассмотрению экстракта нескольких десятков особей и тем самым сократить до минимума путь от источника феромона до последней ступени его идентификации.

Вторая проблема, связанная с выделением и идентификацией, заключается в подборе четкого лабораторного биотеста на феромон, который гарантировал бы надежные результаты в течение всего года. Тесное участие в этой работе энтомолога, который одновременно мог бы обеспечивать необходимым количеством биоматериала, является решением этой второй проблемы. Из-за неправильно выбранного биотеста, опирающегося на

поведенческую реакцию самца вблизи пахучего вещества, титанические усилия многих исследователей оказались напрасны [8]. Как выяснилось впоследствии, выделенные ими вещества не были аттрактантами, а были веществами, ответственными лишь за предкопуляционное поведение самца.

Благодаря успехам последних лет, многое удалось узнать о феромонах насекомых; однако картина остается еще далеко не полной. Так, стало известно, что феромоны насекомых, как и феромоны вообще, — сложный "букет" нескольких компонентов, у каждого из которых своя особая роль. Какова эта роль, установлено не окончательно. Ясно только то, что все компоненты, например в феромоне самки, нужны для привлечения самца [9].

После того как обнаруженные у некоторых видов основные компоненты стали применяться в целях надзора и борьбы с помощью ловушек, выяснилось, что использование одного вещества феромона приводит к привлечению таксономически удаленных видов родственных насекомых, сводя на нет главное достоинство феромонов — их специфичность [10, 11, 12—14, 16, 17].

Из многих гипотез о том, что обеспечивает специфичность природному феромону самки, одна нашла фактическое подтверждение. Это гипотеза о возможном воздействии на роль основного компонента других веществ, присутствующих в феромоне. В том случае, если основных компонентов два, специфичность может быть обусловлена соотношением этих двух компонентов. Так, смесь Z11TDA и E11TDA в соотношении 1:1 привлекает *Archips podana*, та же самая смесь в соотношении 7:3 привлекает *A. argyrospilus*, а в соотношении 1:9 привлекает *Platynota stultana* [10]. Или, например, смесь Z9TDA и Z11TDA в соотношении 9:91 привлекает листовертку *Pandemis limitata*, а в соотношении 95:5 — совку *Lucania linda* [16]. Чаще всего, однако, специфичность феромона обусловлена минорными (до 10% от основного компонента) количествами вторичных веществ, роль которых сводится к усилению активности основного компонента своего вида (синергизму) [12, 19—21] или к ингибированию привлечения другого вида [21, 23, 25—27, 227]. Так, например, ацетат Z-3, E-13-октадекадиенола (Z3E13ODDA) является синергистом привлечения *Synanthedon pictipes* к основному компоненту (E3Z13ODDA), а Z3Z13ODDA — основной компонент феромона *S. scitulla* в количестве 0,5% ингибирует это привлечение. В то же время основной компонент феромона *S. pictipes* (E3Z13ODDA) выступает ингибитором привлечения *S. scitulla* к основному компоненту (Z3Z13ODDA) [21]. При этом специфичность обеспечивается четким соотношением этих веществ (вторичных, или минорных, компонентов к основным, или первичным, компонентам) [10, 28, 29]. Вторичные вещества могут быть пространственными изомерами основных компонентов, их изомерами положения, предшественниками их биосинтеза или родственными структурами, отличающимися функциональными группами, степенью ненасыщенности. Так как вторичные компоненты составляют не более 10% от основного компонента, а чаще около 1—3%, то понятно, что их выделение и идентификация представляют собой задачу на два порядка более трудную, чем идентификация основных компонентов. Тем не менее положено начало решению и этой задачи. Так, в 1979 г. выделены семь компонентов феромона табачной совки *Heliothis virescens*: Z-11-гексадеценаль (Z11HDAL) 81%, Z-9-гексадеценаль (Z9HDAL) 1,3%; Z-7-гексадеценаль (Z7HDAL) 2%; гексадеканаль (HDAL) 9,5%; Z-11-гексадеценол (Z11HDOL) 3,2%; тетрадеканаль (TDAL) 1,6% [30]. В полевых условиях для специфичного привлечения *H. virescens* необходимы все семь компонентов феромона, взятые точно

в том соотношении, в каком они найдены в природе [31]. Это условие необходимо выполнять неукоснительно, тем более что даже незначительное увеличение одного из компонентов, особенно из числа основных, может привести вместо привлечения к его ингибированию смесью [12, 25, 26, 29, 32, 33].

Способ изоляции видов с помощью минорных компонентов представляется экологически оправданным и существует не только у таксономически удаленных видов, но и у одного и того же вида, но обитающего в разных климатических районах. Например, кукурузный мотылек *Ostrinia nubilalis*, обитающий в штате Айова, привлекается смесью Z11TDA—E11TDA в соотношении 97:3 [34], а тот же самый кукурузный мотылек, обитающий в штате Нью-Йорк, привлекается теми же компонентами, но в соотношении 3:97 [35]. Или, например, после того как у совки *Scotia (Agrotis) segetum* были обнаружены шесть компонентов феромона (Z5DA, Z7DDA, Z9DDA, DDA, E5DDA, Z8DDA), лучшей для привлечения с расстояния оказалась смесь из пяти компонентов — Z5DA, DDA, E5DDA, Z7DDA, Z9DDA, взятых в количествах 1, 100, 10, 2 и 16 мкг соответственно. Однако эта смесь не вызывала у самцов предкопулятивного поведения. В то же время Z8DDA в полевых испытаниях проявил ингибирующие свойства, и роль его в феромоне местной популяции осталась невыясненной. Популяция этого вида, обитающая во Франции, привлекалась только к Z5DA, в Дании — к Z7DDA, в 2 раза более эффективному, чем Z5DA; в Швейцарии важную роль играл Z9DDA при добавлении в бинарную смесь Z5DA и Z7DDA, в то время как DDA и E5DDA не вызывали никакого эффекта [26]. Эти результаты наталкивают на необходимость, с одной стороны, выяснения точного соотношения компонентов в географически различающихся популяциях [9], а с другой — вызывают предположение, что биологические испытания в полевых условиях еще недостаточно хорошо имитируют привлечение девственной самкой. А это в свою очередь может затруднять правильность идентификации компонентов и выяснение их соотношения и роли в феромоне.

В генетической изоляции видов может играть роль не только геометрическая или позиционная изомерия, но и оптическая изомерия. Пока у чешуекрылых отмечен только один случай существования такой изомерии, который, возможно, изолирует такие два вида, как *L. dispar* и *L. mopacha*. Замечено, что *L. dispar* в пять с лишним раз эффективнее привлекается (+) Z2Me7, 8EpoxyOD, чем рацематом или (-)-энантиомером. На самцах шелкопряда-монашенки влияние (-)-энантиомера не сказывается [36].

Таким образом задача выделения и идентификации феромонов чешуекрылых сводится к выделению и идентификации основных и минорных компонентов, представляющих собой геометрические, позиционные изомеры или родственные соединения, различающиеся функциональными группами, длиной углеродной цепи, степенью и положением ненасыщенности. При этом необходимо учитывать зависимость состава феромона от географического обитания популяции.

Выделение и идентификация феромонов были бы значительно упрощены, если бы удалось выяснить механизм биосинтеза феромонов. Некоторые успехи по выяснению механизма биосинтеза феромонов самцов (афродизиаков), возбуждающих самку, уже достигнуты. Так, например, обнаружено, что у самцов некоторых видов совок, испускающих пахучие вещества с пучков волосков, синтез 2-фенилэтанола из фенилаланина проходит через образование коричной кислоты. При этом 2-фенилэтанол, как и бензальдегид, до испускания самцом находится в основных экзокринных железах Стобба в виде глюкозидов — фенэтил-β-глюкозида и бензил-β-глю-

козида. В результате ферментативного гидролиза β -глюкозидазой они превращаются в ароматические феромоны [37]. Показано, что при биосинтезе компонентов феромона самца *Galleria mellonella* (н-ундеканала и н-нонанала) происходят процессы α - и β -окисления [38], а самцам *Danaus chrysippus* необходима диета, в которой содержатся пирролизидиновые алкалоиды, предшественники феромона [39].

Сведения о биосинтезе феромонов самок чешуекрылых более ограничены [40]. Найдено, что феромон у самки чешуекрылых вырабатывается специальной железой, находится в ней в связанном состоянии [41–43] и превращается в свободный феромон по достижении самкой определенного возраста. Так, в самках яблонной плодовой галлицы *Laspeyresia pomonella* однодневного возраста найдено 0,03 мг свободного феромона и 0,22 мг связанного, а в трехдневной самке — 0,3 мг свободного феромона и 0,25 мг связанного [42]. В железах недавно отродившихся самок *A. velutinana* найдено только 10% феромона, а остальное — промежуточные вещества синтеза феромонов из класса глицеролипидов, в основном триглицеридов, холиновых и этаноламиновых фосфатидов E- и Z-тетрадеценых и додеценых кислот [41]. Щелочной гидролиз этих веществ с последующим ацилированием [5, 42, 45, 46, 48] высвобождает ацетатные компоненты феромона. Такая операция увеличивает активность экстракта, например, у самки *Grapholitha molesta* в 10–100 раз и в 100 раз — у *Choristoneura rosaceana* [11, 49, 50]. А в железах самки непарного шелкопряда *L. dispar* феромон диспарлур находится в виде своего предшественника — непредельного углеводорода. Существование биологического предшественника диспарлура доказано прямым инъецированием его тритиевого производного куколке самки *L. dispar* и последующим выделением тритиевого производного диспарлура из ее феромонной железы [51]. Обработка сырого экстракта самки м-хлорпербензойной кислотой увеличивает его активность в 11 раз. [52].

СПОСОБЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ФЕРОМОНОВ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ

Активные вещества феромона могут быть выделены из насекомых различными методами экстракции, начиная с перегонки с паром, улавливания летучих веществ из воздуха, экстракции бумаги, на которой выращивают насекомых, и кончая вымачиванием в растворителе целого насекомого или отдельных частей его.

При этом необходимо учитывать возраст и условия, влияющие на выделение феромона у самки, такие как свет, температура и влажность воздуха [12, 53–55]. У самок некоторых видов феромон присутствует уже в стадии куколки [59], у других появляется сразу после отрождения [60], у третьих — только после спаривания [61], у четвертых — он после спаривания исчезает [62]. Так, например, 2-6-дневная совка *S. segetum* испускает феромон в первой половине 6-часовой скотофазы (характерная поза "зова", загнутае вверх брюшко и его сокращающие движения являются сигналом момента испускания феромона) [63–66]; у совки *T. pi* с возрастом увеличивается количество испускаемого феромона в единицу времени, но сам период испускания сокращается. В течение пятиминутного зова самка *T. pi* испускает около 100 нг Z7DDA [67, 68]. Максимальное количество феромона (4,3 нг) самка *Chrysoteuchia topiara* испускает в возрасте двух дней от 10.00 до 12.00 ч [58].

Изменение светового режима содержания самок в лаборатории сказывается на количестве выделяемого феромона. Самки южной мельничной огневки в возрасте до пятого дня днем выделяют 3 нг/особь/ч

Z9E12TDDA и 6 нг/особь/ч Z9E12TDDOL; в период скотофазы самки выделяют на 1 нг Z9E12TDDA больше и на 1,5 нг Z9E12TDDOL больше, чем в период фотофазы, а с пятого дня скорость выделения феромона падает до 0,5 нг/особь/ч [71].

Все эти условия необходимо учитывать и выполнять прежде всего потому, что от них зависит количество выделяемого феромона — главное, что интересует исследователя. При содержании насекомых в лаборатории эти условия должны быть максимально приближены к условиям той климатической зоны, в которой обитает насекомое. Например, куколок огневки *Chilo partellus* в лаборатории необходимо содержать в следующих условиях: 25–26°С, 90%-ная влажность, 12 ч фотофазы и 12 ч скотофазы [53]; куколок листовертки *Adoxophyes fasciata* необходимо выдерживать при 25°, 14 ч фотофазы и 10 ч скотофазы, а отродившихся насекомых — при 20°, 16 ч фотофазы и 8 ч скотофазы [74].

По одной из гипотез биосинтеза феромонов вещества растения-хозяина представляют исходными в синтезе их компонентов. Эта гипотеза в ряде случаев подтверждена тем, что некоторым бабочкам для выделения феромона необходимо питание растением-хозяином, а выращивание насекомых в лаборатории на искусственной среде приводит к уменьшению количества феромона. Кроме того, при длительном совместном пребывании в одном помещении самцов и самок возможно размывание у самок феромонной функции в поколении, далеко отстоящем от дикой популяции [75, 76], с одновременным ослаблением реакции самца на феромон самки [77].

При выборе способа выделения феромона из насекомых необходимо учитывать и природу самого феромона, который может оказаться сверхлетучим, неустойчивым не только в условиях высоких температур, но и при комнатной температуре в присутствии кислорода воздуха и ультрафиолетовых лучей естественного света. Кроме того, необходимо помнить о присутствии часто не обладающих биологической активностью минорных веществ, изменение соотношения которых с основным компонентом может усиливать или ингибировать биологическую активность феромона. Так или иначе, способ выделения должен гарантировать извлечение всех компонентов феромона в соотношении, максимально приближенном к природному, с минимальным количеством примесей и потерь феромона. Для этого необходимо выбирать самый короткий путь от источника феромона до последней ступени его идентификации. Чтобы избежать улетучивания или разложения феромона, все операции необходимо проводить в среде инертного газа в условиях невысоких температур. Чтобы не вносить дополнительно усложняющих идентификацию примесей, необходимо тщательно чистить все реагенты и растворители, с которыми приходится оперировать.

Выделение феромона из воздуха над живыми насекомыми

Сбор феромона из воздуха над живыми девственными самками чешуекрылых, основанный на использовании общего для всех феромонов свойства их летучести, представляется наиболее эффективным методом, так как позволяет избежать внесения в экстракт тяжелолетучих примесей и сохранить такое соотношение компонентов в воздушном экстракте, которое ближе всего к природному соотношению. Несмотря на это, он не был так популярен, как экстракция феромонов из кончика брюшка. Это могло быть связано, с одной стороны, с трудностями самой техники сбора и в особенности техники извлечения с адсорбента, улавливающего

феромон, с другой — с малыми количествами испускаемого феромона на особь, при которых необходимо много биоматериала.

Только в последнее время этот метод стал не менее популярен, чем все остальные методы, и особенно при сборе феромона в момент зова самки. На модельных соединениях изучена адсорбция компонентов из воздуха и их последующая десорбция с адсорбента [58, 68, 78]. Показано, например, что возврат с Порапака Q составляет 89% [68] для Z7DDA, для других модельных соединений — 60—80% [78].

Воздух, используемый для сбора, должен быть предварительно тщательно очищен. Для этой цели его пропускают через молекулярные сита [58] или через адсорбент, который используется для сбора феромона, например через силикагель или Порапак Q [60].

Для сбора летучих веществ применяют охлаждаемые ловушки, ловушки с адсорбентом или с растворителем. Для охлаждения полых или заполненных стеклянной насадкой ловушек используют сухой лед в ацетоне или метаноле [65, 79]. Эффективен сбор в ловушки, охлаждаемые жидким азотом [80].

Впервые экстракция феромона из воздуха и сбор в охлаждаемые ловушки были использованы при извлечении феромона тутового шелкопряда *B. mori*. Для этого очищенный воздух прокачивали со скоростью 5 см³/сек через сосуд, содержащий одну тысячу живых девственных самок. Летучие вещества конденсировали в сосудах, охлаждаемых до -10°С, а затем до -70°С последовательно [79].

В качестве адсорбента в ловушках можно использовать активированный уголь [53, 65, 82]. Однако сильные адсорбционные свойства активированного угля затрудняют его очистку перед сбором феромона и десорбцию с него феромона. Поэтому наибольшую популярность для сбора феромона получил Порапак Q [28, 58, 66—68, 78, 80, 83—86]. Эффективность сбора на Порапак Q на 10—20% ниже сбора в ловушку, охлаждаемую жидким азотом, но его преимущество в возможности длительного сбора и легкости оперирования [80].

Порапак Q (50/80 меш), применяемый для этих целей, предварительно тщательно очищают. Для этого его обрабатывают пентаном [67, 68, 78], растворителем Skellysolve B [28, 85] или гексаном [66] в аппарате Сокслета в течение 24 ч и сушат в потоке азота 4 ч при 100°С. Условия такой предварительной очистки должны полностью соответствовать условиям экстракции феромона с Порапака Q.

Непосредственно перед употреблением трубочку с Порапаком Q прогревают в токе азота (3 л/мин) 24 ч при 180°С и 24 ч при 110° [78] или продувают сухим азотом при 200° в хроматографе [68]. Скорость воздуха при сборе феромона 0,5—2 л/мин [53, 58, 66, 68, 86]. Летучие вещества с Порапака Q можно экстрагировать подходящим растворителем в аппарате Сокслета [66, 78]. Например, 20—50 самок *Argyrotaenia citrina* (1—4-дневного возраста) помещали в стеклянную трубку (9 см x 1,2), заткнутую стеклянной ватой, и феромон собирали на Порапак Q (20 см в колонке 45 см x 2,2 см). Сбор феромона проводили при скорости воздуха 2 л/мин, 16°С и смена света и темноты 16:8. Воздушный экстракт с Порапака Q элюировали Skellysolve B [28, 86]. Или, например, самок совок *T. pi* (смена света и темноты 14:10) помещали в стеклянные цилиндры (85 мм x 50 мм), покрытые крышкой с сеткой, на которую крепился кусочек ваты, смоченный 10%-ным раствором сахара. Воздух пропускали через цилиндр с контролируемой скоростью 2,15—2,25 л/мин (1,9 м/сек) и летучие вещества собирали в стеклянную трубку (7 мм x 100 мм) со 100 мг Порапака Q (80—100 меш). Сбор веществ проводили подключением ваку-

ума к трубке с Порапаком Q, подставляя ее к выставленному кончику брюшка самки в момент зова на расстоянии 1 мм. В конце скотофазы содержимое трубки экстрагировали сероуглеродом [68]. Обычно используют трубки диаметром около 2 см, произвольной длины, где столбик Порапака Q составляет 20 см (25 г); при этом кончики трубки сужены до 0,6 см. При сборе малых количеств феромона пользуются трубочками меньших размеров (6 мм x 50 мм). После азирования насекомых в течение двух дней Порапак Q экстрагируют пентаном в аппарате Сокслета в течение 24 ч. Концентрирование экстракта проводят отгонкой пентана через колонку (25 см x 1 см), заполненную стеклянными шариками [78].

Количество феромона, которое при этом удастся собрать, зависит и от его содержания в самке и от выбранной техники сбора. Например, если при сборе на Порапак Q летучих веществ самки *T. pi* удастся проэкстрагировать около 100 нг/особь/5 мин [68], то при сборе из воздуха феромона *B. togii* в охлаждаемые ловушки экстрагируется 15 нг бомбикаля и 164 нг бомбикола/особь [83], а при пропускании воздуха через камеру (30 см x 6,5 см) с 50 самками огневки *S. toriara*, сборе летучих веществ на Порапак Q и их вымывании хлористым метиленом удастся извлечь только 0,5 нг/особь за 1200 ч. По опыту с модельными соединениями хлористый метилен вымывает с Порапака Q только 40% смеси Z11HDAL и Z11HDOL [58].

Оригинальным способом сбора летучих веществ представляется сбор феромона в момент зова с насекомых, помещенных в хроматографическую колонку ($d = 4$ см) на 1–2 мин с последующим элюированием содержащего эфиром [74]. Удачным методом сбора летучих веществ представляется их сбор в ловушки с органическим растворителем [28].

На примере выделения феромона яблонной плодовой жоржки можно убедиться в том, что сбор феромонов из воздуха намного эффективнее других методов выделения. Попытки выделить и идентифицировать феромон экстракцией целых насекомых, начатые еще в 1966 г., кончились неудачей, и только в 1972 г. впервые удалось обнаружить семь компонентов феромона в воздушном экстракте 500 самок 2–4-дневного возраста *L. rotundella*, собирая в хлористый метилен (150 мл) летучие вещества при 24°C. Раствор упарили до 1 мл и хроматографировали ГЖХ на колонке с Апиэзоном L при различных температурах [88]. В воздушном экстракте самок *O. pubialis*, у которых до 1980 г. были найдены только два компонента феромона (Z11TDA и E11TDA), в 1980 г. нашли четыре активных компонента [89].

Выделение феромона экстракцией различных частей тела насекомого

Методом экстракции органическим растворителем целого насекомого [90, 91, 93, 95] или отдельных его частей [97, 98] можно извлечь гораздо большее количество феромона, но вместе с тем и большее количество балластных веществ, из которых в свою очередь приходится извлекать вкрапления компонентов феромона. Перед началом процесса экстракции выясняют, какая часть тела насекомого может быть источником феромона. При изучении экстрактов различных частей тела самки и особей обоего пола бабочки *Pectinophora gossypiella* установили, что активны только кончики брюшка самок в хлористом метиле [99, 100]. Для выделения феромона и особенно для подбора условий выделения экстракцией органическими растворителями количество биоматериала, необходимого для этих целей, определяется содержанием феромона в особи исследуемого вида. Так

как это количество колеблется от сотых долей нг до нескольких десятков нг на особь [53, 101—104], то и количество исходного биоматериала колеблется от десятков особей до сотен тысяч [6, 11, 20, 74, 91, 101, 103, 105, 107, 109, 110].

В свою очередь количество феромона колеблется в зависимости от возраста исследуемой особи, продолжительности ее фото- и скотофазы, а также условий влажности и температуры, в которых эта особь содержится.

Так, самка *Plodia interpunctella*, выделяющая за 1 ч 3 нг Z9E12TDDA и 6 нг Z9E12DDOL, во время темновой фазы выделяла на 1,0—1,5 нг больше, чем во время световой фазы, а у самок старше пяти дней снижалось выделение феромона до 0,5 нг [71]. Если перед экстракцией кончиков брюшка самок *Diparopsis castanea* хлористым метиленом выдержать живых насекомых в течение четырех часов в темноте, то количество феромона увеличивается в 30—50 раз [111]. Так как совка *S. segetum* испускает феромон в первой половине скотофазы (насекомых выдерживают 18 ч на свету и 6 ч в темноте), то самок анестезируют в первой половине скотофазы и кончики брюшка погружают в гексан. Хранят экстракт при -20° ($\pm 3^{\circ}$ C) [66]. Бабочек *H. virescens* выращивали в условиях 16 ч фотофазы и 25° C; кончики брюшка самок 0,5—4-дневного возраста отрезали в хлористый метилен в интервале от 3,5 до 5 ч скотофазы [112]. А у 4-дневных самок *Mamestra configurata*, выдержанных в условиях 14-часового освещения, отсекали кончики брюшка на пятом—шестом часу скотофазы в хлористый метилен, который концентрировали и хранили при -20° C [114].

Для экстракции феромона применяются такие растворители, которые улетучиваются быстрее феромона, или такие, которые не мешают дальнейшему анализу феромона. Если феромон неполярен, то для его экстракции удобно использовать такие растворители, как гексан, гептан, бензол, хлористый метилен, эфир. Для экстракции спиртовой компоненты необходим более полярный растворитель. Самый популярный растворитель, используемый для экстракции, — хлористый метилен [6, 10, 20, 51, 53, 58, 90, 103, 105, 106, 116—121, 123—129], менее популярны — эфир [130—133, 135, 137], гексан [9, 46, 82, 95, 140—142], гептан [9, 144—146, 148], бензол [109, 148—159], дихлорэтан [91, 151] и смесь растворителей [6, 152].

Главное условие к растворителю — чистота. Очищенный и перегнанный растворитель перед употреблением пропускают через хроматографическую колонку с нейтральной [54, 153, 154] или щелочной [17] окисью алюминия.

Несмотря на то что большинство исследователей для вымачивания кончика брюшка или целого насекомого используют хлористый метилен, обращают на себя внимание некоторые специальные работы, в которых сообщают о значительно большей активности экстрактов гексаном, чем хлористым метиленом или другими растворителями [136]. Гексановый экстракт кончиков брюшка самок *Orgyia leucostigma* был в 60 раз активнее экстракта хлористым метиленом [139]. Однако отмечено также, что при высушивании экстракта Na_2SO_4 наибольшие потери феромона наблюдаются при экстракции феромона гексаном [155].

Количество растворителя, которое достаточно для экстракции, исчисляется 3—20 мкл/особь [157—159] в зависимости от времени выдерживания. Если анализ экстракта проводится моментально, то достаточно минимальной дозы растворителя. В противном случае количество растворителя должно быть увеличено.

Достаточно важна также продолжительность вымачивания кончика брюшка в растворителе. Такую экстракцию можно проводить в течение нескольких минут (15—20 мин) [53, 54, 119, 120, 160], часов [58, 110, 154] или суток [161]. Понятно, что при меньшем периоде вымачивания будет меньшее количество феромона, но и меньшее количество балластных веществ. У девственных самок совок *Earias insulana* отрезали кончики брюшка на третьем часу скотофазы второй ночи после отрождения. Отсеченные кончики брюшка экстрагировали эфиром или гексаном 15 мин при комнатной температуре, экстракты отфильтровывали, упаривали и концентрировали для анализа [82]. Кончики брюшек девственных самок *H. armigera* отрезали на седьмом часу темнового периода и погружали в гексан на 5—10 мин; после фильтрования экстракт концентрировали на роторном испарителе, добавляли несколько капель гептана, а гексан удаляли под азотом [9]. А, например, кончики брюшка *Platynota flavedata* погружали в перегнанный хлористый метилен на 24 ч при -5°C [162]; кончики брюшка двух—трехдневных самок *M. oleragica* выдерживали трое—пять суток в хлористом метиле при $10-15^{\circ}\text{C}$ (100 самок в 10 мл) [161].

Чтобы исключить переход балластных веществ в экстракт, вместо вымачивания кончик брюшка ополаскивают растворителем, как это было сделано с самками *C. semifera* [22], *Euxoa ochrogaster* [12], *Oryia leucostigma* [139], *H. virescens* [164], *Amyelois transitella* [130], *T. ni* [163]. Вытянутые в момент зова кончики брюшка у самки совки *M. brassicae* полоскали в хлористом метиле так, чтобы в экстракт переходило минимальное количество липидов. Смывки феромона считались активными, если самцы реагировали на 0,1 самки-эквивалента [226].

В других случаях, наоборот, два последних сегмента брюшка насекомого гомогенизируют в растворителе с последующей экстракцией в аппарате Сокслета [43, 63, 64, 118] или перетирают с сульфатом натрия (или магния), одновременно высушивая экстракт [104, 132, 135, 166, 167].

Для удобства экстракции насекомых иногда предварительно замораживают при -10°C [139, 169] или при -20°C [53, 168] в течение 10 мин или погружают в жидкий азот [102]. Вместо вымораживания самок иногда анестезируют перед тем, как отсекают кончики брюшка в растворитель [5, 170]. Так как экстракт феромона может потерять свою активность при хранении при комнатной температуре уже в течение трех недель [123], сырые экстракты хранят в атмосфере азота, в темноте, при $0-(+7)^{\circ}\text{C}$ [64, 150] или при -25°C [35, 130, 154, 171].

Перед сбором феромона от нескольких тысяч самок кукурузного мотылька *O. nubilalis* отродившихся насекомых помещали в сетки (56 см X X 28 см X 45,8 см) и два дня выдерживали в цикле фотофазы—скотофазы (16 ч при 27°C — 8 ч при 20°C). Затем самок охлаждали и кончики их брюшка отрезали в эфир. Эфирный экстракт хранили при 0°C , пока не собрали 24 тыс. кончиков брюшка в 80 мл эфира. Затем проводили гомогенизацию при 20°C порциями в 3 тыс. брюшек в 30 мл эфира четырехкратно. Профильтрованный экстракт сушили Na_2SO_4 и растворитель упаривали на роторном испарителе при атмосферном давлении [64].

Иногда кончики брюшка мацерируют и фильтруют через целит на стеклянную крошку; остаток промывают хлористым метилом и концентрируют до 25 самок/мл; экстракт хранят под азотом при -25°C [111].

Возможность выделить экстракт феромона с минимальным количеством балластных веществ увеличивается, если вместо кончиков брюшка насекомых использовать отпрепарированную железу, вырабатывающую феро-

мон, или яйцеклад насекомого [97, 173, 174]. Непродолжительное выдерживание (1–2 сек) железы или яйцеклада в подходящем растворителе позволяет получить экстракт феромона, практически не нуждающийся в дополнительной очистке перед анализом ГЖХ или ГЖХ–МС [130, 143, 157, 176, 177]. Такой способ выделения становится все более популярным в последнее время, так как дает возможность ограничиться небольшим количеством особей [30, 84, 150, 182]. С другой стороны, этот метод стал возможен только в результате совершенствования техники инструментального микроанализа, позволяющей идентифицировать нанogramмовые количества веществ и тем самым ограничиваться иногда одной–двумя особями [31]. Например, оказалось, что для идентификации четырех компонентов феромона *N. zea* достаточно приготовить раствор 20 желез в 60 мкл гептана [144]. При хорошо разрешающей капиллярной колонке хроматса достаточно использовать экстракт одного яйцеклада в 3 мкл гептана [145].

При выделении феромонов из желез особое внимание должно быть уделено качеству используемого материала, строгому соблюдению условий его хранения или транспортировки. Так, например, личинок *Pseudaletia unipuncta* собирали в поле и держали в камерах при 21° и фотопериоде 14 ч свет и 10 ч темнота. Самок шести-, семидневного возраста через 5–6 ч скотофазы помещали в холодильник (+5° С) на 10–16 мин. Замороженную железу выдавливали и отсекали от восьмого сегмента. С железы соскабливали жиры и помещали на 1 ч в хлористый метилен [146].

Железы самки совки *T. ni* помещали на 1–2 сек в серный эфир (200 мкл), экстракт сушили $MgSO_4$ и доводили до 3–5 мкл, упаривая струей сухого азота [163]. Экстракт от одной железы *T. ni* получали вымачиванием ее в течение 24 ч в сероуглероде. При таком способе экстракции удается собрать до 812 нг/особь/ночь [68].

Перед отрезанием яйцекладов двух-трехдневных самок *N. armigera* после 5–8 ч. скотофазы их выдерживали 12 ч на свету при 25° С и 70%-ной влажности, затем 12 ч в темноте при 20° С и 80%-ной влажности; яйцеклады хранили в сероуглероде [182].

Другие способы выделения феромонов

Менее популярным способом выделения феромонов представляется их экстракция из марли [185] или из фильтровальной бумаги [8, 33, 65, 183, 186], в контакте с которыми в специальных сосудах находятся насекомые в условиях лаборатории. Для этих целей насекомых разных партий выдерживают в течение нескольких дней на одних и тех же материалах

Применение такого способа, например, для выделения феромона самки листовертки *C. fumiferana* позволило успешно идентифицировать основные компоненты в виде E (96%) - и Z (4%) -изомеров 11TDAL. Для этого марлю после 3000 самок-ночей смывали 1700 мл гексана, фильтровали, сушили Na_2SO_4 и упаривали при комнатной температуре до 100 мкл. Для анализа ГЖХ отбирали пробу в 0,3 мкл [185]. Аналогично обрабатывали марлю после 12 тыс. самок-ночей этого вида [55].

Для сбора феромона с фильтровальной бумаги девственных самок содержат в закрытых сосудах с листьями фильтровальной бумаги; затем фильтровальную бумагу экстрагируют, например, хлористым метиленом, сушат Na_2SO_4 , концентрируют на роторном испарителе при температуре ниже 40° С и хранят при –20° С [186]. Или, например, отродившихся са-

мок *N. zea* помещают в садки со стороной куба 30 см по 200–300 штук в каждый садок. На дне садка помещают полосы фильтровальной бумаги (5 см X 30 см), промытые эфиром. Через 2 дня бумагу экстрагируют эфиром в аппарате Сокслета, раствор концентрируют и хранят при -20°C [8].

В пластиковом (9 см X 15 см) или стеклянном контейнере (3 см X 20 см) с листами фильтровальной бумаги (900 см² в пластиковом и 100 см² в стеклянном) выдерживали в течение трех дней 50 самок *Plutella maculipennis* при комнатной температуре. В общей сложности получен экстракт фильтровальной бумаги от 21 тыс. самок *P. maculipennis*. Очистка экстракта колоночной хроматографией на флоризиле позволила получить активную фракцию при элюировании смесью 5% эфира в гексане. Хроматография этой фракции на колонке с 16,7% AgNO_3 , последующая очистка ГЖХ и биотестирование с помощью электроантеннографии (ЭАГ) позволили выделить два вещества (Z11HDA и Z11HDA) [183].

Оригинальным методом представляется сбор феромона, адсорбированного на стенках стеклянного сосуда, в котором хранятся самки в лабораторных условиях [46, 119, 187, 188]. Для этого, например, в стеклянном сосуде на 4 л самок (по 50 штук в каждом сосуде) выдерживают в течение трех дней. Затем сосуды вымывают пентаном, фильтруют. Фильтрат сушат и сохраняют [119]. Сбор феромона со стенок сосуда был использован для установления количества феромона, которое испускает самка *P. interpunctella* за 1 ч в период своей активности в зависимости от возраста и времени суток. Для этого самок помещали в стеклянный сосуд на 500 мл на 1 ч при 25°C и ждали позы зова. После этого быстро извлекали насекомых из сосуда и ополаскивали его 5–6 мл эфира. Каждый смыв фильтровали, концентрировали под азотом до 3–5 мкл при 30°C и хроматографировали на стеклянной колонке (1,8 м X 2 мм) с 5% Карбовакса 20М на Хромосорбе W (100–120 меш) при 180°C и OV-1 с использованием внутреннего стандарта (Z7HDA), с помощью которого определяли также процент потерь [71].

Сделана попытка подсчитать количество феромона, которое за 1 ч испускает плодоярка *G. molesta* 3–11-дневного возраста. Для этого 50 самок помещали в стеклянную круглодонную колбу на 250 мл. К концу второго часа колбу заморозили до -20°C , удалили самок, смыли стенки гексаном (10 мл X 2), экстракт отфильтровали, сконцентрировали и анализировали ГЖХ. Нашли, что самка *G. molesta* испускает в среднем 3,2 нг/ч Z8DDA и 0,7 нг/ч Z8DDOL [187]. Аналогичный опыт с самками *G. molesta* был проделан другими исследователями, которые нашли в смывах: со стенок колбы четыре компонента феромона — Z8DDA : E8DDA (100 : 7) и Z8DDOL : DDOL (100 : 20). При этом соотношение Z8DDA и Z8DDOL было 100 : 30, а общее содержание феромона составляло 0,1–0,2 нг/самку [188]. Найдено также, что Z8DDOL эффективно усиливает активность смеси Z- и E8DDA [189].

МЕТОДЫ ОЧИСТКИ ЭКСТРАКТОВ ФЕРОМОНОВ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ

Сырой экстракт феромона, каким бы способом он ни был получен, кроме быстрой экстракции чисто отпрепарированных желез или яйцекладов, нуждается в очистке, прежде чем будут идентифицированы его компоненты.

Для этого сырой экстракт иногда подвергают предварительной очистке вымораживанием, реже перегонке или перегонке с паром. Учитывая тот факт, что феромон может находиться в феромонной железе в связанном

состоянии, его омыляют (в случае спиртовых компонентов феромона), а затем ацилируют (в случае, если компоненты феромона — ацетаты). Последние два способа, однако, не пригодны в том случае, если компоненты феромона — альдегиды. Иногда сырой экстракт подвергают химической обработке с целью перевести в активный компонент феромона полупродукт его биосинтеза, который хранится в железе. Предварительным способом очистки экстракта можно считать также разделение сырого экстракта на кислую, щелочную и нейтральную фракции.

Для окончательной очистки экстракта (а иногда и для предварительной его идентификации) используют разные способы хроматографии: тонкослойную (ТСХ), адсорбционную, эксклюзионную и распределительную жидкостную хроматографию, а также препаративную ГЖХ.

Кроме того, используя свойство феромонов — их летучесть, применяют кодистилляцию летучих веществ непосредственно перед ГЖХ-анализом компонентов феромона.

Все эти методы очистки широко применяются, и, как правило, одновременно используют несколько методов для выделения одного и того же феромона. Каждая стадия любого метода очистки должна контролироваться биотестом.

Предварительные методы очистки экстракта

Вымораживание примесей из сырого экстракта

Основная масса посторонних примесей сырого экстракта может быть удалена из него низкотемпературным высаживанием. Для этого сырой экстракт упаривают почти досуха, а оставшееся масло растворяют в многократном (10–20-кратном) объеме ацетона или метанола. Многочасовое высаживание примесей проводят в интервале температур от -10 до -70°C [5, 46, 151]. Например, масло, выделенное из экстракта хлористым метилом 1 млн. 200 тыс. самок *P. interpunctella*, очищали вымораживанием в метаноле при -20°C в течение 24 ч [191]. Экстракт хлористым метилом 1829 кончиков брюшка *Antheraea polyphemus* после упаривания растворителя очищали вымораживанием примесей, добавив 200 мл ацетона и охладив ацетоновый раствор до -15°C в течение 36 ч [163].

Очистка сырого экстракта перегонкой

Перегонка в вакууме не популярна в очистке феромонов, так как приводит к значительным потерям активных компонентов (до 40%) [155, 46]. Также достаточно редко для очистки экстракта применяют перегонку с паром; в этом случае дистиллят собирают в подходящий растворитель [192–194]. Например, 43 г активного масла из экстракта 17 тыс. самок *Naudaurelia cytherea cytherea* перегоняли с паром и дистиллят собирали в свежеперегранный хлористый метилен. Через 30 ч, когда дистиллят уже не был активным, объединенные фракции дистиллята сконцентрировали на колонке Вигрэ (30 см), перегнали в потоке азота и получили 0,6 г активного бесцветного масла [169].

Очистка экстракта от кислот

Как правило, компоненты феромонов чешуекрылых относятся к нейтральным веществам, поэтому предварительным методом очистки может служить их выделение в нейтральную фракцию. Так, при подщелачивании экстракта 5 300 девственных самок *A. fasciata* 2,5%-раствором КОН в

безводном (или 5%-ном водном) метаноле удается освободиться от кислот и исследовать только нейтральную фракцию [74]. Этот способ был удачно использован также и при выделении феромона *Anagasta kuehniella* [44], совки *Agrotis fucosa* [186]. Бензольный экстракт 78 тыс. кончиков брюшка самок непарного шелкопряда *P. dispar* промывали KOH в водном метаноле в атмосфере азота 2,5 ч. К раствору добавили воду и пентан и оставили на ночь при -5°C . После отделения органического слоя водный слой экстрагировали пентаном. Пентановый экстракт сушили Na_2SO_4 , а водный высаливали и обрабатывали последовательно метанолом, CCl_4 , бензолом, пентаном. Объединенные экстракты обрабатывали гексаном и хлороформом. Получили органический слой с высокой активностью [149].

Очистка сырого экстракта омылением, ацилированием, эпоксидированием

Превращение связанного компонента феромона в свободный достигают кипячением экстракта с метанольным раствором NaOH в течение 2,5 ч. По достижении комнатной температуры добавляют эфир, который промывают подкисленной водой, сушат Na_2SO_4 и упаривают [42].

Если компоненты феромона представляют собой спирты, то удобно выделять их из сырого экстракта ацилированием, для чего к 5 г экстракта добавляют 10 мл уксусного ангидрида в 10 мл пиридина, и раствор оставляют на ночь при комнатной температуре. Очищенный ацетат превращают в исходный спирт омылением раствором 30%-ного NaOH в метаноле [172]. Наоборот, если компоненты феромона — ацетаты, то их удобно выделять из экстракта омылением с последующим ацилированием. Например, предварительно сконцентрированное масло экстракта *P. interpunctella* обрабатывали 4%-ным KOH в метаноле и оставляли на ночь при комнатной температуре. Реакционную смесь экстрагировали эфиром, промывали водой, сушили Na_2SO_4 , упаривали и ацилировали [191]. Или, например, экстракт 3200 самок *Rhyacionia buoliana* кипятили с 25 мл метанола, 10 г NaOH и 10 мл воды в течение 14 ч. Экстрагировали эфиром, хроматографировали на колонке с Al_2O_3 (40 см x 2 см). Элюат концентрировали и ацилировали [43].

Предположив, что предшественником диспарлура, феромона непарного шелкопряда, является непредельный углеводород, сырой экстракт обрабатывали м-хлорнадбензойной кислотой. Десятикратное увеличение активности указало на то, что олефин в экстракте присутствует в большем количестве, чем сам феромон [148].

Использование разных методов хроматографии для очистки экстракта

Разные методы хроматографии применяют как для дальнейшей очистки предварительно очищенного экстракта так и для очистки сырого экстракта.

Жидкостная хроматография

Жидкостная хроматография является наиболее популярным методом как предварительной очистки сырого экстракта, так и более тонкого разделения компонентов феромона. При использовании этого метода, как и любого метода хроматографии, необходимо стремиться к тому, чтобы не потерять компоненты смеси, довести активную смесь до идентификации по возможности в том соотношении компонентов, в каком она находится в природном экстракте. Случается, что разделение природной смеси на индивидуальные компоненты приводит к потере активности и только

объединение некоторых фракций возвращает ее [120]. Напротив, бывает и так, что экстракт мало активен или неактивен вообще, а его разделение на фракции с помощью ГЖХ или жидкостной хроматографии приводит к появлению активности в одной из фракций [195]. Популярность жидкостной хроматографии связана с целым рядом ее преимуществ перед другими видами хроматографии. Например, жидкостная хроматография проводится при комнатной температуре, это выгодно отличает ее от препаративной ГЖХ, использование которой приводит к частичному разложению компонентов феромона под действием высоких температур, к потере феромона в результате неполной конденсации его компонентов в ловушках, к возможной изомеризации ненасыщенного компонента. Использование жидкостной хроматографии предохраняет компоненты феромона от их окисления при контакте с кислородом воздуха, как это может иметь место при использовании ТСХ.

Сочетание разных типов жидкостной хроматографии (адсорбционной, распределительной, эксклюзионной, ион-обменной) позволяет ограничиться только ею при выделении, предварительном и более тонком разделении, вплоть до предварительной идентификации в зависимости от того, в каком сочетании полярного и неполярного растворителей происходит вымывание из колонок активной смеси при градиентном элюировании.

Добавление AgNO_3 к адсорбенту позволяет отделять насыщенные соединения от ненасыщенных и разделять ненасыщенные соединения между собой, вплоть до разделения пространственных изомеров.

Препаративное выделение феромона из сырого экстракта. В этом случае в качестве адсорбента чаще всего применяют флоризил [6, 55, 90, 91, 111, 117, 196–198, 199–201], классический адсорбент разделения липидов. Более универсален силикагель. Он используется как для выделения, так и для более тонкого разделения смеси [5, 58, 90, 135]. Сочетание силикагеля с AgNO_3 [5, 6, 19, 46, 55, 191, 200, 201] позволяет разделить не только olefiny разной степени ненасыщенности и другие соединения с электронодонорными свойствами, но и пространственные изомеры.

Гораздо реже применяется кизельгель [95, 98], унизил [95], Al_2O_3 [166, 203].

В качестве элюента чаще всего используют пентан [5, 19, 169], гексан [46, 58, 91, 95, 103, 148, 184, 200], петролейный эфир [5, 6, 55, 90, 204, 206], с помощью которых вымывают углеводороды; к неполярному растворителю добавляют постепенно увеличивающееся количество полярного растворителя, такого, например, как серный эфир [46, 95, 111, 120, 184, 201, 203, 207] или этилацетат [118, 166], для вымывания других веществ в порядке увеличения их полярности.

Так, например, сырой экстракт целых особей листовертки *A. fasciata* перед ацилированием пропускали через колонку с флоризилом, градиентно элюируя смесью эфира с гексаном [74]. Активная фракция экстракта листовертки *Archippus breviplicatus* вымывалась с колонки с флоризилом 5%-ным эфиром в гексане, наталкивая на предположение об ацетатной природе продукта [103]. Такой же природы активный продукт был выделен на колонке с силикагелем элюированием сырого экстракта феромона точильщика *A. schitaceana* смесью петролейного (температура кипения 65–90°C) и серного эфира. Последующая ТСХ и идентификация компонентов активной фракции подтвердили, что основной компонент феромона 9DDA [116]. Начальной стадией очистки сырого экстракта феромона *Carpodina niponensis*, состоявшего из четырех длинноцепочечных кетонов, также была колоночная хроматография на флоризиле с градиентным элюированием серным эфиром в гексане [117].

Колонку с силикагелем при элюировании петролейным эфиром с увеличивающимся количеством серного эфира использовали для очистки сырых экстрактов *Coseyra cephalonica* [204] и *Sitotroga cerealella* [135]. Для более тонкого препаративного выделения активной фракции потребовалась последующая кодистилляция, а за ней — препаративная ГЖХ, чтобы можно было идентифицировать основной компонент как Z7E11HDDA [206].

Элюируя раствором постепенно увеличивающейся концентрации серного эфира в гексане, удалось так отделить на силикагеле феромон яблонной плодовой гнили *L. pomonella*, что он мог быть непосредственно идентифицирован ГЖХ — МС как E8E10DDOL [200].

Раствором 5%-ного эфира в гексане были вымыты активные фракции сырого экстракта совки *A. fucosa* и *Spodoptera litura*, содержащие, как оказалось, ацетатные компоненты [186], а также *Leucania loreyi* [207] и *Homopa magnanima* [120].

Нейтральная окись алюминия была удачно использована при выделении сырого экстракта плодовой гнили *A. leucotreta* элюированием смесями петролейный эфир — бензол, бензол — этилацетат, этилацетат — метанол. Перед ГЖХ—МС идентификацией достаточно было поделить активную фракцию в аргентированном тонком слое [166].

Задача препаративного выделения активной фракции значительно упрощается, если экстракт предварительно очищен вымораживанием [5, 6, 46, 132, 168], выделением в нейтральную фракцию [74] или получен с фильтра [184], на котором содержались насекомые, а лучше — из воздуха над живыми насекомыми [58, 196].

Более тонкое разделение колоночной хроматографией активной фракции после ее препаративного выделения эффективно при смене адсорбента или элюирующей смеси. Для отделения предельных веществ от непредельных, а также непредельных друг от друга используют жидкостную хроматографию, с добавлением AgNO_3 . Например, 100 г силикагеля смешивают с 20 г AgNO_3 , растворяют в 100 мл воды и активируют 24 ч при 120°С. Смешивают пополам по весу с целитом-545 и упаковывают в колонку ($d = 15$ мм) в пентане. Смесь веществ в количестве 200 мг может быть поделена на 10 г адсорбента $\text{SiO}_2\text{—AgNO}_3$ [117]. Например, после разделения сырого экстракта феромона листовертки *A. fasciata* на колонке с флоризилом деление активной фракции на колонке со смесью $\text{SiO}_2\text{—AgNO}_3$ при градиентном элюировании эфира в петролейном эфире дает возможность выделить основные компоненты феромона (Z9TDA и Z11TDA) 3%-ным эфиром в петролейном эфире, а вторичные компоненты (E11TDA и 10MeDDA) — 10%-ным эфиром в петролейном эфире [74].

Основные компоненты феромона *A. fasciata* (Z9TDA и Z11TDA) и *Prodenia eridania* (Z9TDA и Z9E12TDDA) были выделены также делением активной фракции после колонок с флоризилом и силикагелем на колонке с Adsorbosil CABN элюированием по 100 мл каждого раствора: 0%, 5%, 15%, 50% эфира в петролейном эфире [90] или эфира в гексане [46]. Основным компонентом совки *S. frugiperda* (Z9TDA) был выделен градиентным элюированием с колонки ($\text{SiO}_2\text{—AgNO}_3$) активной фракции, предварительно очищенной колоночной хроматографией на силикагеле, ТСХ на силикагеле и снова колоночной хроматографией [5]. Содержание в аргентированных колонках составляло 10–25%.

Очистка сырых экстрактов гель-проникающей хроматографией. Наиболее популярным способом очистки сырого экстракта можно считать гель-проникающую хроматографию, которая может быть использована для грубого разделения смесей веществ по их молекулярным весам. Деление экстракта по этому принципу позволяет выделить компоненты феро-

мона практически в одной фракции, так как они обладают близкими молекулярными весами, отличающимися не более чем на 100 молекулярных единиц, а это в свою очередь позволяет выделить феромонную смесь в полном ее составе, не расчленяя компоненты по разным фракциям, и тем самым позволяет сохранить их в том качественном и количественном соотношении, в каком они находились в экстракте и в котором они дают максимум биологической активности.

Для разделения веществ в соответствии с этой их разной способностью включения в поры адсорбента чаще всего применяется Сефадекс LH-20 или Порагель 60А.

Так, в объеме 125–145 мл с колонки (150 см x 0,7 см) с Сефадексом LH-20 были вымыты ацетоном со скоростью 20 мл/ч активные фракции, содержащие компоненты феромонов листовёрток *A. orana* (Z9TDA и Z11TDA) [20], *A. podana* (Z11TDA и E11TDA) [106], плодовой мушки *Cryptophlebia leucotreta* (Z8DDA и E8DDA) [118]. Компонент феромона бражника *Manduca sexta* (E10, Z12HDDAL) был вымыт из колонки с Сефадексом LH-20 смесью бензол – ацетон (1:1) [132]. А для вымывания ацетоном со скоростью 20 мл/ч компонентов феромона *Phthorimaea operculella* (E4Z7TrDDA и E4Z7Z10TrDTrA) использовали колонку с Сефадексом LH-20 (150 см x 1,4 см) [209].

Однако при всех достоинствах классической колоночной хроматографии необходимо отметить ее недостаточную длительность. Вместе с тем этот недостаток с успехом преодолевается получившим в последние годы развитие методом, использующим тонко-дисперсные адсорбенты, элюирование под давлением и названным высокоразрешающей жидкостной хроматографией под давлением (HPLC).

Высокоэффективная жидкостная хроматография. Главным достоинством высокоразрешающей жидкостной хроматографии под давлением является быстрота процесса очистки (несколько минут вместо нескольких недель), а слабое место этого метода – в недостаточной высокой чувствительности применяемых детекторов (рефрактометрического, УФ и с переменной длиной волны). Как правило, феромон не может быть детектирован с помощью этих детекторов, но могут быть детектированы сопутствующие ему вещества, которых всегда много в биоматериале и которые могут служить маркерами феромона. Тем не менее удобство оперирования, высокая скорость и высокая разрешающая способность ставят ее в один ряд с ГЖХ, оставляя за собой (в сравнении с ГЖХ) такое преимущество, как оперирование при комнатной температуре.

Высокоэффективная жидкостная хроматография, использующая силикагель с AgNO_3 , способна достаточно быстро разделять геометрические изомеры [210]. Наибольшее развитие в применении к очистке феромонов техника скоростной жидкостной хроматографии получила в исследованиях Тамлинсона, который использовал для этой цели три типа колонок с целью последовательного выделения феромона из сырого экстракта насекомых [211].

Первый тип колонок предназначен для выделения феромона из экстракта эксклюзионной, или как ее еще называют, гель-проникающей хроматографией. Например, стеклянная колонка (внутр. $d = 1,27$ см), упакованная на высоту 90 см гексановой пульпой Порагеля 60А (37–75 нм), элюируется гексаном со скоростью 300 мл/ч под давлением 2,8 кг/см². Проба в 0,5 мл концентрированного раствора загружается в эту колонку и для полного ее разделения требуется всего 1 ч. Все соединения с молекулярным весом более 2000 не проникают в поры и вымываются из колонки без задержки. Меньшие молекулы, проникшие внутрь рабочего простран-

ва носителя, разделяются в порядке, обратном размерам их молекул. Активные вещества выходят с такой колонки практически в одной фракции, вполне пригодной для ГЖХ-анализа. Так, на колонке с Порагелем 60А при элюировании гексаном был успешно поделен сырой экстракт *N. virescens* [164], а экстракт кончиков брюшка трех тысяч самок *A. ipsilon* очищали на колонке (2,5 см x 1,3 см) со Стирагелем (10–50 нм) при элюировании бензолом [84]. Адсорбенты, применяемые в эксклюзионной хроматографии, устроены на одинаковом принципе, хотя и имеют разные фирменные названия. Деление экстракта желез *Amyeloidis transitella* на колонке из стекла (1 см x 50 см) с Порагелем 60А при элюировании гексаном (120 мл/ч) позволило сразу его идентифицировать ГЖХ–МС [130]. Так, сырой экстракт 1000 самок феромона *P. operculella* поделили на стальной колонке (2 м x 6 мм), упакованной Bio-Beads SX-2 при элюировании бенкеном со скоростью 1 мл/мин [212]. В таких же условиях была выделена ЭАГ-активная фракция экстракта *O. pubilialis*, вымывавшаяся в 78–80 мл растворителя (бензола) со скоростью 1,0 мл/мин, с колонки (1,5 м x 12 мм), заполненной Bio-Beads SX-2 [35]. В аналогичных условиях было проведено отделение ЭАГ-активной фракции от высокомолекулярных веществ экстракта *A. polyphemus* и выделение ее в виде, удобном для очистки ГЖХ [168].

Второй удобной для скоростной жидкостной хроматографии колонкой считается стальная колонка (0,6 см x 50 см), упакованная Лихросорбом и пригодная как для градиентного элюирования, так и для изократного элюирования. С помощью такой колонки 3%-ным эфиром в гексане были разделены пространственные изомеры Z3E5TDDA и E3E5TDDA, входящие в состав феромона *Priopoxystus robiniae* [65]. Ацетатную фракцию воздушного экстракта феромона *A. ipsilon* элюировали 1%-ным этилацетатом в гептане за 6–7 мин с колонки из нержавеющей стали (2 мм x 500 мм), заполненной Лихросорбом (10 нм перед анализом ГЖХ [84]).

Эфирный экстракт полового феромона девственных самок *A. fasciata* подвергался высокоэффективной жидкостной хроматографии на колонке (1 м x 8 мм), заполненной Shodex GPC, а после очистки активной фракции на флоризиле и ТСХ с AgNO_3 очищался на колонке (0,25 м x 2,1 мм), заполненной Силикапаком HP-250 при элюировании в первом случае хлороформом со скоростью 1 мл/мин, а во втором случае – 0,5%-ным эфиром в гексане со скоростью 0,6 мл/мин [74].

И наконец, самой полезной колонкой в жидкостной хроматографии под давлением представляется стальная колонка (1,27 см x 60 см), упакованная Адсорбосилом 2-ADN, силикагельная колонка с 20% AgNO_3 , элюируемая, как правило, бензолом. Эта колонка пригодна для быстрого разделения широкого круга органических соединений и может быть использована неограниченно. Размеры частиц Адсорбосила колеблются от двух до 11 мкм. На этой колонке был отделен синтезированный E3Z13ODDA от содержащегося в нем в количестве 3–5% Z3Z13ODDA. При скорости бензола 6,5 мл/мин E, Z-изомер элюировался между 10 и 14 мин, а Z, Z-изомер – между 21 и 27 мин. Скорость элюента в колонке при этом была 4 мл/мин [211]. При использовании такой же колонки была выделена фракция экстракта *N. armigera*, пригодная для идентификации ГЖХ – МС и оказавшаяся индивидуальным веществом Z11HDAL [17].

Сырой экстракт кончиков брюшка *O. pubilialis* был неоднократно поделен на колонке из нержавеющей стали (30 см x 7 мм), заполненной Стирагелем (100-А нм), при применении рефрактометрического детектора и хлороформа в качестве элюента, продавливаемого через колонку со скоростью 1,5 мл/мин. Активность была сосредоточена во фракции, выходя-

щей в объеме 22,6–24,2 мл и, судя по объему, с которым вымывается эталон, содержала ацетатные эфиры с цепочкой C_{14} . Дополнительная очистка этой фракции на колонке из нержавеющей стали (30 см x 4 мм), упакованной Поразилом, при элюировании смесью гексан – эфир (80 : 1) со скоростью 1,5 мл/мин позволила выделить активную фракцию в объеме 16,5–18,6 мл, пригодную для очистки микропрепаративной ГЖХ [64]. Жидкостная хроматография под давлением с обращенной фазой, использующая полярную подвижную фазу, содержащую $AgNO_3$, позволила разделить геометрические изомеры моно-, ди- и полиненасыщенных соединений из класса ацетатов, спиртов, альдегидов с разной длиной цепи и разным положением двойственной связи в молекуле [214]. Например, с помощью жидкостной хроматографии с обращенной фазой были успешно разделены Z- и E-изомеры 5DDA, 7TDA и 9TDA [215].

Тонкослойная хроматография

После того как основная масса посторонних примесей удалена из экстракта, дальнейшая очистка феромона может быть проведена тонкослойной хроматографией (ТСХ). ТСХ является доступным, простым и дешевым методом очистки и частичной идентификации феромонов насекомых. Добавление к адсорбенту небольшого количества $AgNO_3$ позволяет разделить компоненты на предельные и непредельные и пространственные изомеры между собой. Однако рассматривая ТСХ как метод препаративного разделения, необходимо учитывать летучесть феромонов и нестабильность, связанную с возможностью их окисления кислородом воздуха. Это обстоятельство усложняет применение ТСХ, заставляя использовать этот метод в атмосфере инертного газа. Неудобно также и то, что ТСХ оперирует микрограммовыми количествами веществ [216]. Тем не менее во многих работах, особенно японских и китайских исследователей, ТСХ [45, 74, 89, 110, 116, 124, 129, 217] используется как метод препаративного выделения, так и метод предварительной идентификации компонентов феромона сравнением R_f эталона с R_f компонента феромона [197].

ТСХ применима в тех случаях, когда феромоны находятся в насекомом в достаточных количествах или когда возможно использовать экстракт от такого количества насекомых, чтобы можно было оперировать с микрограммами веществ. Так, для препаративного выделения компонентов феромона из экстракта одной тысячи самок *D. castanea* успешно применили ТСХ на силикагеле. Активная фракция вымывалась в пятно с R_f 0,4–0,5 при элюировании серным эфиром [111].

ТСХ как метод препаративного выделения компонентов феромона. Для целей препаративного выделения компонентов феромона используют ТСХ на силикагеле [49, 50, 123, 132] на пластинках с Адсорбосилом [67, 185], на Кизельгеле G [74], Al_2O_3 [100] или полностью ацетилованной целлюлозе, содержащей 10% $CaSO_4$ [5]. В качестве элюентов используют бензол [10, 28, 74, 86, 168] или смеси: бензол – петролейный эфир [6], бензол – гексан [91], бензол – этилацетат [110], гексан – хлористый метилен [107], гексан – этилметилкетон [109], гексан – эфир [185], петролейный эфир – серный эфир [55, 116]. Для проявления пятен применяют 2', 7'-дихлорфлуоресцеин в 95%-ном этаноле [74] или 2,4-динитрофенилгидразин в горячей смеси метанол – серная кислота [55].

Особенно удачно использование ТСХ после гель-фильтрации. Так, фракцию, активную после гель-фильтрации на Сефадексе LH-20 экстракта *P. interpunctella*, можно разделить ТСХ на силикагеле, элюируя бензолом,

и выделить активную зону с R_f 0,4 [218], а в системе бензол — гексан (1:1) выделить компоненты феромона *Chilo suppressalis* с R_f 0,4–0,5 (Z11HDAL и Z13ODAL) [91].

Активный фильтрат после вымораживания активных фракций колоночной хроматографии экстракта *S. frugiperda* наносили в количестве 5 мкг на пластинку с силикагелем толщиной 250 мкм и элюировали смесью гексан — эфир — уксусная кислота (90:5:1) до высоты 10 см. УФ-проявление дало шесть флуоресцирующих пятен. Активность была сосредоточена в пятне с R_f 0,75 (Z9TDA). Крупное препаративное деление осуществили на пластинке слоем 600 мкм. Активное пятно было счищено в полумикросоклет и проэкстрагировано гексаном. В результате получили 100 мг активного неперегоняемого остатка [5]. Частично очищенный экстракт этого же вида делили ТСХ на пластинке с толщиной слоя 300 мкм полностью ацетилованной целлюлозы с 10% CaSO_4 , элюируя смесью метанол — вода (8:1) на высоту 10 см. Активность была в пятне с R_f 0,65 (Z9TDA) [5]. В системе гексан — этилметилкетон (80:20) были выделены бомбикол (R_f 0,53) и бомбикаль (R_f 0,29), компоненты феромона *B. mori* [109]. У *A. semifera* компоненты феромона были обнаружены в пятне с R_f 0,5, что по анализу ГЖХ соответствовало E11TDA и Z11TDA [170].

Как окончательная стадия очистки феромона *Argyroprose schistaceana* ТСХ на силикагеле была использована для выделения 9DDA в системе петролейный эфир — серный эфир (95:5 или 70:30) [116].

Препаративное разделение пространственных изомеров. Использование адсорбента с некоторым количеством AgNO_3 [91] позволяет разделить Z- и E-изомеры компонентов феромонов [148, 222]. Для приготовления пластинки с AgNO_3 используют 25 г Кизельгеля и 50 мл водного раствора AgNO_3 [117] или 35 г силикагеля, 15 г AgNO_3 в 70 мл воды [197]. Так, 15% AgNO_3 в системе петролейный эфир — серный эфир (9:1) было достаточно, чтобы отделить Z9TDA (R_f 0,56) от E9TDA (R_f 0,74) [216] и убедиться, что основная компонента феромона *A. fucosa* имеет Z-конфигурацию [186]. Конечная стадия очистки феромона *C. fumiferana* состояла в делении на пластинке из силикагеля с 5% AgNO_3 (толщина 0,25) в системе петролейный эфир — серный эфир (19:1) в присутствии в качестве свидетеля E11TDA с R_f 0,47 [55].

На пластинке с AgNO_3 на силикагеле G в бензоле были разделены компоненты феромона *A. velutinana* Z11TDA (R_f 0,26) и E11TDA (R_f 0,39) [28]; эти же изомеры могут быть разделены в системе бензол — петролейный эфир (80:20) [6]. A Z11DAL может быть отделен от Z11TDA на такой же пластинке при элюировании бензолом [86]. Используя силикагель G, пропитанный AgNO_3 , и бензол в качестве элюента, разделили на три зоны предварительно проацелированный экстракт феромона *P. flavedana*. Полученные зоны E- и Z-изомеров отдельно анализировали ГЖХ [162]. При очистке сероуглеродного экстракта совки *T. pi* пользовались ТСХ на Adsorbosil-пластинках с элюентом эфир — гексан (10:90). Проявление иодом указало на одно пятно с R_f 0,55 (Z7DDA) [67].

ТСХ как метод предварительной идентификации феромонов. Использование эталонов с известным R_f позволяет провести предварительную идентификацию компонентов феромона с точки зрения их принадлежности к классу органических соединений (альдегиды, спирты, ацетаты).

Аргентированная ТСХ позволяет по R_f эталонных пространственных изомеров отнести неопределенные компоненты феромона к области Z- или E-изомеров.

Разделение экстракта 50 самок *Naranga aeneascens* при элюировании

смесью бензол — гексан (1:3) позволило обнаружить активность в ацетатной фракции (R_f 0,4–0,5) и ее отсутствие в спиртовой фракции (R_f 0,0–0,1) [45].

ТСХ на Кизельгеле с 10% $AgNO_3$ использовали для анализа Z- и E-изомеров в смеси компонентов феромона *A. fasciata*. Для этой цели 25 г Кизельгеля смешивали с 50 мл 10%-ного водного раствора $AgNO_3$. После элюирования бензолом и обработки 0,05%-ным 2', 7'-дихлорфлуоресцеином в 95%-ном этаноле пластинки проявляли УФ [74]. Следы Z11TDA были найдены ТСХ на силикагеле с $AgNO_3$ при изучении состава феромона *C. rosaceana* [11]. При элюировании бензолом на аргентированной пластинке из силикагеля (20% $AgNO_3$) было обнаружено, что ацетатная часть феромона *N. aeneiceps* находится в зоне Z-изомеров (R_f 0,4–0,5) [45]. Компоненты феромона *A. argyrosipilus* и *A. velutinana* были найдены в зоне Z11TDA (R_f 0,26) и E11TDA (R_f 0,39) [10, 28]. При элюировании смесью гексан — серный эфир (9:1) на пластинке из Адсорбосила 1-ADN R_f компонентов феромона *C. fumiferana* были соответственно 0,43 и 0,55, что по R_f эталонов соответствовало Z11TDAL и E11TDAL [185].

Газо-жидкостная хроматография (ГЖХ)

ГЖХ на стеклянных колонках широко используется в очистке феромонов и чаще других методов является конечной стадией очистки. При этом применяют колонки как с полярной фазой, так и с неполярной фазой, а чаще оба типа колонок для более тонкого разделения. Для очистки непосредственно перед идентификацией предпочтительно использование неполярных колонок из-за гораздо меньшего фона, который неполярные колонки дают в сравнении с полярными. Немаловажное значение при этом приобретает способ сбора фракций с применением либо детектора, который не изменяет молекулы, либо сплиттера, с помощью которого меньшая часть потока направляется в детектор (пламенно-ионизационный), а большая часть попадает в охлаждаемые ловушки или ловушки, содержащие улавливающую набивку.

Для анализа фракций, полученных ГЖХ, целесообразнее всего пользоваться капиллярными колонками для исключения присутствия примесей, которые могут мешать при идентификации компонентов феромона. Не исключено, однако, применение и набивных колонок для этих целей.

Использование ГЖХ для очистки феромонов. Чаще всего ГЖХ применяется для препаративного разделения активных фракций, полученных очисткой экстракта колоночной хроматографией [6, 28, 35, 43, 103, 118, 168, 183, 207] или ТСХ [74, 91, 170, 183]. Однако если экстракт получен из воздуха над насекомыми [10, 28, 53, 58, 86], непродолжительным вымачиванием желез [46, 68, 115, 130, 168] или экстракцией фильтра, на котором были выращены насекомые, то возможно использование препаративной ГЖХ без предварительной очистки экстракта. При сборе фракций поток, выходящий из хроматографа, делится так, что меньшая его часть (5%) идет в пламенно-ионизационный детектор [117], остальное — в ловушку. А в качестве ловушки применяют капилляр (1,8 мм x 30 см), охлаждаемый жидким азотом или сухим льдом в ацетоне [20, 42, 58, 109, 117, 129, 158, 219]. Выход феромона при таком способе сбора составляет 40–70%. Большой выход (до 90%) феромона при препаративном сборе ГЖХ возможен при использовании коллектора с термическим градиентом [220]. Сбор феромона возможен также и в ловушки, охлаждаемые до $-75^\circ C$ и заполненные растворителем (пентаном, CCl_4 спектральной чистоты) [169].

Очистка сырого экстракта, полученного экстракцией кончиков брюшка органическим растворителем, с помощью ГЖХ используется крайне редко. В этом случае поиск условий ГЖХ — разделения начинается с использования колонки средней полярности, а затем подбирают полярную или наоборот неполярную колонку [209].

При выделении компонентов феромона практикуется чередование колонок с фазами различной полярности. Это позволяет, выделив, например, на одной колонке компоненты с одинаковым углеродным скелетом, на другой поделить изомеры положения, а применив третью колонку, поделить пространственные изомеры. Так, при выделении феромона *C. toriaga* использовали колонку (2,3 мм x 2 м) с неполярной фазой [3% SE-30 на Газхроме Q (80–100 меш), 170°C]. Феромон собирали в капиллярные трубочки, охлаждаемые смесью ацетона с сухим льдом. Эффективность сбора при этом составляла 40–70%. Следующее разделение ГЖХ проводили последовательно на колонках: 2,3 мм x 2 м с очень полярной фазой (5% Карбовакса 20М на Газхроме O), 2,3 мм x 6,1 м с фазовой, делящей Z- и E-изомеры [15% OV-275 на Хромосорбе P (100–120 меш)], и 2,3 мм x 7,3 м с очень полярной фазой (Карбовакс 20М) [58].

Для разделения пространственных изомеров, кроме фазы OV-275, применяют и другие (PDEAS, FFAP, CHDMS, XF-1150), использование которых одновременно дает возможность установить пространственное строение интересующей молекулы в сравнении с эталонными веществами [27, 28, 35, 53, 57, 103, 105, 109, 115, 196, 219, 211]. Только в единичных случаях при очистке сырого экстракта удается ограничиться двумя–тремя колонками. Это возможно тогда, когда компоненты феромона близки по структуре. Например, при выделении феромона *C. rosaceana* были отделены тетрадеценолы от их ацетатов на неполярной колонке (1,8 м x 2 мм) [3% OV-1 на Газхроме Q (100–120 меш), 190°C], а их пространственные изомеры были поделены на полярной колонке (1,8 м x 4 мм) (10% XF-1150 на Хромосорбе W-AW, 170°C). При этом тетрадеценолы были собраны в количестве 98,1% (Z11TDOL) и 1,9% (E11TDOL), их ацетаты в количестве 98,3% (Z11TDA) и 1,7% (E11TDA) [219]. Или, выделение таких же двух компонентов (Z11TDOL и Z11TDA) феромона *A. rosana* осуществлено на трех колонках последовательно: с 3% OV-1, с 10% XF-1150 на Газхроме Q и с 3% PDEAS на Хромосорбе W-A-W-DMCS [115].

Для сбора фракций ГЖХ сырого экстракта *Sperchia intractana* (60 кончиков брюшка самок в 1 мл хлористого метилена) с колонки (2 м x 2 мм), заполненной 3% OV-1 на Хромосорбе W-AW-DMCS (100–120 меш), применили пипетку Пастера, охлажденную сухим льдом [158], а для выделения активной фракции сырого экстракта самок *P. limitata* использовали препаративную колонку (1,8 м x 4 мм) с 3% OV-1 на Газхроме Q (100–120 меш) при 178°C. При анализе этой фракции на аналитической колонке (3,6 x 2 мм) с 3% PDEAS на Хромосорбе W-AW (100–120 меш) в ней были обнаружены Z9TDA и Z11TDA (t_R 12,9 мин) в соотношении 9:91 [16].

Удачный подбор колонок при выделении феромона из сырого экстракта *Sparganothis* sp. позволил выделить следующие компоненты феромона: TDOL, E11TDOL, Z11TDOL, TDA, E11TDA, Z11TDA [157]. Для этого были выбраны следующие колонки: (2 м x 2 мм) с фазой 3% OV-1 на Газхроме Q (100–120 меш) при 160°C, с фазой 3% CHDMS при 190°C и 10% XF-1150 на Хромосорбе W-AW-DMCS при 150°C [63].

Сырой экстракт кончиков брюшка *A. rosana* делили на колонке (1,8 м x 4 мм) с 3% OV-1 при 165°C с последующим препаративным делением изомеров на колонке с 10% XF-1150 [115]. Две колонки с различными фа-

зами (5% OV-1 и 5% DEGS) использовали для последовательного разделения двух компонентов феромона *P. eridania* [46].

Препаративное деление с помощью ГЖХ значительно упрощается, если нужно поделить экстракты, полученные из воздуха над насекомыми, из желез или яйцекладов насекомых. Так, например, воздушный экстракт феромона *C. toriaga* делили последовательно только на двух препаративных колонках (2 м x 2,3 мм) с фазами 3% SE-30 и 5% Карбовакса 20М. Это деление позволило извлечь из феромона такие два его компонента, как Z11HDAL и Z11HDOL [58]. Для определения количественного состава компонентов в экстракте, полученном из воздуха над живыми самками совки *T. ni*, и в железах насекомых этого вида использовали внутренний стандарт (1 мкг E9TDA) и препаративную ГЖХ на колонках: 115 см x 3 мм с 5% Карбовакса 20М и 165 см x 3 мм с 1% Ализона L [68].

Препаративное выделение компонентов феромона из экстракта желез *A. transivella*, проведенное с использованием колонки 1,8 м X 2 мм с 3% OV-1 и колонки того же размера с 5% Карбовакса 20 М, позволило обнаружить Z11Z13HDDAL [130].

Однако преимущественно препаративная ГЖХ используется как последняя стадия очистки экстракта, обработанного колоночной или тонкослойной хроматографией. При этом нельзя забывать о возможной потере активности при расчленении феромонной смеси на индивидуальные компоненты, как это, например, наблюдалось при ГЖХ — разделение активной фракции феромона *P. xylostella* [120, 183]. Для очистки фракции, полученной ТСХ или колоночной хроматографией экстракта, достаточно применить разделение только на двух колонках. Например, активную фракцию после колоночной хроматографии экстракта самок *N. cytherea cytherea* делили препаративно на двух ГЖХ-колонках различной полярности последовательно. На полярной колонке (55 см X 0,35 см) с 2,5% FFAP на Хромосорбе W-AW-DMCS сбор проводили при программировании температуры 60° (20 мин) → 1,5°/мин → 145°. Только одна из четырех фракций была активна. Ее препаративное разделение на неполярной колонке (55 см X 0,35 см) с 4% OV-25 на Хромосорбе W-AW-DMCS позволило получить активную фракцию в количестве 10 нг/особь с временем удерживания (t_R), близким к t_R метилтетрадеcanoата [34].

На двух препаративных колонках с разными фазами (15% ПЭГ-20М и 2% OV-1) последовательно были выделены компоненты феромонов *A. breviplicanus* [103] и *A. velutinana* [28]. Такая же техника сбора, последовательно с двух колонок (с фазой 3% OV-1, а затем с фазой 10% DEGS), была использована при выделении компонентов феромона *A. semifragans* (E11TDA и Z11DTA) из экстракта, предварительно очищенного ТСХ [170]. Только одно ГЖХ-деление на колонке с ПЭГ 20М потребовалось для выделения Z9E12TDDA из фракции, очищенной ТСХ на аргентированной пластинке [44]. Одной колонки с 3% PDEAS оказалось также достаточно для выделения компонентов феромона (Z11TDA и E11TDA) из фракции ТСХ воздушного экстракта самок *A. velutinana* [28], так же как одна колонка с 1,5% OV-17 была достаточна для обнаружения Z11HDAL и Z13ODAL в ТСХ-фракции феромона *C. suppressalis* [19].

Использование ГЖХ в анализе феромонов. Для определения степени чистоты выделенных компонентов феромона, а также для их предварительной идентификации используют ГЖХ на аналитических, чаще всего капиллярных, колонках. Уже при препаративном выделении активной фракции ее t_R несет информацию о природе входящих в ее состав компонентов. Однако гораздо большую информацию о характере этих веществ можно получить, применяя эталонные вещества в аналитической ГЖХ

на колонках разной полярности [67, 137, 155]. Для этой цели используют до семи колонок [143, 157, 183, 197, 206, 212, 222]. Так, с помощью пяти колонок различной полярности (Апиезон L — неполярная, SF-96 — полярная, NPGA — среднеполярная, Карбовакс 20M — очень полярная, OF-1 — полярная) был идентифицирован феромон *P. gossypiella* [137]. Использование трех колонок с разными фазами (12% DEGS — среднеполярная, на Анахроме ABS, 60–70 меш; DC-200 — неполярная, на Газхроме Q, 100/200 меш; 10% Апиезона L, на Анахроме ABS, 60/70 меш) позволило установить, что в основном компоненте *Alabama argillacea* содержится 20 атомов углерода [104].

Последовательно на трех колонках (15% ПЭГ-20M — очень полярная, 2% OV-1 — неполярная и 3% XF-1150 — полярная) были идентифицированы компоненты феромона *A. velutinana* [28] и *A. breviplicatus* [103]. Компонент феромона *A. velutinana* — Z11TDA был также идентифицирован на колонке с 10% JXR (диметилсиликон, неполярная) сравнением его времени удерживания со временем удерживания TDA [6]. Для определения двух компонентов (Z11HDAL и Z11HDOL) в феромоне *C. toriara* использовали две колонки: 2,3 мм × 7,3 м с Карбоваксом 20M и 2,3 мм × 6,1 м с 15% OV-275 [58].

Впервые ГЖХ анализ сырого экстракта желез был проведен в 1973 г. у пяти видов насекомых (*T. pi*, *S. cerealella*, *Cadra cautella*, *P. interpunctella*, *Pseudoplusia includens*). Железы самок помещали в 200 мкл эфира на 1–2 сек, смывки сушили $MgSO_4$, фильтровали, переносили в пробирку с суженным дном и упаривали под сухим азотом до 3–5 мкл. ГЖХ анализ всего лишь на одной колонке (1,8 м × 2 мм) с 3% OV-1 на Газхроме Q, при программировании температуры 100° (3,3 мин) → $10^\circ/\text{мин}$ → 175° показал присутствие в экстрактах различных C_{12} — C_{16} спиртов и их ацетатов с большим количеством основного компонента в экстракте каждого вида [163].

Для идентификации второго компонента феромона *T. pi* использовали ГЖХ анализ на шести различных колонках экстракта желез, очищенного ТСХ. Для этой цели экстракт 2000 желез самок в 50 мл сероуглерода делили препаративно на пластинках с Адсорбосилом, элюируя смесью эфир — гексан (10 : 90). Пятно с R_f 0,55 (обнаружено проявлением J_2) было проэкстрагировано и проанализировано на колонках — 65 см × 4 мм с 2% Апиезона L или SF-96, 65 см × 3 мм с 5% Карбовакса 20M и DEGS, 69 см × 4 мм с 5% Silar-10C и 65 см × 3 мм с 5% OV-275 — с использованием в качестве внутреннего стандарта Z7DDA. Неизвестный пик, выходящий из хроматографа перед Z7DDA на Карбоваксе 20M и после него на Апиезоне L, по t_R совпадал с DDA [67].

Определение индексов Ковача для неизвестных соединений в составе феромона в сравнении с индексами Ковача известных непредельных соединений на колонках с различными фазами позволяет установить положение двойной связи в соединении [16, 20, 104, 119, 208]. Например, индексы Ковача на двух колонках (с OV-1 и с DEGS) Z2TDA, Z5TDA, Z7TDA и Z11TDA оказались достаточно сильно различающимися (они увеличивались при удалении двойной связи от ацетатной группы) и помогли определить эти положения в компонентах феромона *A. opapa* [20].

Особое место в аналитической ГЖХ занимает использование различных капиллярных колонок, которое позволяет сразу решать вопросы, связанные с размерами молекул, положением двойных связей в них и их геометрической конфигурацией. Для этих целей используют два типа капиллярных колонок: SCOT — набивные колонки [53, 64, 111, 142, 154, 185] и WCOT — обыкновенные капиллярные колонки с нанесенной фа-

зой [9, 74, 103, 109, 117, 132, 147]. Использование капиллярных колонок позволяет сократить время не только за счет сокращения количества используемых колонок, но и за счет упрощения определения микропримесей в активных фракциях феромонов. В ряде случаев использование капиллярных колонок позволяет идентифицировать наряду с основными и минорные компоненты феромона.

Например, использование капиллярной колонки (50 м X 0,3 мм) с полярной фазой FFAP сделало возможным разделение компонентов феромона *B. mori*, E10Z12HDDOL и E10E12HDDOL [109]; а разделение и анализ Z11HDAL и Z11HDOL в феромоне *Chilo partellus* были осуществлены на колонке SCOT (50 м X 0,5 мм) с Карбовакс 20М [53]. С помощью капиллярной колонки SCOT (50 м X 0,5 мм) с Карбовакс 20М при 180° С в экстракте желез 150 девственных самок *Epichoritodes acerbella* были найдены как основной компонент Z11TDA (t_R 19, 55 мин), так и минорные компоненты: TDA (t_R 16, 75 мин), Z9TDA (t_R 18, 70 мин), Z9TDOL (t_R 22, 87 мин) и Z11TDOL (t_R 23, 93 мин) [142].

В активном экстракте кончиков брющка *N. armigera* при анализе на высокоразрешающих колонках WCOT (60 м X 0,25 мм) с неполярной фазой SP-2100 при программировании температуры 100° → 30°/мин → 185° и (30 м X 0,25 мм) с полярной фазой PCP-Sil при программировании температуры 60° (3 мин) → 5°/мин → 150° нашли четыре компонента феромона [9].

При комплексном использовании колонки с жидкими кристаллами (1,8 м X 2 мм) с 10% 4-(*p*-метоксицинамилокси)-4'-метоксиазобензола на Газхроме Q, а также SCOT (39 м X 0,5 мм) с SE-30, (64 м X 0,5 мм) с Карбоваксом 20М и WCOT (77 м X 0,24 мм) с Карбоваксом 20М в экстракте яйцекладов *N. armigera* были обнаружены Z9HDAL как минорный компонент к основному Z11HDAL и Z11HDOL, HDAL и HDOL. Предполагается, но не детектирован Z7HDAL (менее 0,2 нг) [182].

Использование капиллярных колонок с такими фазами, как DEGS, FFAP, CHDMS, OV-275, PDEGS, позволяет разделить пространственные изомеры компонентов феромона при содержании одного в другом до 0,5% [28, 53, 74, 103, 109, 185, 223]. Так, например, на капиллярной колонке (120 м X 0,24 мм) с CHDMS были разделены между собой Z9TDA, Z11TDA, E11TDA и 10 MeDDa [74], а на колонке (45 м X 0,25 мм) с Усол Oil LB-550X был идентифицирован Z9E12TDDA [44]; Z11TDA и E11TDA были разделены на колонке (50 м X 0,25 мм) с 3% CHDMS [28, 103], а для разделения E10Z12HDDOL от E10E12HDDOL была удобна колонка (50 м X 0,3 мм) с FFAP [109]; на колонках (15 м X 0,5 мм) с DEGS и PDEGS были разделены E11TDAL и Z11TDAL [185].

С точностью до 0,5% были разделены четыре изомера 7, 11HDA на капиллярной колонке (30 м X 0,25 мм) с DEGS при 190° [223].

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕРОМОНОВ ЧЕШУЕКРЫЛЫХ

Предварительная реакция на функциональную группу

Представление о тех или иных функциональных группах, присутствующих в компонентах феромона, можно получить уже из результатов подвижности этих соединений в ТСХ или ГЖХ. В ТСХ мерой полярности служит R_f компонента. Чем меньше R_f , тем полярнее соединение. Сравнение R_f компонента с R_f эталона позволяет сделать предварительное заключение о наличии аналогичной группы в компоненте феромона. Подвижность активного компонента феромона в ГЖХ характеризуется временем его

Таблица 1

Типичный анализ функциональных групп с использованием микрохимического и биологического тестов

Функциональная группа	Химический тест	Активность
Двойная связь	Озонолиз, бромирование, гидрирование	Потеряна
Сложный эфир	Омыление	"
Ацетат	Ацилирование нейтральной фракции омыленного продукта	Восстановлена
Метилловый эфир кислот	Обработка диазومتаном кислой фракции омыленного продукта	"
Эпоксид	Обработка фосфорной, перхлоркислотой	Потеряна
Карбонил	Обработка солянокислым семикарбазидом, LiAlH_4	"
Гидроксил	Ацилирование	"
Карбоксил	1. Экстракция щелочью	"
	2. Подкисление щелочного экстракта	Восстановлена
Амин	1. Экстракция кислотой	Потеряна
	2. Подщелачивание экстракта	Восстановлена
Спирт	Этерификация	Потеряна
Альдегид или кетон	Обработка NaBH_4 или ДНФГ	"

удерживания t_R . При этом t_R на неполярной колонке может дать предварительное заключение о молекулярном весе соединения, а определение индексов Ковача компонентов феромона на полярной колонке помогает получить предварительное представление о функциональной группе в молекуле.

Учитывая информацию, накопленную в последние годы о феромонах чешуекрылых, среди их компонентов следует ожидать длинноцепочечные ацетаты, спирты, альдегиды, эпоксиды и углеводороды, которые могут содержать один или два центра ненасыщенности или разветвление.

Простые химические реакции на функциональную группу могут быть проведены с функциональной группой после очистки экстракта [168] или даже с сырым экстрактом [104]. Для получения четкой информации при этом необходимо выполнение двух условий: наличие надежного чувствительного биотеста и проведение химической реакции до конца. Только в этом случае может быть определен положительный или отрицательный ответ. Как видно из табл. 1, потеря активности при озонолизе или бромировании указывает на то, что в феромоне есть ненасыщенность или по крайней мере в одном из его компонентов. Исчезновение активности при щелочной обработке указывает на присутствие сложного эфира. Если при ацилировании продукта реакции (спиртовой части молекулы) активность возвращается, то, возможно, что активность феромона связана с присутствием ацетата среди его компонентов [107]. Если же при этом активность не восстанавливается, щелочной раствор может быть подкислен, и выделившаяся кислота проэтерифицирована диазومتаном до ее метилового эфира.

Химические реакции можно проводить перед ГЖХ или прямо в тонком слое с последующим биотестированием. Для этого, например, проба, нанесенная на пластинку в виде пятна, опрыскивается подходящим химическим реагентом, и после завершения реакции пластинка элюируется; часть пластинки, в которой ожидается присутствие непрореагировавшего феромона, вычищается, смывается и биотестируется. Если смыв неактивен, реакция прошла и предполагаемая функциональная группа в феро-

Таблица 2

Результаты химического и биологического тестирования экстракта феромона

Химический тест	Число прилетевших самцов	Результаты
Озонолиз	0	Есть двойная связь
Гидрогенизация	0	То же
Бромирование	0	"
LiAlH_4	0	Есть карбонил
NaBH_4	27	Нет кетона или альдегида
2,4-ДНФГ	38	То же
Хлорная кислота	29	Нет эпоксида
Соляная кислота	23	Нет амина
Этерификация продукта гидролиза ацетилхлоридом	53	Есть ацетат

моне присутствует. Такого типа реакции можно проводить в сочетании с любыми методами хроматографии [224]. Так, например, заключение о том, что феромон *A. semiferranus* является ацетатом ненасыщенного спирта, было сделано на основании химических реакций и полевых испытаний полученных продуктов, как это можно видеть из результатов табл. 2 [107].

Таблица 3

Функциональные группы по биотесту и их ожидаемые предшественники

Функциональная группа	Возможные предшественники
Эпоксид	Олефин
Сложный эфир	Спирт, фенол, карбоновая кислота
Спирт	Сложный эфир, карбоновая кислота, альдегид, кетон
Карбоновая кислота	Сложный эфир, спирт, соль
Альдегид	Спирт, карбоновая кислота
Кетон	Спирт
Амин	Амид, соль

Если функциональная группа в активном соединении определена, нетрудно догадаться о природе предшественника этого компонента. В этом случае обработка предшественника подходящим реагентом дает возможность увеличить количество выделяемого феромона. Так, например, обнаружение эпоксидной группы у феромона непарного шелкопряда натолкнуло на мысль об олефиновом предшественнике феромона, что было доказано многократным увеличением активности при эпоксидировании сырого экстракта [199]. Идентификация предшественника при этом может оказаться значительно более простой, чем идентификация конечного продукта.

В табл. 3 представлены предшественники, которых можно ожидать при наличии тех или иных функциональных групп, полученных при химическом тестировании [224].

Реакцию омыления используют для определения сложно-эфирной группы в интересующем соединении [10, 84, 95, 100, 104, 168, 225]. Исчезновение активности у раствора, содержащего феромон, подтверждает наличие такой группы, а возвращение активности при ацилировании [95, 104, 130, 168, 225] продукта омыления указывает на то, что сложно-эфирная группа — ацетат.

Для проведения реакции омыления к спиртовому раствору феромона (0,5 — 1,0 мл) добавляют несколько капель 2,5–5% C_2H_5ONa (или KOH в метаноле), нагревают 1 ч на водяной бане, добавляют воду и экстрагируют [84, 117]. Или, например, для проведения микроомыления в сосуд на 4 мл с активной фракцией добавляют 10 капель 10%-ного KOH в метаноле, закрывают сосуд завинчивающейся пробкой с тефлоновой подложкой и оставляют при 40–50° С на 1 ч. Затем добавляют 500 мкл воды и продукт экстрагируют 1 мл эфира, встряхивая сосуд, а эфирный слой вытягивая пипеткой (три экстракции). Объединенный экстракт сушат, фильтруют через $MgSO_4$, упаривают азотом и растворяют в сероуглероде [63].

Ацилирование проводят, добавляя раствор уксусного ангидрида или хлористого ацетила к исследуемому раствору; выдерживают при комнатной температуре от нескольких минут до нескольких часов. При использовании хлористого ацетила его избыток по окончании реакции удаляют азотом; в случае ацилирования уксусным ангидридом реакционную массу обрабатывают водой и экстрагируют эфиром. Эфирный раствор промывают 50%-ным раствором $NaHCO_3$, водой, сушат и биотестируют [28, 55, 84]. Иногда ацилирование проводят в растворе пиридина [130, 172].

Биологическая активность экстракта *D. castanea* была нарушена его кипячением после упаривания растворителя с 5%-ным метанольным раствором C_2H_5ONa в течение 30 мин и восстановлена кипячением продукта метанолиза с изопропенилацетатом в 2%-ной толуолсульфокислоте [111]. К раствору, содержащему компоненты феромона совки *A. ipsilon*, добавляют несколько капель ацетилхлорида, выдерживают 10–15 мин при комнатной температуре и избыток ацетилхлорида удаляют потоком азота [84].

К 5 г сконцентрированного сырого экстракта феромона совки *N. virescens* добавляют 10 мл пиридина, 10 мл уксусного ангидрида, и раствор оставляют на ночь при комнатной температуре. После ГЖХ анализа продукт омыляют 30%-ным $NaOH$ в метаноле и восстанавливают активность [172].

Активную фракцию после ГЖХ-препаративного разделения экстракта *Anarsia lineatella*, дающую сигнал ЭАГ в 1,6 мВ, ацилируют ацетилхлоридом и получают фракцию, дающую ответ ЭАГ в 6 мВ и выходящую с колонки с XF-1150 одновременно с E5DA. Понятно, что фракция ГЖХ содержит E5DOL [105].

Для того чтобы определить одновременное присутствие спирта и ацетата в феромоне, биотестирование проводят и после омыления и после ацилирования. Для этого готовят два раствора по две самки-эквивалента в эфире. Оба раствора упаривают. К одному добавляют 2 мл 0,5н KOH в 95%-ном этаноле, а к другому — только 95%-ный этанол (2 мл), выдерживают 10 мин при 85° и охлаждают. Проверяют активность. Если омыленный раствор неактивен, его высаливают несколько раз $NaCl$ в эфире, сушат $MgSO_4$ и к упаренному раствору добавляют 1 мл ацетилхлорида. После стояния в течение 1 ч добавляют 10 мл воды и экстрагируют эфи-

ром. Эфирный раствор промывают 5%-ным раствором NaHCO_3 , 10 мл воды, концентрируют до 1 мл и биотестируют [108].

Оригинальный метод анализа функциональных групп у феромонов, содержащих спирты и ацетаты, предложили Кувахара и Кэсида для четырех видов огневок. По этому методу спиртовую фракцию экстракта или ацетатную фракцию, омыленную до спиртовой, трихлорацелируют и анализируют ГЖХ с детектором по захвату электронов. Для этого к экстракту от 10 самок, освобожденному от растворителя, добавляют 1 мл пиридинового раствора трихлорацетилхлорида и оставляют стоять при 25°C на 18 ч. Затем добавляют 1 мл гексана, промывают водой, сильно перемешивая 30 сек. По удалении водного слоя гексановый экстракт промывают 1 мл воды, насыщенной NaHCO_3 , затем просто водой и сушат Na_2SO_4 . Такая же процедура используется для трихлорацелирования продукта гидролиза ацетатных компонентов метанольным раствором NaOH (0,2 мл) при 25°C в течение 18 ч. Этим методом были найдены и спирт и ацетат в экстрактах ограниченного количества особей четырех видов огневок в виде трихлорацетата с колонки (1,5 м X 0,3 см) с 5% OV-17 на Хромосорбе W (60/80 меш) при 190° (инжектор 250° , детектор 250°) с t_R 16 мин [149].

Обнаружение ненасыщенности в феромоне

Наличие в молекуле компонента феромона двойной связи можно установить несколькими способами: гидрированием над катализаторами [6, 55, 105], бромированием и регенерацией двойной связи [8, 10, 42, 100, 104], озонолизом [6, 8, 10, 20, 46, 74, 85, 111, 116, 137, 146, 212, 222, 229], эпоксицированием [43, 58, 74, 125, 144, 230, 231]. Два последних метода применяются также для определения положения двойной связи в молекуле компонента феромона, выделенного в чистом виде.

Гидрирование проводится над катализатором при атмосферном давлении в растворе метанола или гексана, например с 5% Pd на CaCO_3 или с PdO [105]. Палладиевый катализатор используют при гидрировании таких компонентов феромона, как Z9TDAL, Z11TDAL [154], Z11Z13HDDAL [13B]. Платиновый катализатор в виде PtO_2 применяли при гидрировании E11TDAL в растворе этанола при 20°C [55], минорного компонента феромона *S. cautella* до TDA [216], а в виде Pt — при гидрировании до TDA феромона *S. frugiperda* [5].

Для идентификации двойных связей в молекулах феромонов применяется восстановление двойной связи гидразингидратом. Для этого 1 мкг активного масла после упаривания растворителя обрабатывают 10 мкл раствора $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (5 мкл) и воды (5 мкл) в 200 мкл этанола (небольшой кристаллик сульфата меди добавляют в качестве катализатора) [111].

Присутствие двойной связи можно установить также бромированием экстракта с последующей регенерацией двойной связи цинком. Для этого 5% брома в CCl_4 в "микротестпробирке" (5 мм X 5 см) из пирекса добавляют к раствору феромона и оставляют стоять 5 мин в темноте. Избыток брома упаривают азотом, и остаток для анализа растворяют в 5–10 мл сероуглерода [63]; 5%-ный раствор брома в CCl_4 за 10 мин делает неактивными компоненты феромона, содержащие двойные связи [6, 10, 55, 108].

Присутствие двойной связи можно установить озонолизом сырого экстракта [6]. Процесс проводят в сероуглероде при -70°C [55] или при -80°C [219], или при -70°C в хлористом метиле [58].

Обнаружение эпоксидной группы компонента феромона проводят действием бромистого водорода в растворе уксусной [58] или фосфорной кислоты [199] с одновременной проверкой исчезновения активности биотестированием.

Обнаружение карбонильной группы проводят восстановлением любых карбонильных групп алюмогидридом лития до спирта (до спирта восстанавливается при этом и эпоксидная группа). Восстановление проводят в среде безводного эфира при комнатной температуре [55].

Обработка алюмогидридом лития сырого экстракта кончиков брюшка *Orygia pseudotsugata* приводила к потере активности и тем самым указывала на присутствие альдегида, кетона или эпоксида [125].

Восстановлением алюмогидридом лития пользуются иногда при реакцировании. Так, под действием алюмогидрида лития ацетатная фракция (в растворе эфира) превращается в спиртовую. Через 1 ч добавляют несколько капель этанола, а затем несколько капель воды. Эфирный слой декантируют и сушат $MgSO_4$, ацелируют несколькими каплями ацетилхлорида, избыток которого упаривают азотом после стояния в течение 0,5 ч [105].

Присутствие альдегидной или кетонной группы подтверждается потерей активности под действием ДНФГ [55, 58, 125, 132, 144] в растворе уксусной кислоты. Присутствие альдегидов в экстракте желез *N. zea* определяли добавлением к 30 мкл экстракта пяти самок-эквивалентов 0,25 мг ДНФГ и 5 см³ HCl (газ). Затыкали пробкой и оставляли на 2 ч при 22° С. Реакционную смесь концентрировали азотом до 10 мкл [144]. Наличие кетонной группы в компоненте феромона *O. pseudotsugata* было доказано потерей активности при реакции с ДНФГ [125]. Наличие альдегидной группы может быть также проверено реакцией с бисульфитом. Для этого к сконцентрированному экстракту феромона добавляют насыщенный водный раствор метабисульфита натрия и встряхивают 30 мин. Водный раствор промывают хлористым метилом и добавляют твердый Na_2CO_3 для регенерации альдегидного материала [132].

Микроаналитическая техника идентификации

Спектральные исследования с помощью ЯМР, УФ и ИК-спектromетрии требуют значительно больших количеств вещества, чем это возможно извлечь из насекомых (нанограммы). Поэтому основную информацию о структуре компонентов феромона можно получить с помощью масс-спектриметрии, в частности хроматомасс-спектриметрии (ГЖХ — МС). Однако так как этого не всегда бывает достаточно, полезно использовать приемы микроаналитической техники, связанной с функциональным анализом в колонке газового хроматографа — реакционной ГЖХ (РГЖХ), а также с микрозонолизом, микроэпоксидированием. Достоинства этих методов в том, что они могут быть использованы для анализа менее чем микрограммовых количеств веществ и в течение нескольких минут.

Реакционная газо-жидкостная хроматография (РГЖХ)

ГЖХ с пламенно-ионизационным детектором (ПИД) способна детектировать малые количества соединений даже в очень сложных смесях. Использование РГЖХ позволяет проводить некоторые реакции, такие как пиролиз, гидрогенизация, гидрогенолиз, дегидрогенизация и определение

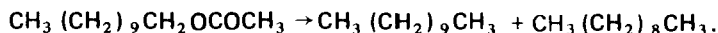
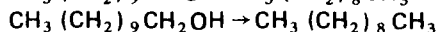
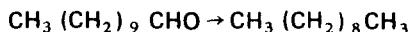
углеродного скелета непосредственно в колонке хроматографа [233]. Непосредственно в колонке хроматографа можно провести анализ на некоторые функциональные группы с образованием летучих соединений, которые могут быть обнаружены по времени удерживания, отличному от времени удерживания исходного соединения.

В случае образования нелетучего соединения информацией является исчезновение пика исходного соединения на хроматограмме, свидетельствующее о том, что функциональная группа в этом исходном соединении прореагировала. Исчезновение пика принято называть "вычитанием". Вычитать можно спирты борной кислотой [234, 235], альдегиды—стационарной фазой FFAP [236], альдегиды вместе с кетонами—гидроксиламином [237] и карбоновые кислоты—окисью цинка [238]. Для количественного вычитания альдегидов пользуются O-дианизидином, а для количественного вычитания кетонов, альдегидов и эпокисей пользуются бензидином. Для исключения из их состава эпокисей применяют фосфорную кислоту. Для этого реагент вместо фазы наносится на адсорбент, помещенный в петлеобразную трубочку диаметров, равным диаметру газовой колонки хроматографа, которая присоединяется к началу или концу этой колонки. Продукт реакции детектируется в процессе ГЖХ-анализа.

Гидрогенизация проводится на входе в колонку газового хроматографа с использованием водорода в качестве газа-носителя. Катализатор помещается в колонку, занимает 0,6 см длины в начале колонки и готовится нанесением, например 1%-ного палладия, на нейтральную хроматографическую подложку [233]. При этом катализатор помещается между колонкой и инжектором, если температура в ней в пределах 150–200° С; если температура за пределами этого интервала, катализатор помещают внутрь инжектора и выдерживают при требуемой температуре. Этим способом легко восстанавливается двойная связь в спиртах, кетонах, простых и сложных эфирах. Хотя частичный гидрогенолиз возможен при гидрировании некоторых соединений, например альдегидов, это не мешает определению структуры, хотя и влияет на количественное определение, так как продукты гидрогенолиза выходят много раньше, чем продукты гидрогенизации. Большим облегчением в гидрогенизации является помещение гидрогенатора между колонкой и масс-спектрометром. Сравнение молекулярных ионов гидрированного продукта и негидрированного позволяет определить количество двойных связей в молекуле. Так как Z- и E-изомеры превращаются в одно и то же соединение, эта процедура облегчает их идентификацию. Гидрогенизация облегчает интерпретацию масс-спектра. Так, например, без гидрогенизации невозможно определить место разветвления в молекуле [199]. Этим методом было установлено, что феромон хлопковой моли *P. gossypiella* не содержит ответвления [239].

Хроматография углеродного скелета используется для установления структурного скелета молекулы и включает в себя гидрогенизацию, гидрогенолиз и дегидрогенизацию [224, 240, 241]. При гидрогенизации происходит восстановление двойных связей, сокращающее количество структур в установлении углеродного скелета. Гидрогенолиз включает отщепление функциональных групп от молекулы и присоединение атомов водорода к обеим ее концам. В случае гидрогенолиза молекул, содержащих вторичные кислородные функциональные группы, количество углеродных атомов скелета сохраняется. В том случае если кислородная функция находится на конце молекулы (альдегид, первичный спирт, сложный эфир, карбоновая кислота), получается гомолог на один атом углерода меньший, хотя в ряде случаев скелет исходного соединения может и сохраняться,

например:



Гидрогенолиз микроколичеств C_9 – C_{20} органических соединений можно проводить с использованием нейтральных и щелочных катализаторов [240]. Активация катализатора (1%-ного Pd) проводится нагреванием в течение 30 мин при 200°C , а затем температура для проведения гидрогенолиза поддерживается при 300°C .

Вычитание спиртов проводится с применением "петли", содержащей борную кислоту. В результате образуются нелетучие эфиры с борной кислотой, которые удерживаются в петле. Однако несмотря на нелетучесть, иногда они выходят с колонки в виде широких пиков с высотой, в 10 раз меньшей, чем исходный спирт. При этом их время удерживания значительно увеличивается в сравнении с исходными спиртами. Соединения, вычитающиеся частично или не вычитающиеся совсем, проявляются уширением пика и отставанием в процессе хроматографирования. При этом вычитаемое количество всегда менее 50%. Все спирты попадают в одну из этих категорий. Вычитающую петлю лучше всего помещать между колонкой и детектором. В петле с борной кислотой, как правило, задерживаются только спирты, но бывает и так, что эпоксиды с большим молекулярным весом (эпоксигексадекан) и некоторые ненасыщенные альдегиды (цитронеллаль) вычитаются почти на 50%, особенно при высокой температуре. Однако борная кислота недостаточно универсальна, так как вычитает преимущественно насыщенные первичные и вторичные спирты, а третичные и ненасыщенные первичные и вторичные — не вычитает. Частично могут вычитаться некоторые карбоновые кислоты. Непредельные спирты с двойной связью в α -положении (кроме конечной) борной кислотой не вычитаются. В этом случае она катализирует дегидратацию спиртов.

Вычитание кислот происходит с помощью окиси цинка. При этом все карбоновые кислоты, за исключением α -замещенных, вычитаются количественно. Простые, сложные эфиры, альдегиды и кетоны полностью проходят через петлю с борной кислотой. Окись цинка может удерживать до 50% первичного спирта, но оставшаяся часть не изменяется по форме и времени удерживания. Для вычитания кислот "пудра" окиси цинка смешивается с носителем в соотношении 1 : 10 по весу.

Вычитание альдегидов происходит в петле, содержащей около 20% FFAP, даже если они находятся в составе сложной смеси. Процессу вычитания не мешает присутствие двойной связи в молекуле, но мешает наличие ответвления в α -положении к альдегидной группе.

Многие альдегиды, включая α -замещенные, ненасыщенные алифатические и ароматические, вычитаются с помощью *o*-дианизидина. Все кетоны (кроме циклогексанона) проходят через эту петлю без изменений. Эпоксиды с 12 и более углеродными атомами частично или полностью вычитаются. Эпоксиды с более низким молекулярным весом проходят через эту петлю без изменений. Петля с 5% *o*-дианизидина не вычитала простые и сложные эфиры, олефины, спирты, фенолы и углеводороды. *o*-Дианизидин работает в интервале температур 50 – 175°C и может использоваться при 200° в течение одного–двух часов.

Вычитание кетонов возможно при использовании 20% бензидина, который одновременно вычитает эпоксиды и альдегиды; пространственно-затрудненные (включая α -замещенные) кетоны вычитаются только частич-

но. Время удерживания углеводов при этом увеличивается на 20–30%. Оптимальная температура работы колонки 100–175°. При повышении температуры повышается эффективность вычитания кетонов, а вычитание эфиров (простых и сложных) и спиртов значительно сокращается.

Вычитание эпоксидов осуществляется фосфорной кислотой (5% на Хромосорбе W).

Все перечисленные методы РГЖХ, хотя и ограничены в своем применении, могут оказаться полезными при идентификации феромонов чешуекрылых.

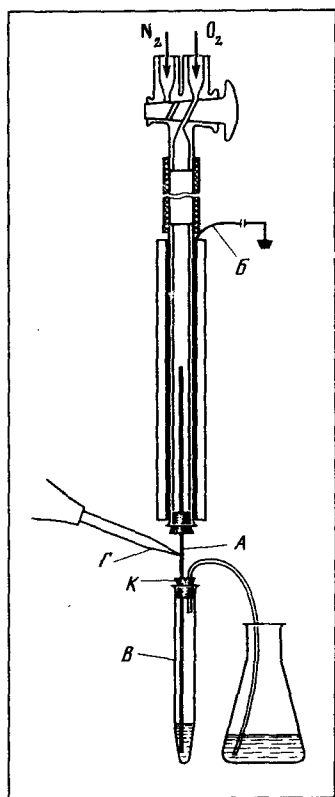
Если количество двойных связей можно определить гидрогенизацией с последующим анализом масс-спектрометрией, то положение двойной связи может быть определено только с помощью озонлиза [244–246] или эпоксидирования с последующим анализом масс-спектрометрией.

Озонолиз

Озонолиз может быть осуществлен с помощью простого прибора, изображенного на рис. 1. Озонатор состоит из заземленного электрода *Б* и незаземленного электрода *А*, через которые пропускается кислород. Озон генерируется тогда, когда источник высокого напряжения присоединен к незаземленному электроду *А*. Для озонирования 25 мкг соединения в 100 мкл растворителя (обычно сероуглерода) выдерживаются в пробирке *В* при -70°C в процессе пропускания кислорода со скоростью 10 мл/мин. Затем вакуумный тестер *Г* подносится к электроду *А* (в течение 15–30 сек). Трехходовой кран поворачивается, и азот вытесняет озон и кислород. Реакционная пробирка отсоединяется и 0,5 мг порошка трифенилфосфина добавляется в пробирку, затыкается и перемешивается. По достижении комнатной температуры 20 мкл реакционной массы инъецируется в газовый хроматограф.

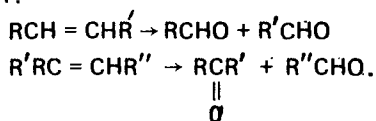
Возможна модификация прибора для озонирования, состоящая в том, что кислород и азот вводятся со стороны генератора озона и контролируются игольчатым вентилем. Центральный электрод, к которому подводят высокое напряжение, вводят через верх аппарата. Озон вводят в 10 мкл сероуглерода через иглу шприца 27-го размера, приставленную к фитингу на дне генератора озона. Процесс ведется так, чтобы пузырьки кислорода было трудно считать, а тестер высокого вакуума применяют 30–45 сек. Голубой цвет избытка озона служит сигналом прекращения процесса.

Рис. 1. Прибор для озонлиза
Объяснение в тексте



Этим аппаратом можно анализировать от 40–50 мг вещества до 2–3 мкг [63].

Положение двойной связи определяется по фрагментам. Альдегиды и кетоны получаются в зависимости от того, был олефин замещенным или нет:



В сероуглероде пики, равные валериановому или более старшему альдегиду, будут видны на хроматограмме. Пики, выходящие раньше валерианового альдегида, должны анализироваться в другом растворителе (в амил-ацетате) [224].

Озонолиз широко используется в идентификации феромонов чешуекрылых. Активная фракция, полученная препаративной ГЖХ или жидкостной хроматографией, идентифицируется ГЖХ–МС. В том случае, если возникают затруднения с определением положения двойной связи, используют озонолиз, а продукты озонолиза исследуют с помощью масс-спектрометрии.

Так, например, микроозонолиз спиртовой фракции экстракта кончиков брюшка самок листовертки *P. flavedana* дал 11-оксиундеканаль. Ацетатная фракция этого вида дает 11-ацетоксиундеканаль. Таким образом, двойная связь в спиртовом и ацетатном компонентах феромона находится в положении 11 [162].

Микроозонолиз альдегидного компонента феромона *P. xylostella* указал на 11 положение двойной связи в молекуле альдегида, что подтвердил его масс-спектр¹: 166 (1,5 М-1В) 156 (2,0) 148 (2,7) 123 (22,1) 111 (7,5) 81 (72,9) 67 (61,0) 55 (100) 41 (91,8). Микроозонолиз ацетатного компонента дает 11-ацетоксиундеканаль, масс-спектр которого: 185 (2,5 М-43) 140 (3,1) 125 (14,1) 61 (24,6) 43 (100) [183].

Один из компонентов феромона *A. lineatella* дает при озонолизе пентаналь и 5-ацетоксипентаналь, характеризуя наличие двойной связи в положении 5 [105].

Эпоксидирование

Эпоксидирование применяется в том случае, если определение положения двойной связи озонолизом затруднено, например когда в молекуле присутствует не одна двойная связь, а две или более. В этом случае образуются такие маленькие осколки, которые невозможно уловить при ГЖХ-анализе (улетают вместе с растворителем). Эпоксидирование проводят добавлением олефиновой фракции к хлороформу, который содержит молярный избыток м-хлорнадбензойной кислоты [274], и оставляют стоять при комнатной температуре. Если в соединении две двойные связи, то реакция эпоксидирования контролируется ГЖХ на колонке с 3% OV-210 на 100/120 меш Варпорте-30 и может быть остановлена на стадии моноэпоксида. Анализ масс-спектрометрией с химической ионизацией (газ-реагент — изобутан) этого моноэпоксида помогает определить положение двойной связи.

Техника эпоксидирования была успешно использована при идентификации феромона моли *S. cerealella*, Z7E11HDDA, для чего потребовалось

¹ Первая цифра — *m/e*, цифры в скобках — интенсивность.

500 нг природного соединения и моноэпоксидование синтетических образцов. Строение последних определялось масс-спектрометрией с химической ионизацией и ИК-спектрометрией [206].

Идентификация феромонов чешуекрылых сочетанием газо-жидкостной хроматографии с электроантеннографией (ГЖХ—ЭАГ)

Предложенный Розлофсом метод ГЖХ—ЭАГ [104, 188, 248, 250, 251] применим только для идентификации феромонов чешуекрылых, так как использование этого метода предполагает наличие предварительной информации о природе исследуемых феромонов. Такой информацией мы располагаем пока только о феромонах чешуекрылых. Нам известно уже, что это длинноцепочечные C_{10} — C_{18} непредельные спирты, альдегиды, ацетаты и эпоксиды. Располагая эталонами таких соединений, можно, сравнивая времена удерживания компонентов феромона при ГЖХ-анализе с временами удерживания эталонов на полярных и неполярных колонках, одновременно биотестировать и те и другие с помощью ЭАГ.

Метод ГЖХ—ЭАГ особенно неocenим при идентификации минорных компонентов феромона, так как ЭАГ-сигнал возникает от минорного количества компонента, играющего любую роль в букете феромона. Понятно, что окончательное заключение о роли того или иного компонента феромона можно сделать только после проведения полевых испытаний. Метод отведения ЭАГ-сигнала от антенны насекомого, созданный Шнайдером, подробно обсужден в разделе, посвященном биологическим исследованиям, и здесь затрагиваться не будет.

Техника использования ГЖХ—ЭАГ сводится к тому, что в газовый хроматограф, снабженный сплиттером, вводится экстракт феромона, или активная фракция; выходящие из хроматографа компоненты собираются с интервалом 1—2 мин, а затем биотестируются ЭАГ [16, 35, 40—43, 84, 158, 159, 252, 253]. Если хроматограф сочленен непосредственно с биодетектором, то биотестирование происходит на выходе из газового хроматографа [12, 26, 54, 104, 254]. Компоненты, дающие максимальный ЭАГ-сигнал, считаются потенциальными компонентами феромона. Параллельно на антенне интересующего вида насекомого проверяется серия ненасыщенных ацетатов, альдегидов, спиртов, с разным положением двойных связей и с разной их геометрической конфигурацией. Если в исследуемом соединении две двойные связи, то максимальный сигнал будет и на мононенасыщенные соединения с двойными связями в положениях, соответствующих таковым в двуненасыщенном соединении [10, 16, 17, 20, 54, 55, 110, 146, 151, 159, 168, 255].

Преимущество метода ГЖХ—ЭАГ состоит в том, что он нуждается в ограниченном количестве особей для экстракции (50—200 самок), а потому неocenим при идентификации минорных количеств веществ, которые могут быть невидимы на хроматограмме, но давать сигнал ЭАГ, так как чувствительность антенны насекомого на много порядков выше чувствительности хроматографа с ПИД. В этом случае по времени удерживания активного, но невидимого на хроматограмме компонента можно судить о его структуре [26, 109, 123, 128, 154].

Преимущество биотестирования с помощью ЭАГ перед поведенческим или даже полевым биотестом в том, что минорные компоненты, которые сами по себе могут быть и неактивными, всегда дают сигнал и не могут быть пропущены при выделении из природного материала. Кроме того, эти компоненты по своей природе могут оказаться родственными основ-

ному компоненту феромона, а потому, сравнивая их времена удерживания с временами удерживания эталонов, можно сделать предварительное заключение об их структуре. По размерам пиков на хроматограмме природного экстракта возможно установить соотношение компонентов, приближающееся к природному, составить смесь из идентифицированных таким образом компонентов и проверить ее в поле. Метод ГЖХ—ЭАГ позволил установить структуру феромонов многих видов чешуекрылых. Геометрическая конфигурация компонентов в этом методе определяется сравнением с активностью и временами удерживания синтетических Z- и E-изомеров.

Идентификация одно-, двухминутных фракций ГЖХ

При препаративном сборе одно-, двухминутных фракций ГЖХ используются препаративные колонки разной полярности и охлаждаемые капилляры для сбора фракций. ЭАГ-сигнал измеряют в милливольтках (мВ).

Для препаративного выделения феромона *P. uipuncta* из сырого экстракта кончиков брюшка упарили хлористый метилен и добавили гептан. Гептановый раствор ввели в газовый хроматограф со сплиттером 1:10. Феромон собирали в стеклянные ловушки, охлаждаемые сухим льдом в ацетоне, и анализировали ЭАГ. Образцы (100 мкг) биотестировали дважды и повторяли трижды в разное время, сравнивая с эталонами и на разных антеннах [146]. В таком эксперименте рекомендуется использовать не менее пяти различных антенн.

Два компонента феромона *Scotia exclamationis* (Z5TDA; Z9TDA = 95 : 5) были идентифицированы методом ГЖХ—ЭАГ на четырех колонках: 10% Silar 10C, 5% Апиэзон L, 10% Ucon LB 550X и стальной колонке WCOT с DEGS [257]. Аналогично, с использованием полярных и неполярных колонок в сочетании с ЭАГ найдены феромоны *Spodoptera exempta* [160], *S. frugiperda* [5], *A. transitella* [130], *Aegeria tibialis* [192], *A. lineatella* [105], *A. podana*, *A. citrana* [86], *A. velutinana* [28].

Этот метод с успехом был использован при идентификации феромона *Dendrolimus spectabilis*, оказавшегося смесью изомеров Z5E7DDDOL и E5E7DDDOL, второй случай после феромона *B. mori*, когда и основная и минорная компонента — спирты. ЭАГ-активность была обнаружена у спиртовой фракции гексанового экстракта кончиков брюшка самок этого вида (2 тыс. особей). Эта фракция была получена ТСХ на силикагеле (СГ). Препаративной ГЖХ на колонке с 1% OV-1 был выделен 5,7DDDOL. Его анализ на полярной колонке с 2% ПЭГ 20М подтвердил наличие в этой фракции двух изомеров — Z5E7DDDOL и E5E7DDDOL в соотношении 5 : 1. Хроматомасс-спектрометрией фракции от деления ТСХ на аргентированной пластинке из силикагеля получено дополнительное доказательство того, что в экстракте самок этого вида содержатся именно эти изомеры [110, 217].

Анализ ГЖХ—ЭАГ экстракта желез 0,6 самки-эквивалента *Ephestia cautella* на колонке (1,83 м X 2 мм) с 2,5% Карбовакса 20М на Хромосорбе AW-DMCS при программировании температуры 120° → 40°/мин → 220°С с ПИД позволил обнаружить два основных компонента — Z9TDA (5 нг) и Z9E12TDDA (10 нг). Минорный компонент обнаружить этим методом не удалось, поэтому была использована техника трихлорацелирования и анализа с ДЭЗ [153].

Для установления строения компонентов феромона *O. furnacalis* экстракт целых насекомых, частично очищенный колоночной хроматографией, анализировали ГЖХ—ЭАГ, используя колонку (2 м X 0,3 см) с 2% ПЭГ

20 М при 140°С. Сравнивая результаты ЭАГ-тестирования двухминутных ГЖХ-фракций экстракта и серии стандартов, нашли, что это смесь Z- и E-тетрадецилацетатов [123].

Аналогично в ГЖХ-фракциях сырого экстракта *P. pyrusana* нашли два компонента феромона. При этом для препаративного выделения ЭАГ-активной фракции использовали стеклянную колонку (1,8 м X 4 мм) с 3% OV-1 на Газхроме Q при 160°, а для выделения изомеров положения (Z11TDA и Z9TDA) из нее использовали колонку с 3% OV-101 на Газхроме Q при 140°С [108].

Экстракт третьего-четвертого сегментов брюшка девственных самок *Prays citri*, очищенный обработкой раствором метабисульфита натрия с последующим добавлением Na₂CO₃, делили на трех колонках SCOT: Карбовакс 20М, Апиэзон L и SP216PS при программировании температуры. Одноминутные фракции с каждой из этих колонок биотестировали ЭАГ. Для этого из пипетки с пробой экстракта в гексане (5 нг) упаривали азотом (50 мл/мин) растворитель. Пипетку помещали вертикально над антенной и 3 сек пропускали азот (500 мл/мин) с интервалом в 10 мин. Так как по результатам ГЖХ никакого пика в активной области не было, то о строении активного вещества заключили только по результатам сравнения времени удерживания активной области с временами удерживания и активностью эталонов; им оказался Z7TDA [154]. Таким же путем был найден Z7TDAL в феромоне *P. oleae* [128].

Анализом ГЖХ экстракта 15 кончиков брюшка самок *Nedya pubiferana* нашли четыре компонента, содержащиеся в нем в следующем процентном соотношении: 16,3; 10,1, 30,0; 43,6 (DDA, E8DDA, Z8DDA и E8E10DDDA). Одновременно по ЭАГ проверили серию додецеиолов, додеценилацетатов и додекаденилацетатов. Максимум активности обнаружили Z8DDA и E8E10DDDA. Активными оказались также E8DDA, E10DDA и Z8E10DDDA. В 100 раз менее активными были Z8DDOL и E8E10DDDL. По результатам полевых испытаний активность проявилась у Z8DDA и E8E10DDDA (основные компоненты феромона), а DDA и E8DDA проявили синергетические свойства [258].

Идентификация компонентов феромона при одновременном био- и ГЖХ-детектировании

Несомненно более удобным методом идентификации является прием одновременного био- и ГЖХ-детектирования. Для этого осуществляют непосредственное сочленение газового хроматографа с ЭАГ-установкой. Другими словами, хроматограф снабжен двумя детекторами — ПИД и био-детектором. В этом случае целесообразнее пользоваться капиллярной колонкой.

При анализе смывок желез 50 самок *E. ochrogaster* на хроматографе с двумя упомянутыми детекторами (сплиттер 10 : 1) на двух капиллярных колонках (22 м X 0,35 мм) с Silar-10С и (50 м X 0,35 мм) с OV-17 показано, что в месте выхода самого активного компонента (Z5DA; 0,3 мВ) на хроматограмме нет пика вещества, а активность второго и третьего пиков — 0,9 мВ (Z5DDA и Z7DDA). Одновременно было показано, что антенна самца из всех испытанных ацетатов лучше всего реагирует на Z5DDA.

В этой же работе был применен оригинальный метод идентификации минорных компонентов феромона с использованием антенн других видов насекомых. Так, известно, что антенна самца *A. ipsilon* реагирует на Z7DDA, Z8DDA и Z6DDA. Так как антенна *A. ipsilon* реагировала на экстракт *E.*

ochrogaster, то следует ожидать присутствия этих компонентов в экстракте. В то же время антенна *Grapholitha molesta* реагирует на Z8DDA, но не реагирует на экстракт *E. ochrogaster*, что означает отсутствие Z8DDA в этом экстракте [12]. Этот метод идентификации был также использован при исследовании феромона озимой совки *A. segetum*. Обычно техникой ГЖХ—ЭАГ со сплиттером между биодетектором и ПИД были идентифицированы Z5DA, Z7DDA, Z9DDA, DDA, E5DDA, Z8DDA. Их присутствие было подтверждено реакцией антенны самца *A. ipsilon* на Z7DDA, *G. fufebra* на Z8DDA и *Euroecilia ambiguella* на Z9DDA [26]. Однако следует заметить, что такой метод идентификации не может быть достаточно надежным из-за неуловимо тонких механизмов реакции антенн насекомых на разные вещества и их пороговые концентрации, о которых нам еще пока очень мало известно.

Один из компонентов феромона *E. insulana* — E10E12HDDAL был обнаружен методом прямого сочленения капиллярной колонки хроматографа с ЭАГ (51 м X 0,5 мм, SCOT). По времени удерживания на фазе Карбовакс 20М при программировании температуры 100° → 20°/мин → 180° можно было заключить, что это соединение должно быть ацетатом. Результаты определения его времени удерживания на разных колонках (Карбовакс 20М, CHDS, SE-30, Апиэзон L) натолкнули на мысль о C₁₆-альдегиде с двумя двойными сопряженными связями. Так как в каждой самке меньше, чем 1 нг феромона, его дальнейшая идентификация проводилась сравнением эталонов геометрических изомеров гексадеценаля методом ГЖХ—ЭАГ. Ответы на 5 нг каждого из изомеров гексадеценаля в милливольтах (мВ) составляли: Z7 (0,54), E7 (0,37), Z9 (0,24), E9 (0,22), Z10(1,25), E10(1,54), Z11 (2,42), E11 (2,42), Z12(2,54), E12(2,56), Z13(0,50), E13 (1,13). Результаты анализа ГЖХ природного феромона и результаты полевых испытаний синтетических 9,11-, 10,12-, 11,13- и 12,14-гексадекадиеналей подтвердили, что основной компонент природного феромона — E10, E12HDDAL [82]. Или, например, сырой экстракт кончиков брюшка яблонной плодожорки *L. pomonella* делили на полярной (5% CHDMS на Хромосорбе Q, 170°) и неполярной (10% JXR на Хромосорбе Q, 190°С) колонках. Каждую минуту фракции собирали в стеклянные капилляры длиной 30 см. Для проверки активности через капилляр шприцем продували 1 мл воздуха на антенну, вставленную в систему для ЭАГ-анализа. Активными считали фракции с ответом в 5 мВ в сравнении с неактивными (0,5 мВ) [260].

Блестящим методом использования только хроматографических методов в сочетании с ЭАГ в выделении и идентификации феромонов представляется идентификация шести компонентов феромона *P. flavedana* (E11TDOL, Z11TDOL, Z11TDA, E11TDA, TDOL, TDA). Для препаративного деления сырого экстракта использовали стеклянную колонку (1,8 м X X 2 мм) с OV-1 на Газхrome Q при 170°С. Времена удерживания активных фракций были следующие: 5—6,5 мин (5,4 мВ), 9—10,5 мин (2,2 мВ). По временам удерживания эталонов — это области E11TDOL и E11TDA. Для доказательства спиртовой природы фракция с временем удерживания 5—6,5 мин была проацилирована и показала время удерживания 9—10,5 мин, а при омылении снова 5—6,5 мин и ту же активность (2,5 мВ). Отсюда следует, что фракция с временем удерживания 9—10,5 мин представляет собой ацетат. Деление спиртовой фракции на колонке (1,8 м X X 4 мм) с 10% XF-1150 на Хромосорбе W-AW-DMCS при 170°С указало на присутствие обоих изомеров: E11TDOL (12,5 мин) и Z11TDOL (13,3 мин). На колонке (3,6 м X 2 мм) с PDEAS на Хромосорбе W-AW-DMCS при 172°С спиртовая фракция дала основные пики с временами

удерживания 12,2 мин (E11TDOL) и 13,0 мин (Z11TDOL). Пик с временем удерживания 10,45 мин составлял 3% от смеси спиртов и был отнесен к TDOL. При анализе ацетатной фракции на XF-1150 (150°) были обнаружены три пика: с t_R 7,25 (E11TDA), 8,00 (Z11TDA) и 6,55 (TDA) [162]. Метод идентификации ГЖХ-ЭАГ в сравнении с эталонами широко применяется в исследованиях феромонов чешуекрылых [105, 158, 259]. Он достаточно удобен, но к числу его недостатков необходимо отнести узость сферы его использования (только для чешуекрылых) и необходимость располагать большим набором различных эталонов, без которых такого рода идентификация практически невозможна.

Спектральные методы анализа

Развитие техники спектральных исследований, еще 10 лет назад требовавшей более 100 мкг вещества для анализа, привело к тому, что в настоящее время 20 мкг вещества достаточно для полного спектрального анализа с помощью ЯМР-, ИК-, УФ- и масс-спектрометрии [211, 224].

ЯМР-спектроскопия

ЯМР-спектроскопия позволяет получать хорошие спектры с пробой 2 мкг на спектрометре Bruker HX-90, сочлененном с ЭВМ через Фурье-преобразователь Nicolet [224]. Для снятия спектра пробу растворяют в 75 мкл растворителя, содержащегося в микрокювете. Растворителями служат спектрально чистые сероуглерод и четыреххлористый углерод, дополнительно очищенные пропусканием через колонку с СГ или окисью алюминия с последующей их очисткой от частиц СГ или окиси алюминия перегонкой. Принципиальное значение имеют размеры и устройство микрокюветы; при этом чем меньше растворителя, тем успешнее результат съемки. Лучшим растворителем считается сероуглерод. В развитии техники инструментального анализа большие надежды возлагаются на 13С-ЯМР.

Поскольку ЯМР-спектрометрия нуждается в микрограммовых количествах веществ, она очень редко применяется в анализе феромонов. Исследователи, располагавшие 200 мкг феромона листовертки *A. velutinana*, использовали ЯМР для доказательства структуры основной его компоненты [6, 196]. Значительно чаще ЯМР-спектрометрию используют в изучении геометрических изомеров синтезированных компонентов феромона [223].

УФ-спектроскопия

УФ-спектроскопия удачно используется для доказательства присутствия сопряженных двойных связей в диеновых компонентах феромонов. Так, 11,13-сопряжение в диеновом HDDAL, компоненте феромона *A. transitella*, было обнаружено УФ-спектроскопией при 232 нм с коэффициентом экстинкции 18,100 [130].

ИК-спектроскопия

ИК-спектроскопия применяется значительно чаще в анализе феромонов [12, 88, 151, 189]. Используя всего 5 мкг вещества, можно получить информацию о функциональных группах молекулы. ИК-спектрофотометр с преобразователем Фурье позволяет работать с еще меньшими количествами вещества [261].

Углеводородная природа одного из компонентов феромона *Alabama argyrea* доказана наличием полос при 2900, 2825, 1450 и 1375 cm^{-1} [104].

При идентификации основного компонента феромона *A. oga* были обнаружены полосы 1735, 1235, 1038 cm^{-1} (характерные для ацетатной группы) и 3000 cm^{-1} (характерные для двойной связи). Отсутствие полосы 960 cm^{-1} , характерной для транс-соединений, и наличие слабых полос при 1630–1640 cm^{-1} , характерных для цис-соединений, указывало на то, что найденный по ГЖХ 9TDA относился к Z-изомеру [20].

В основном компоненте феромона *A. velutina*, Z11TDA, были найдены полосы 1740 cm^{-1} , характерные для ацетата [6].

В феромоне *S. frugiperda* найдены полосы, характерные для Z9TDA: 1735, 1235, 1038 cm^{-1} (C=O эфиры); 1038, плечо 1650 cm^{-1} и 720 cm^{-1} (слабая) (Z-двойная связь) [5].

При идентификации 9, 11DDDA (25 мкг в сероуглероде) в феромоне *D. castanea* были получены следующие характеристические полосы: 2930 (CH_2) 1740 (C=O) 1233 (C—O—C, ацетатная) 947 (транс-двойная связь) 895 и 1000 (C=CH₂) cm^{-1} [111].

В феромоне *D. spectabilis* с помощью ИК-спектроскопии была доказана геометрия Z, E- и E, Z-изомеров 5,7DDDDL (980 cm^{-1} и 720 cm^{-1}) [110]; в феромоне *P. eridana* — строение компонента Z9E12TDDA, 1220 (C=O, 960 cm^{-1} транс-двойная связь) [46], а в феромоне *P. perculella* подтверждена пространственная конфигурация E4Z7TrDDA и E4Z7Z10TrDTrA [209].

Масс-спектрометрия

Самым чувствительным и информативным методом анализа, однако, является масс-спектрометрия. Для анализа вещества этим методом достаточно 100 нг вещества. Аналитические возможности этого метода могут быть повышены использованием химической ионизации, особенно в том случае, когда затруднено определение молекулярного веса вещества [12, 130, 164, 170, 193, 206, 253]. Для этого выбирается газ-реагент, дающий максимальную информацию при реакции в ионном источнике с исследуемой молекулой [262, 263, 265, 266]. Наибольшая информация о молекуле получается при использовании нескольких газов-реагентов. Чаще всего для этой цели используют в качестве газа-реагента метан [130, 164, 253], изобутан [211].

Хроматомасс-спектрометрия

Однако самым ценным методом идентификации феромонов является хроматомасс-спектрометрия (ГЖХ—МС). По существу этот метод является единственным методом, позволяющим идентифицировать микроколичества всего феромонного букета, не разделяя его предварительно на индивидуальные компоненты. Это тем более важно, что при разделении феромонного букета на индивидуальные компоненты может произойти потеря активности, если активность обладает только их смесь. Тогда остается неясным, какие же из идентифицированных индивидуальных веществ являются компонентами феромона.

Метод ГЖХ—МС сочетает высокую разрешающую способность ГЖХ (особенно капиллярной) с высокоинформативной масс-спектрометрией. Правда, сам масс-спектрометрический детектор не достаточно чувствителен (10^8 г); однако использование в этом методе приемов масс-фрагментографии позволяет повысить его чувствительность на 2–3 порядка. Сочетание ГЖХ—МС с ЭВМ упрощает обработку и интерпретацию масс-спектров.

Если источником для выделения и идентификации феромона является экстракт частей тела насекомого, то перед ГЖХ–МС идентификацией этот экстракт очищают разными методами хроматографии, иногда сочетанием нескольких методов хроматографии. В случае идентификации феромона в смывках желез или в экстракте из воздуха над живыми насекомыми необходимость в тщательной очистке отпадает и становится возможным идентифицировать сразу сырой экстракт. Для получения более четкого спектра в масс-спектрометре спиртовые компоненты феромона обычно силилируют *t*-бутилдиметилхлорсиланимидазолом [146]. Или, например, 1 мкг ацетата с двумя двойными связями под действием трехоксида осмия превращают в тетрагидроксипроизводное и силилируют бис(триметилсилил)ацетамидом в пиридине [218], что позволяет определить положение двойных связей в молекуле.

Масс-спектры различных предельных и непредельных ацетатов, альдегидов и спиртов, найденных в качестве компонентов феромонов разных видов чешуекрылых, получают под электронным ударом (ЭУ) или химической ионизацией (ХИ). Как правило, в спектрах ацетатов, а также соединений, содержащих две двойные связи, присутствуют молекулярные ионы. Так как основную часть молекулы компонентов феромонов чешуекрылых составляет углеводородный радикал, то в спектрах практически любых компонентов феромонов чешуекрылых присутствуют фрагменты, характерные для углеводородов. В том случае, если при отщеплении функциональной группы в масс-спектрах разных соединений (например, Z11HDA, HDAL, Z11HDOL) образуется один и тот же фрагмент — *m/e* 222 образуется у Z11HDA ($M^+ - 60$), у HDAL ($M^+ - 18$) и у Z11HDOL ($M^+ - 18$), то представление о строении молекулы можно получить по фрагментам, характерным для функциональных групп. В ацетатах, например, присутствует фрагмент, получающийся отщеплением уксусной кислоты от молекулярного иона ($M^+ - 61$) или протонированной уксусной кислоты ($M^+ - 61$), а также сам протонированный фрагмент *m/e* 61; *m/e* 31 или 45 характерны для спиртов, а *m/e* $M^+ - 44$, 44 и 55 характерны для альдегидов.

Однако в ряде случаев, особенно в присутствии родственных примесей, картина масс-спектра может содержать недостаточно информации, и идентификация молекулы может оказаться сильно затрудненной. В этом случае необходимо использовать масс-фрагментографию.

Масс-фрагментография

Масс-фрагментография помогает обнаружить даже в смеси веществ присутствие искомого соединения по нескольким характерным фрагментам, их интенсивности и времени удерживания, которые намечаются заранее и подбираются дискретным изменением ускоряющего напряжения, используя эталон и специальную приставку МИД, управляемую компьютером. Использование масс-фрагментографии повышает чувствительность метода до $10^9 - 10^{12}$ г [228].

Техника масс-фрагментографии заключается в том, что опорные фрагменты, характерные для предполагаемого соединения, выбираются заранее; затем компьютер рассчитывает величины ускоряющего напряжения, при которых будут сфокусированы нужные ионы. Компьютер также регулирует переключение напряжения. Напряженность магнитного поля поддерживается постоянной. Интенсивность фрагментов записывается в виде плавной кривой в момент выхода вещества. По внешнему виду эта кривая напоминает хроматограмму, а потому ее часто называют масс-хроматограммой или масс-фрагментограммой.

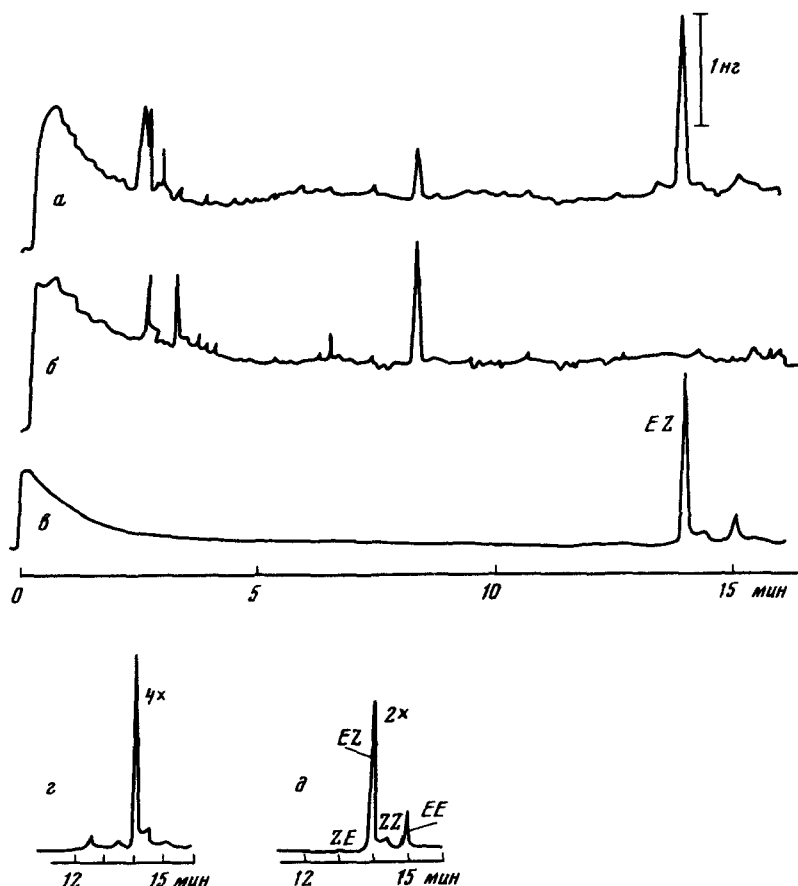


Рис. 2. Масс-фрагментограмма частично очищенных экстрактов *Lobesia botrana* E7Z9DDDA

a — аликвота самки; *б* — аликвота самца; *в* — синтетический E7Z9DDDA, разделившиеся изомеры; *z* — увеличенный масштаб 10 самок-эквивалентов; *д* — увеличенный масштаб E7Z9DDDA (колонка 50 м x 0,3 мм, баллистическая программа 20° С → 170°, m/e 164, 23 эВ)

Использование масс-фрагментографии позволяет ограничиться двумя—пятью особями насекомых для идентификации компонентов их феромонов. Перед масс-фрагментографическим анализом необходимо иметь предварительное представление о структуре молекулы, которое может быть получено анализом экстракта методом сочетания ГЖХ с ЭАГ.

Например, ГЖХ—ЭАГ исследования модельных соединений и ГЖХ-фракций экстракта самок гроздовой листовертки *L. botrana* указали на возможное присутствие в экстракте E7Z9DDDA. Необходимо было убедиться в том, что активный в поле E7Z9DDDA действительно присутствует в экстракте самки *L. botrana*. Для этого снимают масс-фрагментограмму, фокусируя прибор на m/e 164 ($M^{+} - 60$) при 23 эВ, частично очищенного экстракта одной самки-эквивалента и синтезированного эталона E7Z9DDDA. Как видно из рис. 2, фрагмент m/e 164 присутствует в экстракте

те самки и отсутствует в экстракте самца. По времени удерживания он полностью совпадает с синтетическим образцом E7Z9DDDA. Фрагмент m/e 164, выбранный на грани компромисса между его специфичностью и интенсивностью, оказался удачным даже при снятии компонента в количестве 1,6 нг [267].

Для масс-фрагментографии основного компонента яблонной плодоярки в качестве опорного фрагмента лучше выбрать молекулярный ион (M^+ : 182), который всегда присутствует в масс-спектре молекул с двумя двойными связями, как это видно из масс-фрагментограммы компонентов феромона этого вида на рис. 3. Дифференциальный диагноз хроматограмм экстрактов самцов (а) и самок (б) *L. pomonella* в сравнении с хроматограммой синтетического E8E10DDDOl (в) указывает на его присутствие у самок (t_R 16,45 мин) и отсутствие у самцов (рис. 3, г). Отсутствие E8E10DDDOl в экстракте самцов подтверждается масс-фрагментограммой, как это видно на рис. 3 (//). Таким образом фрагмент с m/e 182 и временем удерживания 16,45 мин присутствует только в экстракте самки. Масс-фрагментография позволила определить присутствие E8E10DDDOl в количестве 3,5 нг.

Дифференциальная масс-фрагментография предполагаемых предшественников в экстрактах обоих видов насекомых показала, что у самок *L. pomonella* E8DDOl и E10DDOl присутствуют в количестве менее 0,1 нг, а у самок *L. botrana* предшественниками являются Z9DDA (составляет 0,2 нг), E7Z9DDDOl (присутствует в количестве 0,1 нг) [268].

К масс-фрагментографии обращаются в том случае, когда количество биоматериала ограничено или невозможно освободиться от сопутствующих балластных веществ. При этом можно провести масс-фрагментографию с выбором нескольких фрагментов. Например, для доказательства наличия в экстракте самки *A. segetum* Z5DA из масс-спектра синтетического образца Z5DA были выбраны 17 ионов, которые были обнаружены и в активной фракции после колоночной хроматографии экстракта кончиков брюшка самок *A. segetum* m/e : 138 ($C_{10}H_{18}$) 137 110 (C_8H_{14}) 109 (C_8H_{13}) 96 (C_7H_{12}) 95 94 93 (C_7H_9) 81 (C_4H_9) 79 (C_8H_7) 73 (CH_2OCOCH_3) 67 (C_5H_7) 66 (C_5H_6) 65 61 (CH_3COOH_2)⁺ 60 (CH_3COOH) [98].

Окончательное доказательство структуры Z7DDA в феромоне *Amathes C-nigrum* было проведено масс-фрагментографией по ионам m/e : 31 (CH_2OH) 43 (CH_3CO) 61 (CH_3COOH_2)⁺ [140].

Для идентификации Z11HDA в феромоне *M. brassicae* масс-фрагментографией были выбраны ионы m/e : 43 (CH_3CO) 61 (CH_3COOH_2)⁺ 152 ($C_{11}H_{20}$) 194 ($C_{14}H_{26}$) 222 ($C_{16}H_{30}$) [269].

При идентификации феромона *E. ochrogaster*, состоящего из шести компонентов (DA DDA E5DDA Z5DDA Z7DDA Z9DDA), была использована масс-фрагментография по ионам: для спиртов — ЭУ M — 18; ХИ M + 1 (M + 1) — 18; для альдегидов — ЭУ M — 18 M — 1; ХИ M + 1 M — 1 (M + 1) — 18; для ацетатов — ЭУ M — 60, 61; ХИ M + 1 (M + 1) — 60 [12].

Для идентификации в экстракте феромона самки *Homosoma electellum* TDOL, Z9TDOL, Z9E12DDOL использовали фрагменты m/e : 215 213 197 195; 213 211 195 193; 211 209 193 191 соответственно [119].

Впервые масс-фрагментография была удачно использована при идентификации неразделившихся ГЖХ-пиков составных частей феромона листовёртки *A. semifragus*. Из предварительных исследований феромона самок микроаналитическими методами было сделано заключение о наличии в феромоне C_{14} -ацетатов [170]. Испытание серии тетрадецилацетатов указало на то, что одним из компонентов может быть Z10TDA [270]. Однако некоторые другие тетрадецилацетаты тоже были привлекательны

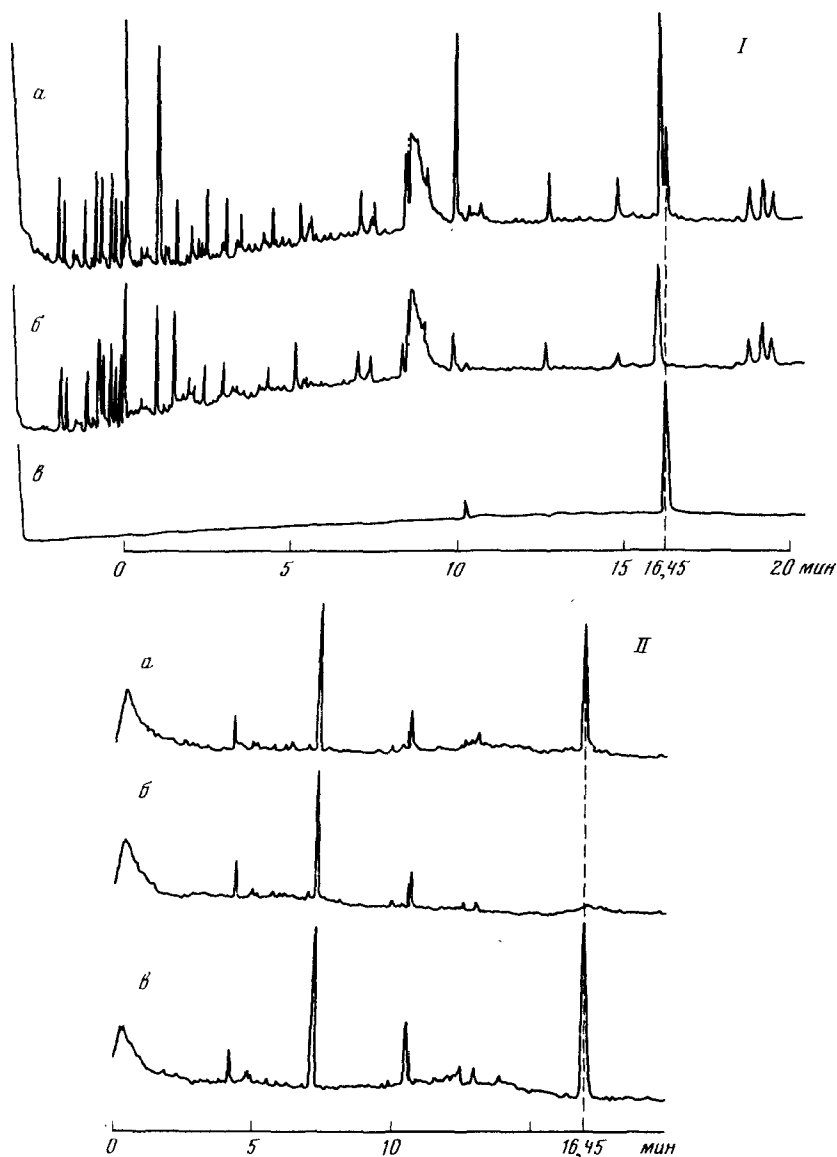


Рис. 3. Хроматограмма (I) и масс-фрагментограмма (m/e 182) (II) экстрактов яблонной плодовой гниль *Laspeyresia pomonella*

I: а — фракция пяти самок-эквивалентов в эфире; б — фракция пяти самцов-эквивалентов в эфире; в — синтетический EBE10DDDOL. II: а — фракция двух самок-эквивалентов в эфире; б — фракция двух самцов-эквивалентов в эфире; в — синтетический EBE10DDDOL в эфире

Таблица 4

Альдегиды, идентифицированные масс-фрагментацией в продуктах озонлиза феромона листовертки *A. semiferranus*

Сканирование	Альдегиды	Диагностические фрагменты
I	CH_3CHO	29
	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CHO}$	29 58
	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CHO}$	29 72
	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$	29 86
II	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CHO}$	57
	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CHO}$	57 70
	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{CHO}$	57 84
	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CHO}$	57 70 96
	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CHO}$	57 70 96 112
III	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CHO}$	110
	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CHO}$	110 140

и имели t_R и масс-спектры, близкие к таковым в активной фракции. Для проведения масс-фрагментации активной фракции было запрограммировано сканирование только тех ионов, которые характерны для насыщенных и моно-ненасыщенных ацетатов с 14 атомами углерода: m/e 196 ($M - 60$) 194 ($M - 60$) 166 (194-28) 61 (CH_3COOH_2)⁺. На рис. 4 можно видеть, что в пике с номером спектра 300 содержится TDA, в пике с номером 345 содержатся TDOL и тетрадеценолы, в пике с номером 355-400 содержатся изомеры тетрадеценилацетата и, как видно из рис. 5, Z10TDA является одним из компонентов сложной смеси тетрадеценилацетатов. Авторам не удалось разделить изомеры этих ацетатов [228]. Поэтому был предпринят микроозонлиз ацетатной фракции, и продукты озонлиза исследованы масс-фрагментацией. Для этой цели было запрограммировано сканирование только тех фрагментов, которые характерны для низших альдегидов (обведены в рамку для каждого идентифицированного альдегида в табл. 4).

Как видно из масс-фрагментограммы сканирования II на рис. 6, в продуктах озонлиза феромона листовертки есть все альдегиды от гексаналя до нонаналя. Таким образом в экстракте самки *A. semiferranus* были найдены ацетаты: 2TDA, 3TDA, 4TDA, 5TDA, 6TDA, 7TDA, 8TDA, 9TDA, 10TDA, 11TDA и 12TDA [228]. Можно, таким образом, считать, что последняя степень идентификации феромонов чешуекрылых доведена до такого совершенства, при котором достаточно феромона от двух-пяти особей. Остается задача — довести феромон от насекомого до идентификации самым коротким путем с минимальным количеством потерь. И здесь, возможно, уместно обратить внимание на те ухищрения, к которым удачно прибегали некоторые исследователи, чтобы решить эту задачу.

Увлекающая содистилляция летучих веществ сырого экстракта помогает освободиться от тяжело-летучих веществ и делает возможным провести сразу анализ с помощью ГЖХ-МС. Для этой цели аликвоту, содержащую 50-150 самок-эквивалентов, растворяют этиловым эфиром до 0,5 мл и медленно вводят в колонку для очищающей кодистилляции (рис. 7). В испаряющей части колонки (4) поддерживается при этом температура около 180° и пропускается азот. Летучие вещества увлекаются потоком

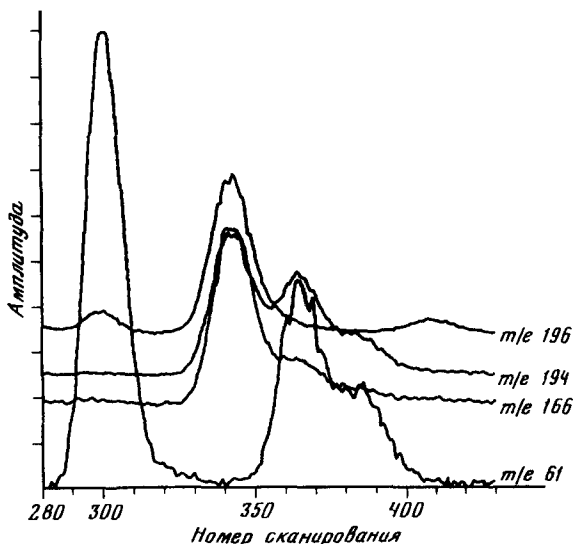


Рис. 4. Масс-фрагментограмма привлекающей фракции феромона дубовой листовёртки на колонке с 10% DEGS при 170° С

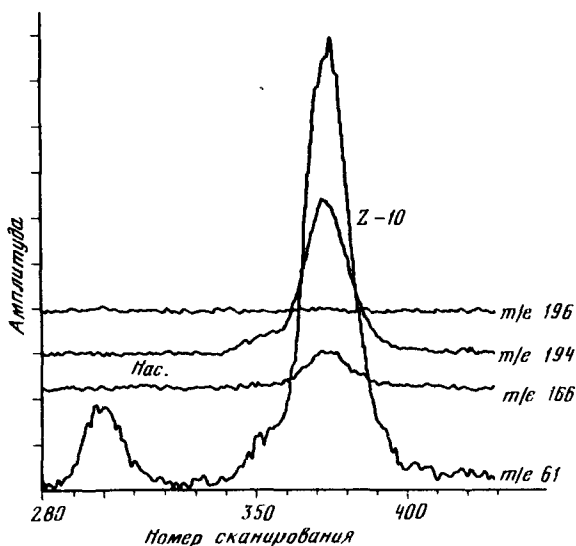


Рис. 5. Масс-фрагментограмма Z10TDA на колонке с 10% DEGS при 160° С

азота в стеклянную ловушку (5), охлаждаемую до -15°C , и конденсируются в ней вместе с растворителем. Для вымывания конденсата из ловушки в держатель пробы (8) необходимы три дополнительные инъекции по 0,5 мл этилового эфира с интервалом в 1 мин. Перед анализом проба упаривается до 5–10 мкл, но ни в коем случае не досуха [267, 268, 271].

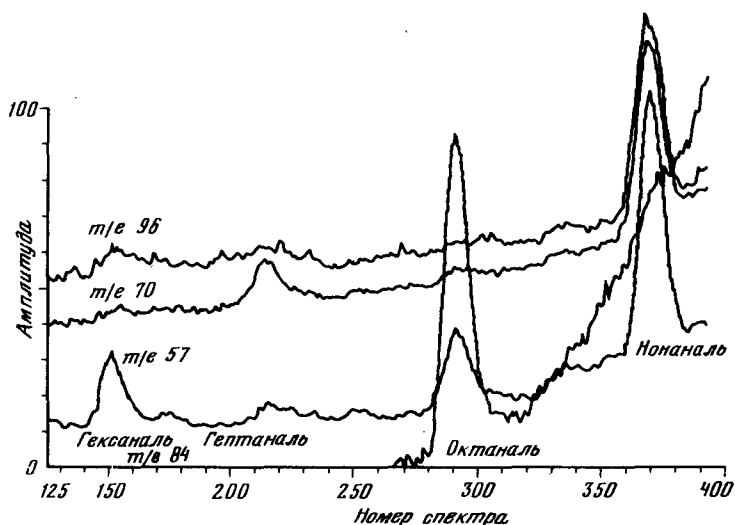


Рис. 6. Масс-фрагментограмма продуктов озонлиза феромона дубовой листовертки

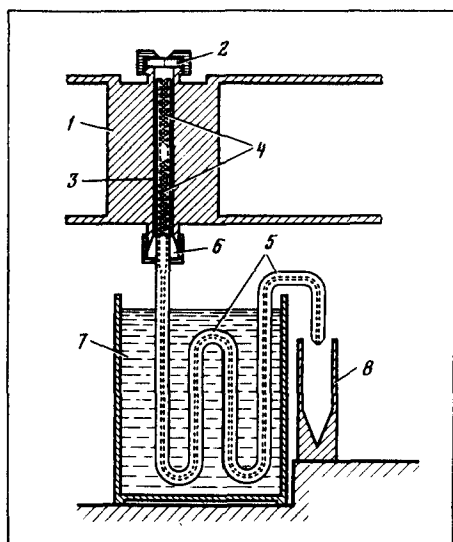


Рис. 7. Аппарат для дистилляции

1 — блок испарителя, 180° ; 2 — прокладка; 3 — N_2 , 15 мл/мин; 4 — испаритель (стекло, внешний диаметр 6 мм, внутренний — 4 мм) с силинизированной стеклянной ватой; 5 — ловушка (стеклянная трубка 60 см, 6 мм — внешний диаметр, 1 мм — внутренний); 6 — тефлоновый уплотнитель; 7 — баня ($-15^{\circ}C$), лед с солью; 8 — держатель пробы

Использование твердого ввода в хроматограф представляется удобным методом, позволяющим анализировать летучие вещества кончиков брюшка или желез насекомых введением их в устройство для твердого ввода газового хроматографа [272, 275]. Железы насекомых помещают в капилляр, запаянный с одного конца; в свою очередь капилляр помещают в тонкостенную трубку из натриевого стекла (1,5 см X 2,5 мм) и замораживают сухим льдом. Трубку запаивают, помещают в инжектор для твердого ввода и загружается в обогреватель ввода при 210°С. После 5 мин. выдерживания разбирают поршнем сосуд и вводят пробу. Этим способом можно исследовать вещества желез до 100 особей [273, 275]. Такая техника анализа позволяет одновременно проводить РГХ с летучими веществами, добавляя реагенты непосредственно в капилляр с железами или пропуская поток летучих веществ через петлю с реагентами [274]. Вместо стеклянных ампул для ввода желез в хроматограф можно использовать ампулы из алюминия [272].

Безсплиттерный ввод позволяет ввести пробу через капиллярную колонку полностью без сброса и без каких бы то ни было потерь вещества. Специальное устройство, выполненное в металле или стекле [276, 277], позволяет почти полностью освободиться от растворителя и тем самым свести к минимуму объем инъецируемого раствора. При этом стеклянный ввод эффективнее, так как исключает разложение летучих органических соединений, неизбежное при контакте с нагретым металлом. Стеклянный ввод используется также при внесении твердых проб биоматериала, содержащих летучие вещества [276].

Ввод пробы с капиллярной колонки прямо в ионный источник, минуя сепаратор, также позволяет избежать потерь и распыления хроматограммы. Такой ввод достигается применением специального устройства, состоящего из гибкого платинового капилляра (50 см X 0,15 мм), нагреваемого до 170°С нихромовой спиралью. Это устройство помещается между колонкой и ионным источником. Один конец платинового капилляра спаян с капилляром колонки, на другом конце — стеклянная трубка, которая вставляется в устройство для прямого ввода пробы [278], скорость гелия при этом 25 см/сек, а давление 1,2 атм.

Перечисленные усовершенствования с успехом применяются в исследованиях феромонов [267, 268]. Таким образом, задача выделения летучих компонентов феромонов с наименьшими потерями и их доведения до идентификации кратчайшим путем находится в стадии успешного решения.

Подводя итоги достижениям в выделении и идентификации феромонов чешуекрылых, необходимо обратить особое внимание на то, что успех быстрого использования этих феромонов в защите растений будет зависеть от успеха в идентификации минорных компонентов феромона, от установления их геометрической, реже оптической, конфигурации. Учитывая важность минорных компонентов в повышении эффективности и специфичности феромона [11, 53, 58, 117, 219], пересматриваются исследования феромонов некоторых видов насекомых. Так, Z9TDA, ранее считавшийся основным компонентом феромона *S. frugiperda*, рассматривается теперь как вторичный, минорный компонент (2–10%), являющийся синергистом к Z9DDA, теперь считающимся основным компонентом [81].

По результатам идентификации феромонов чешуекрылых можно заметить, что многие виды имеют в своем феромоне одинаковые компоненты. Это неоднократно подтверждено испытаниями в поле и ЭАГ-исследованиями. Тем не менее четкая специфичность является абсолютным фактом, и немаловажную роль тут может играть, с одной стороны, разное соотно-

шение основных компонентов, с другой — присутствие минорных компонентов в феромоне.

Разное соотношение основных компонентов — простейший случай изоляции видов. Например, два европейских вида листоверток *A. ogata* и *S. spectrana* используют в качестве основного компонента смесь одинаковых веществ (Z9TDA и Z11TDA), но в разном соотношении (9:1 и 1:9 соответственно [259]). Смесь одинаковых веществ, но в разном соотношении используют в качестве основных компонентов рас кукурузного мотылька *O. nubilalis*, обитающих в разных климатических зонах [34, 279]: Z11TDA : E11TDA = 97 : 3 и Z11TDA : E11TDA = 3 : 97.

Присутствие третьего или четвертого минорного компонента — уже достаточно сложный случай. Так, в самке *A. velutinana*, основной компонент которой — смесь Z11TDA и E11TDA (91 : 9), найден минорный компонент — DDA, играющий роль синергиста, обеспечивающего специфичность феромону этого вида [28]. В отсутствие DDA феромон привлекает также самцов *S. gosaesana*, в феромоне самки которого близкое соотношение тех же самых Z11TDA и E11TDA (92 : 8), но есть свой синергист — Z11TDOL (3–10%), придающий своему феромону строгую специфичность [219].

Или, например, в тутовом шелкопряде *B. mori*, основной компонент феромона которого E10Z12HDDOL [205], найдены были дополнительно E10Z12HDDAL [83] и E10E12HDDOL [109]. При этом E, E-изомер спирта составляет 3–5% от E, Z-изомера и не мог быть обнаружен ГЖХ, а только биотестированием фракции ГЖХ с *t_R*-изомера.

Или, например, для двух видов — *G. molesta* и *G. prunivora* малейшие изменения в соотношении Z, E-изомеров 8DDA от 98: 2 до 93: 7 уменьшает привлечение самцов *G. prunivora* на 80%, а привлечение самцов *G. molesta* увеличивает [280]. Это привлечение усиливается еще больше, если добавить третий компонент — DDOL [281]. Вполне возможно, что полный набор компонентов феромона *G. molesta* будет непривлекателен для *G. prunivora*, и наоборот.

Поскольку минорные компоненты составляют 1–5% от основного компонента, необходимо найти удобные методы поиска минорных компонентов в экстракте феромона. Одним из таких методов может служить метод сочетания ГЖХ с ЭАГ. Чувствительность этого метода такова, что при столь малых количествах минорных компонентов, которые не чувствует газовый хроматограф, возможен сигнал ЭАГ на вещество, выходящее из хроматографа с невидимым пиком. По времени выхода этого вещества из хроматографа можно сделать предварительное заключение о его структуре. Разделение экстракта на полярных и неполярных колонках позволяет получить хороший сигнал антенны самца на основной компонент и меньшие сигналы — на минорные компоненты экстракта. Поиск минорных компонентов поведенческим биотестом неэффективен, так как может привести к дезинформации; индивидуальный минорный компонент может быть при этом неактивен.

Например, в экстракте *H. virescens* найдены два ЭАГ-активных компонента: Z9TDAL и Z11HDAL, а в экстракте *H. zea* — Z11HDAL. При лабораторном поведенческом тестировании Z9TDAL практически не дает ответа и поэтому мог быть пропущен. Вместе с тем реакция самцов *H. virescens* на Z11HDAL составляет 20%, а самцов *H. zea* — 67%. Добавление небольшого количества Z9TDAL к Z11HDAL увеличивает реакцию самцов *H. virescens* до 90%, а реакцию самцов *H. zea* сокращает до 30% [112]. Однако сочетанием ГЖХ с ЭАГ трудно уловить Z- или E-принадлежность изомеров минорных компонентов, так как времена их удерживания практиче-

ки идентичны. Эту принадлежность можно установить, собрав активную фракцию и проанализировав ее на колонке с фазой, делящей цис-транс-изомеры.

Кроме хорошо известных фаз, делящих пространственные изомеры (PDEAS, CHDMS, FFAP, XF-1150) [103, 111, 183, 187], в последнее время появились принципиально новые фазы, так называемые жидкие кристаллы. Жидкие кристаллы способны разделять как изомеры положения, так и пространственные изомеры. Так, например, на капиллярной колонке (30 м), покрытой эфиром коричной кислоты и холистерола, успешно поделили четыре изомера 11,13HDDAL [284], а на фазе диэтил-4,4'-азоксидиннамата (набивная колонка) E9, 11DDDA и Z9, 11DDDA были поделены в пределах температур 136–260°C [285]. Жидкие кристаллы 4-(*p*-метоксициннамилокси)-4'-метоксиазобензола, нанесенные в качестве фазы на Газхром Q (100–120 меш), успешно разделили изомеры 8,10DDDL, 9,11TDDA и компоненты феромона тутового шелкопряда *B. mori* E10Z12HDDAL от E10Z12HDDL и E10E12HDDL [286].

Наибольшую трудность в идентификации пространственных изомеров представляют собой диеновые соединения. Поэтому, например, при идентификации 9,11DDDA вопрос об изомерии обеих связей решался эпоксидированием. Для этого 2,8 мкг 9,11DDA обрабатывали *m*-хлорнадбензойной кислотой (30 мкл раствора, содержащего 25 мг кислоты в 100 мл бензола). Анализ 9-моноэпоксида 9,11DDDA после 20-часового стояния при 6°C на двух колонках (5% Карбовакс 20М с 4% Эпикол 1001 и 8% Антарокс, обе на Хромосорбе W) показал, что по t_R E-изомер 9-моноэпоксида является основным, а Z-изомер — минорным. Дополнительным определением конфигурации двойной связи в 9,11DDDA служили восстановление двойной связи в положении 11 гидразингидратом и анализ продукта восстановления на колонке с 9% тетрацианэтилированного пентаэритрола на Хромосорбе W (80–100 меш). Кроме DDA, с несколько большим временем удерживания обнаружены два продукта — E9DDA (основной) и Z9DDA (минорный). Последним доказательством пространственной структуры 9,11DDDA была реакция Дильса—Альдера с тетрацианэтиленом (ТЦЭ) [82]. Для этого к E9,11DDDA (0,2 мкг) в хлористом метиле (40 мкл) добавили 2 мкл раствора DDA (100 мкг/мл) в качестве внутреннего стандарта. После анализа на колонке с 9% Силар 5CP на Хромосорбе W (80–100 меш) 2 мкл раствора ТЦЭ в ТГФ (98 : 2) (1 мг/мл) было добавлено и оставлено на 22, 86 и 142 ч. По результатам ГЖХ-анализа E9,11DDDA прореагировал полностью, а Z9,11DDDA остался неизменным. Их соотношение по результатам всех ГЖХ анализов в среднем составило E : Z = 80 : 20 [111]. В большинстве случаев активность цис-транс-изомеров приходится проверять в условиях поля с применением синтетических изомеров. Важное значение при этом имеет точное соотношение минорного и основного компонентов, так как минорный компонент, взятый в большем количестве, может из синергиста превратиться в ингибитор. Дезинформация может нести соотношение компонентов, найденное в железе; только соотношение компонентов, найденное в воздушной фазе, несет правильную информацию, так как отвечает их истинному соотношению.

Достоин внимания то, что если минорные компоненты имеют функциональные группы (альдегидные или спиртовые), отличные от функциональной группы основного компонента, то у них, как правило, нет геометрических изомеров. Если же в феромоне присутствуют изомеры, то они относятся к основным компонентам, а не к минорным.

Таким образом, несмотря на то что чешуекрылые обходятся ограниченным числом непредельных спиртов, ацетатов, альдегидов или эпоксидов с

10—18 атомами углерода, основное предназначение феромонов — создание строгой специфичности в изоляции видов при их воспроизводстве — осуществляется либо разным соотношением одних и тех же веществ, либо разными их концентрациями, либо присутствием разных основных компонентов, либо наличием минорных компонентов.

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕРОМОНОВ ЖЕСТКОКРЫЛЫХ

ВВЕДЕНИЕ

При выделении и идентификации феромонов жесткокрылых необходимо учитывать гораздо большую сложность их взаимоотношений как между собой, так и с окружающим их миром, чем это наблюдается у чешуекрылых. Феромоны, испускаемые жесткокрылыми, в разные периоды существования и активности насекомых могут играть разную роль. Будучи половыми феромонами в один период, они могут стать агрегационными в другой. Возможно, при этом меняется состав или соотношение компонентов в феромоне. В отличие от чешуекрылых феромон могут испускать самцы. Агрегационные феромоны испускают или особи того пола, который инициирует питание в среде обитания, или особи обоих полов.

Для некоторых жесткокрылых, питающихся на одном определенном дереве-хозяине, важную роль в полном механизме привлечения играют вещества растения-хозяина [288, 289]. Для тех насекомых, для которых нет определенного дерева-хозяина или их несколько, вещества среды их обитания роли не играют. Для жуков-короедов, напротив, вещества дерева-хозяина играют роль синергистов к их собственным феромонам, что усложняет идентификацию феромонов жуков-короедов. По этой причине их выделение и идентификация обсуждаются отдельно.

Заметное разнообразие структур феромонов жесткокрылых полностью исключает возможность использования таких методов выделения и идентификации феромонов, как ГЖХ—ЭАГ, что прежде всего связано с невозможностью предугадать структуру идентифицируемого феромона.

Кроме того, именно в исследованиях феромонов жесткокрылых впервые была отмечена зависимость активности феромонов не только от их пространственной изомерии, но и от их хиральности. При этом, как правило, активностью обладает только один оптический изомер, а второй в лучшем случае никак не влияет на активность (тогда его присутствие в синтезированном образце вдвое уменьшает концентрацию активного энантиомера), в худшем — ингибирует привлечение активным энантиомером. Случаи, когда рацемат привлекает лучше оптического изомера, исключительны и, вероятно, объясняются свойствами противоположного оптического изомера. И хотя некоторые исследователи феромонов жесткокрылых склонны приписывать специфичность их феромонов не виду, а роду, такой подход представляется преждевременным.

При первом рассмотрении можно согласиться, что в феромонах многих видов одного рода одинаковые компоненты. Однако у жесткокрылых столько возможностей сделать феромон специфичным, что при более детальном и глубоком исследовании феромонов рода оказывается, что феромонная специфичность проявляется у вида, а не у рода. Поэтому требования к выбору методов выделения и идентификации жесткокрылых

ужесточаются, и большую роль в окончательной идентификации играет синтез для идентификации, в особенности оптически-активных изомеров, угол вращения которых пока не может быть определен в природном образце. Синтез соединений для идентификации рассмотрен в отдельной главе, посвященной синтезу феромонов.

Вещества, привлекающие жесткокрылых, могут быть не только нейтральными веществами, но и кислотами. Это необходимо учитывать при выборе метода выделения. Так же, как и при выделении феромонов чешуекрылых, лучшим методом выделения необходимо считать сбор летучих веществ из воздуха над насекомыми. Однако возможности этого метода ограничены, если в привлекающем букете должны присутствовать вещества дерева-хозяина. Поэтому в каждом частном случае вопрос о методе выделения должен решаться индивидуально.

Поскольку специфичность феромонных систем жесткокрылых достигается более сложными факторами, то и механизм биосинтеза феромонов жесткокрылых представляется достаточно сложным и к настоящему времени практически не изучен. Известно, что феромоны большинства видов жесткокрылых образуются в прямой кишке и в окружающих тканях брюшины и выделяются с продуктами переработки пищи. Так, например, было установлено, что феромон хлопкового долгоносика *Anthonomus grandis*, состоящий из четырех компонентов: (+)-Z-2-изопропенил-1-метилциклобутанэтанол (I); Z-3,3-диметил- $\Delta^{1,\beta}$ -циклогексанэтанол (II), Z-3,3-диметил- $\Delta^{1,\alpha}$ -циклогексанацетальдегид (III) и E-3,3-диметил- $\Delta^{1,\alpha}$ -циклогексанацетальдегид (IV), содержался в продуктах переработки пищи в соотношении 6 : 6 : 2 : 1 и в количестве 1268 нг [290]. В экстракте экскрементов особей хлопкового долгоносика *A. grandis*, обработанных радиоактивными мевалоновой $2C^{14}$ кислотой, ацетатом натрия $1C^{14}$, ацетатом натрия $2C^{14}$, глюкозой C^{14} , обнаружили 35,9% C^{14} спиртов и только 3,0% C^{14} альдегидов [291]. У этого же вида долгоносиков обнаружена способность аллильно окислять мирцен и лимонен до спиртов [292].

Выдерживание насекомых в парах летучих веществ дерева-хозяина увеличивает производство ими феромона [293]. Так, обработка короедов рода *Ips* мирценом увеличивает производство в них ипсдиенола [293, 295]. Обработка короеда *Ips rapaeconfusus* (-)- α -пиненом увеличивает производство в нем (+)-Z-вербенола, а обработка (+)- α -пиненом увеличивает производство (+)-E-вербенола. В обоих случаях образуется некоторое количество миртенола [296].

Короед *Dendroctonus frontalis* при выдерживании в парах α -пинена вырабатывает Z- и E-вербенолы и 4-метил-2-пентанол, а под действием β -пинена к уже имеющемуся в прямой кишке миртенолу и миртенолу добавляются E-пинокарвеол и пинокарвон [446].

Замечено также, что обработка насекомых синтетическим ювенильным гормоном (ЮГ), индуцирует, например, *I. rapaeconfusus* на превращение (-)- α -пинена, в пары которого он помещен, в Z-вербенол. Показано, что в насекомом α -пинен в качестве предшественника не обнаружен, так как под действием ЮГ в отсутствие паров α -пинена Z-вербенол не образуется. ЮГ способствует также образованию ипсенола и ипсдиенола из мирцена [297].

Обнаружено также, что питание деревом-хозяином короедов рода *Pityokteinis* не увеличивает количества имеющихся в их прямых кишках Z- или E-вербенола, а выдерживание в парах α -пинена резко увеличивает количество этих веществ в них, но с иной, чем *I. rapaeconfusus*, избирательностью, к оптически активным (+)- и (-)- α -пинену; Z- и E-вербенолы образуются преимущественно под воздействием (-)- α -пинена. Наоборот,

производство ипсенола и ипсдиенола под действием мирцена увеличивается у этих жуков после нескольких часов питания.

Поверхностное нанесение на жуков аналога ЮГ (АЮГ), ZR-233, при обработке мирценом или без обработки увеличивает производство ипсенола и ипсдиенола самцами этого вида. Эквивалентное количество ипсенола образуется при выдерживании в парах ипсдиенола только что родившихся и обработанных АЮГ самцов и самок. Большой эффект при этом достигается обработкой S (+)-ипсдиенолом [256].

Возможно, что окисление α -пинена в вербенол происходит под действием бактерий, обитающих в прямой кишке короедов, как, например, это было показано у *I. ragasconfusus*, в прямой кишке которого бактерии окисляли α -пинен в Z- и E-вербенол и миртенол [299]. Живущий в симбиозе с короедом *D. frontalis* низший микангиальный грибок способен окислять E-вербенол в вербенон. Оба эти вещества играют важную роль во взаимоотношениях короедов с окружающим их миром. Можно предположить, что ослабленное заболевание дерева и привлекательно для насекомых благодаря деятельности обитающих на нем бактерий [300]. Биопревращения сабинена в терпинен-4-ол и α -терпинеол при участии бактерий замечено у *Phloeosinus armatus* [301].

При воздействии 1-метил-2-циклогексен-1-ола на *D. frontalis* в его прямой кишке образуется севденол (3-метил-2-циклогексен-1-ол), который под действием α -пинена превращается в 1-метил-2-циклогексен-1-ол. Одновременно с этим продуктом α -пинен инициирует образование Z- и E-вербенолов и Z-3-пинен-2-ола, а β -пинен инициирует образование E-пинокарвеола и миртенола [302].

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕРОМОНОВ ДОЛГОНОСИКОВ, КОЖЕЕДОВ, ЩЕЛКУНОВ, ЧЕРНОТЕЛОК, ЗЕРНОВОК И ПЛОСКОТЕЛОК

Летучие вещества жесткокрылых вырабатываются в пищеварительном канале и мальпигиевых трубах, как, например, у самцов мукоеда *Cryptolestes ferrugineus*. Поэтому источником феромонов могут быть экстракты прямой кишки и экскременты. Лучшим методом сбора для них необходимо признать сбор летучих веществ на Порapak Q [303].

Поскольку вещества дерева-хозяина необходимы прямо или косвенно для привлечения особей жесткокрылых, то феромоны испускает пол, инициирующий питание. У жесткокрылых в отличие от чешуекрылых это бывает, как правило, самцы. Так, у фасоловой зерновки *Acanthoscelides obtectus* самец испускает феромон, который был выделен экстракцией гексаном и очищен ТСХ на силикагеле в виде легко полимеризующегося соединения. Гидрогенизация над окисью платины и анализ ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопией указали на алленовый эфир, имеющий структуру метилового эфира E-тетрадека-2,4,5-триеновой кислоты. ИК-спектр подтвердил наличие карбонила (1721 см^{-1}), конъюгированной двойной связи (1630 см^{-1}) наличие транс-конфигурации (981 см^{-1}) и присутствие алленовой группы (1940 см^{-1}). Вещество оптически активно. Активность исчезала при восстановлении и образовывался продукт с прямой цепью. УФ-спектр подтвердил наличие сопряжения двойных связей (пик при 254 нм), из них одна связь — алленовая [304–306].

Для выделения феромона кожееда *Anthrenus flavipes* использовали несколько методов. Вымачивание девственных самок в гексане (1 мл на 10 самок) в течение ночи сопровождалось хроматографией на колонке (10 см с 5 г СГ) при элюировании 50 мл гексана, бензола, хлороформа и этанола последовательно. Фракция в хлороформе была активна и препа-

ративно разделена ТСХ. Активная фракция (R_f 0,0–1,5 см) была обработана диазометаном и продукт реакции снова поделен ТСХ. Продукт реакции, смытый с ТСХ пластинки ацетоном и оказавшийся активным, анализировали ГЖХ на SE-52, а затем гидролизovali 3% КОН в этаноле, подкисляли 2 н HCl и проверяли активность. Активность исчезала при обработке бромом, $LiAlH_4$ и $NaBH_4$. При действии CrO_3/H_2SO_4 активность восстанавливалась [307]. Окончательно структура феромона кислотного происхождения была установлена экстракцией гексаном активных веществ с фильтровальной бумаги, на которой содержали насекомых. Аналогичная очистка колоночной хроматографией и ТСХ, ГЖХ-анализ и масс-спектрометрия метилового эфира кислоты позволили идентифицировать ее как деценовую кислоту. Озонолиз указал на то, что двойная связь находится в положении 3. Синтез и испытания Z- и E-деценовых кислот подтвердили активность Z-3-деценовой кислоты [308]. Так как сбор феромона с фильтровальной бумаги дает слишком мало вещества, впервые именно у этого вида насекомых была сделана попытка сбора летучих веществ на Teraх (2,6-дифенил-п-фенилоксид) с целью количественной оценки сбора с использованием стандарта. Экстрагируемый с Teraх феромон обрабатывали пентафторбензолом и анализировали ГЖХ с ПИД и ДЭЗ (колонка 3 м X 0,3 см с 3% OV-17, ДЭЗ с Ni^{63} при 180° в колонке). Активность проверяли ЭАГ. Установлено, что за одну ночь самка выделяет 191,6 нг феромона [309].

Феромон кислой природы был выделен также из кожеда *Attagenus megatoma*. Для выделения пользовались подщелачиванием дистиллята бензольного экстракта самок *A. megatoma*, регенерацией свободной кислоты хроматографией на СГ, этерификацией диазометаном и ГЖХ метилового эфира. Анализ ИК-, УФ-, масс- и ЯМР-спектроскопией и синтез пространственных изомеров указали на то, что феромон кожеда коврового представляет собой E-3, Z-5-тетрадекановую кислоту, названную мегатомовой кислотой [310].

Феромоны высокой степени чистоты и активности у шелкоунов степного *Agriotes gurgustanus*, кубанского *A. litiginosus* и полосатого *A. lineatus* были выделены из феромонных желез с помощью стеклянного капилляра. Без предварительной очистки проводили анализ ГЖХ (стеклянная колонка 2 м X 2 мм с 1,5% OV-101; 15% NPGS; 15% FFAP) и ГЖХ-МС (стеклянная капиллярная колонка 25 м с SE-30). Идентификация проведена с использованием таких микроаналитических реакций, как гидрирование и гидрогенолиз в системе ввода в хроматограф на Pd-катализаторе в токе водорода. Положение двойных связей установили микроозонолизом. Феромоны омыляли 10%-ным раствором NaOH в этаноле при комнатной температуре в течение 24 ч. Геометрию двойной связи устанавливали сравнением t_R продуктов щелочного гидролиза и стандартных терпеновых спиртов с помощью ГЖХ на колонке с 15% Карбовакс 20М. В омыляемой фракции феромона степного шелкоуна выделена n-масляная кислота и спирт, который под действием бутирилхлорида превращается в активный феромон. Таким образом феромон—сложный эфир. Гидрогенолиз его указал на разветвление, а гидрирование — на наличие двойной связи. Сравнение феромона с бутиратами некоторых терпеновых спиртов по t_R и активности указало на то, что феромон степного шелкоуна — геранилбутират. Подобным же образом был выделен и идентифицирован феромон жука-шелкоуна кубанского как геранилизвалериат, а E, E-фарнезилацетат и нерилизвалериат как феромон шелкоуна полосатого [311].

Наибольшее количество исследований проведено с хлопковым долго-

носителем *A. grandis*, феромон которого состоит из четырех (I—IV) компонентов и называется "грандлюром". Для его выделения из самцов испробованы все существующие методы (экстракция из воздуха над живыми насекомыми, экстракциями насекомых хлористым метиленом и их перегонка с паром, извлечение на адсорбционных колонках). Показано, что самым эффективным методом для этого вида насекомых является перегонка с паром пятидневных насекомых или продуктов их жизнедеятельности. Для этого экстракт хлористым метиленом 10 тыс. самцов перегоняли с паром 2 ч. Дистилляты собирали в ловушки, охлаждаемые ледяной водой и ацетоном с сухим льдом последовательно [312]. Очистка дистиллята хроматографией на колонке, заполненной СГ с нанесенным на него Карбоваксом 20М, при градиентном элюировании пентаном, эфиром, метанолом позволила выделить активные фракции смесью пентан — эфир (90 : 10) и пентан — эфир (5 : 50). Более тонкая очистка привела к потере фракциями активности, которая возвращалась при их комбинации. Активные фракции анализировали озолизом, ГЖХ, ЯМР, ИК и ГЖХ—МС и нашли в них четыре компонента I—IV [313, 314]. Структура веществ III и IV была доказана реакцией с ДНФГ, а также превращением II в III под действием двуокиси марганца [314]. Всего за один день самец хлопкового долгоносика вырабатывает около 210 нг феромона [315]. Синтез и испытания всех четырех структур подтвердили правильность идентификации (см. в главе 6 синтезе феромонов). Для анализа синтетических компонентов грандлюра был предложен метод их ГЖХ-разделения одним вколом в колонку 183 см X 4 мм с 10% QF-1 при 110°С, позволявший анализировать 5 нг I, III и IV компонентов и 10 нг II компонента [316].

Интересно, что в экстрактах самок *A. grandis*, обработанных аналогично экстракту самцов, были обнаружены спирты I и II и β-кариофилен, смесь которых привлекала исключительно самцов, а добавление к этой смеси α-пинена, мирцена и L-лимонена повышало эффективность смеси для самцов до активности грандлюра для самок. В полевых опытах смесь I, II и углеводов привлекала особей обоего пола, но менее эффективно, чем грандлюр или смесь грандлюра с углеводородами [317]. ГЖХ—МС исследованиями в летучих веществах самок и самцов *A. grandis* были обнаружены 26 карбонильных соединений, 23 углеводорода, 12 спиртов, 6 фенолов, 4 эфира, 3 фуриновых соединения, лактон, 33 терпена и 24 ароматических соединения [318].

Феромон, испускаемый самками жука *Costelytra zealandica*, оказался фенолом, который был выделен из 1500 самок жука полосканием их брюшек в эфире, концентрированием экстракта и сублимацией в приемники, охлаждаемые сухим льдом; очистка сублимата ТСХ в двух различных системах (СНСI₃, 10% эфира в гексане) привела к единственному пятну с R_f , соответствующим R_f фенола [319]. Экстракт из воздуха летучих веществ над самками жуков содержал тоже только одно активное вещество — фенол [320].

После того как было обнаружено, что после перегонки с паром самок и самцов долгоносика *Cigeulio sauae* в дистилляте содержатся 11 соединений, специфичных для самцов, и 4 соединения, специфичных для самок, было предпринято подробное исследование пентанового экстракта обоего пола. После очистки экстракта ТСХ в системе хлористый метилен—пентан (3 : 1) было получено пять фракций, содержащих спирты, альдегиды, триглицериды и углеводороды. Из них фракция 2 (спиртовая), активная в лаборатории, была исследована ГЖХ—МС и оказалась Z-3,3-диметил-Δ^{1,β}-циклогексанэтанолом [321, 322].

Роль феромона, идентифицированного у кожееда *Dermestus maculatus*,

недостаточно определена. Так, в гексановом экстракте субэпидермальной железы самца этого вида нашли изопропиловые эфиры кислот: Z-9-додеценной, Z-9-тетрадеценной, Z-9-гексадеценной и Z-9-октадеценной. Эти эфиры привлекали только самцов [323]. Идентификацию веществ проводили анализом экстрактов с помощью ГЖХ—МС.

Потенциальный секс-феромон большого соснового слоника *Hylobius abietis* был выделен из экскрементов, которые гомогенизировали в системе хлористый метилен—гексан (2 : 8) при охлаждении сухим льдом. Гомогенат перегоняли с паром в атмосфере азота в гексан, который высушивали Na_2SO_4 . После ГЖХ-анализа на стеклянных колонках 40 м с SP-1000 и OV-101, ИК- и МС- в экстракте были обнаружены пентадеканаль, гексадеканаль и октадеканаль [326].

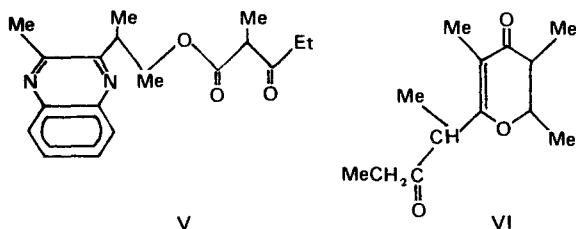
Для выделения феромона самки табачного жука *Lasioderma serricorne* самок перетирали с дважды перегнанным гексаном, и экстракт очищали препаративной ГЖХ. Для идентификации использовали МС с ХИ и ЯМР. Феромоном оказался 4,6-диметил-7-оксидонан-3-он [327, 328].

У самок шелкоуна калифорнийского *Limonius californicus* обнаружено самое большое количество феромона (валериановой кислоты) (100 мкг/особь). Экстракт, полученный в аппарате Сокслета экстракцией гексаном 18 кончиков брюшка в течение трех часов, был прохроматографирован на колонке (35 см \times 1,5 см) с СГ при градиентном элюировании гексаном, эфиром и метанолом. Активная фракция, элюируемая 25% эфира в гексане, была поделена далее на нейтральную и кислую; из кислой высаживали твердые кислоты, а жидкие растворяли в системе гексан—эфир (75 : 25) и фильтровали через силикагель. Фильтрат хроматографировали на бумаге в системе этанол—гидроокись аммония (87 : 13). Единственное пятно, полученное проявлением 0,1%-ным бромкрезолом зеленым в бутиловом спирте, соответствовало R_f валериановой кислоты. Дополнительное доказательство правильности идентификации получено ГЖХ анализом метилового эфира кислоты, t_R которого совпало с t_R метилового эфира валериановой кислоты [329]. У родственного вида тихоокеанского прибрежного жука-шелкуну *L. capus* активной также была кислая фракция, которая была очищена хроматографией на окиси алюминия и проанализирована ГЖХ в виде метиловых эфиров кислот. По результатам анализа и биотестирования активность приписана гексановой кислоте и C_{10} -ненасыщенной, неразветвленной кислоте [330].

Активный экстракт для самцов японского хрущика *Popillia japonica* был получен ополаскиванием бензолом стенок стеклянного сосуда, в котором находились самки. Очисткой бензольного экстракта эксклюзионной хроматографией на Styragel с рефрактометрическим детектором была получена активная фракция, из которой после препаративного разделения ГЖХ на четырех колонках последовательно (4,5% OV-101; 5,2% Карбовакс 20М; 7,6% SP-2300; 10,4% SP-2340 и снова 4,6% Карбовакс 20М) был получен единственный компонент, оказавшийся по результатам ИК-, ЯМР- и МС-спектроскопии, а также по результатам химической идентификации Z-5-(1-деценил)-дигидро-2(3H)-фураноном. В результате синтеза и биоиспытаний обоих энантиомеров этого вещества выяснилось, что только R-Z-энантиомер активен, а добавление более 5% S-Z-изомера ингибирует привлечение самцов. Кроме Z-изомера в самке были найдены также E-изомер и насыщенный аналог, которые находятся в соотношении 85 : 12 : 2. Однако роль последних не выяснена [331].

Агрегационный феромон зернового точильщика *Rhyzopertha dominica* производят самцы. Его выделили с фильтра, на котором размещали насекомых, и из воздуха над насекомыми, используя Порapak Q [332].

Несмотря на то что самка хлебного точильщика *Stegobium raniceum* производит от 50 до 200 нг феромона в день, что позволило после очистки экстракта жидкостной хроматографией и ТСХ выделить его в чистом виде и провести тщательный анализ ГЖХ на полярных и неполярных колонках, ИК-, УФ-, МС-спектроскопией удалось только установить брутто-формулу молекулы $C_{13}H_{20}O_3$ и ее молекулярный вес 224,14125, присутствие двух карбонильных групп и отсутствие ОН-адсорбции. К структурной сложности молекулы добавлялось наличие нескольких центров оптической активности, как это было определено методом кругового дихроизма [333]. Окончательно структуру феромона удалось установить только после озонирования его в четыреххлористом углероде (в других растворителях образуется смесь неидентифицируемых продуктов) при 0° в течение 2 мин. Разложение озонида трифенилфосфином и реакция образовавшегося продукта с о-фенилендиамином привели к продукту V:



Результаты анализа феромона, продукта разложения озонида и V с помощью ИК-, УФ-, ЯМР- и МС-спектроскопии позволили приписать феромону формулу 2,3-дигидро-2,3,5-триметил-6-(1-метил-2-оксобутил)-4Н-пирано-4 (VI) [334].

Примером того, насколько сложным является выделение и идентификация феромонов жесткокрылых, могут служить неудачные попытки идентифицировать феромон мучного хрущика *Tenebrio molitor*. Летучие вещества над самками *T. molitor* собирали в охлаждаемые ловушки и подвергали 700-кратной очистке колоночной хроматографией на СГ. Последующая очистка ТСХ, колоночной хроматографией на окиси алюминия или ГЖХ приводит к потере активности [335]. Аналогичная ситуация была отмечена при анализе пентанового экстракта самок, в котором были найдены неполярная фракция А и более полярная фракция Б, каждая из которых была активна, а в смеси (А : Б = 1 : 1) была эффективна на уровне природного экстракта. Фракция А была нестабильна при температуре > 60° и дезактивировалась при хроматографировании на окиси алюминия. Фракция Б стабильна при 80°С, не содержала ОН-группы (обработка CH_3COCl не изменяла активности Б). Активность терялась при обработке diazometаном и восстанавливалась омылением 1н КОН, исчезала при обработке $LiAlH_4$ и $NaNH_4$, что указывает на наличие карбоксильной группы; потеря активности при обработке бромом доказывала присутствие ненасыщенности [336].

Достаточно сложной была хроматограмма гексанового экстракта секреторных шариков самца родственного вида *Tribolium castaneum*. Из ста пиков хроматограммы 15 самых крупных были отнесены к C_{10} – C_{20} алканам и олефинам [337]. Как выяснилось позже, два вида из *Tenebrionidae* (*T. castaneum* и *T. confusum*) имеют общий агрегационный феро-

Таблица 5

Компоненты феромонов разных видов *Trogoderma* (нг/жук/день), собранные аэрацией насекомых

Вид	Капроновая к-та	γ -капропактон	14Me8HDAL	Метиловый эфир 7HDAc	Метиловый эфир 14Me8HDAc	14Me8HDOL
<i>T. variable</i>	Нет	15,1	35,66 (Z)	Мало	0,03 (-)(Z)	0,04 (-)(Z)
<i>T. inclusum</i>	Нет	Нет	1,65 2,35 (Z)	?	0,39 (Z)	<0,03 (Z)
<i>T. glabrum</i>	9,32	7,74	28,3 (E)	<0,031 (Z)	0,02 (E)	<0,02 (E)
<i>T. granarium</i> *	2,9B	1,83	0,42 1,64 2,34 (S) (Z)	<0,01	0,02	<0,01

*У этого вида в феромоне есть дополнительный компонент — п-1,8-ментадиен.

мон, который привлекает насекомых после бромирования, гидролиза, озонлиза, но утрачивает активность после восстановления NaBH_4 , LiAlH_4 и в результате взаимодействия с 2,4-ДФГ [338]. Анализ (ЯМР, МС и РГХ) летучих веществ, полученных аэрацией 240 тыс. самцов и очищенных на колонке с СГ (10 × 140 мм) элюированием 2%-ным эфиром в гексане, показал, что структура агрегационного феромона этих видов является собой 4,8-диметилдеканаль. У этой структуры два ассиметрических атома углерода и возможность существования четырех оптических изомеров; поэтому, возможно, синтезированный рацемат и был менее активным, чем природный феромон [339].

У вредителей пищевых запасов из рода *Trogoderma* отмечено перекрестное привлечение друг к другу разных видов [340, 341]. Так как это перекрестное привлечение было проверено на экстрактах измельченных целых насекомых, то не исключено нарушение того тонкого соотношения компонентов, которое обуславливает специфичность привлечения. Кроме того, при таком способе выделения, как выяснилось, были упущены компоненты феромона, которые могут играть важную роль в изоляции этих видов [342].

Из шести компонентов (табл. 5), поделенных между четырьмя видами *Trogoderma*, один компонент, общий для всех, — 14-метил-8-гексадеценаль [343, 344] явно был потерян при экстракции измельченных насекомых *T. inclusum* [345] и *T. glabrum* [346]. Возможно, что метод экстракции измельченных насекомых, с одной стороны, разрушает выделенные компоненты, а с другой — высвобождает предшественников этих компонентов, а не сами компоненты, что лишний раз подчеркивает необходимость экстракции летучих веществ феромона из воздуха над насекомыми [342, 347].

Если активность основного компонента феромона *T. granarium* (14Me8HDAL) в виде Z- и E-изомеров составляет 0,01–0,1 нг (эффективность транс-изомера ниже эффективности цис-изомера в 10 раз) [348], то активность компонента на уровне энантиомеров [(S) Z: (R,S) Z = 92 : 8] составляет 10^{-5} – 10^{-6} нг [349].

Таким образом, более удачное выделение компонентов феромона и более глубокое его изучение подтверждают строгую специфичность в привлечении каждым видом одного и того же рода *Trogoderma*, а неудачно постав-

ленный опыт по выделению может привести к неправильному заключению о перекрестном привлечении.

Выделенные ранее из нейтральной фракции экстракта измельченных самок *T. granarium* этилолеат, этилпальмитат, этиллинолеат, этилстеарат, метилолеат [350] в сравнении с "троподермалем" (Z14Me8HDAL) имели низкую активность и были неспецифичны [348].

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЕРОМОНОВ КОРОЕДОВ

Несмотря на то что короеды относятся к жесткокрылым, их необходимо рассматривать отдельно, так как они существуют с определенным видом дерева и летучие вещества дерева-хозяина чрезвычайно важны в воспроизводстве Scolytidae. При этом система химических связей короедов с окружающим их миром и особями своего вида намного сложнее, чем это можно наблюдать у жесткокрылых или чешуекрылых. Уже с самого начала, с идентификации первого из найденных у насекомых агрегационного феромона соснового короеда *I. ragsasponfus* обнаружилось, что привлечение этого вида обусловлено феромоном, состоящим по крайней мере из трех компонентов: 2-метил-6-метил-7-октен-4-ол (ипсенол); 2-метил-6-метил-2,7-октадиен-4-ол (ипсдиенол) и цис-вербенол [351].

Вещества дерева-хозяина привлекают сначала первопоселенцев жуков-короедов. У короедов это чаще всего бывают самцы. Их направленный полет обусловлен определенными составом и концентрациями веществ, которые испускает ослабленное дерево. Поселившиеся на дереве жуки, в свою очередь, начинают испускать феромоны, которые в смеси с веществами дерева-хозяина привлекают особей обоего пола [352—354]. Преимущественное привлечение самцов или самок, так же как и прекращение этого привлечения, регулируется феромонами, изменением их состава и соотношения. На определенном этапе освоения дерева могут включаться и феромоны особей противоположного пола. По мере освоения дерева аттрактантные феромоны могут заменяться короедом на репеллентные для прекращения заселения дерева [335]; феромоны большинства видов короедов состоят из многих веществ, роль которых не вполне выяснена. Одно и то же вещество встречается у разных видов одного и того же рода. У одних видов короедов феромоны вырабатываются сразу после отрождения, у других — после нескольких часов питания [352, 356].

Как у большинства жесткокрылых, феромоны короедов образуются в прямой кишке и могут быть выделены из экскрементов насекомых. Спорным, но на наш взгляд удачным, источником феромонов может служить буровая мука, которая в основной массе состоит из частичек непереваренного дерева и содержит вкрапления экскрементов жуков. Сбор летучих веществ из воздуха над буровой мукой позволяет уловить не только феромоны, но и вещества дерева-хозяина.

Выбор способа выделения и идентификации во многом зависит от количества биоматериала, а успех этого выделения зависит от выбора метода биотестирования. Учитывая, что в привлечении короедов играют роль и феромоны и вещества дерева-хозяина, составляя агрегационный аттрактант, решающим биотестом для смеси его компонентов являются биоиспытания в условиях леса [357]. При выделении аттрактанта нужно помнить о необходимости рекомбинации фракций для выяснения максимального эффекта привлечения.

При выделении и детектировании феромонов полезным может оказаться использование метода дифференциального диагноза. Для этого сначала определяют источник биоматериала, вызывающий реакцию в поле (бу-

ровая мука, экскременты, воздушный конденсат над зараженным короедом отрубком); затем разделяют между собой факторы, связанные с насекомым, и факторы, связанные с деревом-хозяином. Для этого в условиях поля испытывают измельченных насекомых в период их привлечения с веществами дерева-хозяина и без них, уточняя одновременно, в каком насекомом нужно искать феромон (питавшемся или нет). Затем проводят ГЖХ-анализ летучих веществ прямых кишок привлекающего пола до, в течение и после максимума привлечения и сравнивают их содержимое с содержимым прямых кишок особей противоположного пола, а также особей обоего пола какого-нибудь родственного вида. Для этого высушенные от воды прямые кишки переносят в пробирку с пробкой для исключения улетучивания. Пробирка нагревается до 100°С, воздушная фаза из нее забирается шприцем и вводится в газовый хроматограф. Так как родственные виды одного и того же рода могут содержать большие количества вещества, идентифицируемого у исследуемого вида, то их можно выбрать за источник выделения.

Спектральные методы идентификации удобны в исследованиях феромонов короедов, особенно ГЖХ—МС, требующая минимальные количества веществ. Окончательной идентификацией можно считать синтез этих веществ и полевые испытания синтезированных соединений [447].

Веществами первичного привлечения к дереву-хозяину оказались такие терпеновые углеводороды, как α -пинен, камфен, лимонен [359], мирцен и Δ^3 -карен [360]. Эти соединения не только играют роль первичного привлечения, но могут быть необходимыми в образовании веществ вторичного привлечения (феромонов). Нелетучие вещества дерева-хозяина, такие как глюкоза, сахароза и крахмал, являются необходимыми элементами питания короедов [360, 361]; летучие терпеновые углеводороды (α -пинен, β -пинен, β -мирцен) могут выступить синергистами к нелетучим веществам, камфора и лимонен в низких концентрациях стимулируют питание насекомых, а в высоких — ингибируют его [362]. В этой связи предпринимаются подробные исследования химических соединений, входящих в состав коры деревьев, на которых поселяются короеды [363, 365].

Так, ГЖХ—МС анализ летучих веществ в коре ели *Picea abies* указал на присутствие 48 соединений. Впервые в коре хвойного дерева обнаружены такие соединения, как пинокарвон, фенхол, о-метилтимол, миртеналь, Е-пинокарвеол, Е-вербенон, вербенон, L-карвон, куминаль, ацетат α -терпинеола, 8-гидрокси-п-цимен, окись α -пинена, пинокамфон, изопинокамфон и куминол. Впервые среди природных соединений найдены: окись α -пинена и эндо-1,3-диметил-2,9-диоксибицикло /3,3,1/ нонан, который специфичен в привлечении к ели лубоеда *Trypodendron lineatum* [364]. Для привлечения к дереву-хозяину короеда *Cryphalus fulius* важны такие летучие вещества в коре хвойного дерева, как миртеналь и миртенон [366].

Таким образом, среди летучих веществ дерева-хозяина можно обнаружить как терпеновые углеводороды, так и продукты их биогенетического окисления. Поэтому неудивительно, что компонентами феромонов короедов являются вещества, близкие к ним по своей природе.

Так, например, в прямых кишках самок короеда *Blastophagus piniperda*, вточившихся в дерево, основным продуктом были миртенон и Е-вербенон, а у самцов, кроме миртенола и Е-вербенола, были найдены пинокарвон и вербенон. Кроме того, в пентановых экстрактах этих насекомых с помощью ГЖХ—МС (стеклянная колонка 50 м X 0,25 мм с Marlofen 87 при 50° → 2,5°/мин → 140°) найдены α -пинен, β -пинен, камфен, мирцен, Δ^3 -карен, лимонен, β -фелландрен, п-цимол, γ -терпинен, терпинолен, пинокарвон,

4-терпинеол, миртеналь, пинокарвеол, Е-вербенон, нафталин, борнеол, α -терпинеол, лонгифолен, вербенон, кариофилен, карвон, миртенон [367].

Сочетание веществ среды обитания с феромонами жуков представляет собой агрегационный аттрактант и, например, для *Dendroctonus brevicornis* сочетает в себе собственно феромоны этого жука и различные терпеноиды, входящие в состав дерева-хозяина [368]. Можно предположить, что так как дерево-хозяин специфично привлекательно для определенного вида короедов, то такая специфичность может быть обусловлена тонкими различиями в химическом составе летучих веществ разных видов деревьев.

Еще большей специфичностью должны обладать феромоны короедов. Вместе с тем перекрестное привлечение, наблюдаемое у многих видов *Ips* к синтезированным компонентам их феромонов (общим для некоторых видов этого рода), объясняется тем, что до настоящего времени не найдены все компоненты феромона, обеспечивающие специфичность, или не установлена разница в оптической активности общих компонентов, что тоже может быть причиной строгой специфичности феромона. Кроме того, специфичность может быть достигнута добавлением веществ дерева-хозяина. Однако нельзя совсем отбросить и другие средства видовой изоляции (зрительные, звуковые [369–371]).

Если у *Ips* первопоселенцем является самец, которому для испускания феромона необходимо питание в течение нескольких часов, то у *Dendroctonus* первопоселенцем является самка, которая и до начала питания роестжит в прямой кишке феромон, привлекающие свойства которого усиливаются веществами дерева-хозяина, и, наоборот с началом питания производство феромона может начать сокращаться [372].

Для выделения и идентификации феромона *D. brevicornis* использовали буровую муку (БМ) самок, которую дважды экстрагировали бензолом (150 г БМ в 300 мл бензола перемешивали 1 ч при 70°С в атмосфере азота), распыляя суспензию в специальном смесителе. Фильтраты концентрировали под вакуумом и концентрат перегоняли при 100°/0,03 мм рт. ст. в приборе с коротким (2 см) дефлегматором и при охлаждении дистиллята сухим льдом. Полученный дистиллят хроматографировали на колонке (42 X 1,8 см, водяное охлаждение, 20°С) с СГ при градиентном элюировании бензолом, эфиром и метанолом. Активную фракцию делили препаративно ГЖХ (стеклянная колонка 91 X 1,1 см с 4% SE-30 на Хромосорбе G при 100° → 6°/мин → 150° (45 мин) → быстро до 200°С). Активную ГЖХ-фракцию делили на колонке 6 м X 4 мм с 4% EFAP на Хромосорбе G, 150°С). Анализ активного компонента ИК-, ЯМР-, УФ- и МС-спектрометрией, его гидролиз, восстановление LiAlH₄ и анализ продуктов реакции позволили приписать активному компоненту структуру 7-этил-5-метил-6,8-диоксибицикло [3, 2, 1] октана (бревикомина) [373].

Эфирный экстракт 6,5 тыс. прямых кишок самца *D. brevicornis*, перетертых с 1 г песка под дважды перегнанной дистиллированной водой (10 мл), концентрировали до 0,5 мл и фракционировали препаративной ТСХ на СГ в системе 10% эфира в хлороформе. Активную фракцию (t_R 0,7) далее делили препаративно ГЖХ на колонке 3 м X 0,8 см с 10% Карбовакса 20М при 110°. Активное соединение (t_R 7,5 мин) было идентифицировано ИК-, ЯМР-, МС-спектрометрией как 1,5-диметил-6,8-диоксибицикло [3, 2, 1] октан (фронталин) [374].

Протягивая в течение 10–48 ч воздух через стеклянные трубки над непитавшимися жуками *D. brevicornis* обоего пола или одного пола, кроме известных фронталина [374], вербена [358, 375], эндо- и экзо-бревикомина [373], удалось выделить дополнительно пинокарвон, Е-пинокарвеол и миртенон. Анализ выделенных из воздуха веществ проводили ГЖХ

на капиллярной колонке 152 м X 0,76 мм с Карбоваксом 20М и Версамидом 900 (8:1) при 80° (5 мин) → 1°/мин → 180°С. Однако при сборе летучих веществ в природных условиях из воздуха вокруг заселенного дерева были обнаружены только экзо-бrevикомин — (1R, 5S, 7R)-экзо-7-этил-5-метил-6,8-диоксибицикло /3, 2, 1/октан, (-)-фронталин — (1S, 5R)-1,5-диметил-6,8-диоксибицикло /3, 2, 1/ октан и вещество дерева-хозяина — миртен (7-метил-3-метилен-1,6-октадиен) [376].

Анализируя содержимое прямых кишок самок *D. frontalis*, обнаружили, что самки выделяют, кроме фронталина и Е-вербенола [377, 378], Z-вербенол и миртенол, а самцы — вербенон, миртеналь и миртенол [379]. После обработки парами α-пинена в самках появляется 4-метил-2-пентанол, а в самцах, кроме 4-метил-2-пентанола, появляются Z- и Е-вербенолы. Обработка β-пиненом приводит к образованию в самках Е-пинокарвеола, а в самцах — к образованию пинокарвона и Е-пинокарвеола. Для исследования с помощью МС очищенных фракций экстрактов прямых кишок потребовалось 2 тыс. самок и 4 тыс. самцов [379].

Сбор летучих веществ у жуков *D. frontalis* на Порапак Q с последующим их ГЖХ-анализом на колонке 152 м X 0,76 мм с Карбовакс 20М позволили обнаружить с помощью МС у непитавшихся насекомых пинокарвон и миртенол. Кроме фронталина, Е-вербенола и вербенона, в них был обнаружен эндо-бrevикомин [384].

Не отрицается участие бактерий и грибов в превращении веществ дерева-хозяина в феромон жука *D. frontalis* [380, 381].

Обычным методом перетирания прямых кишок самок с песком под небольшим количеством воды и ТСХ экстракта суспензии серным эфиром были выделены вещества в пятне с R_f 0,45; 0,03 и 0,9–1,0 (пластинка 0,5 мм с СГ в системе 15%-ного серного эфира в хлороформе). Активное пятно с R_f 0,45 было очищено ГЖХ на колонке 3 м X 0,8 см с 10% Карбоваксом 20М при 140°. Анализ ИК-, ЯМР- и МС- указал на наличие в самке *D. ponderosae* Е-вербенола [382]. Выдерживание самок в парах α-пинена резко увеличивает содержание Е-вербенола в них (ГЖХ анализ экстракта прямых кишок на стеклянной колонке 3 м X 3,2 мм с 15% FFAP на Хромосорбе W 85° → 4°/мин → 135°) [383].

Сбор летучих веществ на Порапак Q из воздуха над самцами и самками *D. ponderosae* и их ГЖХ–МС анализ позволили обнаружить у самцов этого вида бревикомин и 3-метил-2-циклогексен-1-он (МСН), а у смешанных пар — дополнительно фронталин, Е-вербенол и вербенон [384].

Используя перетирание прямых кишок с песком под водой с последующей экстракцией суспензии серным эфиром, очистку ТСХ полученного экстракта и спектральный анализ, из самок *D. pseudotsugae* выделены фронталин, МСН [385] и 3-метил-2-циклогексен-1-ол [386]. В самцах этого вида обнаружены фронталин, МСН и 3-метил-3-циклогексен-1-он [387, 388].

Несмотря на то что и в самках и в самцах разного периода жизни перечисленных видов *Dendroctonus* найдено немного веществ, роль этих веществ остается пока не достаточно четко выясненной.

Как видно из табл. 6, роль феромонов, вызывающих массовую агрегацию жуков, играют фронталин, бревикомин, Е-вербенол, 3-метил-2-циклогексен-1-ол, а вербенон и МСН выполняют роль репеллентов, прекращающих массовую агрегацию. У бревикомина и Е-вербенола двойная роль: они могут быть как аттрактантами, так и репеллентами. Роль синергистов могут выполнять небольшие количества тех веществ, которые обнаруживаются в насекомых при их втачивании: миртенол, миртеналь, Е-пинокарвеол, пинокарвон. Различное сочетание даже этого небольшого количества

Таблица 6

Вещества, вызывающие массовую агрегацию жуков рода *Dendroctonus*

Вид	Испускающий феромон пол	Феромон	Вещество дерева-хозяина	Привлекаемый пол	Отпугиваемый пол
<i>D. frontalis</i>	Самка	(±)-фронталин, (+) - и (-)-Е-Вербенол	α-Пинен	Самцы и самки	—
	Самец	Вербенон	—	—	Самцы
<i>D. brevicomis</i>	Самка	Эндо-бrevикомин	—	—	Самцы и самки
	Самец	(+)-Экзо-бrevикомин	Мирцен	Самцы	—
	Самец	(-)-Фронталин	Δ ³ -Карен	Самки	—
<i>D. adjunctus</i>	Самка	Вербенон	—	—	Самцы и самки
	Самец	Фронталин	α- и β-Пинен, мирцен	Самцы	—
<i>D. ponderosae</i>	Самец	Бrevикомин	—	Самки	Самцы
	Самка	Е-Вербенол	α-Пинен	Самцы и самки	—
<i>D. pseudotsugae</i>	Самец	Эндо-бrevикомин	—	—	—
	Самка	(+)-Фронталин, (-)-3-метил-циклогексен-1-ол, МСН	Камфен	Самцы и самки	—
	Самец	(+)-Фронталин, МСН	—	—	Самцы и самки

веществ может обеспечивать специфичность в привлечении разных видов *Dendroctonus*. Кроме того, специфичность может быть обусловлена разной оптической изомерией одинаковых компонентов, входящих в состав феромона. Например, в *D. frontalis* соотношение (+)- и (-)-изомеров Е-вербенола составляет 60 : 40, а для привлечения *D. pseudotsugae* необходим (-)-3-метил-2-циклогексен-1-ол [389]. Наконец, специфичность обуславливается и летучими веществами дерева-хозяина [355].

После втачивания в дерево самцы жука-короеда *Gnathotricus sulcatus* испускают агрегационный феромон, на который реагируют особи обоего пола. Феромон может быть выделен экстракцией бензолом буровой муки или прямых кишок короеда [390]. Буровую муку (564 г от 21 тыс. жуков), хранившуюся до анализа над сухим льдом при -50°С, экстрагировали серным эфиром при перемешивании с разбрызгиванием частичек муки в растворитель. Высушенный и сконцентрированный экстракт перегоняли при 70°С и 0,02 мм в течение 8 ч в перегонном аппарате длиной 2 см. Дистиллят очищали последовательно на четырех хроматографических колонках: (2,4 м X 6,5 мм) с 4% Карбовакса 20М; (2,4 м X 4 мм) с 4% Апиезона L; (7,2 м X 3 мм) с 5% PDEAS; (6,1 м X 4 мм) с 4% Карбовакса 20М. Активная фракция имела времена удерживания соответственно: 4,5—10 мин; 24—32 мин; 28,5 мин; 31 мин.

Бензольный экстракт прямых кишок 250 самцов через 65 ч после начала бурения был поделен на первых двух ГЖХ-колонках, что позволило выделить 14,4 мг феромона из каждой особи. По результатам ЯМР и МС веществ-

ву была приписана структура 6-метил-5-гептен-2-ола (сулкатола) [391]. Как выяснилось, для привлечения жуков в поле необходима смесь его (+) - и (-) -энантиомеров (65 : 35) [389].

В отличие от большинства изученных видов *Dendroctonus*, короедам *Ips* необходимо предварительное питание в течение нескольких часов, чтобы началось выделение феромона [395]. Правда, для биосинтеза Z- или E-вербенолов (контактных феромонов) достаточно контакта жука с деревом, но для производства ипсдиенола и ипсенола необходимо питание деревом-хозяином в течение нескольких часов. В связи с этим феромоны и были поделены на контактные, которые можно обнаружить в прямых кишках непитавшихся жуков и количество которых увеличивается от контакта с деревом в лесу или при выдерживании жуков в парах летучих веществ дерева-хозяина в лаборатории, и феромоны, образующиеся в результате питания [392]. Выделение контактных феромонов можно проводить из воздуха над непитавшимися живыми насекомыми или экстракцией после выдерживания их в парах веществ дерева-хозяина [392–395]. Выделение феромонов, образующихся в результате питания, можно проводить экстракцией веществ из буровой муки [397, 398], сбором летучих веществ над нагретой буровой мукой [395, 400, 401], сбором летучих веществ над питавшимися насекомыми или экстракцией прямых кишок насекомых, питавшихся деревом-хозяином [395, 400, 403].

Агрегационный аттрактант (смесь контактных феромонов, феромонов из буровой муки и летучих веществ дерева-хозяина) можно выделить из воздуха над отрубком дерева, заселенным питающимися жуками короедо-первопоселенцев. Летучие вещества можно собрать на Порапак Q [393] или сконденсировать в охлаждаемые ловушки [379]. Такой конденсат не нуждается в дополнительной очистке и может быть сразу анализирован ГЖХ–МС [392–394, 402].

Экстракты прямых кишок и особенно буровой муки нуждаются в дополнительной очистке перед анализом. Для этого используют перегонку в вакууме и все виды хроматографии. Так, анализ летучих веществ в прямых кишках *I. acuminatus* позволил определить присутствие в них ипсенола, ипсдиенола и Z-вербенола. Выяснилось, что в условиях леса активна смесь ипсенола и оптически активных (S)-ипсдиенола и (S)-Z-вербенола (см. табл. 7). Противоположные оптические изомеры оказывали ингибирующее действие [402].

Оптическая активность компонентов контактных феромонов зависит от оптической активности компонентов живицы хвойного дерева, на котором паразитируют виды *Ips*, т.е. состав феромона насекомого зависит от состава и состояния дерева-хозяина [394]. Так, например, при выдерживании особей обоего пола *Ips typographus* и *Ips amitinus* в парах (+)- α -пинена, (-)- α -пинена и (-)- β -пинена, а также в парах живицы восьми хвойных пород установили с помощью ГЖХ–МС, что под действием (-) (1S, 5S) α -пинена в самцах *I. typographus* и особях обоего пола *I. amitinus* образуется (-) (1S, 4S, 5S)-Z-вербенол с небольшой примесью (-) (1S, 4S, 5S)-E-вербенола, а под действием (+) (1R, 4S, 5R)- α -пинена образуется (+) (1R, 4S, 5R)-E-вербенол. Самки *I. typographus* не образуют заметных количеств этих веществ. Такое же воздействие на образование контактных феромонов оказывают летучие вещества живицы. При этом соотношение Z- и E-вербенолов зависит от содержания (-)- α -пинена в живице и состояния дерева [394].

Анализ летучих веществ прямых кишок пяти самцов и пяти самок *Ips calligraphus* на полярной (1,5 м X 0,3 см с 5% FFAP, 80° → 4° /мин → 150° C) и неполярной (15 м X 0,5 мм SCOT с Апиэзон L, 90° C) ГЖХ-колонках

Таблица 7

Вещества, вызывающие массовую агрегацию жуков рода *Ips*

Вид	Контактный феромон	Феромон-продукт питания	Агрегационный феромон
<i>I. acuminatus</i>	(S)-ZV	(S)-ID, IN	(S)-ID+IN+(S)-ZV
<i>I. amitinus</i>	(-)(1S,4S,5S)-ZV (+)(1R,4S,5R)-EV		
<i>I. calligraphus</i>	(S)-ZV, EV	ID	ID+(S)-ZV
<i>I. confusus</i>	(S)-ZV, EV, VB	ID, IN, MMODOL DMODOL	ID+IN+ZV
<i>I. duplicatus</i>		ID	IN
<i>I. grandicollis</i>	ZV, EV	(-)(S)-IN,	
<i>I. pini</i>	ZV, EV	(-)-ID, DMODOL	
<i>I. paraconfusus</i>	ZV, EV	(+)-ID, IN, DMODOL	
<i>I. sexdentatus</i>		IN, ID	IN
<i>I. typographus</i>	(-)(1S, 4S, 5S)-ZV, EV, MB	ID, IN, 3KBOL	ID+MB+(-) (1S,4S,5S)-ZV

Условные обозначения: IN — ипсенол; ID — ипсдиенол; ZV — цис-вербенол; EV — транс-вербенол; VB — вербенон; MB — метилбутенол; 3KBOL — 3-кетобутанол; MMODOL — E-2-метил-6-метилен-4,7-октадиен-2-ол; DMODOL — 3,7-диметил-1,6-октадиен-3-ол (линалоол).

указал на присутствие Z- и E-вербенолов с их преимущественным содержанием у самцов. Питавшиеся самцы в отличие от самок производят также ипсдиенол. Был проведен анализ летучих веществ буровой муки (3 г), выделенных из воздуха над нагретой (кипящая водяная баня) буровой мукой, помещенной в колбу Эрленмейера (50 мл) и хранившейся до эксперимента при температуре сухого льда. Сравнительный ГЖХ-анализ на тех же двух колонках, полярной и неполярной, указал на присутствие большого количества терпенов, ипсдиенола и изомеров вербенола. Испытания в условиях леса показали, что привлечение особей этого вида увеличивается вдвое при добавлении к смеси ипсдиенола и Z-вербенола отрубка незаселенного дерева [405]. Позднее было обнаружено, что добавление к привлекающему веществу (S)-Z-вербенолу небольшого количества его энантиомера — (R)-Z-вербенола ингибирует привлечение [405].

Для извлечения агрегационного аттрактанта *I. confusus* отрубок, зараженный самцами, помещали в короб, через который прокачивали воздух со скоростью 2 л/мин. Летучие вещества конденсировали в ловушке, охлаждаемой льдом (-4°C), а затем в ловушке с сухим льдом ($60-80^{\circ}\text{C}$). Конденсат экстрагировали петролейным эфиром и концентрировали при 80°C (не выше, так как при 85° активность концентрата уменьшается из-за разложения активных веществ) [379].

Для выделения летучих веществ из прямой кишки *I. confusus* препарировали по 35 жуков каждого пола. Жуки предварительно питались 48 ч при 28°C . Отпрепарированные прямые кишки помещали в замкнутый сосуд, который нагревали до 100°C и шприцем забирали воздух над ними. Воздушную пробу анализировали ГЖХ на неполярной (Апъзон L при 110°C) и полярной (DEGS при 95°C) колонках. Биотестирование на выходе из хроматографа (сплиттер) указало на присутствие активного вещества [404].

Чтобы буровая мука была пригодна для экстракции, ее необходимо сохранять влажной в холодном и темном месте под азотом. Для выделения

феромона *I. confusus* из буровой муки ее смешивают с четырехкратным (по весу) количеством бензола под азотом в течение двух часов при 50–60°C, а затем образовавшуюся суспензию трехкратно впрыскивают с большой скоростью в растворитель для отделения частичек экскрементов от частиц непереваренного дерева. Сконцентрированный и высушенный экстракт, активный в количестве 3×10^{-8} г-эквивалента (г-эkv.) буровой муки, перегоняют в аппарате, расстоянии от перегонной колбы до приемника в котором не более 3 см, при 0,01 мм и 85–90°C в течение 1,5 ч. Вакуум снимают сухим азотом. Приемники, охлаждаемые в процессе перегонки сухим льдом с ацетоном, нагреваются до комнатной температуры. Дистиллят активен как 10^{-7} г-эkv. буровой муки. После очистки дистиллята градиентным элюированием (бензол–серный эфир) через колонку с СГ была получена фракция, активная как 10^{-6} г-эkv. буровой муки, и пригодная для ГЖХ выделения с неполярной (1 м X 0,9 см с 8% SE-30, 80° → 4°/мин → 200°) и полярной (2 м X 0,8 см с 3% Карбовакса 20М, 120°C) колонки в виде фракции, активной в количестве 5×10^{-5} г-эkv. буровой муки [396]. В выделенной из буровой муки (3 кг от 21 тыс. самцов) ГЖХ-фракции содержались два вещества, которым по результатам анализа УФ-, ИК-, ЯМР- и МС приписаны структуры: (–)-2-метил-6-метил-7-октен-4-ола (ипсенола) и E-2-метил-6-метил-4,7-октадиен-2-ола [397]. После тщательного анализа экстракта буровой муки самцов *I. confusus*, кроме ипсенола, в нем оказались не одно, а два вещества, которым в результате спектральной идентификации была приписана структура Z-вербенола и 2-метил-6-метил-2,7-октадиен-4-ола (ипсидиенола) [351].

Для очистки дистиллята экстракта буровой муки использовали градиентное элюирование системой гексан-этиловый эфир, затем ацетоном и метанолом последовательно.

В результате анализа активной фракции и летучих веществ над самцами *I. confusus* ГЖХ на семи колонках в разной последовательности (1 – 1 м X 8 мм с 4% SE-30; 2 – 2 м X 6 мм с 4% Карбовакса 20М; 3 – 1,5 м X 2,4 мм с 4% TCEP; 4 – 3 м X 2,4 мм с 5% DEGS; 5 – 5% DEGS с добавлением 4% SE-30; 6 – 6,1 м X 2,4 мм с 5% OF-1 и 7 – колонка 3 с добавлением 4% SE-30) нашли в феромоне следующие вещества: ипсенол, ипсидиенол, E-2-метил-6-метил-4,7-октадиен-2-ол, Z-вербенол, E-вербенол, вербенол и линалоол [398].

Составляя из найденных веществ смеси для биотестирования в лесу, обнаружили, что даже самая лучшая из смесей (ипсенол:ипсидиенол: Z-вербенол = 10 : 10 : 1) привлекает на порядок хуже, чем отрубок с заселенными самцами. Это заставляет предположить, что не все компоненты феромона *I. confusus* найдены [401].

Так как Z-вербенол и ипсидиенол одинаково усиливают активность ипсенола в привлечении кородея *I. duplicatus*, было высказано предположение о возможном механизме энзиматического превращения ипсидиенола в Z-вербенол в клетках антенн насекомого [406].

При биоиспытаниях различных частей коры дерева-хозяина на *I. grandicollis* обнаружено, что вещества, привлекающие самцов этого вида, содержатся только во флэзме [407]; самцы, питающиеся флэзмой, выделяют вещества, привлекающие особей обоего пола [408], а основным компонентом феромона самца – ипсенол [403], являющийся (–) (S)-энантиомером [410].

Кроме Z- и E-вербенолов, ипсенола и ипсидиенола [392, 411], в самцах

I. paracofusus были обнаружены 2-фенилэтанол [297] и линалоол [412]. Последний был выделен на четырех ГЖХ-колонках из активной фракции после колоночной хроматографии экстракта буровой муки самок *I. paracofusus*: 1) 2 м X 6 мм с 4% Карбовакса 20М, 110° → 2°/мин (28 мин) → 10°/мин до 42 мин; 2) 3 м X 2,4 мм с 5% DEGS, 130°С; 3) 0,45 м X X 1,8 мм с 4% SE-30 и 4) 1,52 м X 2,4 мм с 4% ТСЕР, 100°.

Линалоол был обнаружен также у самцов *I. pini* при анализе экстракта летучих веществ и буровой муки с использованием системы из нескольких ГЖХ колонок чередующейся полярности. Однако основным компонентом феромона самцов этого вида является ипсдиенол [412].

Известно, что расы одного и того же вида насекомых, обитающие в разных климатических районах, могут иметь одни и те же компоненты в феромоне, но в различном количественном соотношении или отличающиеся по своей оптической изомерии. Так, например, *I. pini*, обитающий в окрестностях Айдахо, выделяет (–)-ипсдиенол, а *I. pini*, обитающий в окрестностях Нью-Йорка, выделяет (+)-ипсдиенол и (–)-ипсдиенол в соотношении 65 : 35. Добавление (+)-энантиомера к (–)-энантиомеру ингибировало реакцию *I. pini*, обитающего в Айдахо, на (–)-энантиомер [413, 414].

Несмотря на то что в буровой муке самцов *I. sexdentatus* найдены два компонента — ипсдиенол и ипсенол, агрегационным феромоном этого вида является ипсдиенол. Добавление к нему ипсенола ингибирует привлечение [415].

Изучая первичное привлечение кородея-типографа *I. tyrographus*, установили, что это привлечение связано с такими веществами дерева-хозяина, как α -пинен, β -пинен, лимонен, камфен; при этом α -пинен привлекает в 10 раз лучше, лимонен в 4 раза лучше, β -пинен в 3 раза лучше, а камфен на уровне незаселенного дерева [410]. Однако, как было установлено советскими исследователями, короед-типограф в 2,5 раза лучше привлекается к смеси, приближающейся по своему составу к природной смеси летучих веществ дерева-хозяина (α -пинена, β -пинена, Δ^3 -карена, лимонена, п-цимола и камфена), чем к каждому из перечисленных терпенов. При этом основное предпочтение в этой смеси короед-типограф отдает α -пинену и Δ^3 -карену [416].

Наблюдение за механизмом агрегации кородея-типографа заставляет предположить участие в нем и других, не только химических, стимулов [417]. Однако при атаке дерева отмечается увеличение концентрации двух контактных феромонов, присутствующих в прямой кишке кородея: E- и Z-вербенолов [392]; особенно быстрое увеличение их концентрации наблюдается при атаке здорового дерева, в котором происходит мощное выделение α -пинена, участвующего в образовании этих двух вербенолов. Увеличение концентрации вербенолов увеличивает атаку особей обоего пола. В момент готовности брачной камеры в кишке самца кородея-типографа появляется ипсдиенол, а после начала откладки яиц самками появляется ипсенол, ингибирующий привлечение особей обоего пола к смеси терпенолов с α -пиненом. Замечено, что далеко не в каждом жуке можно обнаружить ипсенол и ипсдиенол [418].

Экстракция серным эфиром прямых кишок самцов кородея-типографа, препаративанных в период атаки ими ели, позволила выделить еще один контактный феромон, который по результатам ГЖХ–МС (стеклянная колонка 2,44 м X 2,54 мм с 10% FFAP при 70–230°С) представлял собой 2-метил-3-бутен-2-ол (МВ) и который в сочетании с Z-вербенолом и ипсдиенолом мог конкурировать с заселенным отрубком [419].

Так же, как это было обнаружено при исследовании феромона короледа *I. confusus* [401], любое сочетание, компонентов, найденных в феромоне *Ips typographus*, привлекает на порядок хуже любого экстракта буровой муки. В поисках веществ, обуславливающих эффективное привлечение экстрактами буровой муки, было предпринято исследование различных методов выделения и очистки экстрактов буровой муки короледа-типографа. Из экстрактов органическими растворителями (бензолом, эфиром) эфирный экстракт оказался активным в дозе 0,1 г-экв. буровой муки, а в сочетании с кусочком еловой коры или с ловчим деревом — в дозе 0,001 г-экв. буровой муки. При этом количество пойманных жуков увеличилось в 6 раз. Очистка эфирного экстракта перегонкой в вакууме (60–150°; 2 ч; 0,06–0,08 мм), а полученного дистиллята — колоночной хроматографией на СГ градиентным элюированием системой бензол–эфир [420, 421] или эксклюзионной хроматографией на Сефадексе LH-20 в системе метанол–гексан позволили получить фракции, пригодные для анализа ГЖХ–МС. По результатам анализа в эфирном экстракте присутствуют вербенон и борнеол [422]. Подобная очистка бензольного экстракта, но с дополнительной конечной стадией ТСХ в системе бензол–эфир (5 : 1), позволила выделить активную фракцию в пятне с R_f 0,08. ГЖХ–МС анализ веществ этой фракции дал возможность приписать основному по массе веществу структуру 3-кетобутанола-1, обладавшего в лесу привлекающими свойствами [423]. Экстракт буровой муки инертным газом (гелием) содержит около 30 основных по массе веществ и по результатам ГЖХ–МС исследования представляет собой смесь терпеновых углеводов, продуктов их превращений и сесквитерпенов [424]. Водная вытяжка буровой муки этого короледа [420] была проэкстрагирована петролевым эфиром, очищена ТСХ в системе бензол–серный эфир (5 : 1). Активная после ТСХ фракция (R_f 0,5–0,81), проанализированная ГЖХ–МС, содержала терпеновые спирты циклической и ациклической структуры [426].

Таким образом, содержание различных компонентов феромона и веществ дерева-хозяина зависит, с одной стороны, от биологии вида, а с другой, — от состояния дерева-хозяина. При этом возникает впечатление, что контактные феромоны присутствуют у всех отродившихся непитававшихся короедов *Ips* и служат сигналом к массовой агрегации. Чем сильнее дерево, тем больше в нем летучих веществ, тем больше под их воздействием выделяется контактных феромонов, тем энергичнее атака короедов, чтобы справиться с сильным деревом. Феромоны, появляющиеся после питания, привлекают особой противоположной полярности для спаривания. Окончательный состав и роль известных компонентов феромона короедов *Ips* остаются пока невыясненными. При том небольшом количестве веществ, которые обнаружены у короедов *Ips* (см. табл. 7), у них должно наблюдаться перекрестное привлечение и отсутствие специфичности; и хотя перекрестное привлечение и возможно в ряде случаев, специфичность феромонов и изоляция видов в их репродуктивности не нарушаются.

Из 100 тыс. питававшихся самцов и самок *Pityogenes chalcographus* выделены летучие вещества, которые по ГЖХ-анализу на стальной колонке 40 м X 0,25 мм с Marlofen 87 имели три пика (50° → 3°/мин → 140°). Один пик соответствовал по масс-спектру 1-гексанолу, два других выходили изомерно-подобным сдвоенным пиком и имели подобный масс-спектр, указавший на молекулу с брутто-формулой $C_9H_{16}O_2$ и максимальным ионом $C_7H_{11}O_2$, соответствующим отщеплению этильной группы. Ис-

следование спектра ЯМР сделало возможным предложить структуру 2-этил-1,6-диоксаспиро-(4,4)-нонана [427].

Для ГЖХ-анализа летучих веществ *Pityokteines curvidens*, *P. spinidens* и *P. vorontzovi* использовали стеклянную колонку 3 м X 2 мм с 15% FFAP (изотерма от 127–155°С) и воздух над нагретыми кишками от 8–10 особей каждого из трех видов. Кроме того, для идентификации использовали стеклянную колонку (70 м с WG11, 110°С) и пентановый экстракт прямых кишок 100 жуков, полученный настаиванием биоматериала 12 ч при комнатной температуре. После высушивания пентан отгонялся при 44°С. Операция повторялась пятьюкратно. Для идентификации был использован метод дифференциального диагноза. Сравнивали питавшихся и непитавшихся особей, а также самцов и самок в каждом из вариантов. В результате в прямых кишках только у питавшихся самцов были обнаружены: ипсенол (*P. curvidens*, *P. spinidens*, *P. vorontzovi*) и ипсдиенол (*P. spinidens*, *P. vorontzovi*). В поле *P. curvidens* реагирует на (–) (S)-ипсенол, а (–) (R)-ипсдиенол подавляет его реакцию. *P. vorontzovi* реагирует на комбинацию ипсенола и (–) (R)-ипсдиенола. Количества найденных веществ увеличиваются при выдерживании жуков в парах мирцена, а под действием аналога ювенильного гормона (ZR-233) эти вещества появляются даже у непитавшихся самок [428]. Тем же методом дифференциального диагноза эфирных экстрактов самок и самцов короледа *Platypus flavicornis* на ГЖХ-колонках (с FFAP и OV-1) были обнаружены у самок гексанол-1, сулкатол (6-метил-5-гептен-2-ол) и 3-метил-1-бутанол. Сочетание всех трех веществ, особенно с добавлением этанола привлекательно для жуков в лесу [429].

Буровую муку самцов, самок и смешанных полов *Scolytus multistriatus*, хранившуюся до употребления при –20°С, экстрагировали разными растворителями, и экстракты испытывали в лаборатории на лабораторной популяции жуков. Нашли, что экстракт, эквивалентный 10 мг буровой муки, привлекает жуков: бензольный на 45%, пентаном на 72%, эфиром на 26%, этанолом (95%-ным) на 20% и водой на 0% [430].

Сравнивая летучие вещества отрубка, заселенного 7 тыс. самок *S. multistriatus*, собранные на Порапак Q, с летучими веществами незаселенного отрубка, нашли, что в самках короледа присутствуют 4-метил-3-гептанол и 2,4-диметил-5-этил-6,8-диоксацикло-3,2,1-октан, а в незаселенном отрубке – α -кубебен (α -мультистриатин) [431, 432]. Смесь трех найденных веществ привлекает особей этого вида в соотношении 1 : 1 : 2 – 10 (мультилур) соответственно [433].

В отличие от *S. multistriatus*, у *S. scolytus* не только самки, но и самцы выделяют феромон; самки выделяют преимущественно мультистриатин, а самцы – трео- и эритро-4-метил-3-гептанол. Для привлечения в условиях леса нет необходимости в добавлении α -кубебена [434].

В процессе питания спаривавшаяся самка короледа *Trypodendron lineatum* производит вещество, которое привлекает особей обоего пола. Это вещество выделяли из буровой муки 95%-ным этанолом (а также сероуглеродом, ацетоном, хлороформом) или конденсацией летучих веществ при продувании воздухом нагретой (до 100°) буровой муки. В последнем случае было достаточно 24 ч, чтобы выделить вещество. Охлаждаемые (–77°С) ловушки приходилось время от времени оттаивать, так как замерзшая вода закупоривала проход воздуха. Для более быстрого определения пика активного вещества применили дифференциальный диагноз, сравнивая буровую муку с искусственно полученными опилками того же дерева. Экстракты очищали препаративной ГЖХ и анализировали на четырех колонках (1,5 м X 0,3 см с 10% Ucon, 150°; 5% LAC 446, 175°;

5% DEGS, 150°; 2% Карбовакса 20М с 8% SE-30, 125°). Для очистки препаративной ГЖХ ацетоновый экстракт инъецировали (20 X 50 мкл) в колонку (1,8 м X 0,3 см с 20% Dow — 710, 145°) и собирали в хлороформ. Из трех фракций одна была активна и на всех четырех колонках показала единственный пик. Вещество полярно и устойчиво при высоких температурах [435]. Бензольный экстракт буровой муки перегоняли в коротком аппарате для перегонки и хроматографировали на колонке с СГ [436]. В активной фракции были найдены два вещества, которые были предварительно идентифицированы как трициклические ацетали: 3,3,7-триметил-2,9-диокса /3,3,1,0^{4,7}/ (линеатин) и 3,3,7-триметил-2,9-диокса /4,2,1,0^{4,7}/ нонан [437, 438]. Линеатин был привлекателен в низких концентрациях к *T. lineatum* [439], а 3,3,7-триметил-2,9-диоксатрицикло /4,2,1,0^{4,7}/ нонан проявлял синергетические свойства [437]. Похожий ацеталь был выделен из коры ели, зараженной *T. lineatum*, экстракцией пентаном. Анализ дистиллята, полученного перегонкой экстракта, указал на присутствие 1,3-диметил-2,9-диоксацикло /3,3,1/ нонана, который, возможно, привлекает первопоселенцев *T. lineatum* к дереву-хозяину [440].

В качестве первичного вещества, привлекающего жуков *Xyloterus* к дереву-хозяину, был обнаружен этанол, который при опрыскивании им отрубка привлекал 1328 жуков, в то время как отрубок, опрыснутый водой, привлек всего двух жуков [441].

Из вторичных веществ основным компонентом, привлекающим *X. domesticus*, *X. lineatum* и *X. signatus*, был найден 3-окси-3-метилбутанон-2. Это вещество наряду с 2,3-диокси-2-метилбутаном и 2-гексанолом было выделено из 150 тыс. жуков *X. domesticus*, для чего обездвижимые холодным (-20°С) ацетоном жуки были размолоты при -70°С и отфугованы. Ацетоновый экстракт вымораживали при -70°С, отфильтровывали и концентрировали. Верхний маслянистый слой отделяли от нижнего, водного. Водный раствор насыщали NaCl, выделившийся верхний масляный слой отделяли, а водный экстрагировали пентаном. Упаренный экстракт очищали препаративной ГЖХ (колонка 18 м X 4,65 см с Marbfen 87). ГЖХ-МС анализ (колонка 50 м X 9,2 мм с Marbfen 87, 50-100°С) указал на соединение, в масс-спектре которого содержался молекулярный ион M⁺: 102 и интенсивные фрагменты m/e 59 и m/e 43. Полученному масс-спектру можно было приписать одно из двух соединений: 3-окси-3-метил-1,2-эпоксидбутан и 3-окси-3-метилбутан-2-он. Однако время удерживания эпоксида при ГЖХ-анализе на 2 мин отставало от времени удерживания природного соединения, с которым совпадало время удерживания 3-окси-3-метилбутан-2-она. Двум другим веществам, выхлывшим из ГЖХ-колонки после 3-окси-3-метилбутан-2-она, по их масс-спектрам были приспаны структуры 2-гексанола и 2,3-диокси-2-метилбутана. И если 3-окси-3-метилбутан-2-он присутствует и в самцах и в самках, то 2-гексанол найден только у самок [442].

Кроме трех идентифицированных соединений, в самцах *X. domesticus* ГЖХ-МС анализом (колонка 2 м X 0,2 см с 2,5% ХЕ-60) были обнаружены метиловый эфир миристиновой кислоты и этиловый эфир пальмитиновой кислоты, привлекавшие жуков этого вида. Их рассматривают либо синергистами к основным компонентам, либо веществами-носителями компонентов феромона [444].

Подобные соединения (этиловые эфиры пальмитиновой, стеариновой, олеиновой и линоленовой кислот) были обнаружены у самок *T. granarium*; они обладали привлекающими свойствами для особей обоего пола [350]. Из нелетучей части елового луба были проэкстрагированы серным эфиром

Состав феромонов, установленный к 1982 г. для некоторых видов насекомых

№№ пп	Вид насекомого	Состав феромона	Характер действия	Испускающий феромон пол	Литературн ссылка
1	2	3	4	5	6
Lepidoptera					
1	<i>Acrolepiopsis assectella</i>	Z11HDAI	Ф	Самка	256
2	<i>Adoxophyes fasciata</i>	10MeDDA, Z9TDA, Z11TDA, E11TDA Z9Z11TDDA, Z9E12TDDA	"	"	19, 74, 90, 450
3	<i>A. orana</i>	Z9TDA, Z11TDA	"	"	20, 259
4	<i>Agrotis fucosa</i>	Z5DA, Z7DA	"	"	186
5	<i>A. ipsilon</i>	Z7DDA, Z9TDA	"	"	84
6	<i>A. (Scotia) segetum</i>	Z5DA, DDA, E5DDA, Z7DDA, Z8DDA Z9DDA, Z9TDA	"	"	26, 66, 98
7	<i>Amathes c-nigrum</i>	Z7TDA	"	"	170
8	<i>Amvelois transitella</i>	Z11Z13HDDAL	"	"	130
9	<i>Anagasta kuehniella</i>	Z9E12TDDA	"	"	44, 449
10	<i>Anarsia lineatella</i>	E5DA, E5D0L	"	"	105
11	<i>Antheraea polyphemus</i>	E6Z11HDDA, E6Z11HDDAL	"	"	168
12	<i>Archippus brevipicanus</i>	E11TDA, Z11TDA	"	"	103
13	<i>Archips argyrospilus</i>	DDA, Z9TDA, Z11TDA, E11TDA Z11TDOL, E11TDOL	"	"	10, 229
14	<i>A. podana</i>	Z11TDA, E11TDA	"	"	106
15	<i>A. rosanus</i>	Z11TDA, Z11TDOL	"	"	115
16	<i>A. semiferanus</i>	E11TDA, Z11TDA	"	"	170
17	<i>Argyroplote leucotreta</i>	E7DDA	"	"	93, 166, 255
18	<i>A. schistaceana</i>	9DDA	"	"	116
19	<i>Argyrotaenia citrana</i>	Z11TDAL, Z11TDA	"	"	86
20	<i>A. velutinana</i>	Z11TDA, E11TDA, DDA	"	"	6, 28, 49
21	<i>Autographa californica</i>	Z7DDA	"	"	253
22	<i>Barbara colfaxiana</i>	Z9DDOL	"	"	95
23	<i>Bombyx mori</i>	E10Z12HDDOL, E10E12HDDOL, E10Z12HDDAL	"	"	1, 83, 109, 448
24	<i>Brachmia macroscopa</i>	E11HDA	"	"	201

	Φ	Самка	
25	Z9TDA, Z11TDA, E11TDA	"	176
26	Z9TDA, Z9E12TDDA	"	216
27	Z9E12TDDA	"	101
28	Z7EC11ON, Z7ND11ON, E7ND11ON Z7TC11ON	"	117
29	DA, DOL	"	203
30	Z13ODA, Z13ODOL	"	452
31	Z11HDAL, Z13ODAL	"	54, 91
32	Z11HDAL, Z11HDOL	"	53
33	Z11TDA, E11TDA, E11TDOL, TDAL, Z11TDAL, E11TDAL	"	55, 102, 185, 453
34	E11TDA, E11TDAL	"	482
35	Z11TDA, E11TDA, Z11TDOL	"	11, 219
36	Z11HDOL, Z11HDAL	"	58
37	Z9TDA, Z11TDA	"	259
37a	Z9DDA, E9DDA, DDA	"	249
38	Z8DDA, E8DDA	"	11B
39	Z5E7DDDA, Z5E7DDDDOL	"	250
40	Z5Z7DDDDOL, Z5E7DDDDOL, E5E7DDDDOL, TDOL, HDOL	"	110, 217
41	E11DDA; E8DDA; E9, 11DDDA; DDA E10E12HDDAL	"	111, 177, 225
42	Z9TDA, Z9E12TDDA, Z9E12TDDOL	"	82
43	Z9E12TDDA	"	153
44	Z9TDA, Z11TDA, Z9TDOL, Z11TDOL, TDA	"	14
45	Z9DDA	"	142
46	DA, Z5DDA, E5DDA, Z7DDA, Z8DDA, Z9DDA, DDA	"	454, 456
47	Z8DDA, E8DDA, Z8DDOL, DDOL	"	12, 171, 455
48	УНДЕКАНАЛЬ	"	188, 458
48a	E8E10DDDA, Z8DDA, E8DDA, DDA	"	13
49	Z9HDAL, Z11HDAL, HDAL,	"	258
50	Z11HDOL, HDOL	"	258
51	Z9TDAL, Z7HDAL, Z9HDAL, Z11HDAL, HDAL, Z11HDOL, TDAL	"	9, 17, 182, 459
52	Z7HDAL, Z9HDAL, Z11HDAL, HDAL	"	30, 31, 112, 164
			B, 30, 144

1	2	3	4	5	6
			Φ	Самка	
53	<i>Homosoma electellum</i>	Z9TDOL, Z9E12TDDOL, TDOL	"	"	119
54	<i>Homona coffera</i>	E9DDA, DDA, DDOL	"	"	63
55	<i>H. magnanima</i>	Z9DDA, 11DDA, Z11TDA	"	"	120
56	<i>Laspeyresia pomonella</i>	E8E10DDDDOL	"	"	200, 260, 268
57	<i>Leucania separata</i>	Z11HDA, Z11HDOL	"	"	460
58	<i>L. loreyi</i>	Z5DDA, Z7DDA, Z9DDA	"	"	207
59	<i>Lithocolletis biancardella</i>	E10DDA	"	"	121
60	<i>Lobesia botrana</i>	E7Z9DDDA	"	"	268, 267
61	<i>Loxostege sticticalis</i>	Z11TDA, E11TDA	"	"	483
62	<i>Lymantria dispar</i>	(+12Me7, 8EpoxyOD	"	"	148, 199
63	<i>L. monacha</i>	2Me7, 8EpoxyOD	"	"	537
64	<i>Malacosoma californicum</i>	E5Z7DDDAL	"	"	463
65	<i>Mamestra brassicae</i>	TDA, Z9HDA, Z11HDA, HDA, Z11HpDA	"	"	226, 269, 464, 466
66	<i>M. configurata</i>	Z9TDA, Z11HDA	"	"	113, 114, 193
67	<i>M. oleracea</i>	Z11HDA, Z11HDOL	"	"	465
68	<i>Malacosoma distria</i>	Z5E7DDDAL, DDAL	"	"	50
69	<i>Manduca sexta</i>	E10Z12HDDAL	"	"	132
70	<i>Naranga aeneascens</i>	Z9TDA, Z9HDA, Z11HDA	"	"	45, 467
71	<i>Nudaurelia cytherea cytherea</i>	Z-5-деценил (3-метилбутианоат)	"	"	34, 169, 230
72	<i>Orygia pseudotsugata</i>	Z6HEC11ON; Z1,6HECD11ON	"	"	125, 468
73	<i>Ostrinia furnacalis</i>	E12TDA, Z12TDA	"	"	123, 124, 147, 469, 470
74	<i>O. nubilalis</i>	Z11TDA, E11TDA, Z9TDA, TDA	"	"	35, 64, 89, 151
75	<i>Pandemis limitata</i>	Z9TDA, Z11TDA	"	"	16
76	<i>P. pyrusana</i>	Z9TDA, Z11TDA	"	"	208
77	<i>P. ribeana</i>	Z2TDA, E2TDA	"	"	126
78	<i>Paralobesia viteana</i>	Z9DDA	"	"	197, 474
79	<i>Pectinophora gossypiella</i>	Z7Z11HDDA, Z7E11HDDA	"	"	137
80	<i>Phthorimaea operculella</i>	Z7Z11TrDDA, E4Z7TrDDA, E4Z7Z10TrDA	"	"	198, 209, 212, 252, 472, 473
81	<i>Platynota flavedana</i>	Z11TDA, E11TDA, TDA, Z11TDOL, E11TDOL, TDOL	"	"	162

		Φ	Самка	
82	<i>P. idaeutalis</i>			222
83	<i>P. stultana</i>	"	"	133
84	<i>Platyptilia carduidectya</i>	"	"	143
85	<i>Plodia interpunctella</i>	"	"	23, 71, 173, 191, 218
86	<i>Plutella maculipennis</i>	"	"	183
87	<i>P. xylostella</i>	"	"	127, 183, 476
88	<i>Prays citri</i>	"	"	154
88a	<i>P. oleae</i>	"	"	128
88b	<i>Prionoxystus rebiniiae</i>	"	"	60
89	<i>Porthetria dispar</i> (cm. <i>Lymantria dispar</i>)			
90	<i>P. monacha</i> (cm. <i>L. monacha</i>)			
91	<i>Prodenia eridania</i>	"	"	46, 90
92	<i>Pseudoletia unipuncta</i>	"	"	146, 466, 477
93	<i>P. includens</i>	"	"	475
94	<i>Rhyacionia buoliana</i>	"	"	43
95	<i>R. rigidana</i>	"	"	457
96	<i>R. subtropica</i>	"	"	129
97	<i>Scotia exclamatorionis</i>	"	"	257
98	<i>Scotogramma trifolii</i>	"	"	167
99	<i>Sesamia inferens</i>	"	"	251
100	<i>Sitotroga cerealella</i>	"	"	206
101	<i>Scrobipalpa ocellatella</i>	"	"	461
102	<i>Sparganothis directana</i>	"	"	478
103	<i>S. spp.</i>	"	"	157
104	<i>Sperchia intractana</i>	"	"	158
105	<i>Spodoptera dolichos</i>	"	"	141
106	<i>S. exempta</i>	"	"	160
107	<i>S. exigua</i>	"	"	479, 481
108	<i>S. frugiperda</i>	"	"	5, 81
109	<i>S. littoralis</i>	"	"	221, 480

1	2	3	4	5	6
110	<i>S. litura</i>	Z9TDA, E11TDA, Z9E11TDDA, Z9E12TDDA	ПФ	Самка	25, 33, 53B, 186
111	<i>Synanthedon exitiosa</i>	Z3Z13ODDA	"	"	227
112	<i>S. pictipes</i>	E3Z13ODDA	"	"	227
113	<i>Utetheisa ornatix</i>	Z3Z6Z9HETr	"	"	174
114	<i>Trichoplusia ni</i>	DDA, Z7DDA	"	"	67, 68
Coleoptera					
1	<i>Acanthoscelides obrectus</i>	(-)Me эфир 2,4,5-тетрадекатриено- вой K-Ты	"	Самец	305, 306
2	<i>Agriotes gurgistanus</i>	Геранилбутират	"	Самка	311
3	<i>A. lineatus</i>	Нерилизовалериат	"	"	311
4	<i>A. litigiosus</i>	Геранилизовалериат	"	"	311
5	<i>Anthonomus grandis</i>	Z-3-диMe-Δ ^{1,β} -циклогексантанол, Z-3,3-диMe-Δ ^{1,α} -циклогексанацеталь	ПФ, АФ	Самка, самец	290, 313, 314, 316, 317
6	<i>Anthrenus flavipes</i>	дегид, E-3,3-диMe-Δ ^{1,α} -циклогексан- ацетальдегид, (+) Z-2-изопропенил-	"	"	308, 309
7	<i>Attagenus megatoma</i>	1-Me-циклобутантанол	"	"	310
8	<i>A. elongatulus</i>	Z3DDAd	"	"	484
9	<i>Blastophagus piniperda</i>	E3Z5TDDAd Z3Z5TDDAd	АФ	Самка	367
		Миртенол, E-вербенол Миртанол, E-вербенол, вербенон, пинокарвон	"	Самец	
10	<i>Callosobruchus maculatus</i>	NC, OC, HerC, 3MeNC, 3MeOC, 3MeHerC, 3MeHerTrCпт	"	"	486
11	<i>Costelytra zealandica</i>	Фенол	ПФ	Самка	319
12	<i>Curelio caryae</i>	Z-3,3-диMe-Δ ^{1,6} -циклогексантанол	АФ	"	322
13	<i>Dendroctonus brevicornis</i>	Бревикомиин, фронталин, пинокар- вон, E-пинокарвон, миртенол, вер- бенон	"	Самка, самец	371, 373, 376, 374
		Фронталин	"	Самец	374

14	<i>D. frontalis</i>	Вербенон, миртеналь, миртенол, Z-вербенол, E-вербенол, 4-Ме-2-пентанол, Z-3-пинен-2-ол, пинокарвон, E-пинокарвон	МФ	Самец	302, 379, 446
15	<i>D. jeffrey</i>	Фронталин, эндо-бrevикомин, E-пинокарвон, Z-вербенол, E-вербенол, вербенон, миртенол, 4-Ме-2-пентанол, пинокарвон, 3-Ме-2-циклогексен-1-ол	"	Самка	302, 377, 378, 379, 384, 446, 488, 352
16	<i>D. ponderosae</i>	Гептанол-1, гептанол-2	"	Самка, самец	493
17	<i>D. pseudotsugae</i>	E-вербенол, фронталин, экзо- и эндо-бrevикомин, вербенон, 3-Ме-2-циклогексен-1-он	"	"	382, 383, 384
18	<i>Dermestes maculatus</i>	3-Ме-2-циклогексен-1-ол	"	Самка	386
19	<i>Gnathotrichus retusus</i>	3-Ме-2-циклогексен-1-он, фронталин, 3-Ме-3-циклогексен-1-он	"	"	385, 387, 388
20	<i>G. sulcatus</i>	Изопропиловые эфиры лауриновой, миристиновой, олеиновой, пальмитиновой К-Т	ПФ, АФ	Самец	323, 485
21	<i>Hylobius abietis</i>	S(+)-6-Ме-5-гептен-2-ол	ПФ	"	494
22	<i>Hylotrypes bajulus</i>	(S (+) -сулкатол)	"	"	391
23	<i>Ips acuminatus</i>	S (+) и R (-) -6-Ме-5-гептен-2-ол (сулкатол)	ПФ, АФ	"	326
24	<i>I. amitinus</i>	PDAL, HDAL, ODAL	АФ	"	325
25	<i>I. calligraphus</i>	(-) -вербенон, п-цимен-8-ол, миртенол	АФ	Самка	402
26	<i>I. cembrae</i>	S-Z-вербенол, Z-2-Ме-6-метилен-2,7-октадиен-4-ол (S-ипсдиенол), 2-Ме-6-метилен-7-октен-4-ол (ипсенол)	"	Самец	489
27	<i>I. confusus</i>	Ипсенол, ипсдиенол, E-2-Ме-6-метилен-3,7-диен-ол-2 (амитинол) (-) -Z-вербенон, (+) -E-вербенон	"	Самец, самка	394
28	<i>I. duplicatus</i>	Ипсдиенол, ипсенол, E-вербенон	"	Самец	400
29	<i>I. grandicollis</i>	Ипсдиенол, ипсенол, 3-Ме-бутен-3-ол-1	"	"	490
		Ипсдиенол, ипсенол, Z- и E-вербенон, вербенон, линалоол, E-2-Ме-6-метилен-3,7-октадиен-2-ол	МФ	"	398
		Ипсдиенол	АФ	"	295, 406
		S (-) -ипсенол	"	"	403, 410

1	2	3	4	5	6
30	<i>I. parasontus</i> .	(+)-E- и (+)-Z-вербенон, линалоол, ипсенол, ипсдиенон	АФ	Самец	296, 412, 351
31	<i>I. pini</i>	(+)- и (-)-ипсдиенон, линалоол	"	"	412, 413, 414
32	<i>I. sexdentatus</i>	Ипсдиенон	"	"	415
33	<i>I. tyrographus</i>	E- и Z-вербенон, ипсдиенон, 2-Ме-3-бутен-2-ол, ипсенол, 3-кето-бутанол	МФ	"	418, 419, 423
34	<i>Lasioderma serricorne</i>	4,6-диМе7-оксинанан-3-он	ПФ	Самка	327, 328
35	<i>Limonus californicus</i>	Валериановая к-та	"	"	329
36	<i>L. canus</i>	n-Гексановая к-та	"	"	330
37	<i>Pityogenes chalcographus</i>	2-Et-1,6-диоксаспиро-(4,4)-нонан (халкогран)	АФ	Самец	427
38	<i>Pityokteines curvidens</i>	S(-)-ипсенол, Z-вербенон	"	"	428, 487
39	<i>P. spinidens</i>	Ипсдиенон, ипсенол, Z-вербенон	"	"	428
40	<i>P. vorontzovi</i>	Z-вербенон, ипсдиенон	"	"	428
41	<i>Platypus flavicornis</i>	Сулкатол, 3-Ме-1-бутанол, гексанол	"	"	429
42	<i>Popillia japonica</i>	R-Z-5 (1-деценил)-дигидро-(2)-3H-фуранон	ПФ	Самка	331
43	<i>Scolytus multistriatus</i>	4-Ме-гептанол, 2,4-диМе-5-Et-6,8-ди-оксобицикло-(3,2,1)-октан (мультистриатин)	АФ	"	431, 432
44	<i>S. scolytus</i>	(-)-треол, (-)-эритро-4Ме-3-гептанол (α-мультистриатин)	"	Самец, самка	434
45	<i>Stegobium paniceum</i>	2,3-дигидро-2,3,5-триМе-6-(1-Ме-2-оксобутил)-4H-пиранон-4	ПФ	Самка	334
46	<i>Tribolium confusum</i>	4,8-ДиМе-деканаль	АФ	Самец	339
47	<i>Trogoderma granarium</i>	R(-)-14-Ме-Z8HDAL, R(-)-14-Ме-E8HDAL, гексановая к-та, γ-капролактон, л-1,8-ментадиеп, 14-Ме-8HDME, 7HDME	ПФ	Самка	343, 348
48	<i>T. inclusum</i>	(-)-14МеZ8HDOL, (-)-14МеZ8HDME	"	"	345
49	<i>T. variabile</i>	14МеZ8HDAL, 14МеZ8HDOL, γ-капролактон	"	"	344

50	<i>Trypodendron lineatum</i>	(±)-3,3,7-триМе-2,9-диоксатрицикло-(3,3,1,0 ^{1,7})-нонан (линеатин), 3,3,7-триМе-2,9-диоксатрицикло-(4,2,1,0 ^{1,7})-нонан	АФ	Самка	438, 439
51	<i>Xyloterus domesticus</i>	3-окси-3-Ме-бутан-2-он, 2,3-диоксид-2-Ме-бутан, 2-гексанон, 2-гексанол, Ме эфир миристиновой к-ты, Et эфир пальмитиновой к-ты	МФ	Самец, самка	442, 444
52	<i>X. lineatus</i>	3-окси-3-Ме-бутан-2-он	АФ	"	442
53	<i>X. signatus</i>	3-окси-3-Ме-бутан-2-он	"	"	442
Diptera					
1	<i>Ceratitis capitata</i>	Ме эфир Е-6-ноненовой к-ты	ПФ	Самец	530
2	<i>Dacus oleae</i>	1,7-Диоксапиро-(5,5)-ундекан	"	Самка	524, 529
3	<i>Fannia canicularis</i>	Пентадекан, гексадекан, гептадекан, октадекан, Z-9-пентакозен	"	"	523, 534
4	<i>F. femoralis</i>	Z-11-Гентриакоктен	"	"	533
5	<i>F. pusio</i>	Z-11-Гентриакоктен	"	"	529
6	<i>Glossina morsitans morsitans</i>	15,19-диМе-гептатриакоктан, 17,21-диМе-гептатриакоктан, 15,19,23-триМе-гептатриакоктан	"	"	531
7	<i>Haemetobia irritans</i>	Z-5-трикозен, Z-9-пентакозен, Z-9-гептакозен	"	"	522
8	<i>Lycoriella mali</i>	Гептадекан	"	"	523
9	<i>Musca autumnalis</i>	Z-14-нонакозен, Z-13-нонакозен, Z-13-гептакозен	"	"	527, 535
10	<i>M. domestica</i>	Z-9-трикозен, Z-14-трикозен-10-он, Z-9,10-эпокситрикозан,9-гексадеценил-Z-9-октадеценоат	"	"	521, 528
11	<i>Sarcophaga bullata</i>	Гексаналь	ПФ	Самец	526
12	<i>Stomoxys calcitrans</i>	Трикозан, пентакозан, гептакозан, Z-9-гентриакоктен, Z-9-тририакоктен, 13-Ме-1-тририакоктен	"	"	520, 525, 536
Hymenoptera					
1	<i>Calomeris spp.</i>	2,4-диМе-5-гексанолид	"	"	507
2	<i>Colletes inaequalis</i>	Линалоол, нерол, гераниол	АФ	"	506
3	<i>C. thoracicus</i>	Линалоол, нерол, гераниол	"	"	506
4	<i>C. validus</i>	Линалоол, нерол, гераниол	"	"	506

Окончание приложения		3	4	5	6
1	2	3	4	5	6
5	<i>Iridomyrmex humilis</i>	Z9NDAL, 13-(1-Мепропил)-тридеканол, Z-10-нонадецен-2-он	АФ	Самец	508
6	<i>Itopectis conquisitor</i>	Нераль, гераниаль	ПФ	Самка	504
7	<i>Neodiprion lecontei</i>	(2S,3S)-2-ацетокси-3,7-диМе-пентадекан	"	"	502
8	<i>N. sertifer</i>	Эритро-3,7-диМе-пентадецил-2-ацетат, E-перилленаль	"	"	503
9	<i>Odontotermes assmuthi</i>	9-кето-E-2-деценовая к-та	"	"	512
10	<i>Vespa orientalis</i>	δ-п-гексадекалктон	"	"	509
11	<i>Sceliphron caementarium</i>	Геранилацетат, 2-децен-1-ол	АФ	"	505
1	Hemiptera				
1	<i>Eurygaster intergriceps</i>	Ванилин, этилакрилат	ПФ	Самец	510, 511
1	Homoptera				
1	<i>Aonidiella aurantii</i>	3-Ме-6-изопропенил-9-децен-1-ил-ацетат, Z-3-Ме-6-изопропенил-3,9-декадиен-1-ил-ацетат	"	Самка	196, 497
2	<i>A. citrina</i>	E-3,9-диМе-6-изопропил-5,8-декадиен-1-ил-ацетат	ПФ	Самка	85
3	<i>Pseudaulacaspis pentagona</i>	Z-3,9-диМе-6-изопропенил-3,9-декадиен-1-ил-пропионат	"	"	80
4	<i>Planococcus citri</i>	R(+)-Z-2,2-диМе-3-(1-Ме-этинил)-циклобутилметанол-ацетат	"	"	498
5	<i>Pseudococcus comstocki</i>	3,6-диМе-3-ацетокси-1,5-гептадиен	"	"	499, 500
6	<i>Quadraspinotus perniciosus</i>	3-метилепн-7-октен-7-ил-пропионат, Z-3,7-диМе-2,7-октадиенил-пропионат	"	"	495, 501
1	Orthoptera				
1	<i>Blattella germanica</i>	(S) 3, (S) 11-диМе-2-нонакозанон, 29-окси-3,11-диМе-2-нонакозанон	"	"	516, 517, 518, 519
2	<i>Locusta migratoria migratoides</i>	2-метокси-5-этилфенол	"	"	532
3	<i>Periplaneta americana</i>	Перилпанон А, перилпанон В	"	"	513, 514, 515

метилловые эфиры линолевой, олеиновой и линоленовой кислот, привлекавшие короледа-типографа I. typographus в количестве 1×10^{-12} г [445].

Таким образом, феромоны жесткокрылых в отличие от феромонов чешуекрылых разнообразнее по строению, сложнее по назначению и имеют практически неизученный механизм внутривидовой и внутриродовой информации. Это в значительной степени затрудняет их выделение и идентификацию.

СИНТЕЗ ФЕРОМОНОВ

ВВЕДЕНИЕ

В данной главе описаны методы синтеза феромонов насекомых по литературным данным 1959–1981 гг. Материал расположен по химической классификации, и включает методы синтеза алифатических насыщенных и ненасыщенных углеводородов, среди которых имеются феромоны нескольких видов мух. Разветвленные насыщенные спирты и их эфиры являются феромонами пилильщиков, а также нескольких видов насекомых из отряда жесткокрылых. В таких случаях, когда соединения одного и того же класса встречаются у насекомых разных отрядов, способы их синтеза описаны в одном разделе, так как они имеют много общего. Среди феромонов насекомых известен пока один насыщенный эпоксид (2-метил-2,7,8-эпоксиктадекан), половой феромон непарного шелкопряда. Вследствие практической важности этого соединения и многочисленности публикаций, ему посвященных, многообразные способы его синтеза описаны в отдельном разделе. Большое число феромонов чешуекрылых относится к ацетатам прямоцепочечных моноеновых спиртов, и они не встречаются в других отрядах насекомых. Практическая важность этих феромонов в борьбе с сельскохозяйственными вредителями (плодожорками, совками, листовертками) вызвала большой интерес химиков и обусловила глубокое исследование реакций, участвующих в синтезе этих соединений. Синтез диеновых сопряженных и метиленразделенных спиртов и их ацетатов использует некоторые общие подходы, однако наличие сопряженной и метиленразделенной системы двойных связей заставляет предъявлять особые требования к выбору реакций и к эксперименту. Поэтому синтез моноеновых, сопряженных диеновых и метиленразделенных диеновых и триеновых соединений описан в разных разделах.

В последнее время идентифицировано большое число алифатических ненасыщенных альдегидов, выделяемых чешуекрылыми. Их синтез проводится через соответствующие спирты и не описывается в специальном разделе. Однако среди феромонов жесткокрылых известен разветвленный альдегид — Z-14-метил-8-гексадеценаль. Синтез его в хиральной форме описан отдельно.

Насыщенные кетоны и оксикетоны представлены разветвленными алифатическими соединениями — это феромоны рыжего таракана и жука *Lasioderma serricorne*, а ненасыщенные кетоны — прямоцепочечны. К ним относится ряд феромонов чешуекрылых.

Алифатические кислоты и их эфиры представлены многими примерами феромонов. Среди них имеются и низкомолекулярные кислоты — валериановая, капроновая и эфиры высших жирных кислот, и уникальные вещества, такие как 2-метил-2-8-гексадеценная или 9-кето-Е-2-деценная

кислота, которые известны только в мире насекомых. В главе описан синтез лишь тех кислот, которые в других областях химии не встречались.

К феромонам насекомых относятся терпеновые соединения различной структуры: монотерпеновые спирты – феромоны короедов, сесквитерпеновые спирты и их эфиры – феромоны щитовок и шелкоунов. Наряду с известными спиртами, например гераниолом и фарнезолом, найдены новые терпеновые спирты. Среди феромонов насекомых имеются также терпеновые циклические спирты, Z- и E-вербенол, Z-2-изопропенил-1-метилциклобутил-этанол, Z-3,3-диметил- $\Delta^{1,\beta}$ -циклогексанэтанол и соответствующий альдегид. Эти структуры имеют большие различия, соединения важны для борьбы с хлопковым долгоносиком, поэтому синтез каждого из этих соединений представляет самостоятельный интерес и описан отдельно.

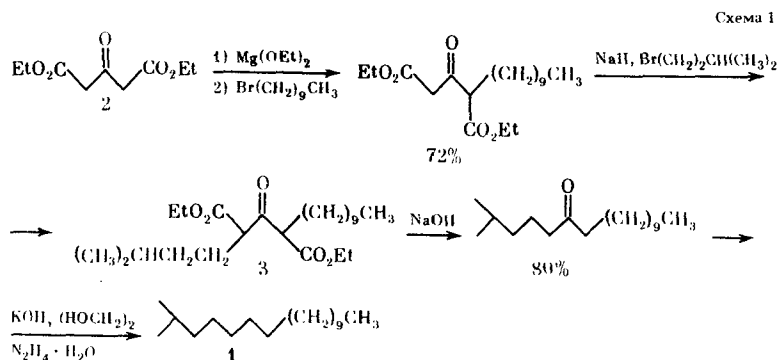
Гетероциклические соединения представлены в феромонах довольно широко. Особенности синтеза заставляют выделить в отдельные разделы моноциклические, бициклические, трициклические и спироциклические соединения.

АЛИФАТИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

Насыщенные углеводороды

Многие виды насекомых выделяют насыщенные углеводороды в качестве основного компонента феромона или как минорную добавку. Эти простые структуры не требуют специальных методов синтеза. Но встречаются и разветвленные насыщенные углеводороды, например: 2-метилгептадекан [539] – феромон бабочки-медведицы, 15,19-диметил-, 17,21-диметил- и 15,19,23-триметилгептатриаконтан – феромоны мух *Glossina morsitans morsitans* [2].

В синтезе разветвленных углеводородов для создания цепи нужной длины и определенного положения боковых цепей часто используют реакции Гриньяра и Виттига.



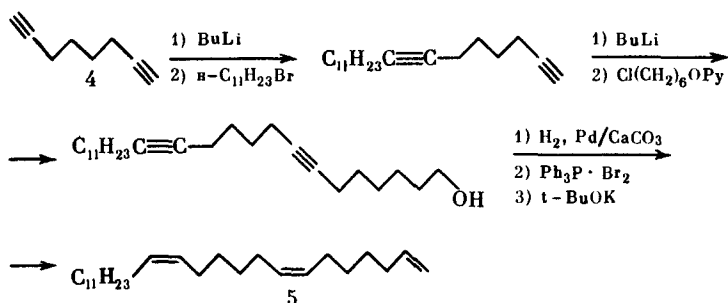
Однако, например, интересен синтез 2-метилгептадекана (1), включающий последовательное алкилирование диэтилового эфира кетоглутаровой кислоты (2) [15] (схема 1). Первое алкилирование децилбромидом проводят в присутствии алкоголята магния. Второе алкилирование изоамилбромидом хорошо проходит только в присутствии краун-эфира в толуоле. Декарбосилирование и восстановление кетона (3) приводят к 2-метилгептадекану.

Ненасыщенные углеводороды

Некоторые мухи выделяют ненасыщенные углеводороды с длиной цепи C_{20} – C_{33} , с различным количеством и положением двойной связи [18, 22]. При идентификации такие углеводороды синтезированы по реакции Виттига с использованием гексаметапола в качестве растворителя, чтобы достичь преимущественного образования Z-изомеров [527].

В связи с тем, что Z-9-трикозен (мускалур), феромон комнатной мухи, находит практическое применение, разработан целый ряд других методов его получения. Описан стереоспецифический метод синтеза Z-9-трикозена гидрированием с катализатором Линдлара соответствующего алкина, полученного алкилированием 1-литийалкинов галоидными алкилами [24, 44, 47]. Этим же методом получен Z,Z-1,7,13-пентакозатриен (5) для подтверждения структуры феромона, выделяемого мухой *Stomoxys calcitrans* [56] (схема 2). Реакция 1,7-октадиина (4) с ундецилбромидом направлена в моноприсоединение путем использования избытка диина (4).

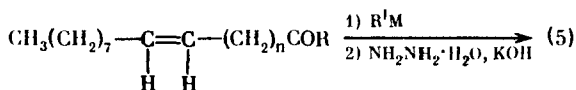
Схема 2



Для практических целей мускалур получен реакцией диспропорционирования непредельных углеводородов, 1-децена и 1-тетрадецена, в присутствии катализаторов – молибден-органических соединений. В реакции образуется смесь углеводородов C_{18} , C_{23} и C_{25} , из которой мускалур выделен фракционной дистилляцией с выходом 26% [2]. Аналогично диспропорционированием 9-октадецена и 2-гексадецена, а также 1-пентадецена и 1-децена в присутствии соединений ванадия и молибдена синтезированы 13-гептакозен, 13-нонакозен, 14-нонакозен, феромоны *Musca autumnalis* [57, 69, 70, 72]. Мускалур получают также электролизом олеиновой и энантовой кислот, но выход его невысок (14% на смесь получающихся углеводородов) [73, 87].

Синтез, пригодный для получения больших количеств мускалура, проходящий с высокими (70–86%) выходами, включает восстановление кетонов гидразингидратом в присутствии едкого кали в этиленгликоле. C_{23} -кетон получают либо из эруковой кислоты и метиллития, либо взаимодействием хлорангидридов других природных Z-ненасыщенных кислот с литий- или магнийорганическими соединениями [94, 96, 122, 134] (схема 3).

Схема 3



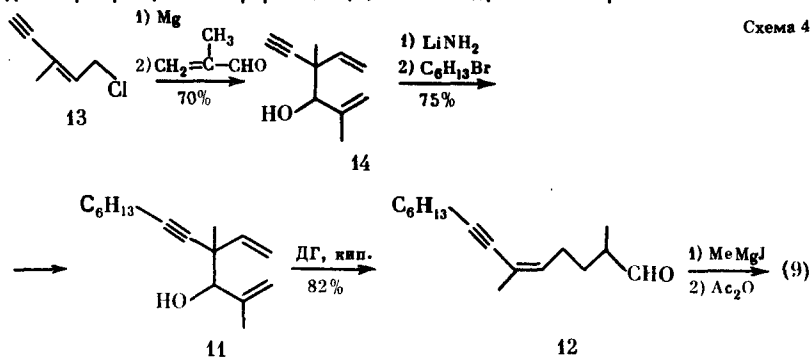
$\text{R} = \text{OH}, \text{Cl}; \text{R}^1 = \text{Me}, \text{Am}; \text{M} = \text{Li}, \text{Mg}; n = 11$

Из эруковой кислоты (C_{22}) мускалур получают также путем удлинения цепи на один углеродный атом [92, 136]. Подходящим сырьем для получения трикозена является также жидкий воск, который расщепляют, превращают в ненасыщенные галоген-углеводороды, содержащие C_{20} , и с пропилмагнийбромидом удлиняют цепь [138].

Насыщенные разветвленные спирты и их эфиры

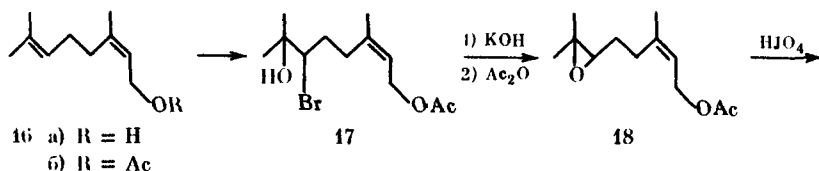
Среди этого класса соединений известны 4-метил-3-гептанол (6) — один из компонентов феромона жука *Scolytus multistriatus*, 10-метилдодecil-ацетат (7) — компонент феромонов нескольких видов листоверток, 3,7-диметил-2-пентадеканол (8), его ацетат (9) и пропионат (10) — соединения, выделяемые несколькими видами пилильщиков в качестве основных компонентов полового феромона.

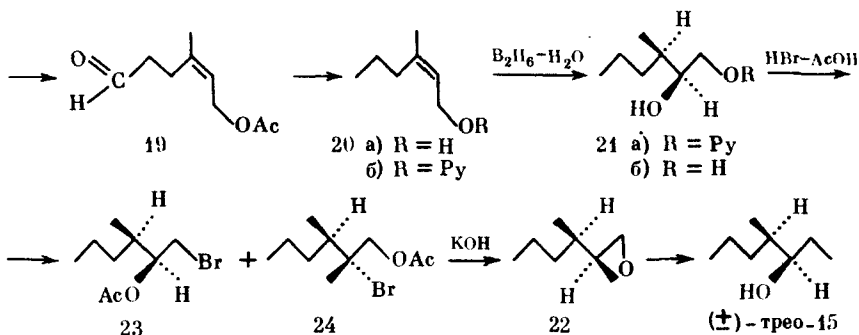
При получении рацемических смесей этих соединений для создания необходимой длины цепи использованы реакции Гриньяра [156, 165], алкилирование металл-производных галоидными алкилами [175] или синтез с малоновой кислотой [48]. Представляет интерес синтез ацетата (9), включающий перегруппировку ацетилен-диенового спирта (11) в альдегид (12) при кипячении в диглиме [78] (схема 4). Реактив Гриньяра, полученный из ацетилен-алленового хлорида (13), с метакролеином дает спирт (14), который легко алкилируется в спирт (11). После перегруппировки альдегид (12) реакцией с метилмагниййодидом и уксусным ангидридом превращают в феромон (9) пилильщика *Neodiprion lecontei*.



Наличие асимметрических атомов углерода в соединениях (6–10) обуславливает различия в биологической активности энантиомеров. Для доказательства конфигурации природных феромонов и изучения зависимости действия от конфигурации молекулы все стереоизомеры соединений (6–10) синтезированы стереоспецифическими методами. В ряде синтезов исходными соединениями являются хиральные терпеновые спирты [179–181], использованы также D- и L-винные кислоты [190, 202] и стереоспецифическое разделение рацемических смесей [205, 213, 228, 242, 502].

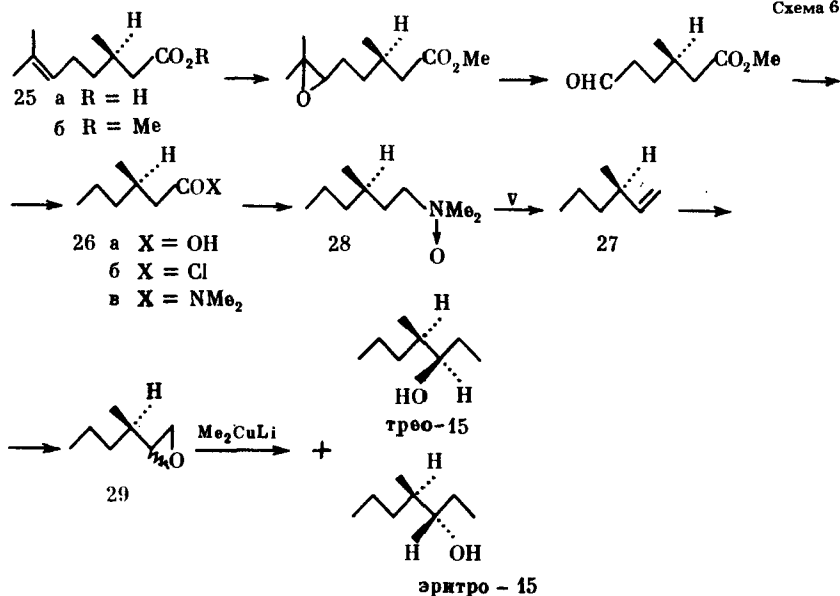
Схема 5





Для доказательства конфигурации природного феромона жука *Scolytus multistriatus* (±)-трео-изомер (15) синтезирован из нерола (16а), а (±)-эритро-15 — из гераниола (схема 5) [179]. Нерилацетат (16б) с N-бромсукцинимидом образует бромгидрин (17), который при последовательной обработке KOH и Ac₂O дает эпоксид (18). Окисление последнего HJO₄ приводит к распаду эпоксида в альдегид (19), который по Вольфу-Кижнеру восстанавливают в Z-3-метилгекс-2-ен-1-ол (20а). Ключевой стадией синтеза является стереоспецифическое гидроборирование—окисление непердельного спирта (20а). Гидроборирование проходит против правила Марковникова в цис-присоединение, поэтому при взаимодействии B₂H₆ со спиртом (20а) и при последующем окислении перекисью водорода образуется 2,3-трео-изомер (21). Его превращают в эпоксид (22) через ацетоксибромиды (23) и (24), которые обрабатывают щелочью в этиленгликоле. Эпоксид (22) с Me₂CuLi дает (±)-трео-4-метилгептан-3-ол (15), имеющий 94,5–98% оптической чистоты. Аналогично гераниол превращают в (±)-эритро-4-метилгептан-3-ол (15), 95,3–97% оптической чистоты. Путем сравнения времени удерживания синтезированных

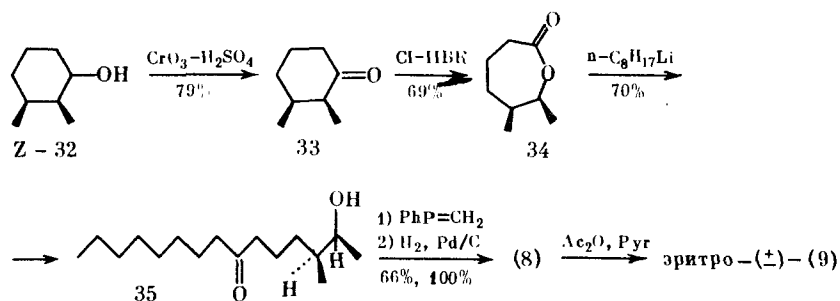
Схема 6



соединений и природного феромона показано, что вещество, выделенное из жуков *S. multistriatus*, является трео-изомером.

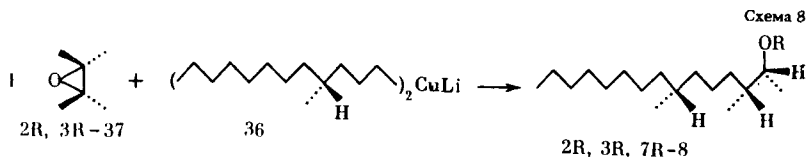
Для установления абсолютной конфигурации при C-3 синтезирован оптически активный 4-метил-гептан-3-ол, исходя из (R)-(\pm)-цитронелловой кислоты (25a) (схема 6) [179], которую превращают в кислоту (26a) аналогично схеме 5. Образование олефина (27) достигается пиролизом N-оксида (28), который получен из кислоты (26a) через хлорангидрид, амид и соответствующий амин (26в). Олефин эпоксируют м-хлор-надбензойной кислотой в R-(-)-эпоксид (29), который является диастерео-изомерной смесью. Раскрытие эпоксидного кольца с Me_2CuLi приводит к смеси (3R,4R)-трео- и (3S,4R)-эритро-изомеров (15), которые разделяют ГЖХ. На основании данных ГЖХ и измерения оптического вращения установлено, что природный феромон имеет (3S,4S)-конфигурацию. Синтез, приводящий только к одному природному (3S,4S)-энантиомеру (15), осуществлен из (2R,3S)-2-амино-3-метилгексановой кислоты (30), которая получена энзиматическим разделением рацемической кислоты [180]. Кислоту (30) через соответствующую оксикислоту (31) последовательностью реакций, описанных в схеме 5, превращают в (3S,4S)-15.

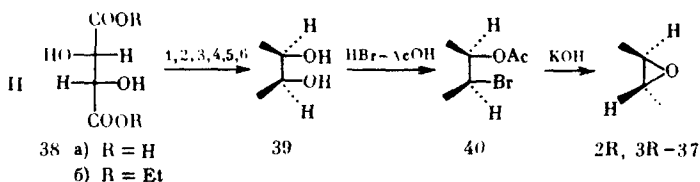
Схема 7



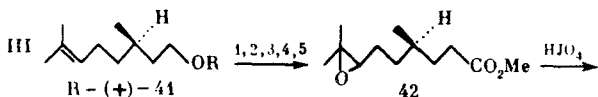
3,7-Диметилпентадекан-2-ол (8), его ацетат (9) и пропионат (10) — феромоны пилильщиков, имеют три асимметрических атома углерода. Синтез (\pm)-эритро-структуры [213, 228] (схема 7) позволил установить эритро-конфигурацию природного феромона. Коммерческий 2,3-диметилциклогексанол (32) дистилляцией разделяют на Z- и E-(32) и окисляют по Джонсу в кетон (33). Дальнейшее окисление приводит к лактону (34), который размыкают октиллитием в оксикетон (35). Далее реакцией с метилтрифенилфосфораном и каталитическим гидрированием получают (\pm)-эритроспирт (8) и его ацетат (9). Для выяснения конфигурации при C_7 синтезированы четыре возможных стереоизомера эритро-(9) и - (10) [190, 202] (схема 8). Ключевой стадией в синтезе является $\text{S}_\text{N}2$ -атака хирального органомедного реагента (36) на хиральный эпоксид (37), которая приводит к [2R, 3R, 7R] (8). Эпоксид [2R, 3R] (37) синтезируют из D-(-)-винной кислоты.

Схема 8

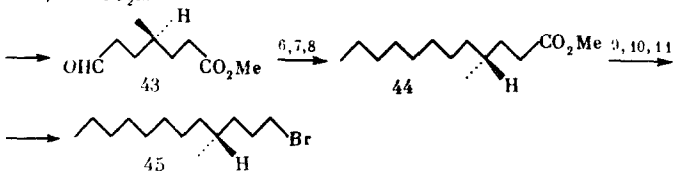




1) C₂H₅OH, H⁺; 2) Me₂CO, H⁺; 3) LiAlH₄; 4) TsCl; 5) NaJ; 6) H₂, Pd/C



a) R = H; б) R = Ts;
6) R = CN; г) R = CO₂H;
д) R = CO₂Me



1) TsCl; 2) NaCN; ДМСО; 3) OH⁻; 4) CH₂N₂; 5) Cl-НВК; 6) NaBH₄;
7) TsCl; 8) (n-C₅H₁₁)₂CuLi; 9) LiAlH₄; 10) TsCl; 11) LiBr

Этиловый эфир (386) через ацетонид последовательными реакциями восстановления, тозилрования, превращения тозилата в йодид и гидрирования превращают в диол (39), который через ацетокси-бромид (40) переводят в эпксид (37). Реакция соединения (40) со щелочью идет с Вальденовским обращением, образуется [2R, 3R] (37). Аналогичным путем из L-(+)-винной кислоты получают эпксид [2S, 3S] (37). Вторую часть молекулы синтезируют из R-(+)-цитронеллола (41a), который последовательными реакциями, показанными на схеме (8), превращают в эпксид (42). Окисление эпксида надйодной кислотой приводит к альдегиду (43). Его переводят в тозилат, который с диамилмедьлитием дает эфир (44), его восстанавливают в спирт, тозилируют и превращают в R-(-)-1-бром-4-метилдодекан (45). S-(+)-энантиомер (37) синтезирован проще, из тозилата (416), обработкой дигексилмедьлитиевым реагентом, последующим озонированием олефина, восстановлением и введением галогена, аналогично схеме 8.

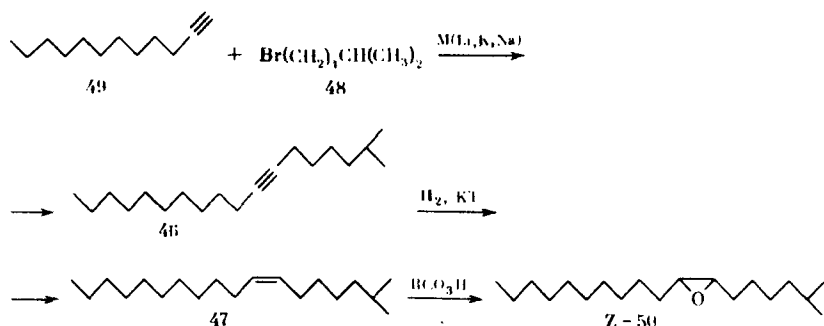
Сочетанием эпксилов (37) и S-галогенидов (45) реакцией, указанной выше, получены все энантиомеры эритро-(8), 98% оптической чистоты. По схеме, аналогичной получению бромида (45), из R-(+)- и S-(-)-цитронеллола синтезирован ацетат (7) [181].

Насыщенный эпксид

В настоящее время известен один насыщенный эпксид с феромонной активностью, 2-метил-цис-7,8-эпксиоктадекан, аттрактант непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки (диспарлур). Практическая полезность этого соединения вызвала большой интерес к его синтезу. Описано несколько подходов к получению диспарлура. Целый ряд авторов использовали воз-

возможность получения дизамещенных алкинов (46) (схема 9), с последующим стереоспецифическим гидрированием и эпоксицированием олефина (47). Подробно изучены и описаны в различных вариантах все стадии синтеза.

Схема 9



Исходный изогептилбромид (48) получен из изогептена гидробромированием в присутствии перекисных соединений [243, 249] или реакцией гидроборирования—окисления с последующей обработкой полученного спирта трехбромистым фосфором [264]. В первом случае наблюдается образование вторичного бромида в количестве от 5 до 22%, который участвует в дальнейших превращениях и в виде 2,6-диметил-цис-7,8-эпоксигептандекана присутствует в диспарлуре. Однако, как экспериментально показано, он не влияет на биологическую активность [243] при содержании до 3–5%. Реакция гидроборирования—окисления изогептена приводит к изомерно чистому первичному бромиду [264] с 70%-ным выходом. Изогептилбромид синтезируют также бромированием изогептанола, который в свою очередь получают либо реакцией металл-изоамила с окисью этилена [282, 283], либо взаимодействием защищенного пропаргильного спирта и изобутана с последующим гидрированием [294, 298] полученного спирта. При этом взаимодействие изоамилмагнийбромида с окисью этилена приводит к смеси бромгидрина и изогептилового спирта. Более направленно (не более 1% примесей) идет реакция с изоамиплатием.

1-Додецин (49) получают из бромистого децила с ацетиленидом лития, причем металлизирование ацетилена проводят в жидком аммиаке, а для алкилирования металл-ацетилена с выходом до 70% приходится заменять аммиак полярным растворителем, например диметилформамидом, гексаметаполом, диоксаном.

Однако самой сложной стадией в процессе получения диспарлуря является построение цепи C_{19} . Поэтому разработан ряд вариантов этой реакции. При проведении металлизирования додецина метилсульфинилметилдом натрия и реакции алкилирования в ДМСО получают 2-метилоктадецин с выходом 20,8% [282], металлизирование 1-додецина растворами бутиллития в гексане и последующее алкилирование в диглиме приводят к (46) с 50%-ным выходом [298], а в смеси гексаметапола с тетрагидрофураном — с 80%-ным выходом [324]. Получение 1-литийдодецина через соответствующее ртуть-органическое соединение и последующее алкилирование в диглиме приводит к алкину (46) с 50%-ным выходом [425]. Наиболее устойчивые и воспроизводимые выходы дизамещенного алкина 40–60% достигаются при металлизировании додецина свежеприготовленными амидами натрия, лития или калия в жидком амми-

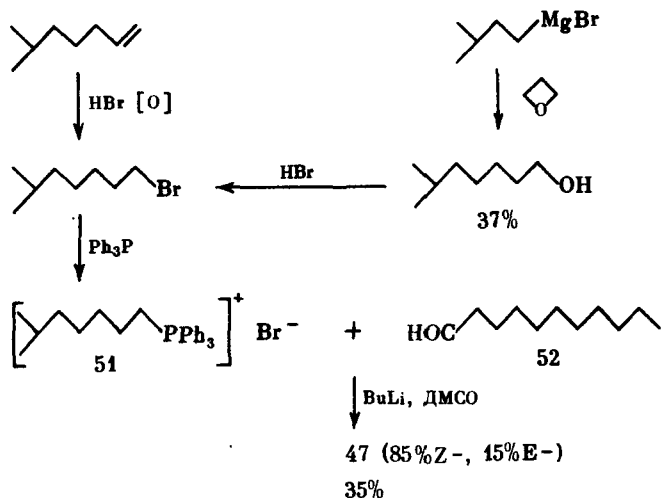
аке с последующей заменой аммиака на апротонный полярный растворитель (гексаметапол, диглим, тетрагидрофуран, диметилформамид) [283, 294, 396, 409].

Стереоспецифическое гидрирование 2-метилоктадецина осуществляется с катализатором Линдлара. Однако катализатор работает неустойчиво. Часто процесс проходит очень медленно, иногда его не удается довести до конца, кроме того, наряду с цис-олефином образуется в значительных количествах транс-изомер. Более устойчиво и стереоселективно проходит гидрирование с катализатором P2-Ni (комплекс восстановленного коллоидного никеля). В этом случае примесь 2-метил-транс-7-октадецена не превышает 0,5% [243, 249].

Восстановление алкина в транс-алкен (E-47) металлами в жидком аммиаке не проходит вследствие плохой растворимости. Лишь при восстановлении алкина (46) LiAlH_4 в диглиме в жестких условиях (140°C , 48 ч) удается получить 2-метил-E-7-октадецен с примесью 6–7% исходного алкина [324].

Эпоксидирование проводят надкислотами (моноадфталевой, надбензойной). Высокий выход эпоксиды (50) дает п-карбометоксинадбензойная кислота [399]. По указанной выше схеме получен также меченый тритием диспарлур [324].

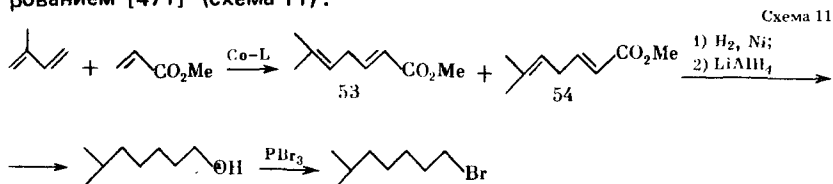
Схема 10



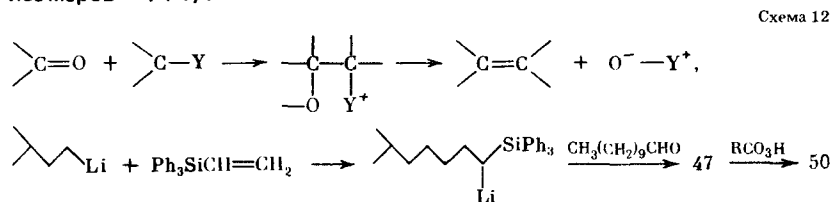
Короткий путь получения олефинов олефинированием по Виттигу привлек многих авторов [443, 541], и диспарлур был синтезирован по схеме 10. Однако взаимодействие алкилиденфосфоранов с альдегидами часто проходит нестереоспецифично. Так, получение изооктилиденфосфорана реакцией фосфониевой соли (51) с бутиллитием в ДМСО и ДМФА [443, 471] и дальнейшая реакция с ундеканалем (52) приводит к 2-метил-7-октадецену (47), содержащему 85% цис- и 15% транс-изомеров. С целью увеличения стереоспецифичности реакции Виттига при получении диспарлур применены различные щелочные агенты для образования фосфорилида: этилат натрия, третбутилат калия, этиламид лития, раствор калия в гексаметаполе. Однако полученный олефин (47) во всех случаях содержал 5–12,5% транс-изомера [471, 492], лишь при использовании бис-(триметилсилил)-амида лития в гексаметаполе [496] полу-

чен с 75%-ным выходом 2-метил-*Z*-7-октадецен, содержащий не более 2% *E*-изомера. По-видимому, на стереоспецифичность реакции Виттига большее влияние оказывает полярность растворителя, чем щелочной агент, вследствие сольватации и пространственной ориентации.

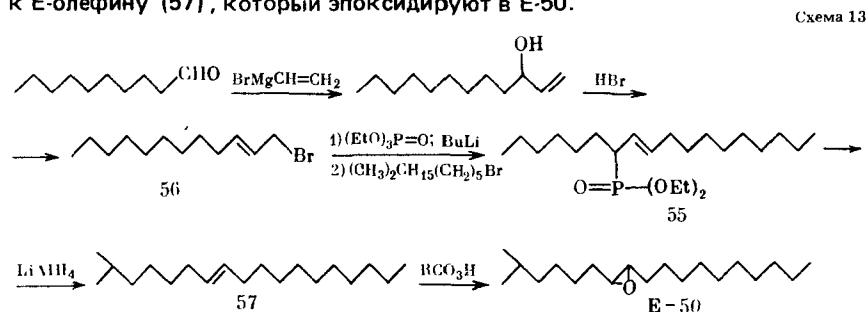
Исходный изооктилбромид не является доступным, поэтому предложены различные способы получения его. Изооктилбромид получают гидробромированием 6-метил-1-гептена с 66%-ным выходом [443] или реакцией Гриньяра из изоамилбромида и оксетана с 37%-ным выходом [492] с последующим бромированием соответствующего спирта, или четырехстадийным синтезом, основанным на содимеризации изопрена с метилакрилатом с последующим гидрированием ненасыщенных эфиров кислот (53 и 54) на Ni-катализаторе, восстановлением их в спирты (55) и бромированием [471] (схема 11).



Если в реакции Виттига построение алкена осуществляется по основному общему уравнению (схема 12), где $Y = PR_3^+$, то образование карбанионов может быть достигнуто и с помощью других агентов ($Y = SONR_2$) [232], SiR_3 [540]. Последняя реакция использована для синтеза диспарура [541] по схеме 12. Выполнение этих реакций осуществляется последовательным прибавлением реагентов, без выделения промежуточных металлоорганических продуктов. Однако алкен образуется с выходом не более 50%, и реакция нестереоспецифична (соотношение *цис*: *транс*-изомеров = 1 : 1).



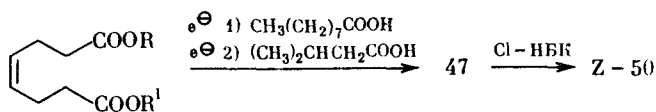
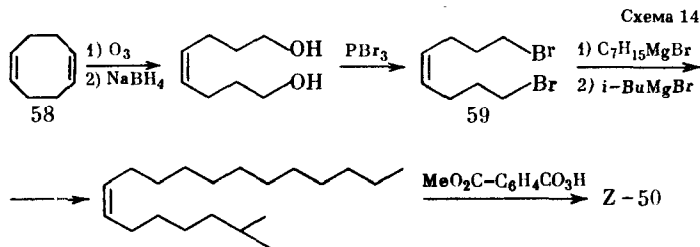
Алкилирование фосфоната (55) позволяет получить изомерно чистый *E*-7, 8-эпокси-2-метилоктадекан по схеме 13 [542]. Фосфонат (55), полученный из бромида (56) и триэтилфосфита, алкилируют изогептилбромидом (48). Восстановление (55) алюмогидридом лития приводит к *E*-олефину (57), который эпоксидируют в *E*-50.



Высокостереоспецифичным является синтез диспарлур, исходя из Z-1,5-циклооктадиена (58), последовательные превращения которого, показанные на схеме 14 [543–545], проходят без изменения конфигурации, по мнению авторов, основанному на данных ИК- и ЯМР-спектров [543]. Общий выход диспарлур по этой схеме 25%, считая на 1,5-циклооктадиен. Лимитирующими стадиями является реакция Гриньяра дибромида (59) с гептил- и изобутилмагнийбромидом. Авторам удалось изменением соотношения реагирующих веществ и последовательности прибавления реагентов достигнуть достаточно высокого выхода (70%) 1-бром-дис-4-пентадецена, образующегося при моноалкилировании дибромида (59).

Озонолиз циклооктадиена с последующим окислением и этерификацией приводят к эфиру (60б), который в виде моноэфира (60в) электролизом последовательно с пеларгоновой и изовалериановой кислотой превращают в олефин (47) с общим выходом 9,3% [546].

Диспарлур синтезирован также диспропорционированием 7-метилоктена-1 и додецена-1 [547] в присутствии гомогенных молибден- и вольфрам-органических катализаторов в комбинации с алюминийорганическими соединениями. Однако этот метод дает смесь продуктов, в которых содержание 2-метил-7-октадецена варьирует от 6 до 26%. Поэтому, несмотря на простоту, этот метод не имеет практического значения.

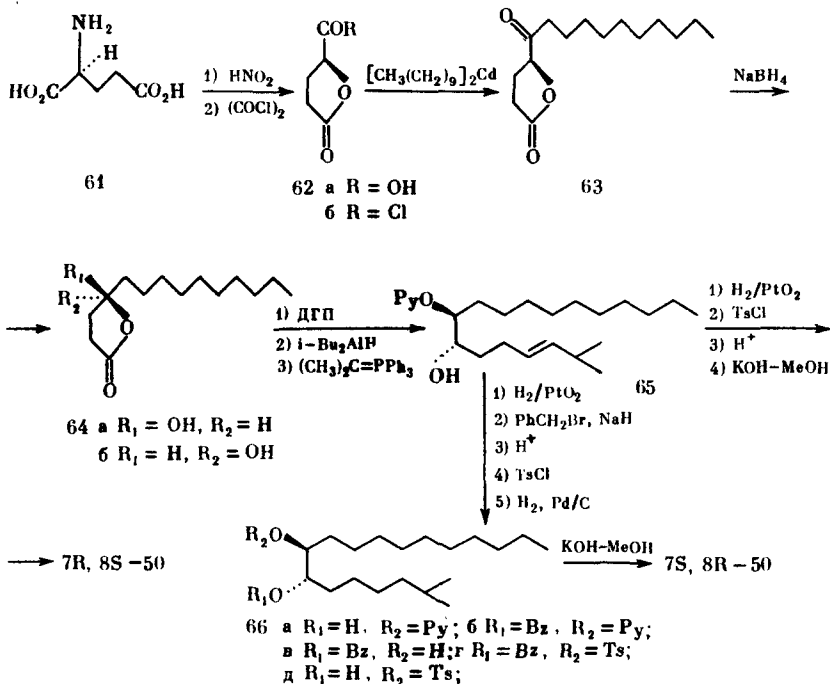


- 60 а R = R' = H
 б R = R' = Me
 в R = H, R' = Me

Диспарлур имеет два асимметрических центра (C₇ и C₈). При существовании Z-конфигурации эпокси-группы число энантиомеров ограничивается двумя. Для установления конфигурации природного феромона и сравнения активности рацемического диспарлур и энантиомеров осуществлен ряд синтезов 7R, 8S- и 7S, 8R-2-метил-дис-7,8-эпоксиоктадекана, исходя из S-(+)-глутаминовой кислоты [548], из (2R, 3R)-трео-винной кислоты [549, 550]. S-(+)-глутаминовую кислоту (61) дезаминируют азотистой кислотой (схема 15) в лактон (62а). Эта реакция протекает с сохранением конфигурации, лактон должен быть S-конфигурации. Он превращен обработкой оксалилхлоридом в соответствующий хлорангидрид (62б), который с дидецил кадмием дает кето-лактон (63) с выходом 34%. Восстановление (63) боргидридом натрия приводит к 81% смеси диастереоизомеров (64а,б). Каждый диастереоизомер (64) вы-

делен в чистом виде препаративной ТСХ и перекристаллизацией, конфигурация каждого установлена с помощью масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии. В (4S, 5S)-5-оксипентадекан-4-олиде (64а) ОН-группу защищают тетрагидропиранильным остатком, восстанавливают диизобутилалюминийгидридом с выходом 94% в лактол, который по Виттигу с изобутилидендифенилфосфораном дает 77% алкена (65). Последовательные реакции гидрирования, тозилрования, снятия пирановой защиты и замыкания эпиксидного кольца приводят к 7R, 8S-диспарлuru. Из насыщенного соединения (66а) получают 7S, 8R-изомер с помощью реакций бензилирования, снятия тетрагидропиранильной защиты, тозилрования и каталитического дебензилирования и эпоксидирования. Полученный 7R, 8S-диспарлур загрязнен 5,6% примеси энантиомера (схема 15).

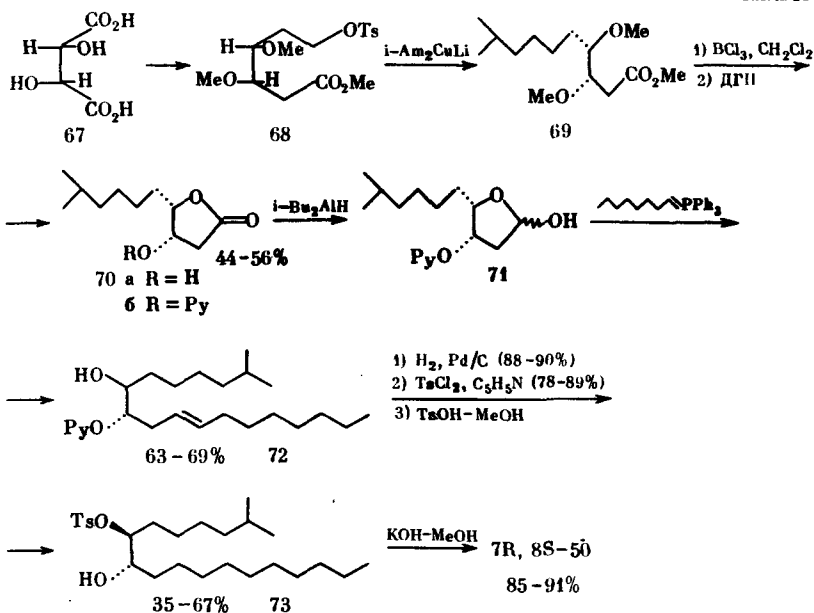
Схема 15



Более стереоспецифичным является синтез на основе 2R, 3R-трео-винной кислоты (67) (схема 16). Все стадии его проходят с достаточно высокими выходами, и авторам удалось получить более 5 г (7R, 8S)-(+)-диспарлuru. L-(+)-винную кислоту (67) по ранее разработанному методу [551] превращают в тозилат (68), который с изоамиллитийкупратом дает эфир (69) с выходом 54–65%. Деметилирование (69) BCl_3 в дихлорметане приводит к оксилактону (70а) (выход 44–56,5%). После защиты гидроксильной группы и восстановления получают лактол (71). Реакция Виттига между ним и октилиденфосфораном приводит к олефину (72) с выходом 63–69%. Гидрированием (72) и тозилрованием после снятия пирановой защиты получают тозилловый спирт (73), оптическая чистота которого превышает 98%. Из него получают 7R, 8S-(+)-

диспарлур. (-)-Диспарлур синтезируют аналогично, изменением порядка введения алкильных групп. Сравнение биологической активности [548] энантиомеров позволило предположить, что 7R, 8S-(+)-диспарлур по конформации соответствует природному феромону (схема 16).

Схема 16



Недавно описан способ, пригодный для получения больших количеств диспарлур [552], использующий асимметрическое эпоксирирование аллильных спиртов трет-бутил-гидроперекисью в присутствии тетраизопропокси-титана и D (-) - или L (+) - дигиталартаратов.

Ацетаты алифатических моноеновых спиртов

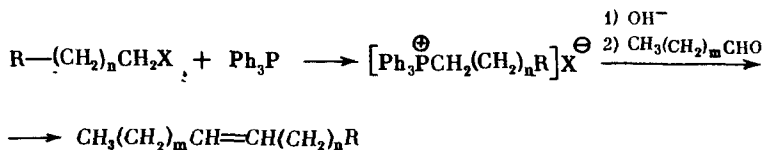
Большое количество феромонов чешуекрылых относится к моноеновым спиртам, их ацетатам и моноеновым альдегидам. Многие из них находят практическое применение. Поэтому этот класс веществ привлекает большое внимание химиков. Синтез указанных соединений осуществлен как для подтверждения структуры и эмпирического поиска аттрактантов, так и для практического использования.

В связи с известными фактами ингибирования биологической активности близкими по структуре к феромону примесями, в том числе и геометрическими изомерами, для синтеза моноеновых алифатических соединений используют стереоселективные методы. Однако, как будет показано ниже, ни один из методов не позволяет получить моноеновые кислоты, спирты или ацетаты без примесей противоположного изомера. Поэтому при необходимости получить изомерно чистое вещество используют специальные методы очистки: адсорбционная хроматография на аргентированных сорбентах, препаративная жидкостная и газожидкостная хроматография, получение соединений включения с мочевиной.

Многие синтезы феромонов — моноеновых алифатических соедине-

ний — основаны на реакции Виттига. Возможность регулирования стереонаправленности этой реакции внешними факторами делает заманчивым синтез моноеновых кислот, спиртов и их ацетатов взаимодействием фосфорилидов с альдегидами (схема 17) [6, 90, 98, 140, 201, 225, 270, 464, 553—571]. Использование в реакции Виттига полярных растворителей приводит преимущественно к цис-олефинированию [90, 270, 553].

Схема 17

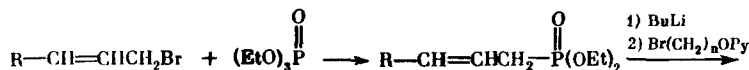


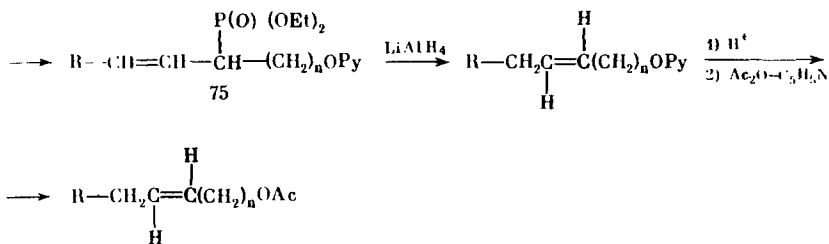
$\text{R} = -\text{OH}, \text{OCOCH}_3, \text{CO}_2\text{H}, \text{CO}_2\text{CH}_3, \text{CO}_2\text{C}_2\text{H}_5$
 $n = 4-12, m = 1-5$

Подробные исследования влияния растворителей на образование фосфорилидов из фосфониевых солей ω -галоидалкановых кислот и на взаимодействие илидов с альдегидами показали [554, 555], что скорость образования фосфорилидов увеличивается с увеличением сольватирующей способности растворителей в ряду $\text{Bu}_2\text{O} < \text{Et}_2\text{O} < \text{диглим} < \text{ТГФ} < \text{ДМСО} < \text{ГМФТ}$. Если в эфирных растворителях образование фосфорилида при $65-70^\circ$ проходит на $80-90\%$ за период от одного до двух часов, то в ДМСО и ГМФТ — за $10-15$ мин при $20-22^\circ$ с выходом $94-100\%$. В этом же ряду увеличивается устойчивость фосфорилидов и стереонаправленность реакции Виттига. В слабосольватирующих растворителях образуется от 10 до 45% транс-изомера, а в сильносольватирующих происходит преимущественное ($94-98\%$) образование цис-олефиновых кислот. Высокая стереоспецифичность реакции Виттига наблюдается при использовании фосфорилидов в виде растворов, свободных от галоидных солей. Это достигается применением амида натрия или бис-триметилсилиламида натрия в качестве оснований при получении фосфорилидов [556—558, 566, 568] и низкой температуры при взаимодействии илидов с альдегидами [557, 558, 566, 568]. Однако и в этом случае образуется $2-5\%$ Е-изомера. При получении же фосфорилидов с алкоглятами натрия в спирте образуется смесь изомеров в соотношении примерно $1:1$ [564].

В качестве компонентов для получения фосфониевых солей используют галоидные алкилы [225, 559—561], ω -галоидалканолы [201, 270, 559], алкокси- ω -галоидалканы [98, 6, 225, 553], ω -галоидалкановые кислоты [554, 555] или их эфиры [90, 140, 558, 562]. Выход и стереоспецифичность реакции Виттига не зависят от типа этих соединений, за исключением использования ω -галоидалкилацетатов, которые при олефинировании дают лишь 25% -ный выход [464]. При выборе того или иного компонента авторы руководствуются факторами доступности и удобства обращения, возможностью очистки фосфониевых солей, растворимостью и т.д. В качестве альдегидного компонента используются соответственно альдегиды, альдегидоспирты, альдегидокислоты.

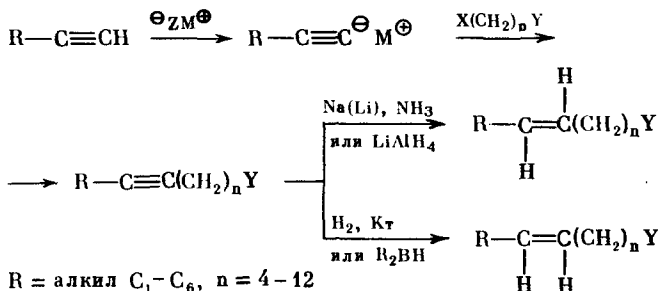
Схема 18





Для получения E-моноеновых спиртов и ацетатов используют алкилирование фосфонатов (схема 18) [563, 565, 567]. Аллильные галоидпроизводные реагируют с триэтилфосфитом с образованием аллилфосфоната (74), который металлируется бутиллитием по α-С-атому и затем алкилируется галоидными соединениями (схема 18). Дизамещенный фосфонат (75) реагирует с алюмогидридом лития с образованием E-двойной связи у атома углерода, соседнего с фосфонатной группой, и с восстановлением имеющейся двойной связи. После снятия защиты гидроксильной группы и ацетилирования получают E-моноеновые ацетаты спиртов, без примеси Z-изомеров.

Схема 19



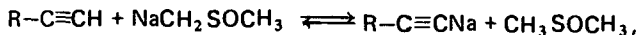
R = алкил C₁-C₆, n = 4-12

ZM = NaNH₂, LiNH₂, BuLi

Y = Hal, OPy, CO₂H; X = Hal

Часто при исследованиях синтеза алифатических моноеновых соединений — половых феромонов насекомых используют способность монозамещенных ацетиленов металлироваться и алкилироваться с образованием дизамещенных ацетиленов, которые стереонаправленно восстанавливаются в цис- или транс-алкеновые соединения (схема 19) [4, 46, 54, 154, 164, 572-590]. Металлирование амидом натрия или лития и последующее алкилирование часто проводят в жидком аммиаке [4, 164, 569, 572, 573, 587]. Избирательная реакционная способность галоидов при алкилировании в жидком аммиаке позволяет использовать йод-хлоралканы. При этом хлор не реагирует с металл-замещенными ацетиленами и используется для дальнейших превращений [164, 572; 573]. Однако выход в этой реакции часто низок, он уменьшается с удлинением цепи как монозамещенного алкина, так и алкилирующего агента, вероятно вследствие ухудшения растворимости реагирующих компонентов в жидком аммиаке, а также из-за побочных реакций: дегидрогалогенирования, аммонолиза [574]. Для повышения выхода аммиак удаляют и заменяют полярным растворителем: диоксаном [46, 575], ТГФ, гексаметилфосфортриамидом (гексаметапол) или смесью ТГФ с гексаметапо-

лом [54, 154]. Со средними выходами проходит алкилирование 1-металлалкинов в диметилсульфоксиде (ДМСО), в этом случае металлизация осуществляется метилсульфинилметилдом натрия [576–579]. Невысокий выход объясняется равновесием реакции



которое смещено в сторону ацетиленида натрия лишь для R-H, а с увеличением цепи все больше смещается в сторону димсил-натрия. Хорошие результаты дает введение этинильной группы реакцией комплекса ацетиленида лития с этилендиамином в ДМСО даже с ω -хлоралканами [580–582]. Наиболее стабильно в мягких условиях и с высоким выходом (75–90%) указанные выше реакции проходят при металлизации монозамещенных алкинов бутиллитием и алкилировании в гексаметаполе или в смеси гексаметаполя с тетрагидрофураном [583–586]. Ограничением применения гексаметаполя является канцерогенность.

Если для алкилирования берут ω -галоидгидрины, то гидроксильную группу защищают реакцией с 1,2-дигидропираном [54, 569, 580–582, 585]. Снятие защиты проводят либо кислым гидролизом [569], либо из тетрагидропиранокси-производных, сразу получают ацетаты реакцией с хлористым ацетилом в уксусной кислоте [46, 54, 575, 579, 581, 585]. В случае использования галоидгидринов без защиты гидроксильной группы в реакцию берут двухкратный избыток ацетиленида металла, причем 1 моль его идет на образование алкоголята [588]. Используют также силильную защиту спиртов [589] или ацетальную – при алкипировании галоидальдегидами [590].

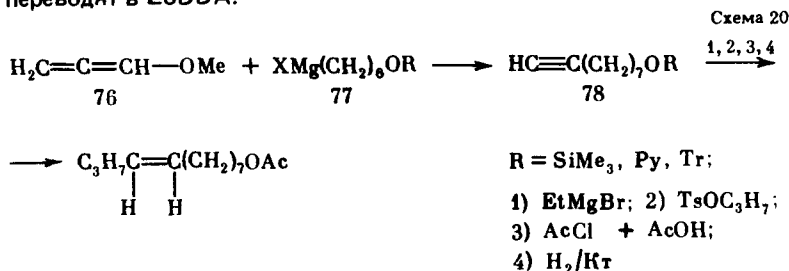
Описан твердофазный синтез моноеновых спиртов, в котором для защиты гидроксила использованы полимеры, содержащие тритил-хлоридные группы [591–597]. Полимерным носителем является дивинилбензол-стирольный сополимер. Твердофазный синтез использует как реакцию Виттига, так и взаимодействие с 1-металлалкинами.

Стереоспецифическое превращение тройной связи в Z-или E-двойную достигается либо каталитическими методами, либо химическим восстановлением. Гидрирование дизамещенных алкинов с катализатором Линдлара дает алкены с варьирующимся (от 1% до 50%) содержанием транс-изомеров [164, 575, 598, 599]. Количество транс-изомера зависит от времени нахождения цис-олефина на поверхности катализатора [600]. На катализаторе происходит и перемещение двойной связи. Причем позиционную изомеризацию в основном претерпевает транс-изомер. Более стабильные результаты дает гидрирование с катализатором P2-Ni. Примесь транс-изомера не превышает обычно 2% [598, 601, 602]. Высоко стереоселективным является химическое восстановление реакцией гидроборирования [572, 573].

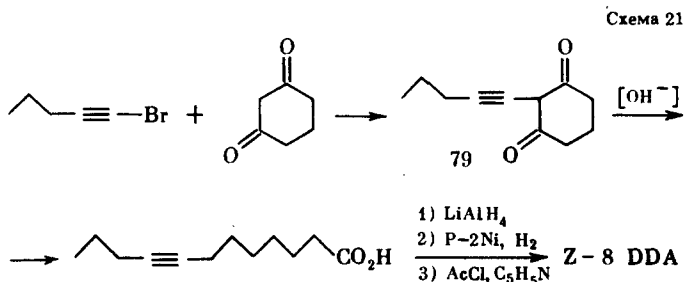
Транс-изомеры получают восстановлением алкинов натрием или литием в жидком аммиаке. Однако для соединений с длиной углеродной цепи более C₁₂ эта реакция идет очень медленно и обычно не доходит до конца вследствие плохой растворимости в жидком аммиаке [603]. Стереоселективно и полно проходит восстановление изолированной тройной связи алюмогидридом лития в смеси тетрагидрофуран – диглим [604].

Некоторые феромоны синтезируются взаимодействием по Гриньяру тозилатов [605] или алкенилгалогенидов [606, 607] с магнийбромпроизводными алканоллами, в которых гидроксильная группа защищена тетрагидропиранильным или силильным остатком. В реакции не происходит изомеризации двойной связи.

Например, для получения Z8DDA использована реакция метоксипалена (76) с реактивом Гриньяра (77) [608] (схема 20), которая приводит к защищенному алкинолу (78). Известными превращениями (78) переводят в Z8DDA.

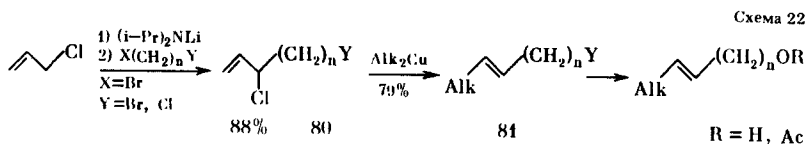


Иногда для создания необходимой длины цепи используют способность некоторых циклических соединений размыкаться в алифатические. Так, для синтеза Z8DDA применено алкилирование циклогексан-1,3-диона 1-бромгекс-2-ином с последующим расщеплением продукта алкилирования (79) щелочью. Полученная ацетиленовая кислота известными реакциями превращена в ацетат (схема 21) [609].



Некоторые природные вещества дают возможность получать феромоны простыми превращениями. Например, цис-9-тетрадецилацетат — компонент феромонов многих видов чешуекрылых — получают из метилового эфира миристолеиновой кислоты восстановлением алюмогидридом лития и ацетилированием [5]. Удлинение цепи некоторых доступных феромонов позволяет получать новые вещества [610].

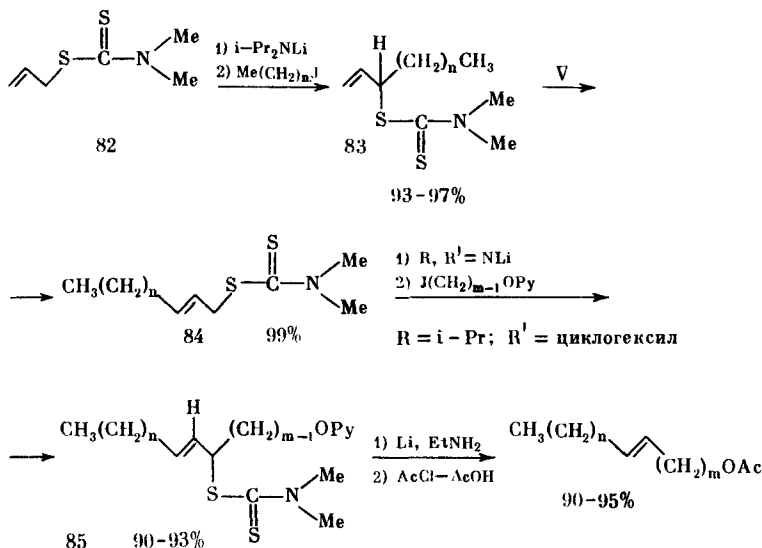
Озонолиз олеилхлорида приводит к 9-хлорнонаналу, который используют для получения Z11TDAL, удлиняя цепь реакцией Гриньяра с 1-хлор-2-пентеном [611, 612].



Алкилнитрилы, аллильные галогениды и дитиокарбаматы легко металлруются по α-углеродному атому и затем алкилируются алкилгалогенидами. Эти реакции применены для синтеза Z- и E-алкенолов и их аце-

татов [613–615] (схема 22). Так, аллилхлорид (схема 22) с диизопропиламидом лития дает карбанион, который алкилируется дигалоидалканами с высоким выходом. Обработка полученного алленового хлорида (80) дипропил- или диметилмедными реагентами приводит к соответствующим Е-алкенгалогенидам (81), которые легко превращаются в Е-алкенолы или ацетаты.

Схема 23



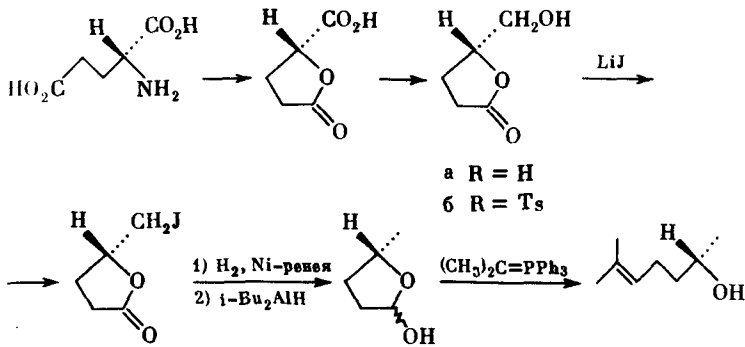
Сигматропная перегруппировка дитиокарбаматов дает возможность синтезировать транс-алкенолы с высоким выходом и высокой стереоспецифичностью по схеме 23 [613]. Аллильный дитиокарбамат (82) металлируют диизопропиламидом лития по α -С-атому и алкилируют иодистыми алканами. Полученный дитиокарбамат (83) при кипячении в хлороформе в течение трех часов претерпевает перегруппировку. Соединение (84) может снова металлизироваться и алкилироваться в дитиокарбамат (85). Удаление дитиокарбаматной группы достигается литием в этиламин или натрием в аммиаке.

Использована реакция диспропорционирования ω -ненасыщенных ацетатов между собой или с алкенами в присутствии вольфрамовых солей и станнуморганических соединений. Полученная смесь содержит 36% алкенилацетатов нужной длины цепи [616].

Разветвленные моноеновые спирты

Непредельный спирт — 6-метил-5-гептен-2-ол, названный сулкатолом, в виде смеси энантиомеров в соотношении (65 : 35) идентифицирован как агрегационный феромон жуков *Gnathotrichus sulcatus* LeConte.

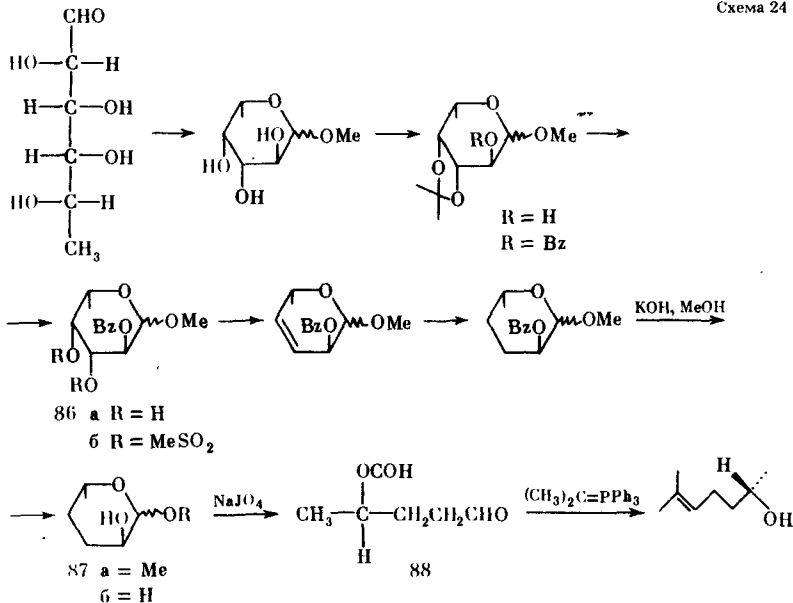
Синтез R- и S-форм сулкатола осуществлен из оптически активной глутаминовой кислоты [617]. R-(–)-глутаминовую кислоту известным методом [618] превращают в оксилактон (схема 23а).



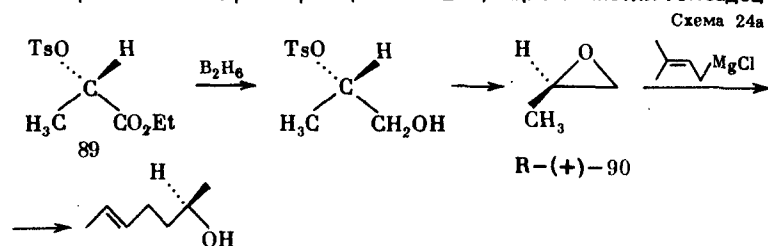
Тозилирование лактона, обменная реакция с LiI и гидрирование с Ni-Ренея приводит к лактону, который восстанавливают диизобутилалюминийгидридом в лактол. Взаимодействием лактола с изопропилидентрифенилфосфораном получают (S)-(+)-сулькатол. Такой же последовательностью реакций из S-(+)-глутаминовой кислоты получают R-(-)-сулькатол.

Чистые энантиомеры сулькатаола синтезированы также из углеводов, отвечающих по структуре стереохимическим требованиям R- и S-сулькатаола: из L-фукозы и 2-дезоксид-рибозы. S-конфигурация при C₅ L-фукозы использована для получения хирального центра при C-2 в S-сулькатаола (схема 24) [619]. L-Фукозу превращают в пиранозид. После введения изопропилиденной и бензоильной защиты 2,3-двойную связь вводят отщеплением 2,3-диоксигруппы через димезитат (86). Удаление бензоильной защиты метанольным KOH сопровождается гидролизом с образованием пиранозы (87б), которую окисляют периодатом натрия в пентозу (88) и реакцией Виттига переводят в S-сулькатаол. Такой же последовательностью реакций из R-фукозы получают R-сулькатаол.

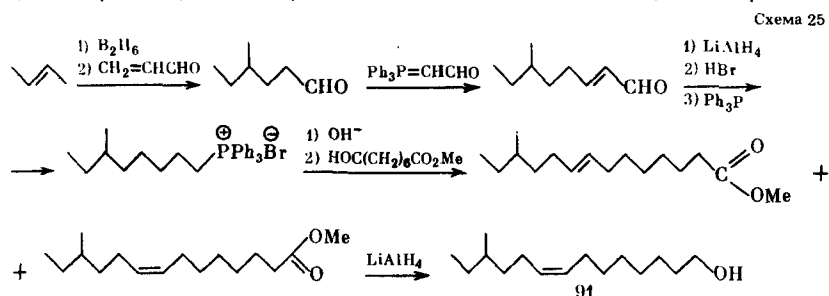
Схема 24



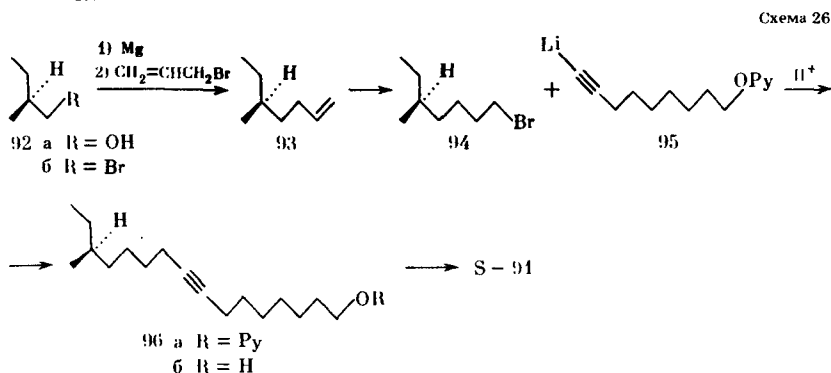
Описанные методы дают возможность получить лишь небольшие количества синтетического феромона, пригодного для биологических исследований. Более простой и короткий синтез, позволяющий получать большие количества сульфатола, осуществлен из S-(-)-этиллактата (89) [620], который восстанавливают дибораном и ферментативным синтезом превращают в (R)-(+)-метилоксиран (90), а его алкилируют аллильным реактивом Гриньяра (схема 24а). Цис-14-метил-гексадец-8-ен-1-ол



(91) является одним из компонентов половых феромонов жуков семейства Trogoderma. Для подтверждения структуры при идентификации спирт (91) синтезирован по схеме 25 [345, 621], в которой после-



довательное удлинение углеводородной цепи проводят с помощью реакции Виттига. Z- и E-изомеры разделены ТСХ на аргентированном силикагеле.



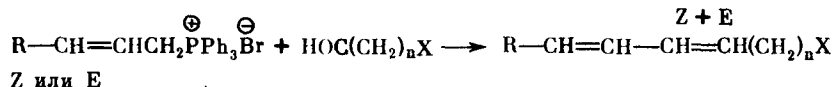
Для установления абсолютной конфигурации природного феромона осуществлен стереоспецифический синтез энантиомеров спирта (91) из (S)-(-)-2-метил-бутан-1-ола (92а) (схема 26) [622, 623]. (S)-(-)-2-метилбутанол (92а) обработкой PBr₃ превращен в бромид (92б). Реак-

тив Гриньяра, полученный из него при взаимодействии с аллилбромидом, дает олефин (93), который гидробромированием против правила Марковникова превращают в бромид (94). Сочетание последнего с Li-соединением (95) приводит к ацетиленовому спирту (96а), который стереонаправленно гидрируют в Z-олефиновый спирт (S-91). Синтезированные соединения имеют S-конфигурацию и являются правовращающими. Поэтому левовращающему природному феромону жуков *T. insulsum* приписана R-конфигурация.

Сопряженные диеновые спирты и их ацетаты

Известен ряд феромонов чешуекрылых, имеющих структуру алифатических диеновых сопряженных спиртов и их ацетатов. Наличие сопряженной системы двойных связей в этих соединениях усложняет проведение стереоспецифического синтеза. Эта задача решена путем уменьшения числа образующихся изомеров до двух, а затем разделением их на индивидуальные соединения. Основным прием в синтезе сопряженных диеновых феромонов — удлинение цепи ненасыщенного фрагмента либо уже имеющего сопряженные двойные связи нужной конфигурации, либо содержащего одну двойную связь определенной конфигурации.

Схема 27



Реакция Виттига широко использована в синтезе сопряженных диеновых соединений — феромонов насекомых. Каждое из указанных выше соединений синтезировано с применением различных вариантов этой реакции. В синтезе E, E8, 10DDDL (кодлемона), E7, Z9DDDA и E10 Z12HDDL (бомбикола) используют реакцию цис- и транс-алкенилиденфосфоранов с насыщенными альдегидами по общей схеме 27 (табл. 8) [260, 624–635]. Выход продукта олефинирования по данной схеме 40–75%. Реакция алкенилиденфосфорилидов с альдегидами приводит во всех случаях к смеси изомеров. Их соотношение зависит от полярности используемых растворителей и изменяется E : Z от 80 : 20 до 30 : 70 [629]. Например, при получении 9E11TDDA [630] в бензоле с трет-бутилатом калия в качестве основания при образовании фосфорана — Z : E — 40 : 60, в глиме с бутиллитием — 50 : 50, в ДМСО с димсил-натрием — 60 : 40.

При необходимости синтезировать чистый изомер используют различные методы выделения: получение соединений включения с мочевиной [631–633], сульфонов [629] или аддуктов Дильса–Альдера с тетрацианэтиленом [630], которые образуются лишь с транс-изомерами и отделяются адсорбционной хроматографией. Выделение E,E-изомера (кодлемона) значительно облегчается тем, что этот изомер плавится значительно выше (29–30°) остальных трех изомеров и может быть выделен низкотемпературной кристаллизацией из углеводородных растворителей. По аналогичным схемам синтезированы и геометрические изомеры природных феромонов [260, 624, 625, 626, 631–634].

Широко использован также вариант взаимодействия ненасыщенных альдегидов с насыщенными фосфорилидами по Виттигу по схеме 28 [627, 636–642] (табл. 9). По этому варианту реакцию Виттига удается прове-

Таблица 8

Соединения, синтезированные по схеме 27

Соединение	R	n	X	Конфигурация двойной связи в илде
E8E9DDDDOL	Me	6	CO ₂ Me	E
Z9E11TDDA	Et	8	OCOMe	E
E6Z9DDDA	Et	5	CO ₂ Et	Z
Z11Z13TDDA	Et	10	OPy	Z
E911DDDA	H	8	OCOMe	—
Z10E12HDDOL	Pr	8	CO ₂ Et,	E
			CO ₂ Me,	E
			CH ₂ OCOMe	E
			CO ₂ H	E
			CH ₂ OH	E

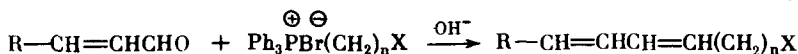
Таблица 9

Соединения, синтезированные по схеме 28

Соединение	R	n	X	Конфигурация двойной связи в альдегиде
E8E10DDDOI	Me	8	CO ₂ H	E
Z9E11TDDA	Et	9	OPy	E
Z10E12HDDOI	Pr	9	CO ₂ Me	Z
E911DDDOI	H	10	OPy	E

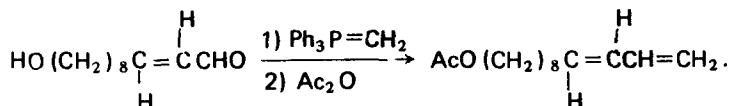
сти с высоким выходом (82–95%) и стереонаправленно при использовании свободных от литиевых солей растворов фосфорилидов — “силазидный метод” [637, 638, 643].

Схема 28



Ненасыщенные альдегиды, за исключением кротонового альдегида, необходимого для синтеза кодлемона, малодоступны. Поэтому разработаны специальные методы их синтеза. E-2-Пентеналь получен модифицированной известной реакцией диэтилацетата пропионового альдегида с этилвиниловым эфиром [636], которую проводят в присутствии эфирата трехфтористого бора и во избежание побочных реакций продукт нагревают с щавелевой кислотой. Ряд E-ненасыщенных альдегидов получен с умеренным выходом (30–66%) взаимодействием насыщенных альдегидов с формилметилентрифенилфосфораном [637, 638, 643]. Эта реакция стереоселективна и дает лишь E-альдегиды.

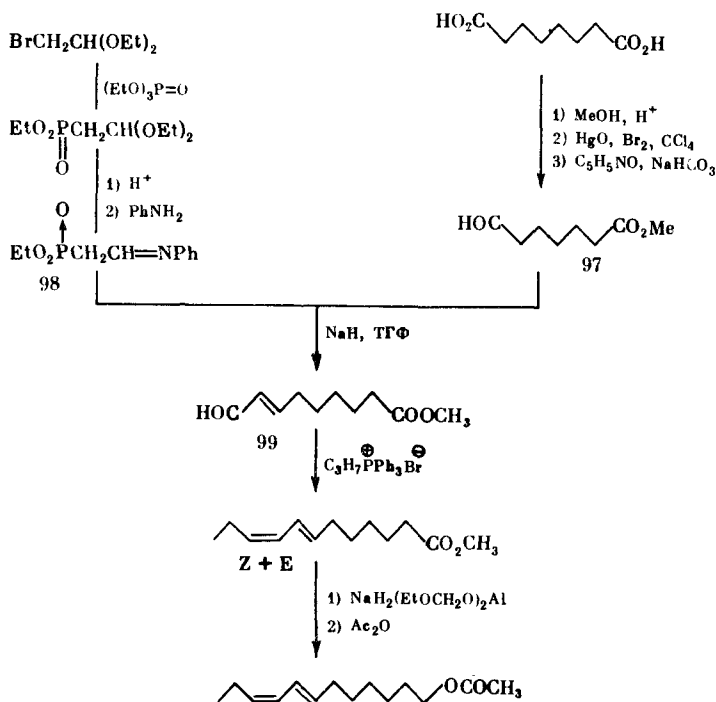
Для создания концевых сопряженных двойных связей, как в E911DDDA, используется реакция Виттига ненасыщенного альдегида с метилентрифенилфосфораном [639, 644]:



Выход в реакции 78%, цис-транс-изомеризации в условиях реакции не происходит.

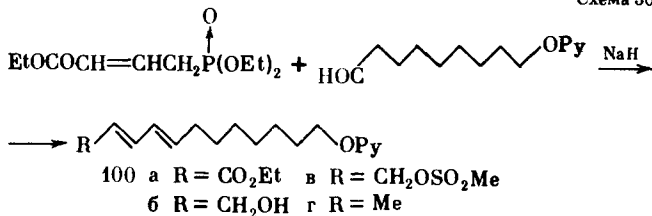
Для создания E-двойной сопряженной связи в структуре некоторых феромонов использована фосфонатная модификация реакции Виттига. Так, E7Z9DDDA синтезирован [645] по схеме 29 из субериновой кислоты, которую известными реакциями переводят в альдегид (97), вводят в реакцию с фосфонатом (98). Полученный ненасыщенный альдегид (99) далее по реакции Виттига переводят в метиловый эфир E7Z,E9-додекадиеновой кислоты, которую восстанавливают в спирт и ацетилируют. Вещество содержит 80% E7Z9-изомера. Другой пример – синтез кодлемона, на основе

Схема 29



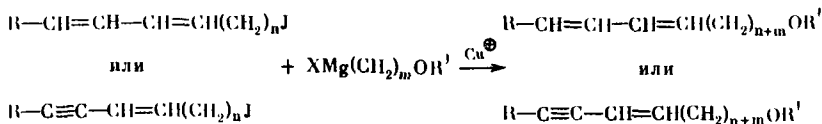
8-тетрагидропиранилоксиоктаноля и этил-4-диэтилфосфонокротоната (схема 30) [646], при взаимодействии которых в присутствии гидрида натрия в диглиме получается эфир (100a) с выходом 71,6%.

Схема 30



Для превращения карбэтоксигруппы в метильную группу эфир (100а) восстанавливают алюмогидридом лития в спирт (100б), этерифицируют метансульфокислотой и мезилат (100в) восстанавливают боргидридом натрия.

Схема 31



R = Me, Et;

R¹ = Py, SiMe₃, SiEt₃, SiPh₃;

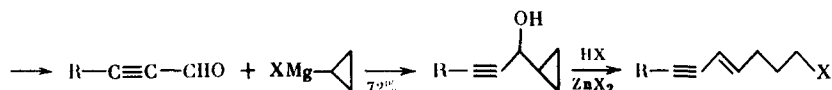
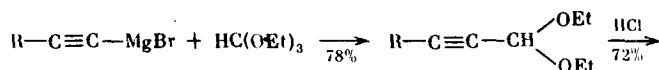
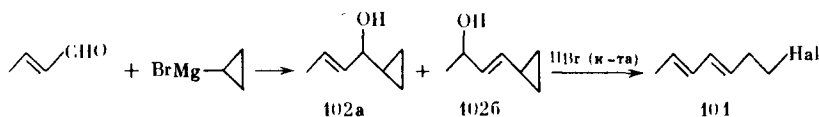
n = 1, 2

m = 5, 6

Для получения сопряженных диеновых структур использовано взаимодействие аллильных и гомоаллильных диеновых или ениновых галогенидов с реактивами Гриньяра [647–663]. Феромоны яблонной плодовой гнили, виноградной листовертки получены по схеме 31. Реакция катализируется неорганическими солями одновалентной меди [649, 652–654] или комплексными солями двухвалентной меди, например дилитий-тетра-хлоркупратом [649, 652–655, 659, 660]. Реакцию проводят в эфирных растворителях: эфире, диизопропиловом эфире, тетрагидропиране, тетрагидрофуране [649] и их смесях [656], в присутствии ГМФТ [659, 660]. Выход в зависимости от условий колеблется от 30 до 85% [657].

Ениновые соединения превращают в цис-диеновые гидроборированием [652–656, 659, 660] или восстановлением диалкилалюминий-гидридами [652–654, 659, 660], или каталитическим полугидрированием с катализатором Линдлара [652–656].

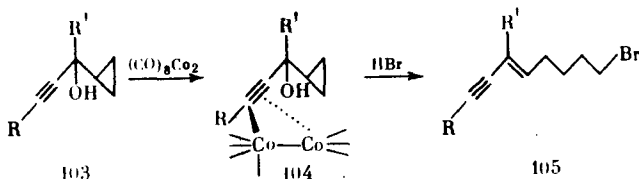
Схема 32



Полупродукты, используемые в указанных выше методах – диеновые и ениновые сопряженные галоидные углеводороды – малодоступные соединения, за исключением сорбилбромиды или -хлориды, получаемых из сорбиновой кислоты. Поэтому разработаны специальные методы их синтеза. 1-Бром-Е,Е-3,5-гептадиен (101) получен на основе кротонового альдегида и изопропилмагнийбромиды [649, 650, 657], (схема 32), которые образуют смесь спиртов (102 а, б). Последние при действии галоидводородных кислот подвергаются гомоаллильной перегруппировке с образованием преимущественно Е,Е-3,5-гептадиенилгалогенида (101) (89,9% Е,Е- и 9,7% других изомеров). Ениновые соединения, необходимые для синтеза феромонов с Z, E-конфигурацией, получают из ацетиленовых альдегидов

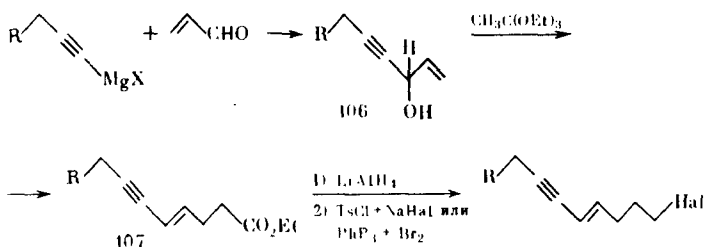
аналогично [656] (схема 32). Циклопропановые алкинолы (103) в реакции с октакарбониллом кобальта образуют комплексы (104), превращающиеся в Е-енины (105) под действием HBr/ZnBr₂ [664] (схема 33).

Схема 33



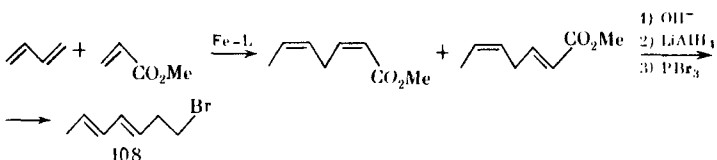
Алкилмагнибромид реагирует с акролеином [652–655] (схема 34). При этом образуется спирт (106), который при взаимодействии с триэтилортоацетатом дегидрируется с перемещением двойной связи в эфир (107). Последний известными методами превращают в галогенпроизводные.

Схема 34



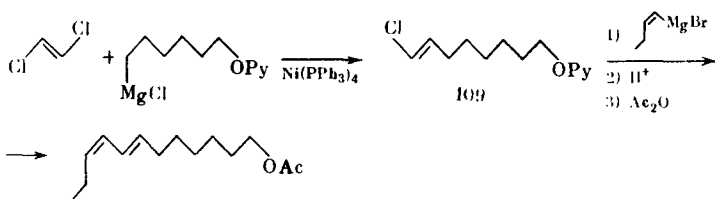
1-Бром-Е,Е-3,5-гептадиен (108) получен также содимеризацией бутадиена с метилакрилатом, катализируемой комплексами железа (665) (схема 35). Получаемая при этом смесь Z, Z- и Z,Е-2,5-гептадиеновых кислот изомеризуется метанольной щелочью или метилатом натрия с количественным выходом в метил-Е,Е-3,5-гептааноат, который восстанавливают алюмогидридом лития в спирт и бромную соль.

Схема 35



Дихлорэтилен легко взаимодействует с реактивами Гриньяра, что делает доступными 1-хлоралкены (109) и позволяет синтезировать с высокой стереоселективностью сопряженные диеновые системы. Эта реакция использована для получения Е,Е-7,9-DDDA [662] (схема 36).

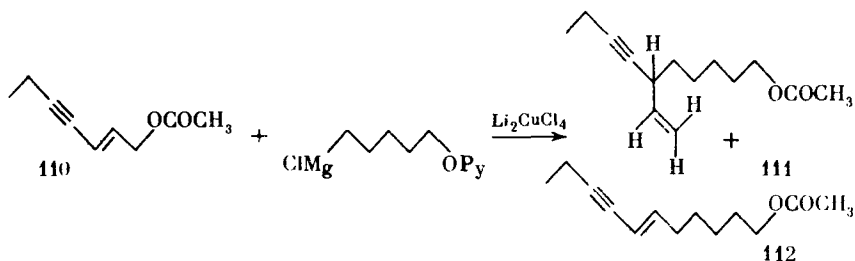
Схема 36



После открытия Шлоссером реакции аллильных ацетатов с реактивом Гриньяра [666] ряд авторов использовали взаимодействие конъюгированных диеновых аллильных ацетатов и сульфонов [637, 643, 667–669] в присутствии дилитийтетрахлоркупрата для синтеза феромонов. Были найдены условия реакции, позволяющие получить продукт сочетания с выходом 70–75% [667]. Наряду с основным направлением идет реакция Вюрца с образованием 1,12-додекадиола и восстановление реактива Гриньяра в гексанол.

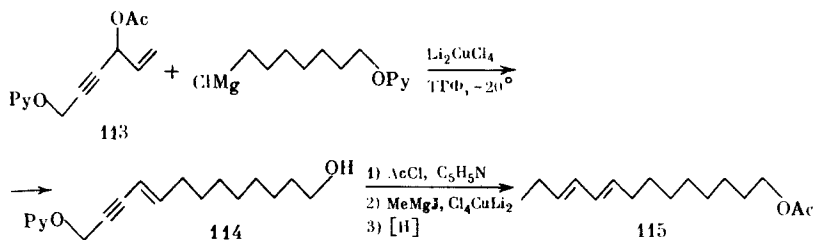
В условиях сочетания по Гриньяру как с аллильными ацетатами, так и с галогенидами происходит изменение конфигурации двойных связей примерно на 20% [649, 657, 659, 669]. В меньшей степени оно проходит с E,E-аллильными ацетатами и особенно сильно выражено, если в реакцию вводят Z,Z-изомер и Z2,E4-изомер, 40% их превращается в другие изомеры [669, 670]. А в реакции ениновых аллильных ацетатов (110) возможно образование изомеров положения (111 и 112) [670] (схема 37).

Схема 37



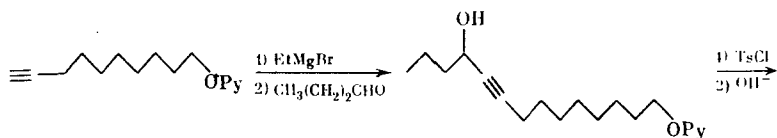
Вторичные ацетаты (113) реагируют с реактивами Гриньяра с перемещением двойной связи в сопряжение с другой непредельной связью. Эта реакция использована в синтезе E,E-9, 11-тетрадекадиенилацетата [659, 660] (схема 38). Ениновый диол (114) при ацетилировании, сопровождающемся реакцией с метилмагниййодидом, приводит сразу к ацетату (115).

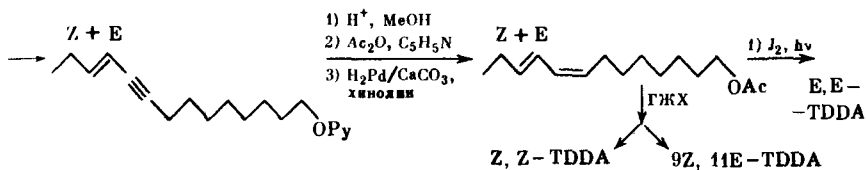
Схема 38



Ряд сопряженных диеновых феромонов получен взаимодействием реактивов Иоуча с альдегидами [538, 671, 672] с последующей дегидратацией образующихся спиртов и восстановлением тройной связи (схема 39).

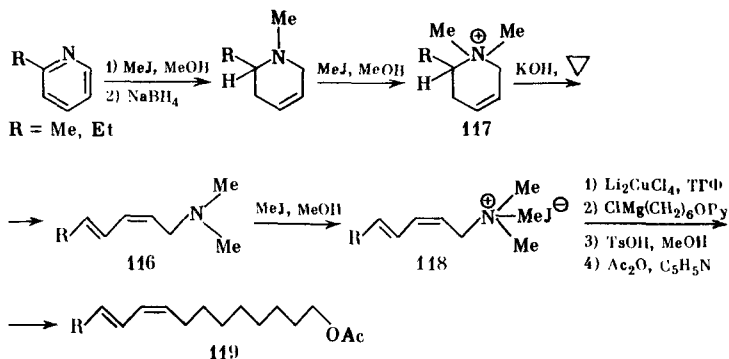
Схема 39





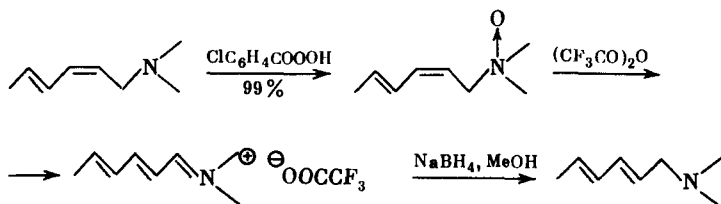
С реактивами Гриньяра вступают во взаимодействие также и аллильные аммониевые соли, как было недавно показано, в присутствии солей меди [673, 674]. Это дает возможность получать Z,E- и E-E-диеновые сопряженные соединения на основе замещенных пиридинов (схема 40). Аллильный диметиламин (116), полученный расщеплением соли (117), кватернизуется йодистым метилсм. Аммониевая соль (118) вступает во взаимодействие с реактивом Гриньяра и далее известными превращениями переводится в диеновый ацетат (119).

Схема 40



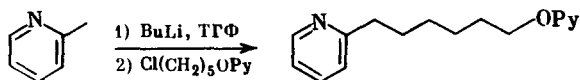
При необходимости получить вещество с E,E- конфигурацией двойной связи Z,E-диметиламин (116) изомеризуют последовательностью реакций, показанной на схеме 41. Частичная изомеризация возможна и в условиях

Схема 41



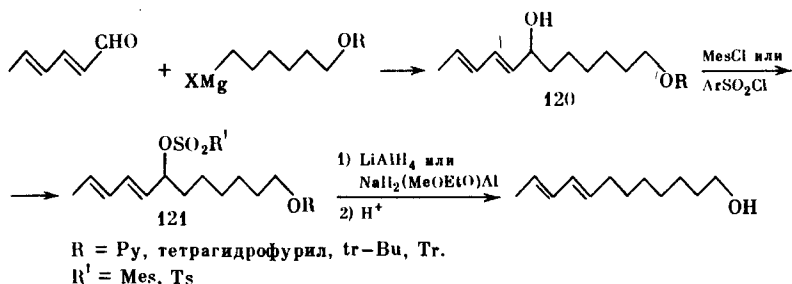
нуклеофильного замещения в аммониевой соли. Для сохранения конфигурации и поиска условий, приводящих к структуре феромона листовертки *L. botrana*, т.е. 7E9ZDDDA, предложена модификация описанной выше реакции [674], по которой 2-пиколины в виде Li-солей алкилируются с защищенным галогидрином $-\text{C}_5$ (схема 42). Размыкание пиколинового цикла и дальнейшие превращения проводят аналогично схеме 40.

Схема 42



Взаимодействием реактивов Гриньяра с Е,Е-диеновым, сорбиновым, альдегидом синтезирован феромон яблонной плодовой жорки по схеме 43 [675].

Схема 43

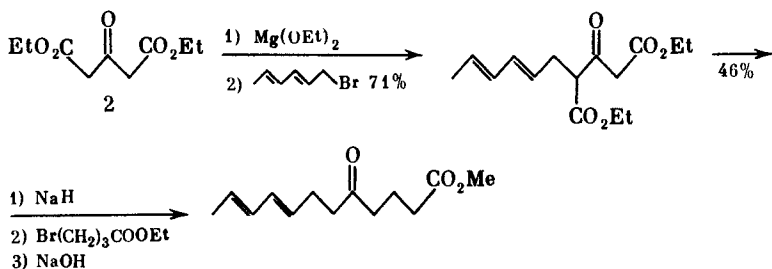


Гидроксильную группу в образующемся вторичном спирте (120) удаляют восстановлением сульфо-эфира (121). После снятия защиты получают Е,Е-8,10-додикадиенол. Описан аналогичный путь для Е,Е-8,10-додикадиенола, использующий реакцию литиевой соли сорбиновой кислоты с литийорганическими соединениями [676–678].

При восстановлении α, β -ненасыщенных кетонов в спирты гидридами металлов нужно опасаться восстановления двойных связей. Авторам удалось селективно восстановить кето-группу гидридом алюминия и диизобутилалюминийгидридом в эфирных растворителях (этиловом эфире, ТГФ, ТГП).

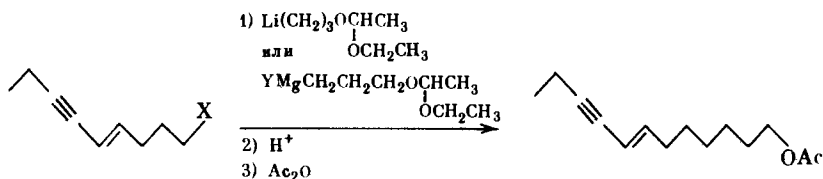
Аллильные галогениды селективно алкилируют диэтил-3-кетоглутарат (2), что позволяет, например, получить кодлемон по схеме 44 [679].

Схема 44

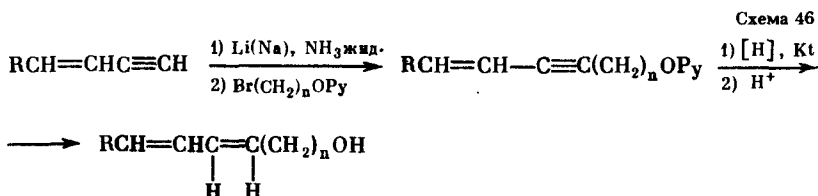


Реакция оксипропилирования тозилатов или мезитатов, или галогенидов использована в синтезе E7Z9DDDA [652–654, 658] (схема 45). Тройную связь восстанавливают до цис-двойной с помощью диизобутилалюминийгидрида, диизоамилборана или каталитическим гидрированием с катализатором Линдлара при низкой температуре. При этом имеется существенная опасность более глубокого восстановления с образованием моноеновых соединений [680].

Схема 45

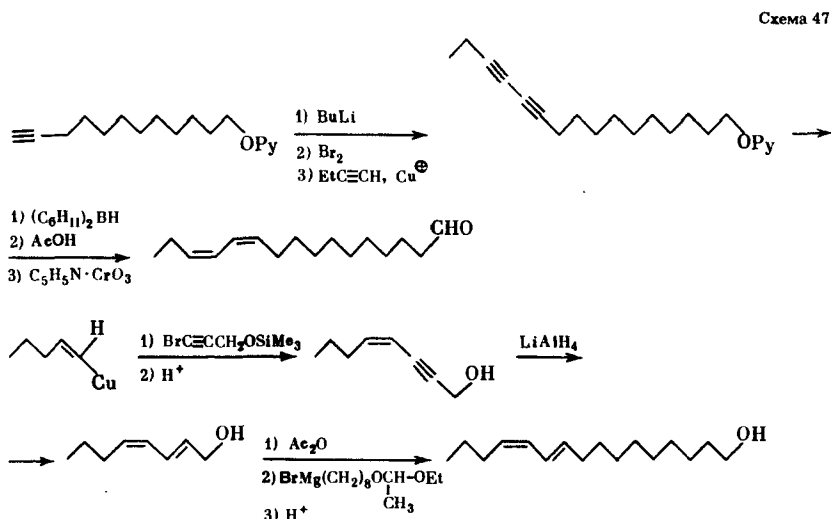


В ранних работах [631–633, 681] используется также алкилирование литий- или натрий-алкенинов галоидными соединениями, например в синтезе аналогов бомбикола и ZZ11,13HDDAL (схема 46). После стереоспецифичного гидрирования с катализатором Линдлара получают 10Z12E- или ZZ-10,12-гексадекадиенол, или ZZ11,13HDDOL.



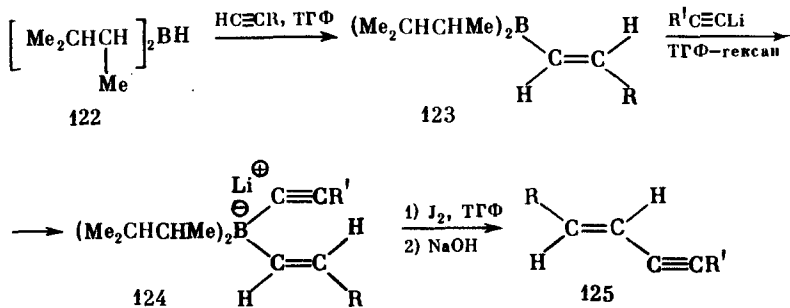
R = Et, Pr; n = 9, 10

Окислительное сочетание 1-алкинов с 1-галоидалкинами в присутствии солей одновалентной меди [682] или алкенкупратов с 1-галоидалкинами [110, 683] является эффективным методом получения сопряженных диеновых или ениновых полупродуктов для синтеза феромонов. Эти реакции использованы для получения ZZ9,11HDDOL [684], ZZ11,13HDDA [682, 683] и бомбикола [668] (схема 47).

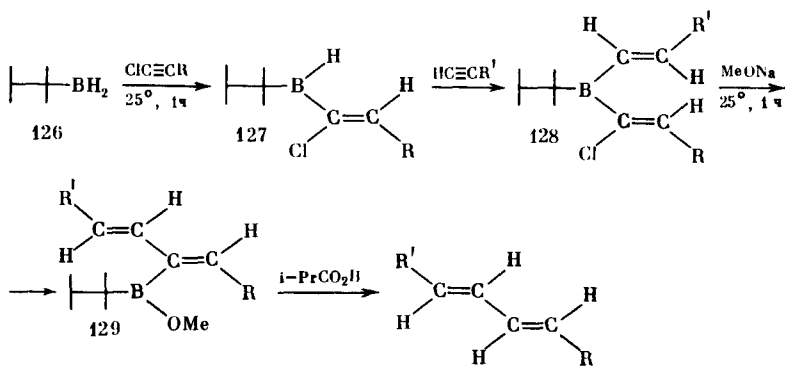


По типу окислительного сочетания проходит образование E-енинов или E,E-диенов при взаимодействии боратных комплексов с йодом [685, 686] или NaOMe [687] с последующим протонлизом.

Диалкилбораны (122) гидроборируют 1-алкины, полученные диалкилалкенилбораны (123) реагируют с 1-литийалкинами с образованием боратных комплексов (124), при окислении которых йодом происходит селективное сочетание алкенильной и алкинильной группы. Конъюгированные енины (125) имеют E-конфигурацию (> 99%) (схема 48).



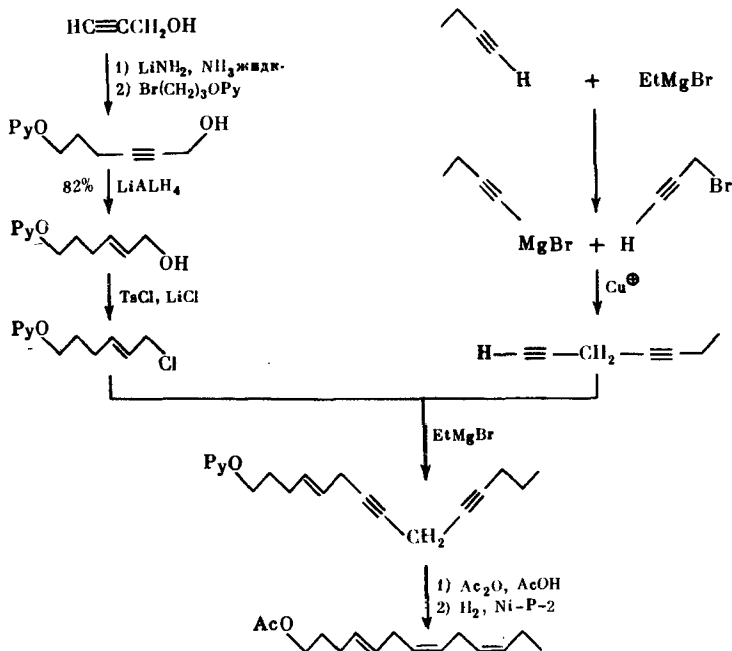
Моноалкилбораны (126) дают алкенил-алкилбораны с низким выходом вследствие побочных реакций: биприсоединения и образования диборанов [687]. Однако с 1-хлоралкинами они на 70–80% реагируют по типу гидроборирования, а алкилалкенилборан (127) гидроборирует 1-алкины и дает смешанный органоборан (128), который с метилатом натрия приводит к промежуточному соединению (129). Последующий протолиз приводит к ЕЕ-диену. Синтез является высокостереоспецифичным, полученный диен содержит 99% ЕЕ-изомера (схема 49).



Ацетаты прямоцепочечных метиленразделенных диеновых и триеновых спиртов

Прямоцепочечные метиленразделенные диеновые ацетаты часто встречаются у чешуекрылых, и только один триеновый ацетат — E4Z7Z10-тридекатриенилацетат найден у самок картофельной моли. Для биологических испытаний, подтверждения структуры и практического применения синтезированы как природные феромоны, так и все возможные их геометрические изомеры.

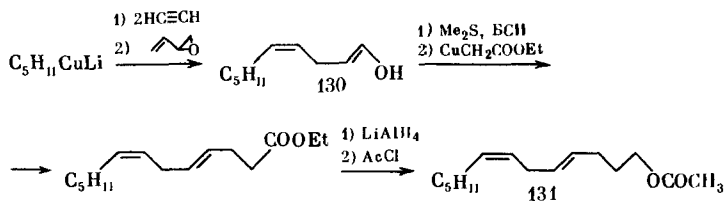
Наиболее часто в синтезе использованы реакции металлирования алкинов и алкадинов с концевыми тройными связями и алкилирования аллильными, гомоаллильными или проларгильными галоидными соединениями [46, 168, 206, 212, 252, 688–696]. Типичной схемой получения монометиленразделенных соединений является синтез E4Z7Z10TgDTA — феромона картофельной моли [688–690] (схема 50). Показанные реакции часто



проходят с низким выходом (20–30%) [206, 694]. Более удовлетворительно, с выходом 60–80% идут реакции аллильных галогенидов с пропаргильными или аллильными реактивами Гриньяра [695, 696]. Наряду с тетрагидропиранильной защитой используется ацетальная [212, 252, 691, 692].

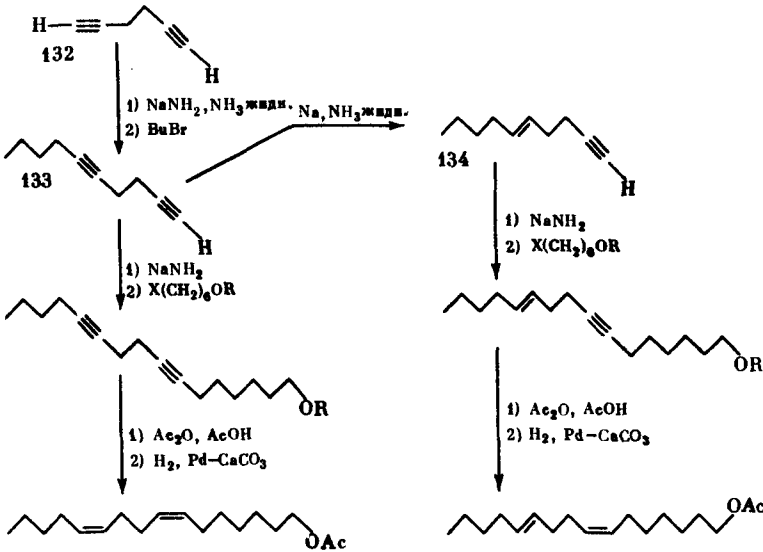
Стереоспецифическое гидрирование тройных связей до цис-двойных проводят с катализатором Линдлара в мягких условиях при 0° , вероятно, во избежание побочных реакций [252, 692].

Схема 51



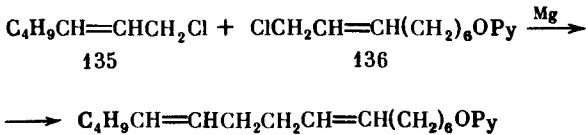
Описан синтез E4Z7TtDDA новой реакцией винильных и аллильных медьорганических соединений с аллильными эпоксидами (схема 51) [697]. Присоединение ацетилена к н-амилкупрату приводит стереоспецифично к Z-гептенилкупрату, который без выделения вводят во взаимодействие с окисью бутадиена. Спирт (130) переводят в хлорид и алкилируют $\text{CuCH}_2\text{COOEt}$, последующим восстановлением и ацетилированием получают ацетат (131).

Последовательное введение алкильных групп в симметричные диацетилены (132) приводит к ZZ7,11HDDA [698, 699] по схеме 52. Естественно, наряду с моносодий-производными образуется дизамещенный алкадиин,



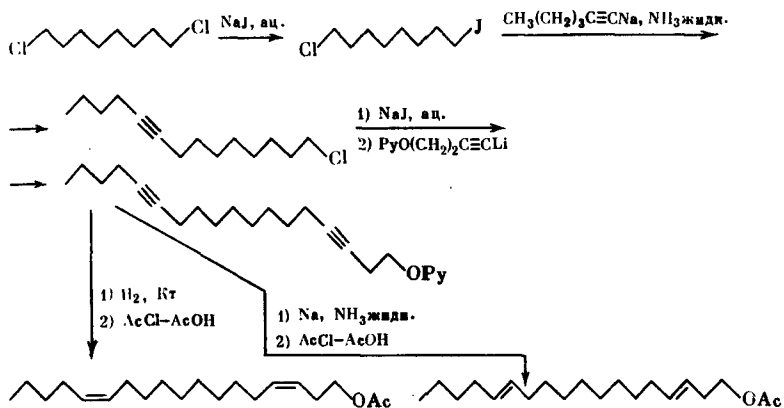
и соответственно выход декадиина-1,5 (133) не превышает 40–60%, около 15% образуется 5,9-тетрадекадиин. Декадиин-1,5 может быть избирательно восстановлен натрием в жидком аммиаке в E-5-децен-1-ин (134) и соответственно известными превращениями переведен в Z7E11HDDA.

Схема 53



Все четыре изомера 7,11HDDA пытались получить реакцией Z- и E-аллильных хлоридов через реактивы Гриньяра [699] (схема 53). Реакция Z-135 и Z-136 приводит к ZZ7,11HDDA, однако E-135 и Z-136 дают также ZZ7,11HDDA, т.е. E-135 в условиях реакции почти полностью изомеризуется в Z-135. Это направление изомеризации противоположно превращению сопряженных диеновых ацетатов и галогенидов [659, 669] в реакции Гриньяра (-10° , ТГФ), когда наблюдалось превращение 40% ZZ2,4-гептадиенилацетата в EE- (10%) и EZ- (27%)-изомеры, в то время как EE-2,4-гептадиенилацетат оставался без изменения, а Z2,4E-изомер превращался на 36% в E,E-изомер.

Ряд вариантов синтеза ZZ3,13- и E3Z13-октадекадиенилацетата используют реакции металлизации и алкилирования [700–702, 227]. Типичной является схема 54. В случае алкилирования галоидными алкилами с большой длиной цепи (более C_4) применяются йодпроизводные. Наблюдалось [700] различие в восстановлении спирта и его R_y-эфира, ацетата. При восстановлении R_y-эфира натрием в жидком аммиаке с использованием тетрагидропиранина в качестве сольвента получаются лишь следы EE,3,13ODDA, наряду с ним обнаружены 3,13-октадекадиен, 2,13-октадекадиен и 4,13-ок-

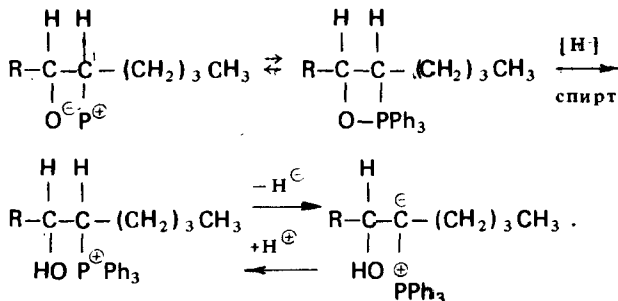


тадекадиен. Т.е. в условиях реакции тройная связь при C_3 мигрирует в обоих направлениях, реакция сопровождается восстановлением и C—O-распадом. Восстановление спирта натрием и литием проходит без побочных реакций, однако до 20% остается недовосстановленных продуктов, смеси двух енинов. Применение ГМФТ в качестве косольвента позволяет улучшить восстановление, примесь енинов уменьшается до 10%.

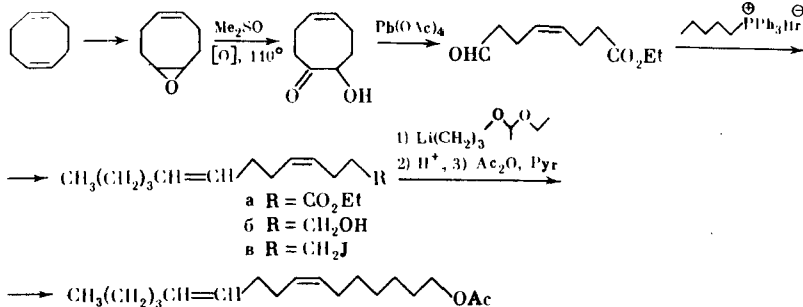
Для получения ZZ3,13ODDA предпочтительно гидрирование ацетата с P2-Ni или гидроборирование (95—96% ZZ-изомера). При гидрировании спирта с катализатором Линдлара образуется ~10% Z,E-изомеров, что может отражать тенденцию спирта сорбироваться на катализаторе из-за наличия сильной водородной связи.

Синтетический феромон хлопковой моли обладает наибольшей активностью, если состоит из смеси ZZ7,11- и E7Z11HDDA в соотношении 1:1. Аналогично лишь смесь ZZ3,13- и E3Z13ODDA в соотношении 1:1 активна для самцов *Synantedon hector*.

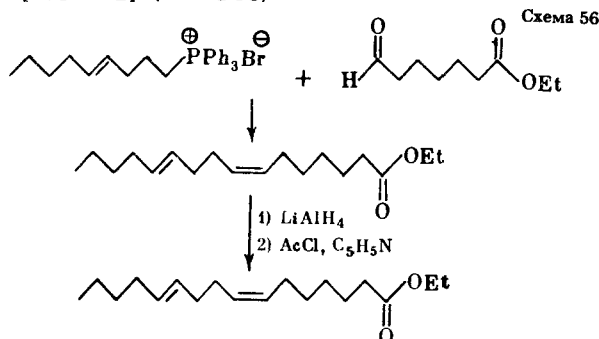
Для решения задачи получения контролируемых смесей изомеров применена реакция Виттига. Найдены условия регулирования равновесия трео- и эритро-бетаинов протонированием спиртом [703—707]:



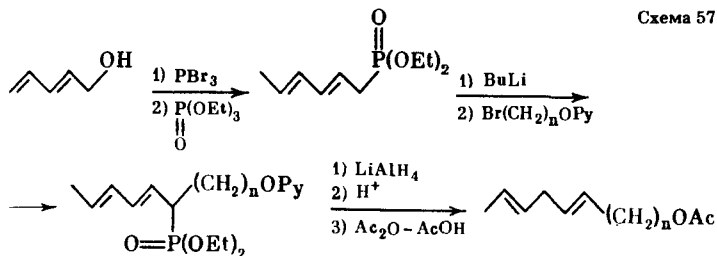
Бетаины при низкой температуре достаточно устойчивы и при медленном прибавлении спирта (EtOH, MeOH) образуют равновесную смесь (137) и (138) (схема 55). После разложения получается смесь ZZ- и E7Z11HDDA (1:1). Возможно, подобные результаты достигаются и при медленном образовании бетаина при низкой (-30°) температуре, что позволяет полу-



чить смесь ZZ- и E3Z13ODDA (1:1), хотя и с низким выходом [708]. На этом основан практический синтез феромона хлопковой моли по схеме 55 из циклических олефинов. Циклооктадиен является для этого случая идеальным исходным веществом, так как при селективном расщеплении дает необходимые функциональные группы и Z-конфигурацию двойной связи. Описаны и другие примеры реакции Виттига, типа олефинирования ненасыщенных фосфорилидов насыщенными альдегидами и наоборот [709–712] (схема 56).

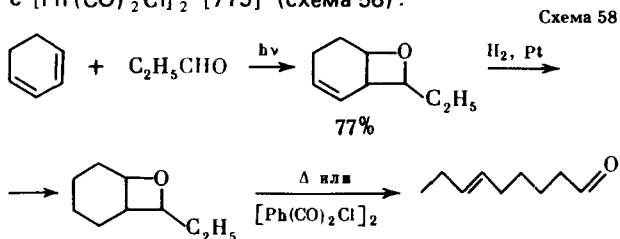


Описаны реакции по двойным связям в диеновых соединениях: геометрическая изомеризация метиленразделенных 1,5-диенов, через эпоксиды, что использовано в синтезе феромона хлопковой совки [713]. Известно также превращение сопряженной диеновой системы в метиленразделенную при восстановлении диеновых фосфонатов (схема 57) [714]. Эта реакция проходит достаточно стереоселективно и позволяет получить 85–86,5% EE-изомера. Таким образом из сорбилового спирта получен ряд метиленразделенных спиртов и ацетатов по схеме 57 [713].



Алифатические ненасыщенные альдегиды

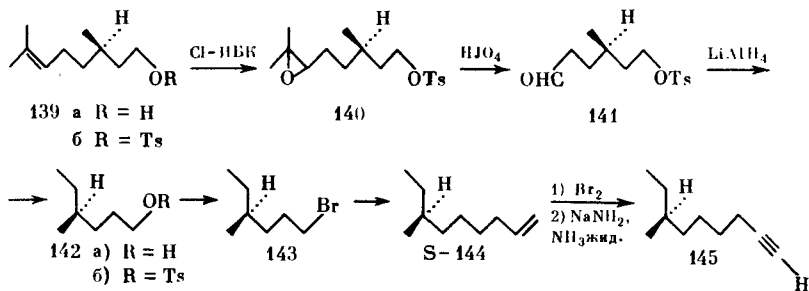
Многие виды чешуекрылых выделяют ненасыщенные, чаще всего моеновые прямоцепочечные альдегиды как половые феромоны. Синтез этих соединений осуществляется методами, описанными для спиртов и их ацетатов. Мягкое окисление гидроксильной группы проводят комплексом CrO_3 -пиридин. Ненасыщенные альдегиды получены также реакцией фотохимического циклоприсоединения карбонильных соединений с последующим расщеплением аддуктов пиरोлизом или каталитическими методами с $[\text{Ph}(\text{CO})_2\text{Cl}]_2$ [715] (схема 58).



В состав феромонов ряда видов *Trogoderma* входит 14-метил-8-гексадеценаль (трогодермаль). Е-изомер также выделен из *T. glabrum* и оба изомера в соотношении Z : E = 98:2 выделены из *T. granarium*.

Для установления влияния геометрической и оптической изомерии на биологическую активность синтезированы S-энантимеры Z- и E-трогодермала из S-(-)-2-метилбутанола методом, аналогичным описанному в схеме 26 [623, 716–720]. (S)- и (R)-Z-трогодермаль синтезируют также из (R)-(+)-цитронеллола, который был общим исходным веществом для обоих энантимеров [721] (схема 59). Для получения (S)-(+)-трогодермала тозилат R-(+)-цитронеллола (139б) окисляют *m*-хлорнадбензойной кислотой в эпиксид (140), который расщепляют надйодной кислотой в альдегид (141). Восстановление последнего алюмогидридом лития приводит к S-(+)-4-метилгексан-1-олу (142а), тозилат которого с бромидом лития дает бромид (143). Реакцией Гриньяра его превращают в олефин (144) с абсолютной S-конфигурацией (схема 59). Олефин превращают в алкин (145) бромированием – дегидробромированием. Дальнейшие превращения проводят аналогично описанной выше схеме 26.

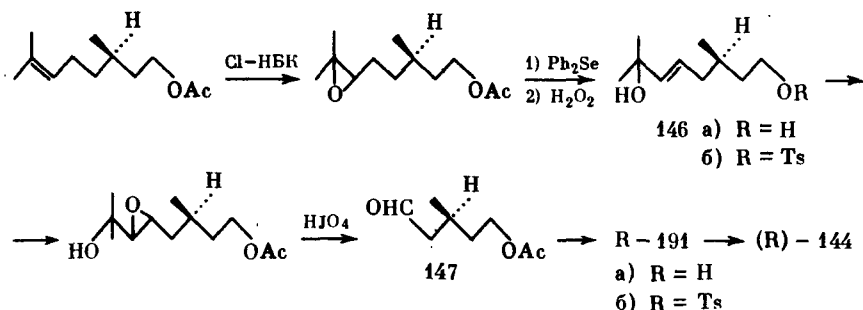
Схема 59



Для получения R-олефина (R-144), который далее превращен в R-трогодермаль, ацетат (R)-(+)-цитронеллола окисляют в эпиксид, который обрабатывают дифенил-селеном (схема 60) и перекисью водорода. После ацетилирования спирт (146а) эпексидируют и окисляют HJO_4 в альдегид

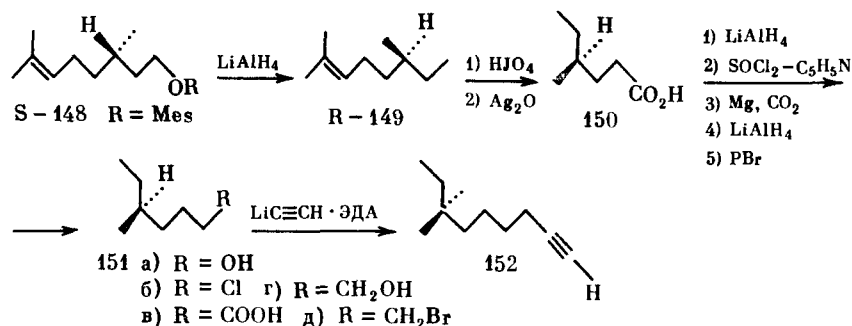
(147). Восстановление по Вольфу—Кижнеру приводит к (R)-(-)-3-метилпентан-1-олу (R-191), тозилат этого спирта реакцией Гриньяра переводят в R-олефин (R-144). Аналогично схеме 60 R-олефин (144) превращают в R-троподермаль.

Схема 60



S-(-)-Цитронеллол использован для синтеза Z- и E-R-14-метил-гексадец-8-еня-1, по схеме 61, включающей другие химические превращения [722]. Мезитат [148] восстанавливают в R-2,6-диметил-2-октен (149), периодатное окисление его приводит к R-4-метилгексанало, который окисляют Ag_2O в кислоту (150). Известной последовательностью реакций, показанной на схеме 61, получают бромид (151д) и затем R-алкин (152), который далее теми же превращениями, что и в схеме 26, переводят в R- и S-троподермаль. Оптическая чистота полученных соединений — 84%.

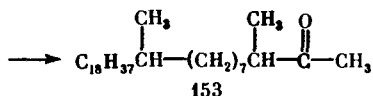
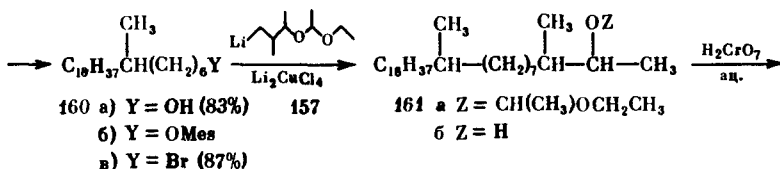
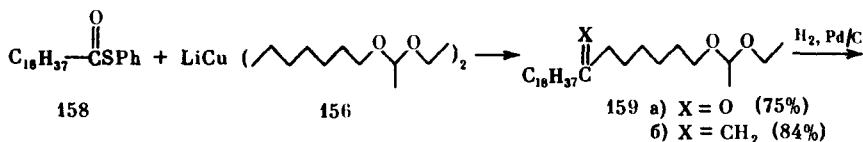
Схема 61



Насыщенные кетоны

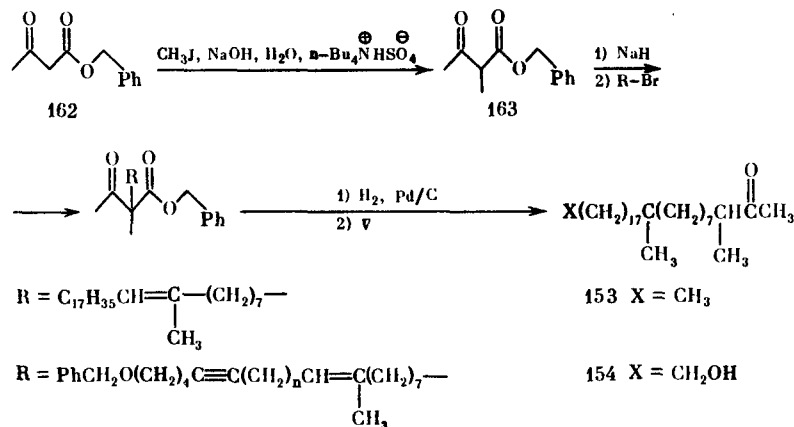
Из соединений этого класса известны половые феромоны таракана пруссака *Blattella germanica* — 3,11-диметилнонакозан-2-он (153) и 29-окси-3,11-диметилнонакозан-2-он (154) и феромон жука *Lasioderma serricorne* 4,6-диметил-7-окси-нонан-3-он (серрикорнин) (155).

Актуальность практического применения вызвала большой интерес к синтетическому получению феромона таракана *B. germanica*. Опубликован ряд синтезов рацемических соединений (153) и (154). Построение разветвленной алифатической цепи кетона (153) достигается либо алкилированием металл-замещенных соединений [518, 723—728], либо олефинированием по Виттигу [729, 730], используется также электролитический синтез Кольбе [731].



Литийкупраты (156) и (157) удачно использованы для удлинения цепи фенолового эфира нонадекантионовой кислоты (158) в синтезе кетона (153), выполненном по схеме 62 [723]. При обработке эфира (158) соединением (156) получают с 75%-ным выходом кетоацеталь (159а), в котором кетогруппу замещают на метиленовую группу реакцией с трифенилфосфонийметилдом. Гидрирование метиленацетала (159б) с палладием на угле с последующим кислым гидролизом приводит к насыщенному спирту (160а), в котором гидроксил замещают на галоид, через мезилат (160б). Сочетание бромида (160в) с 3-[(1-этокси)-этокси]-2-метилбутиллитием, катализируемое тетрахлорлитийкупратом, приводит к ацеталу (161а), который после кислого гидролиза и окисления реактивом Джонса превращают в кетон (153).

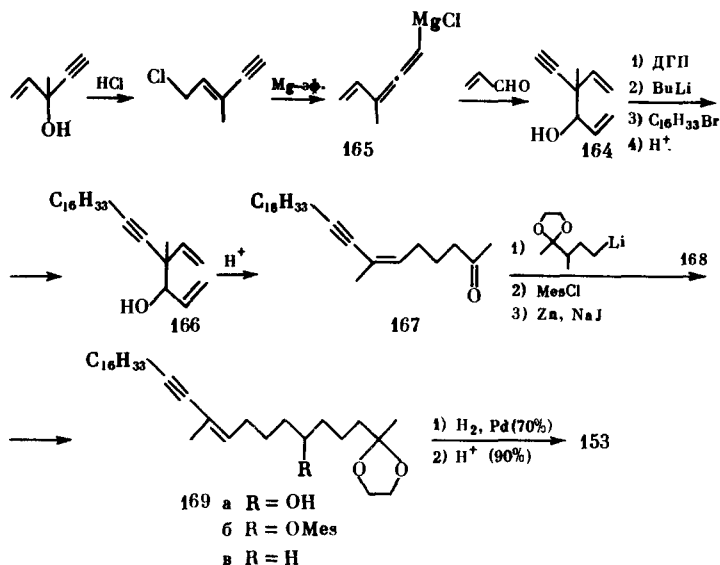
Схема 63



Возможность С-метилирования бензилацетоацетата (162) и металлирования его С-метильного производного (163) значительно упрощает синтез обоих компонентов феромона таракана пруссакса [724] (схема 63). Галоген-производные, необходимые для алкилирования 3-метил-замещенного кетозэфира (163), получены методами, которые будут описаны далее [518, 732].

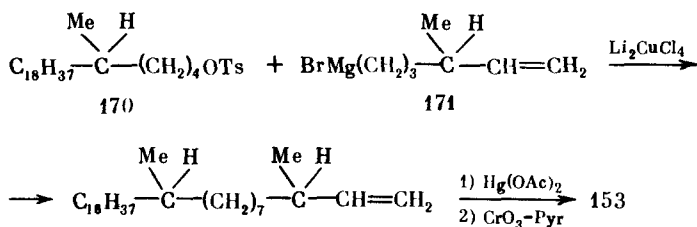
Интересным является синтез, основанный на алкилировании диенацетиленового спирта (164), получаемого взаимодействием винил-алленовых реактивов Гриньяра (165) с акролеином [725] (схема 64).

Схема 64



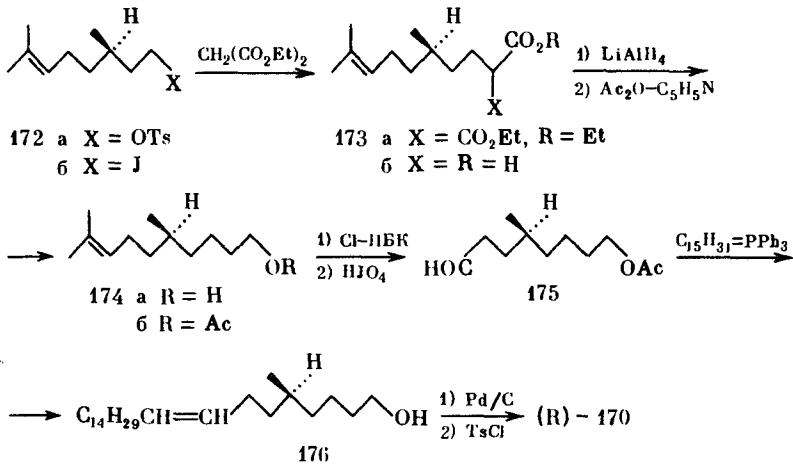
Полученный при алкилировании спирт (166) при обработке кислотой и кипячении в диглиме дает смесь 55 ÷ 45% цис- и транс-изомеров альдегида (167), который реакцией с литий-производными (168) превращают в спирт (169а), который реакцией с литий-производными (168) превращают в спирт (169а). Окси-группы восстанавливают через мезилат цинком в диметоксиэтаноле в присутствии йодистого натрия. После гидрирования ненасыщенного ацетала (169в) и кислого гидролиза получают кетон (153) с общим выходом 19,7%, считая на диенацетиленовый спирт (164).

Схема 65



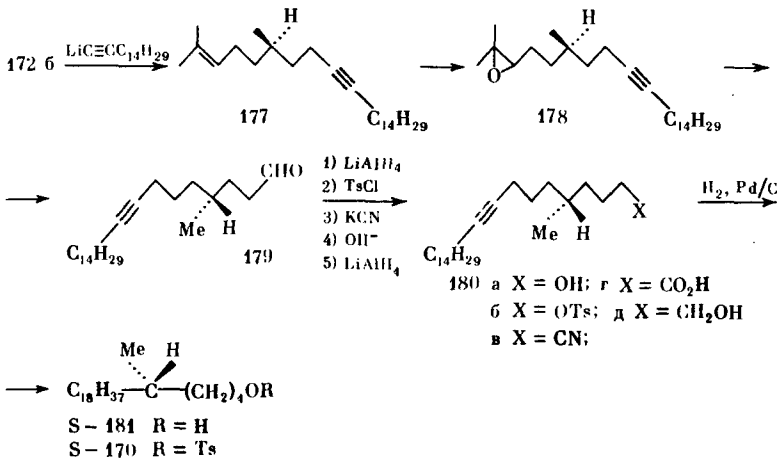
Компоненты феромона таракана *B. germanica* имеют два хиральных центра — при C₃ и C₁₁. Синтез четырех возможных энантиомеров [726] позволил установить абсолютную конфигурацию природного феромона как 3S,11S-153. Общий синтез всех четырех энантиомеров заключается во взаимодействии хиральных тозилатов (170) с хиральными реактивами Гриньяра (171) (схема 65). Кето-группу вводят гидратацией по правилу Марковникова с последующим окислением вторичного спирта.

Хиральный R-тозилат (R-170) получен из R-(+)-цитронеллола, тозилат которого (172а) реакцией с йодистым натрием превращают в йодид (172б) (схема 66). Реакция йодида (172б) с малоновым эфиром после гидролиза



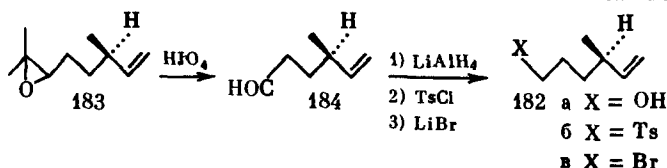
приводит к кислоте (1736). Восстановлением кислоты (1736) с последующим ацетилированием спирта (174а) получают ацетат (1746). Эпоксид, полученный из ацетата (1746), окисляется надйодной кислотой в альдегид (175). Олефинированием по Виттигу с последующим гидрированием ненасыщенного спирта (176) и тозилацией получают R-тозилат (R-170).

Схема 67



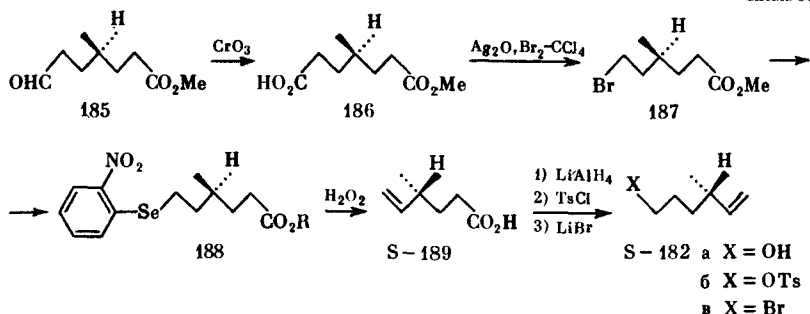
Энантиомерный тозилат (S-170) получен по схеме 67 алкилированием цитронеллилоксида (1726) с образованием алкина (177), эпоксид которого (178) распадается с обращением конфигурации и дает альдегид (179). Восстановление альдегида (179) алюмогидридом лития приводит к спирту (180), в котором цепь удлиняют на один С-атом последовательно через тозилат (1806), нитрил (180в) и кислоту (180г). Гидрированием спирта (180д) и тозилацией получают спирт (S-181), а затем тозилат (S-170).

Схема 68



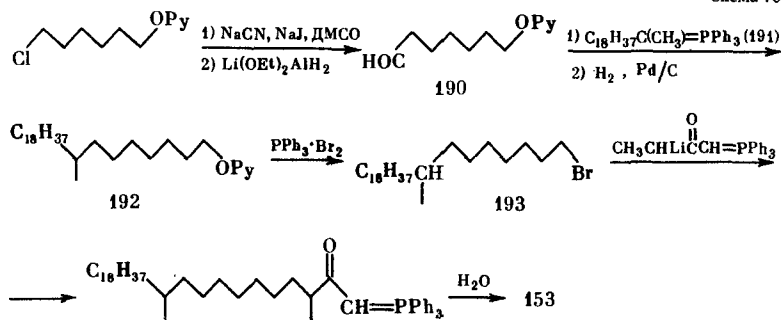
Получение бромида R-конфигурации (R-182в), необходимого для построения части молекулы кетона (153), осуществлено простым способом по схеме 68 [726], расщеплением эпоксида (183) в альдегид (184) [727]. Последовательное восстановление алюмогидридом лития, тозилрование и реакция с бромистым литием приводят к бромиду (R-182в).

Схема 69

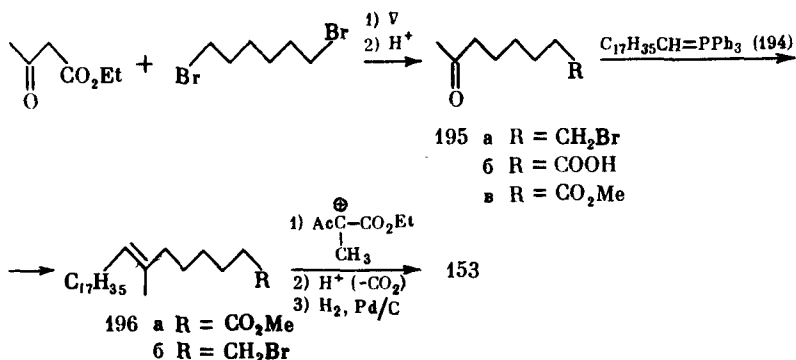


Получение S-бромида (182в) более сложно (схема 69). Альдегидоэфир (185), синтезированный аналогично схеме 66 [678], окисляют в полуэфир (186), Ag-соль которого бромруют Br_2 в CCl_4 в бромид (187). Селенид (188), полученный из бромида (187), после гидролиза окислительным расщеплением с перекисью водорода превращают в кислоту (S-189). Восстановление с последующим тозилрованием спирта (S-182а) и реакция с бромистым литием приводят к бромиду (S-182в).

Схема 70



Кетон (153) синтезирован олефинированием альдегида (190) по Виттигу (схема 70) фосфорилидом (191) [729]. Полученный тетрагидропираниловый эфир гидрируют в насыщенный (192) эфир и обработкой с дибромтрифенилфосфином в CH_2Cl_2 получают бромид (193). Реакция (193) с анионом 2-оксобутилидентрифенилфосфорана с последующим гидролизом продукта реакции приводит к кетону (153).



Олефинированию фосфорилидом (194) подвергают также кетон (195а) или кето-кислоту (195б) в другом синтезе феромона (153) (схема 71) [518, 730]. Полученный метиловый эфир (196а) превращают в бромид (196б) известными реакциями восстановления алюмогидридом лития, тозилрованием, реакцией с бромистым литием. Необходимую для молекулы феромона 2-кето-группу вводят реакцией с 2-метилацетоуксусным эфиром. Далее известная последовательность реакций, показанная на схеме 71, приводит к кетону (153).

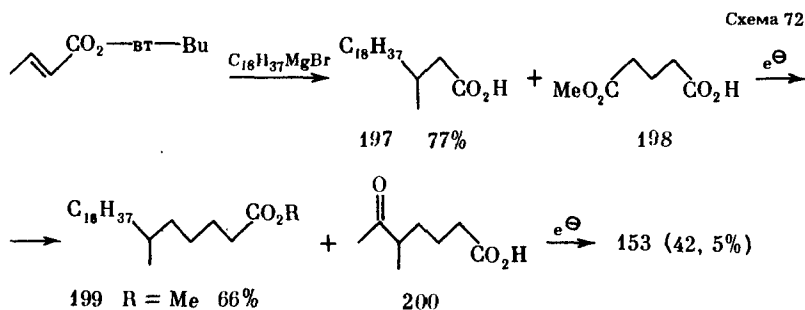


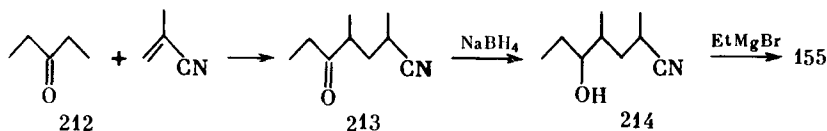
Схема 72

Короткий синтез кетона (153) с хорошим выходом осуществлен электролитическим методом [731]. Перекрестная димеризация кислоты (197), полученной 1,4-присоединением октадецилмагнийбромида к фторбутиловому эфиру кротоновой кислоты, с моноэфиром глутаровой кислоты (198) (схема 72) на платиновом электроде приводит к метиловому эфиру кислоты (199) с 66%-ным выходом. Последующим электролизом эфира (199) с 5-метил-6-кетогептановой кислотой (200) получают кетон (153) с 42,5%-ным выходом (схема 72).

В синтезе оксикетона (154) для введения 20-оксигруппы использован бензиловый эфир (201) (схема 73) [732], который сохраняется во всех последующих превращениях. Этилирование эфира (201) комплексом ацетиленидлития — этилендиамин с количественным выходом приводит к ацетиленовому эфиру (202), который металлируют и алкилируют 1,12-дибромдодеканом с образованием 84% бромэфира (203). Последний реакцией Виттига переводят в эфир (204) с выходом 54%. 2-Кето-группу

гида, алкилируют альдегидом (210) и гидролизуют водной щавелевой кислотой в кетоальдегид (211). Реакция Гриньяра по альдегидной группе приводит к кето-спирту (155).

Схема 76

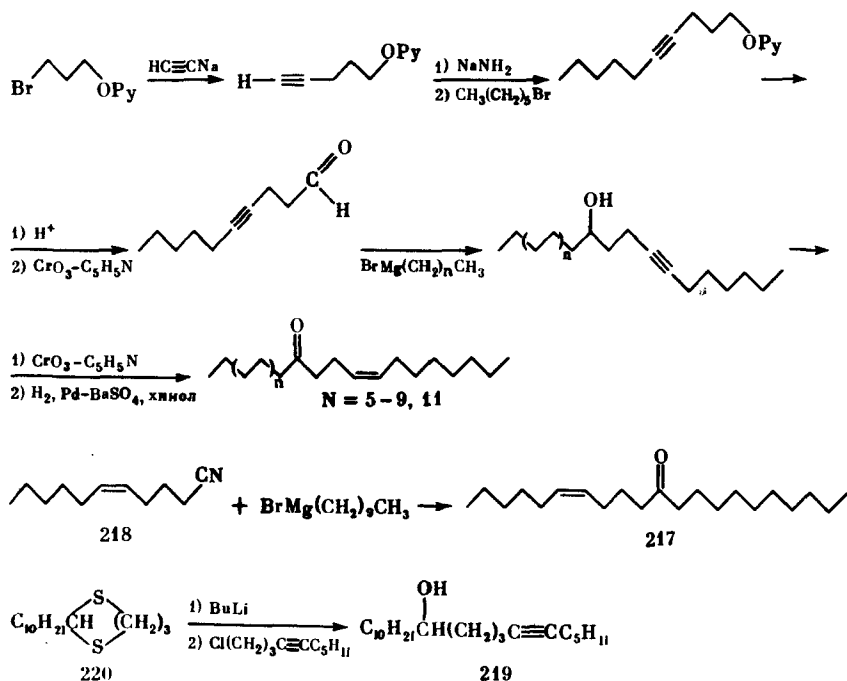


Описан простой синтез серрикорнина, позволяющий получать феромон в количествах, достаточных для практических целей (схема 76) [735], исходя из диэтилкетона (212) и метилакрилонитрила. Полученный кетонитрил (213) восстанавливают в оксинитрил (214) и реакцией Гриньяра превращают в кетоспирт (155).

Ненасыщенные кетоны

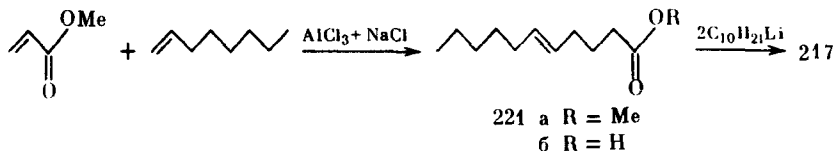
Ненасыщенные кетоны C_{19} – C_{26} являются феромонами некоторых видов чешуекрылых. Так, самка *Carpocapsa niponensis* выделяет два соединения: Z-7-нонадецен-11-он (215) и Z-7-эйкозен-11-он (216), основным компонентом феромона волнянки *Orgyia pseudotsugata* является Z-6-генэйкозен-11-он (217). Кроме него, она выделяет диеновые кетоны – C_{21} как минорные компоненты.

Схема 77



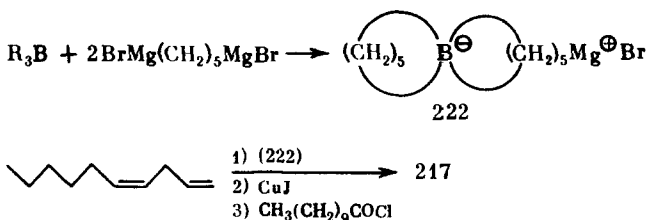
В основу целого ряда синтезов ненасыщенных кетонов положена реакция альдегидов с реактивами Гриньяра или натриевыми, литиевыми соединениями по общей схеме 77 [117, 468, 736–741].

Схема 78



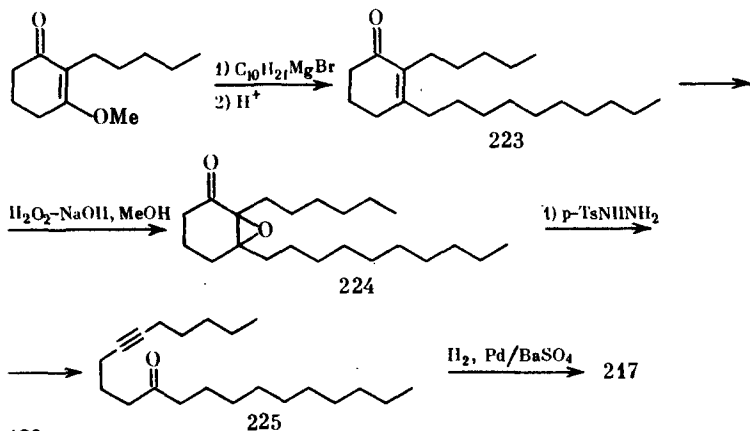
В реакцию Гриньяра вводят также нитрил (218), который дает сразу кетон (217) [738, 739]. Ключевой спирт (219) для синтеза Z-6-тенэйкозен-11-она получают также металлизированием дитиана (220) с последующим алкилированием соответствующего дитианил аниона 1-хлор-4-децином [125, 742]. Необходимая для синтеза кислота (221) получена реакцией метилакрилата с 1-октенем, катализируемой эвтектической смесью AlCl_3 с NaCl или KCl , которая в отличие от AlCl_3 не вызывает изомеризации олефинов с перемещением двойной связи в середине цепи и, следовательно, не приводит к побочным разветвленным соединениям. По реакции образуется E-кислота, из которой синтезировали E-кетон (E-217). Для получения Z-кетона кислоту (E-221) подвергали бромированию с последующим дегидробромированием.

Схема 79



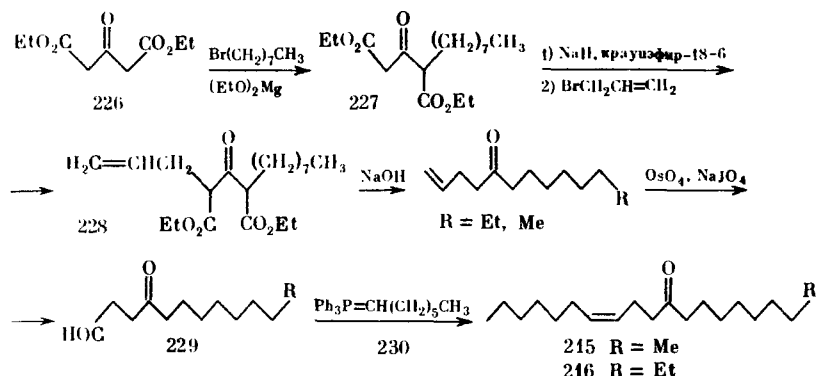
Описано [744] проведение реакции Гриньяра с циклическими боратами (222), полученными из реактивов Гриньяра и триалкилборанов. Эти реактивы не только взаимодействуют с галоидными алкилами, но и селективно гидроборируют против правила Марковникова олефины, что позволило получить кетон (217) по схеме 79. Реакция проходит с высоким (88–94%) выходом.

Схема 80



Расщепление алициклических кетонов (223) используется для синтеза непредельных кетонов [609, 745] (схема 80). Синтез по схеме 80 осуществлен с общим выходом 60%. Распад эпоксикетона (224) в ацетиленовый кетон (225) проведен через соответствующий гидразид.

Схема 81



Интересен синтез Z-7-эйкозен-11-она (216) и Z-7-нонадецен-11-она (215) двухстадийным алкилированием диэтилового эфира 3-кетоглutarовой кислоты (226) (схема 81) [746]. Первое алкилирование диэфира (226) проводят октилбромидом в присутствии этилата магния, выход моноалкилированного диэфира (227) 74%. Повторное алкилирование проводят через стадию металлирования диэфира гидридом натрия в толуоле в присутствии краунэфира. Полученный кетозэфир (228) для декарбокислирования нагревают с водным раствором едкого натра, а затем окисляют в альдегид (229) и реакцией Виттига с фосфораном (230) превращают в C₂₀-кетон (216). Аналогично получен C₁₉-кетон (215).

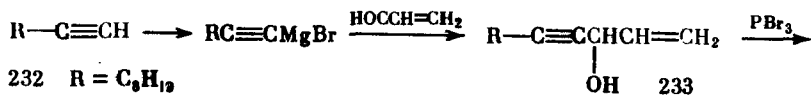
Алифатические кислоты и эфиры кислот

Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты и их эфиры являются феромонами многих видов насекомых. Валериановую и капроновую кислоты выделяют жуки *Limonius californicus* и *L. saopus*. Насыщенные жирные кислоты C₁₀-C₂₀, моноеновые C₁₂-C₁₄ кислоты и известные высшие жирные кислоты — олеиновая, линолевая, линоленовая и их эфиры входят в состав феромонов нескольких видов насекомых семейств Trogoderma и Dermesfes.

В данном разделе не приводятся синтезы кислот, ранее известных в области липидов. Описаны лишь методы получения тех соединений, которые выделены, идентифицированы как феромоны насекомых.

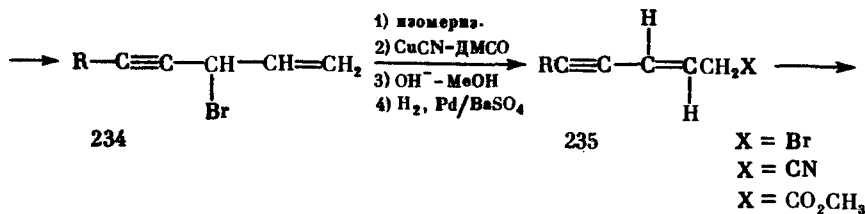
2-Метил-Z-8-гексадеценовая кислота — один из компонентов феромона *T. inclusum* — получена окислением соответствующего спирта, синтез которого описан ранее [622, 623]. E-3, Z-5-тетрадекадиеновая (мегагомная) кислота (231) идентифицирована в феромоне самки жука *Attageus megatoma* [310]. Для подтверждения структуры и конфигурации двойных связей синтезированы E-3, Z-5 и Z-3, E-5-тетрадекадиеновые кислоты.

Кислота (231) синтезирована методом, ранее описанным для E-3, Z-5-тридекадиеновой кислоты [747, 748] (схема 82). Реактив Июича, полученный из децина (232), с акролеином дает вторичный спирт (233), в котором гидроксил замещают на бром. Вторичный бромид (234) легко изомеризует-

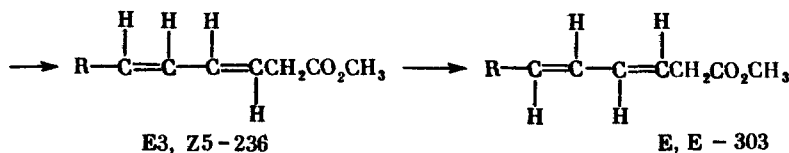


232 R = C₉H₁₃

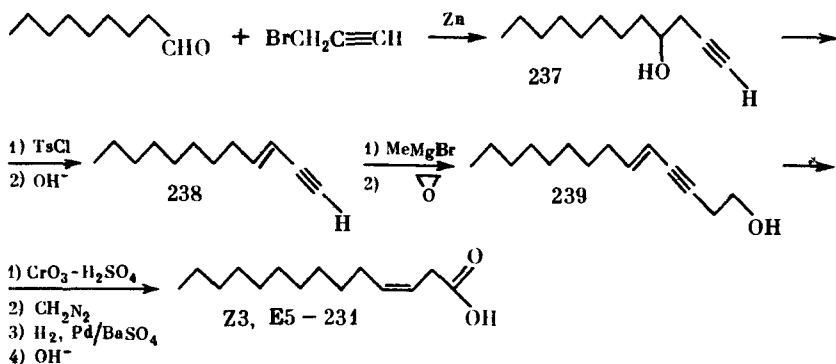
233



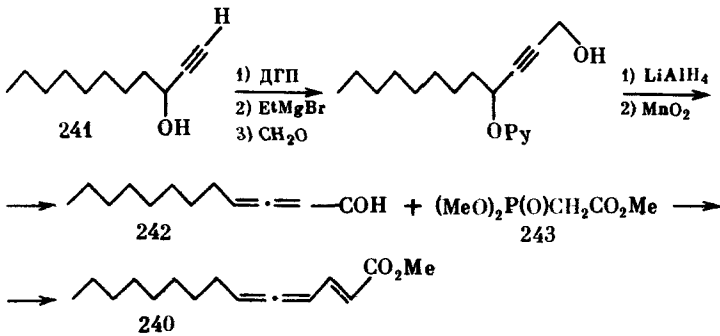
X = Br
X = CN
X = CO₂CH₃



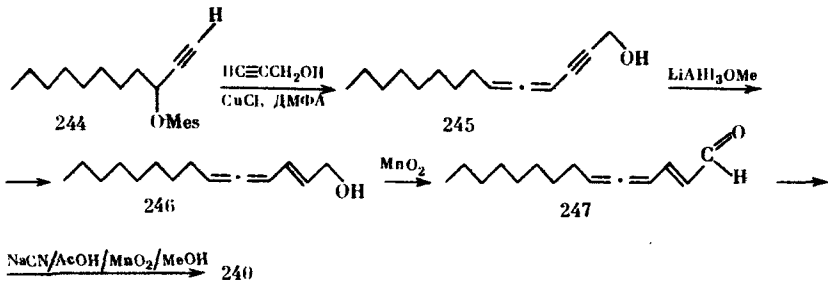
ся в сопряженный ениновый бромид (235), галоид замещают на циан-группу, гидролизуют в метаноле с образованием E-3, Z-5-метилового эфира (236), и изомеризуют в E, E-изомер (303) [310, 749].



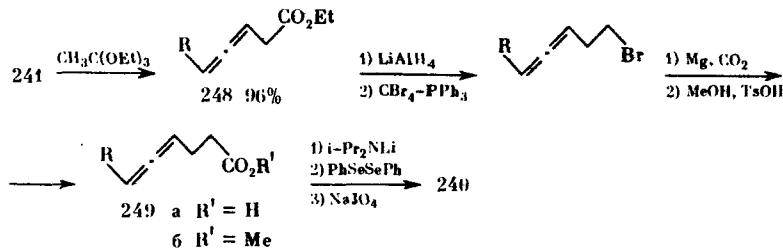
Z-3, E-5-Изомер кислоты (231) синтезирован дегидратацией ацетиленового спирта (237) с последующим взаимодействием реактива Юича, полученного из E-додец-3-ен-1-ина (238) с окисью этилена, окислением спирта (239) в кислоту, этерификацией и стереоспецифическим гидрированием (схема 83). Феромоном, имеющим триеновую, аллененовую систему, является метиловый эфир E-2,4,5-тетрадекатриеновой кислоты (240), продуцируемый самцами жуков *Acanthoscelides obtectus*. Описан ряд методов синтеза рацемической формы феромона [750-752], исходным веществом в которых является 3-оксиундецин (241) (схема 84). В случае использования классических методов аллен-олефиновая связь создается, например, реакцией алленового альдегида (242) с фосфонатом (243). Другой подход к синтезу эфира (240) [751] включает реакцию ацетиленового метилсуль-



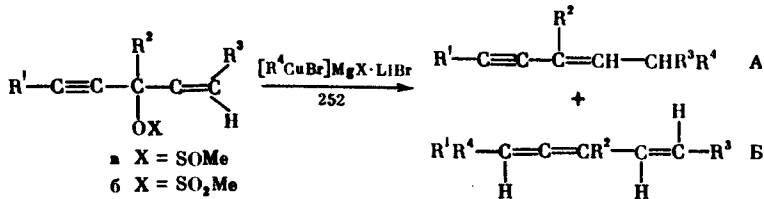
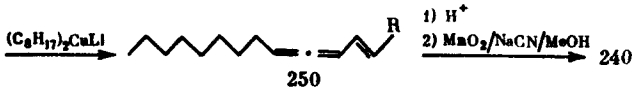
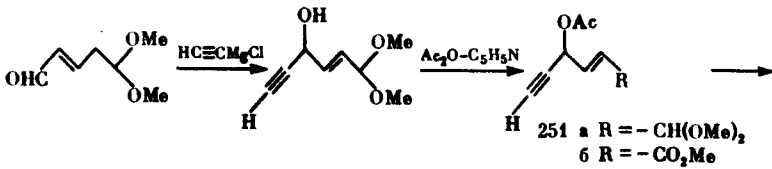
фоната (244) с пропаргиловым спиртом, что приводит к алленацетиленовому спирту (245), который превращают стереоспецифично, исключительно в транс-аллен-еновый спирт (246) (схема 85) и окисляют.



Использовано также дегидрирование алленовой кислоты [752] (схема 86), получаемой из 3-оксиундецина (247) последовательными превращениями: модифицированной перегруппировкой Клайзена, восстановлением полученного эфира (248), бромированием, введением карбоксильной группы по Гриньяру. Дегидрирование достигается окислением α -фенилселенового эфира, образующегося из алленовой кислоты (249а), через литий-производное реакцией с дифенилселенидом.

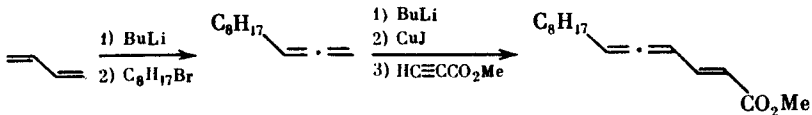


Интересными являются синтезы с использованием реакций медь-органических соединений [753–755] (схема 87). Алкилирование димилацетата (251а) литийдиоктилкупратом приводит к аллену (250) лишь с 25%-ным выходом [753]. Присоединения диоксил-литийкупрата к ениновому эфиру (251б) вообще не происходит, по-видимому, вследствие преимущественной реакции с α, β -ненасыщенной связью [753]. Значительно лучше, чем в ацетатах, на 90% и более, идет алкилирование метилсульфина-



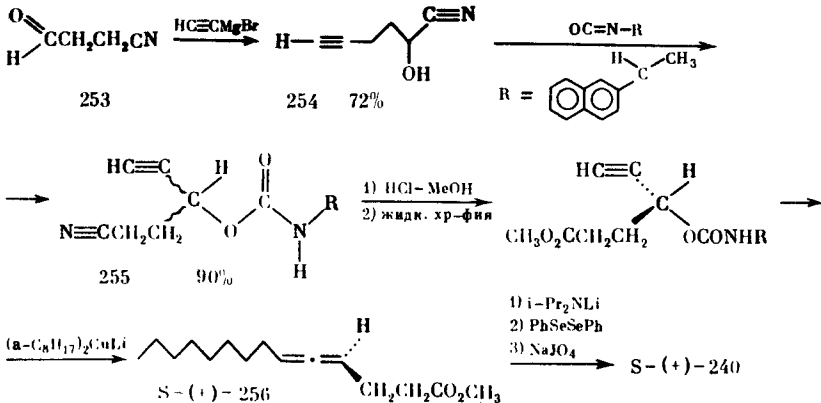
тов и метилсульфонатов [754]. Однако реакция неоднозначна и наряду с 1,3-аллильным присоединением наблюдается 1,3-пропаргильное присоединение. Соотношение продуктов реакции зависит от заместителей X, R¹ и R³. Более объемные заместители способствуют 1,3-пропаргильному присоединению. Если X = SOMe, то продукты А:В находятся в соотношении 25:75. Еще более региспецифично проходит реакция, если в качестве эфирной группы берут метилсульфонат. Присоединение купрата (252) идет по тройной связи на 98% и с выходом 90%.

Схема 88



Алленовые купраты также легко алкилируются галоидными алкилами [755] и присоединяют пропионовую кислоту, что положено в основу синтеза феромона *A. obtectus*, исходя из бутадиена (схема 88).

Схема 89



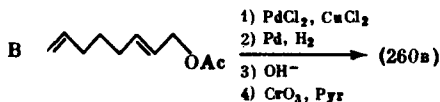
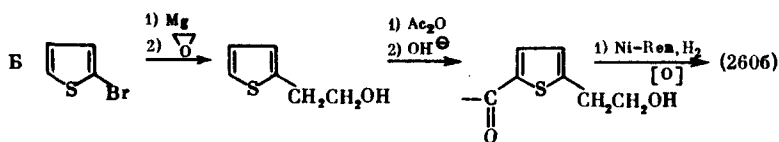
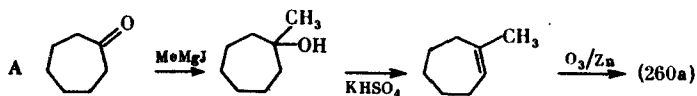
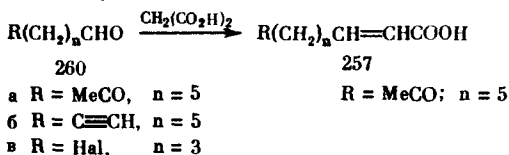
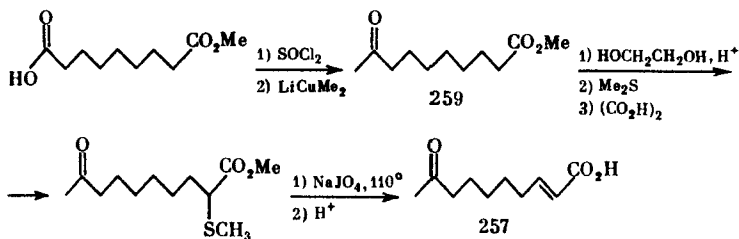
С использованием хиральных 1,3-диалкилалленов осуществлен синтез обоих энантимеров метилового эфира (-)-E-2,4,5-тетрадекатриеновой кислоты (240), для установления абсолютной конфигурации феромона (схема 89) [756]. β -Цианопропионовый альдегид (253) с этилмагни-бромидом дает рацемический спирт (254). Карбаматы (255) делятся жидкостной хроматографией на диастереоизомеры. Двойную связь в алленовый эфир вводят аналогично схеме 86.

В ходе реакции карбаматов (255) с литийкупратами происходит обращение конфигурации [757]. Поэтому карбамат (255), имеющий S-конфигурацию около карбинильного углерода, дает R-(-)-аллен (256). Соответственно из R-карбамата (255) получают (S)-(+)-аллен. Знаки вращения природного феромона и [(R)-(-)-256] совпадают, что дает возможность приписать природному феромону R-конфигурацию.

9-Кето-E-2-деценовая (257) и 9-окси-E-2-деценовая (258) кислоты являются многофункциональными феромонами матки пчел *Apis mellifera*. С помощью 9-кето-E-2-деценовой кислоты пчелиная матка привлекает трутней в брачном полете. А, кроме того, с помощью этой же кислоты она воздействует на многие функции рабочих пчел, ингибируя репродуктивную активность у них и вызывая рефлекс ухаживания за маткой. Эти аспекты биологического действия открывают возможность практического использования кислоты (257), что вызывает интерес к ее синтезу.

Ключевыми стадиями в синтезе 9-кето-E-2-деценовой кислоты (257) являются создание α, β -E-двойной связи и введение 9-кетогруппы.

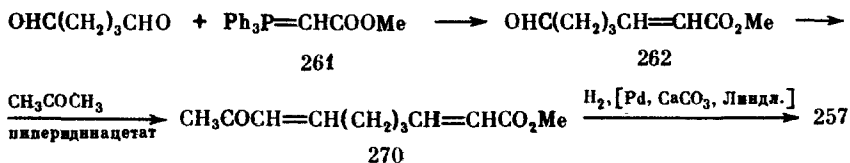
Схема 90



Ряд авторов для создания двойной связи использовали реакции элиминирования: дегидрогалогенирование [758, 759], дегидросульфенилирование [760], окислительное отщепление фенилселенильной группы [761, 762]. Так, из моноэфира азелаиновой кислоты получают кетозфир (259), который в виде этиленкетала тиоалкилируют, окислением до сульфоксида и дегидросульфенилированием получают кислоту (257) (схема 90) [760].

Используется также реакция альдегидов с малоновой кислотой [328, 763—774], которая приводит к кислоте (257) стереоспецифично и с достаточно хорошими выходами. Необходимый для реакции альдегид (260 а—в) получают расщеплением циклогептанона (реакция А) [763, 764] или тиофена (реакция Б) [771], или из диенового ацетата (реакция В) [768]. 7-Октиналь (260б) получают окислением 8-йодоктинола [767, 770], в этом варианте тройную связь гидратируют сульфатом ртути в муравьиной кислоте [767]. Если в реакции Дебнера используется 5-оксипентаналь, полученный расщеплением дигидропирана [765], то кетогруппу вводят реакцией ω-галоид-2-гептеновой кислоты с ацетоуксусным эфиром [767, 775, 776].

Схема 91



Практические синтезы 9-кето-Е-2-деценовой кислоты, позволяющие получать большие количества вещества, основаны на реакции Виттига [777—782]. Так, глутаровый альдегид с фосфорилидом (261) (схема 91) переводят в альдегидозфир (262), который с ацетоном дает кетозфир (270). После гидрирования эфира (270) получают кислоту (257) (схема 91). 9-Окси-Е-2-деценовую кислоту (258) обычно получают восстановлением кетокислоты (257) натрийборгидридом.

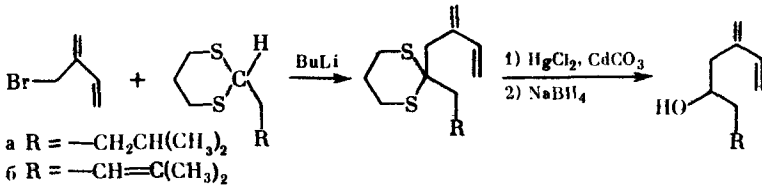
ФЕРОМОНЫ ТЕРПЕНОИДНОЙ СТРУКТУРЫ

Монотерпеновые спирты и их эфиры

К монотерпеновым спиртам относятся агрегационные феромоны короedов рода *Jps* — 2-метил-6-метил-окт-7-ен-4-ол (ипсенол) (271) и 2-метил-6-метил-окта-2,7-диен-4-ол (ипсдиенол) (272), половые феромоны жуков-щелкунов (геранилбутаноат) и щитовок — 2-метил-6-метил-1-окт-ен-8-илпропионат (273) и 2,6-диметил-1,6-октадиен-8-илпропионат (274). Феромоном щитовки *Pseudococcus Comstocki* является ацетат нортерпенового спирта — 2,6-диметил-1,6-гептадиен-3-илацетат (275).

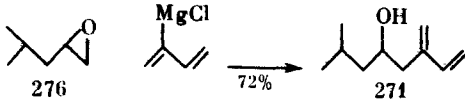
Вследствие большого ущерба, наносимого короедом рода *Ips* в лесу, феромоны их изучены достаточно детально. Описаны их свойства, стереохимия, многие авторы уделили внимание синтезу ипсенола и ипсдиенола в рацемической [351, 783—791] и хиральной форме [792—795].

Несмотря на то что подходы к синтезу этих соединений разнообразны, чаще всего ключевой стадией является реакция металлоорганических соединений (Li, Mg, Cu, Zn) с электрофильными агентами. Так, в ходе идентификации сделана попытка синтезировать ипсенол и ипсдиенол реакцией изовалерианового альдегида или диметиллакролеина с бромметилбутадиеном по Гриньяру. Однако ни магниевое, ни литиевое производное бромме-



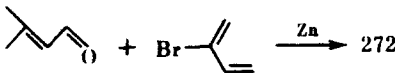
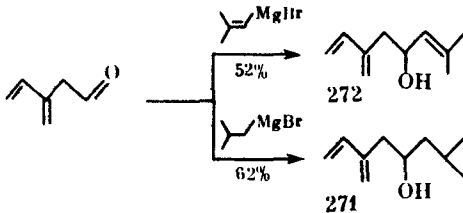
тилбутадиена получить не удастся. Синтез с низким выходом проведен с использованием дитиановой защиты альдегида [351, 783] (схема 92).

Схема 93



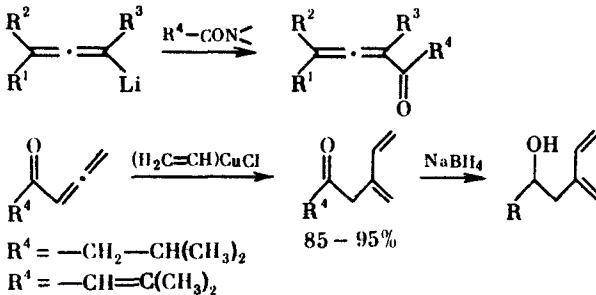
Вместе с тем из хлорпропена реактив Гриньяра получается достаточно хорошо и к мягким электрофилам, например (276), присоединяется предпочтительно по C₂ [784]. Ипсенол получается с удовлетворительным выходом (схема 93).

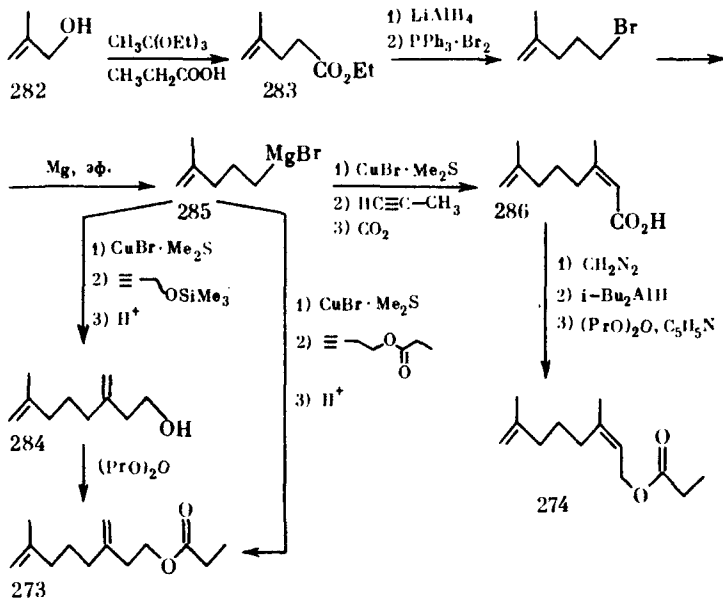
Схема 94



Диеновые или моноеновые альдегиды реагируют по Гриньяру с образованием соответствующих вторичных спиртов со средними выходами (50–60%) [785, 788, 789] (схема 94). Это достаточно удобные препаративные методы синтеза, однако ненасыщенные альдегиды малодоступны и неустойчивы. В развитие этих методов разработаны синтезы ненасыщенных альдегидов 3,3-сигматропной перегруппировкой аллильных эфиров [785] или бромированием—дегидробромированием насыщенных альдегидов [788], или восстановлением соответствующих кислот [789].

Схема 95





углеродную цепь до C_5 удлиняют реакцией с триэтилортоацетатом с последующим восстановлением эфира (283). Сочетание синтонов C_5 и C_3 проводят взаимодействием медьорганических соединений с алкинами. В первом случае получают сразу пропионат (273) с 42%-ным выходом, а во втором — пропионат (273) получают из спирта (284) с пропионовым ангидридом. Второй компонент феромона — Z-2,6-диметил-1,6-октадиен-8-иппропионат (274) синтезируют также из реактива Гриньяра (285).

Медьорганический реагент, полученный из него с комплексом $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$, реагирует с пропином и затем с CO_2 , с образованием 47% кислоты (286). Восстановление метилового эфира этой кислоты и пропоксилирование спирта приводит к пропионату (274).

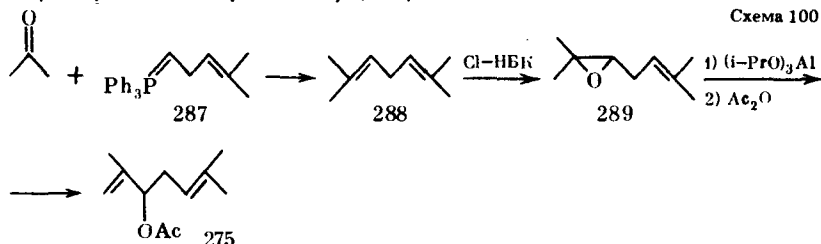


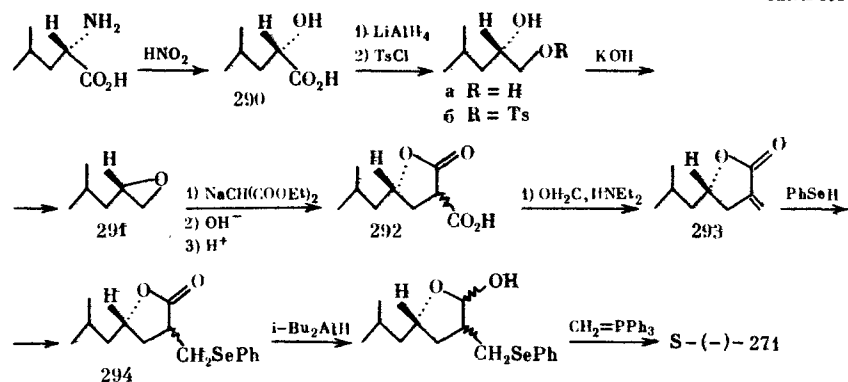
Схема 100

Для получения феромона щитовки *Pseudococcus comstocki* (275) использована реакция Виттига. Синтез осуществлен на основе ацетона и фосфора (287) по схеме 100 [500]. Эти соединения взаимодействием по Виттигу дают 2,6-диметил-2,5-гептадиен (288), который с одним эквивалентом хлорнадбензойной кислоты превращают в моноэпоксид (289). При взаимодействии с триизопроксиалюминием эпексид в кипящем толуоле перегруппировывается [798] в 2,5-диметил-1,5-гептадиен-3-ол. После ацетили-

рования получают феромон (275). Феромон содержит хиральный центр при C₃. Стереизомеры разделены капиллярной ГЖХ в виде метоксифенил (трифторметил)-уксусных эфиров.

Стереоселективный синтез ипсенола и ипсдиенола. Для изучения стереохимии синтезированы оптически активные ипсенол и ипсдиенол.

Схема 101

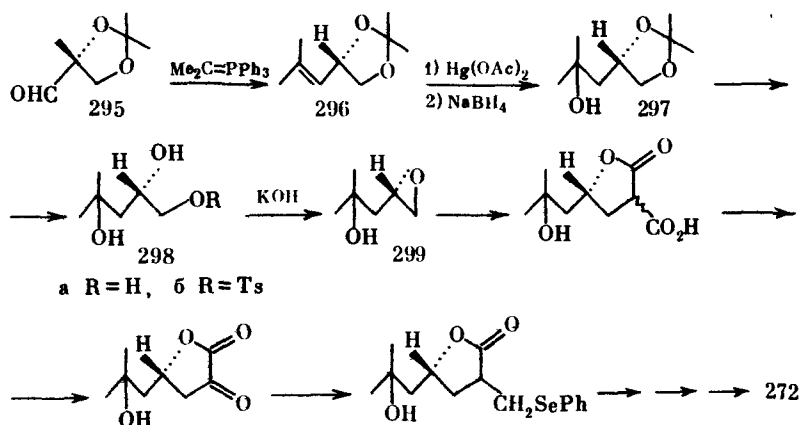


S-(-)-Ипсенол получен из L-(+)-лейцина [792, 793], (схема 101), который при обработке азотистой кислотой дает S-(-)-лейциновую кислоту (290). Эта реакция протекает с полным обращением конфигурации [799] и полученная лейциновая кислота обладает 90%-ной оптической чистотой. Последовательные превращения кислоты (290) восстановлением, тозилацией и обработкой водным раствором KOH приводят к эпоксиду (291). Конденсацией эпоксида (291) диэтилмалонатом натрия с последующим щелочным гидролизом и декарбоксилированием получают α -карбоксилактон (292). Лактон (292) превращают в α -метилена- γ -лактон (293) взаимодействием с формальдегидом в диэтиламине, защищают метиленовую группу присоединением PhSeH по Михаэлю. Лактон (294) восстанавливают в лактол, а затем с метилентрифенилфосфораном и одновременным удалением селенофенильной группы переводят в (S)-(-)-ипсенол. Сравнением спектральных свойств с природным феромоном установлено, что ипсенол имеет (S)-(-)-конфигурацию.

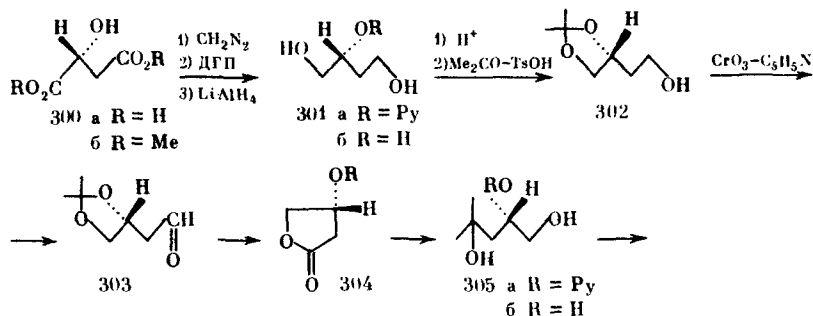
Для изучения отношения между феромонной активностью и хиральностью синтезирован (R)-(+)-ипсенол по аналогичной схеме из R-(-)-лейцина. Биологические испытания на *Ips grandicollis* показали, что только (S)-(-)-энантиомер биологически активен.

Оба энантиомера ипсдиенола синтезированы из ацетонида глициринового альдегида (295) [794] (схема 102), легко получаемого из D-маннитола [800]. В ацетонид [(R)-(+)-295] реакцией Виттига вводят изопропилденную группу. Полученный олефиновый ацетонид (296) реакцией оксимеркурирования-демеркурирования с Hg(OAc)₂-NaBH₄ превращают в спирт (297), удаляют ацетонидную защиту. Тозилат спирта (298б) при обработке щелочью дает хиральный эпексид (299).

Дальнейшие превращения проведены аналогично схеме 101 в синтезе ипсенола. Двойная связь введена дегидратацией с POCl₃. Полученный (R)-(-)-ипсдиенол имел удельное вращение $[\alpha]_D^{20} -5,0^\circ$, в то время как природный — $[\alpha]_D^{20} + 10,0^\circ$. Хотя оптическая чистота синтезированного (R)-(-)-ипсдиенола низкая, этим синтезом доказана S-конфигурация природного феромона. Неудовлетворительная оптическая чистота объясняет



ся частичной рацемизацией в ходе многостадийного синтеза, особенно при превращении лактола (299) в ипсдиенол по Виттигу.



S-(+)-энантиомер ипсдиенола высокой степени оптической чистоты (> 90%) синтезирован из R-(+)-яблочной кислоты (300) [800] (схема 103). Диметилевый эфир кислоты (300) превращают в тетрагидропириновый эфир и восстанавливают в диол (301). После снятия защиты гликольную систему превращают в ацетонидную и окисляют ацетонид (302) в альдегид (303). Дальнейшее окисление реагентом Джонса с последующим гидролизом ацетонидной группы и лактонизацией приводит к (R)-(+)- β -оксибутиролактону (304), который при обработке MeMgJ дает триол (3056), а затем ключевой хиральный эпоксид (299).

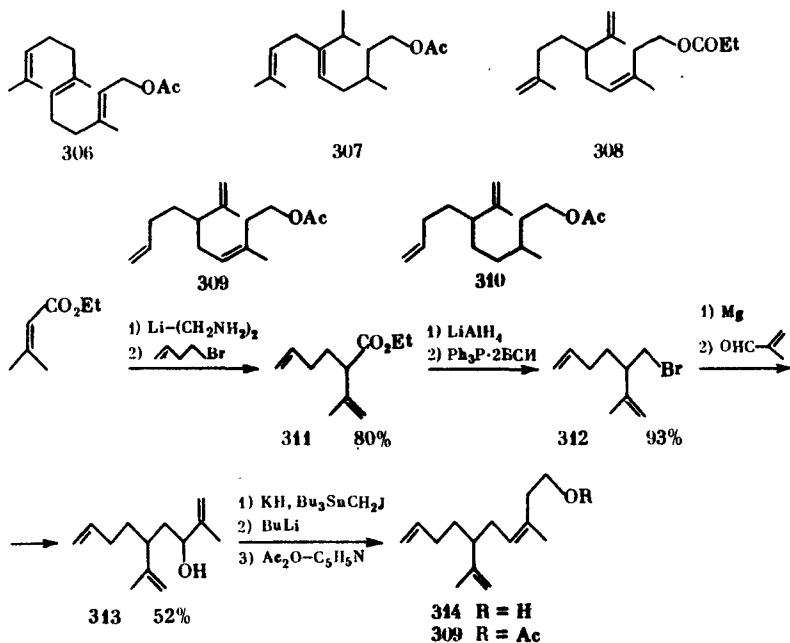
Для получения S-(+)-ипсдиенола далее использована реакция эпоксида (299) с 2-(1,3-бутадиенил)-магниихлоридом, как описано [784]. S-(+)-Энантиомер получен 90%-ной оптической чистоты. R-(-)-ипсдиенол этим методом получен лишь 38%-ной оптической чистоты.

Эфиры сесквитерпеновых спиртов

Фарнезилacetат (306) является половым феромоном жука-шелкуна (схема 104). К сесквитерпеновым можно отнести и половые феромоны щитовок, имеющие 15 углеродных атомов в цепи: ацетат (307) — феромон *Aopidiella citrina*, пропионат (308) — феромон *Pseudaulas caspis pentagona*, а феро-

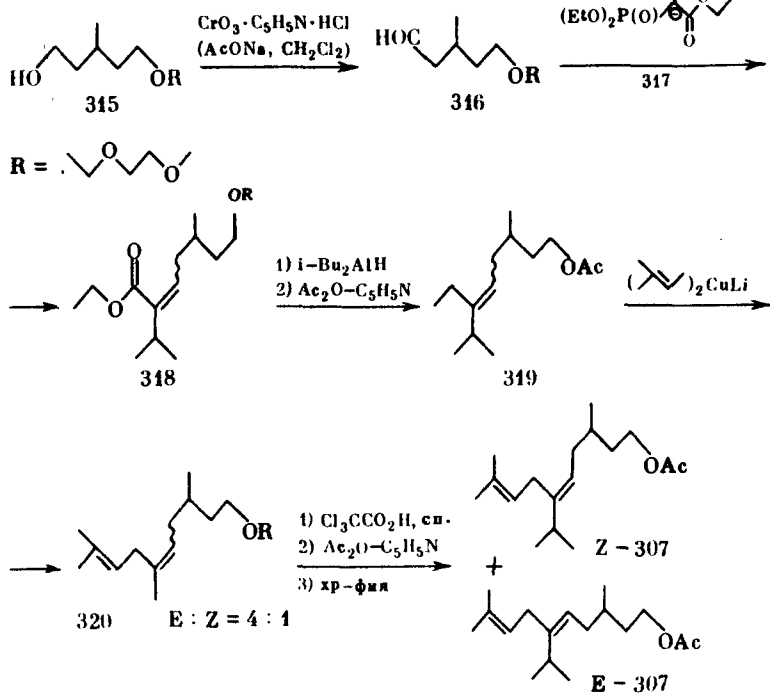
мон щитовки *Aonidiella aurantii*, состоящий из двух ацетатов (309) и (310) с 14 атомами углерода — к норсесквитерпенам. Ранее показано, что феромоны других видов щитовок (*Pseudococcus Comstoki*, *Quadra spidiotus perniciosus*) являются эфирами монотерпеновых спиртов. Это еще раз подтверждает, что родственные виды насекомых имеют близкие по структуре феромоны.

Схема 104



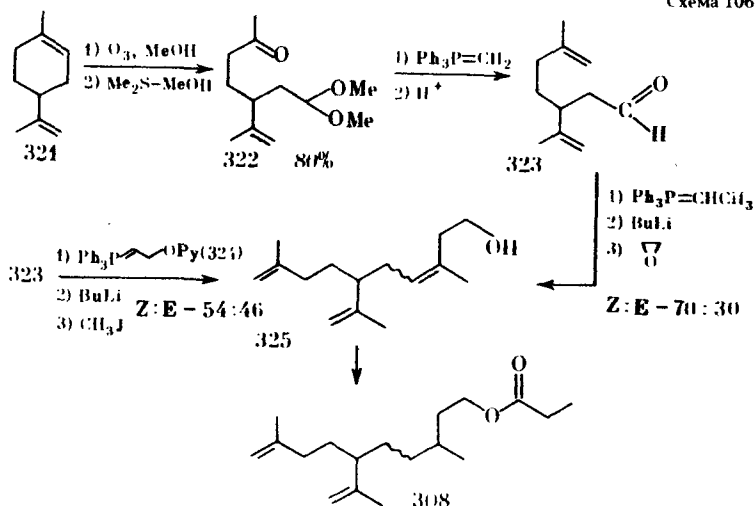
Щитовки являются опасными вредителями многих растений. С целью решения практических задач синтез феромонов щитовок в рацемической и хиральной форме развивается очень интенсивно. Ацетат (309) синтезирован алкилированием карбаниона диметилакриловой кислоты 4-бромбутеном по схеме 104 [801]. Эфир (311); полученный при алкилировании, восстанавливают и превращают в бромид (312), который в виде реактива Гриньяра реагирует с метакролеином с образованием спирта (313). Последний подвергается [2, 3]-сигматропной перегруппировке под действием бутиллития [802], сопровождающейся алкилированием трибутилодметил-оловом. При этом получается спирт (314), содержащий 95–96% цис-изомера, его ацетилюют.

Для выяснения стереохимии двойной связи при C₅ феромон (307) синтезирован по схеме 105 [85, 803, 804]. Моноксисэтоксиметилловый эфир (315), полученный обработкой 3-метил-1,5-пентандиола метоксисэтоксиметилхлоридом, окисляют в альдегид (316), который реагирует с фосфонат-анионом (317) с образованием эфира (318). Восстановление и ацетилирование последнего приводит к ацетату (319), который взаимодействует с диизобутиленмедью с образованием изомерной смеси эфира (320) в соотношении E:Z = 4:1. После расщепления эфирной группы трихлоруксусной кислотой и ацетилирования изомеры разделяют препаративной хроматографией. Природному феромону соответствует транс-изомер (E-307).



Феромон белой персиковой щитовки *Pseudaulas capris* (308) может иметь четыре изомера вследствие существования C_3 -двойной связи и хирального центра при C_6 . Рацемическая смесь феромона (308) синтезирована из d,l-лимонена (321) [80, 805] (схема 106). Лимонен (321) озонируют, затем

Схема 106

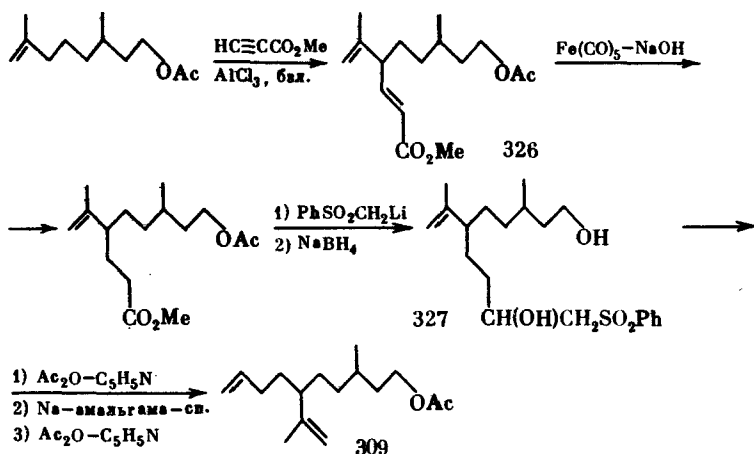


обрабатывают диметилсульфидом в присутствии следов кислоты и получают кетоацеталь (322) с выходом более 80%, который реагирует с метилидентрифенилфосфорилдом с образованием диенового ацетала. При гидролизе его получают диеновый альдегид (323). Реакция альдегида (323) либо с илидом (324), полученным из 3-бромпропанола с последующим метилированием йодистым метилом, либо с этилидентрифенилфосфораном с последующей обработкой окисью этилена приводит к изомерной смеси спирта (325), из которого получают пропиловый эфир (308). Изомеры разделяют препаративной жидкостной хроматографией.

По аналогичной схеме из R-(+)-лимонена получают R, Z- или R, E-308 $\geq 99\%$ изомерной чистоты, а из S(-)-лимонена — S, Z- и S, E-308.

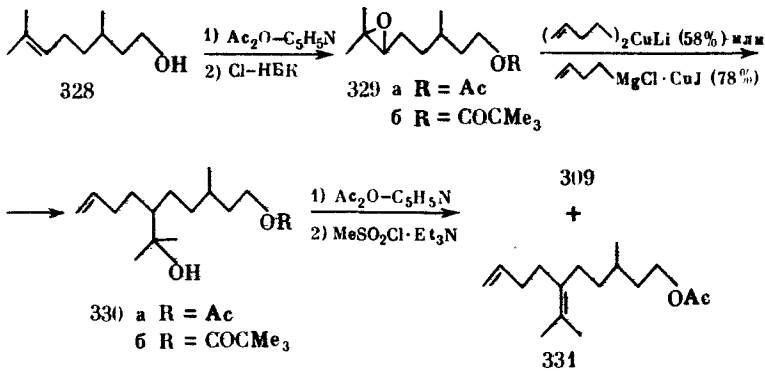
Феромон калифорнийской красной щитовки *Aonidiella aurantii* состоит из двух компонентов: 3-метил-6-изопропенил-9-деценил-1-ацетата (309) и Z-3-метил-6-изопропенил-3,9-декадиенил-1-ацетата (310)

Схема 107



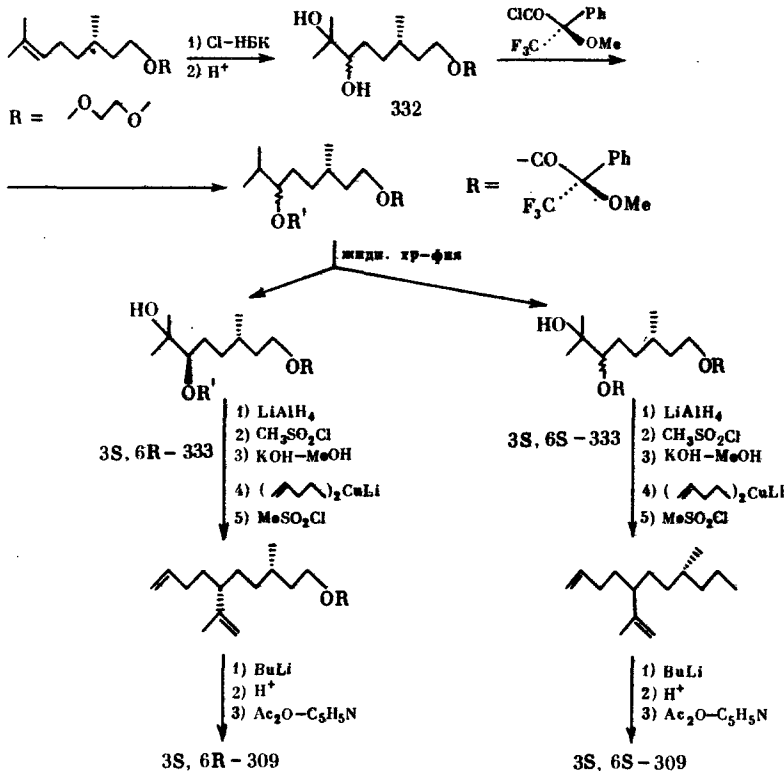
Первый компонент (309) синтезирован из доступного сырья по схеме 107 [806]. Основной стадией является катализируемая AlCl_3 реакция метилового эфира пропиоловой кислоты с цитронеллилацетатом, которая приводит к 55%-ным выходом к эфиру (326) в виде смеси диастереоизомеров 1:1. Избирательное восстановление двойной связи, сопряженной с карбоксильной группой, достигается при использовании смеси пентакарбонила железа с NaOH (2:1) в MeOH -вода — 95:5 [807]. Введение метиленовой группы осуществляется получением сульфозэфира реакцией с фенилсульфонилметиллитием, последующим восстановлением боргидридом натрия в диол (327), ацелированием, восстановлением 6%-ной амальгамой натрия в спирте в течение 30 мин при 0°C . Восстановление в более жестких условиях (несколько часов при 25°C) вызывает изомеризацию соединения (309) со смещением концевой двойной связи к середине цепи. Аналогичный синтез из R-(+)- и S(-)-цитронеллилацетата приводит к ацетату (309) с контролируемой стереохимией при C_3 .

Описан синтез рацемического компонента (309), R- и S-изомеров (309) из (+)- и (-)-цитронеллола. Этот метод позволяет иметь определенную конфигурацию атомов при C_3 и обеспечивает стереорегулируемое введение изопропенильной группы в C_6 . Рацемический феромон (309) получен из (\pm)-цитронеллола (328) по схеме 108 [802, 808]. Ацелирование цитронеллола (328), последующее эпоксирирование приводят к эпоксиду



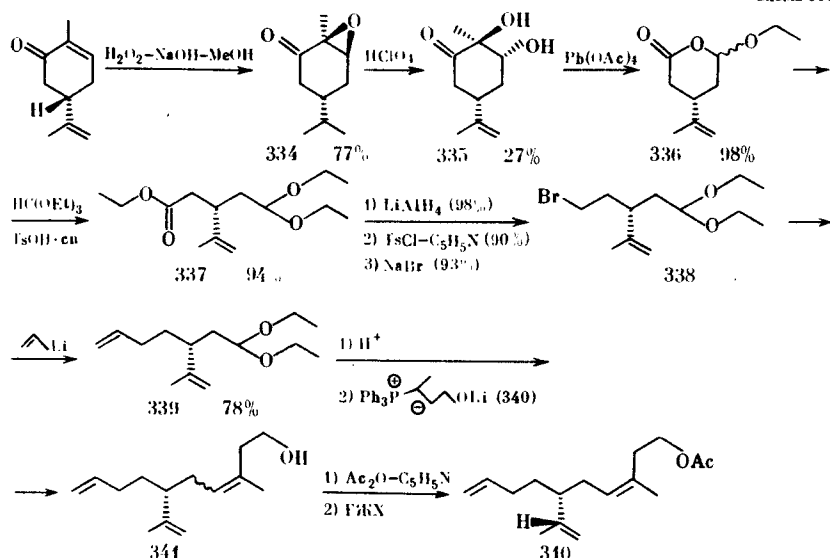
(329a). Реакцией последнего с ди-3-бутенилмедьюлитием, сопровождающейся реацетилированием вследствие частичного гидролиза ацетокси-группы в условиях реакции, получают оксиацетат (330a) с 58%-ным выходом. Лучше (выход 78%) эта реакция проходит с 3-бутенилмагниихлоридом и 2,2-диметилпропионовым эфиром эпoxида (329б). Дегидратация с помощью MeSO₂Cl приводит к смеси 3RS, 6RS-309 и изомера (331), который отделяют хроматографией на силикагеле в виде эпoxида.

Схема 109



По этой же схеме из R-(+)-цитронеллола получают 3R, 6R-309, а из S-(-)-цитронеллола — 3S, 6RS-изомер (309). Только последний является активным феромоном, поэтому синтезированы 3S, 6R- и 3S, 6S-изомеры из S-(-)-цитронеллола по другой схеме 109 [802]. Метоксиэтокси-метильный эфир S-цитронеллола эпоксируют, кислым гидролизом переводят в гликоль (332), который превращают в диэфир с хлорангидридом R-(+)- α -метокси- α -(трифторметил)-фенилуксусной кислоты. Разделение диастереоизомеров проводят жидкостной хроматографией высокого разрешения. 3S, 6R-изомер выделен 96,0% диастереоизомерной чистоты, а 3S, 6S-изомер — 96,5%. Восстановление алюмогидридом лития эфиров (333) до соответствующих диолов, эпоксидование, введение 3-бутенильного остатка и дегидратация проводились, как показано в схеме 108. Снятие метоксиэтоксиметильной защиты достигнуто лишь обработкой бутиллитием с последующим кислым гидролизом. После ацетилирования получают 3S, 6R- и 3S, 6S-изомеры феромона.

Схема 110



Все четыре изомера второго компонента феромона (310) синтезированы также из S- и R-карвона [196, 809] (схема 110). S-(+)-Карвон превращают в эпоксид (334) взаимодействием с перекисью водорода в присутствии едкого натра в метаноле, затем расщепляют его перхлорной кислотой в кетодиол (335), который окисляют тетраацетатом свинца в лактон (336). Пропоксиацеталь (337), полученный из лактона с триэтилортоформатом, восстанавливают алюмогидридом лития в оксиацеталь. После замены гидроксильной группы в спирте на бром через тозилат, бромид (338) реакцией с виниллитием превращают в диеновый ацеталь (339). Гидролиз ацетала приводит к альдегиду, который при взаимодействии с фосфониевой солью (340) дает спирт (341) с соотношением изомеров Z:E = 52:48, при ацетилировании получают соответствующий ацетат (310). Разделение RZ- и RE-изомеров (341) достигается препаративной газожидкостной хроматографией. Оптическая чистота RZ-изомера составляет 98,4%. S-Изомеры (S-310), полученные аналогичным методом из R-карвона, имеют 99% оптической чистоты.

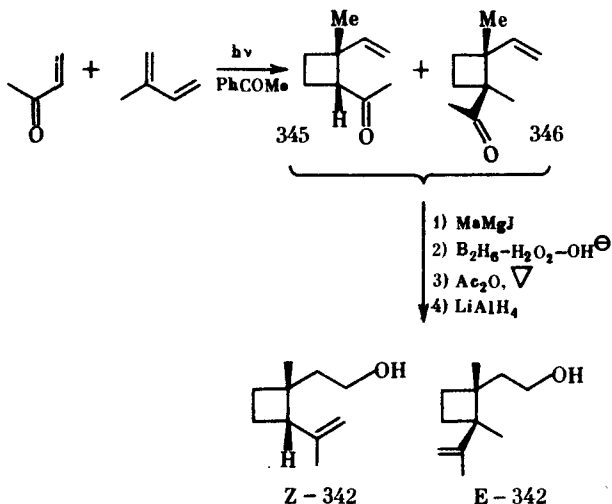
Циклические спирты

В состав феромонов некоторых видов жесткокрылых входят циклические терпеновые спирты, имеющие четырехчленный цикл (грандизол, 342) или шестичленный цикл (*Z*-3,3-диметил- Δ^1 - β -циклогексанэтанол, 343), а также бициклические спирты (*Z*- и *E*-вербенол, 344).

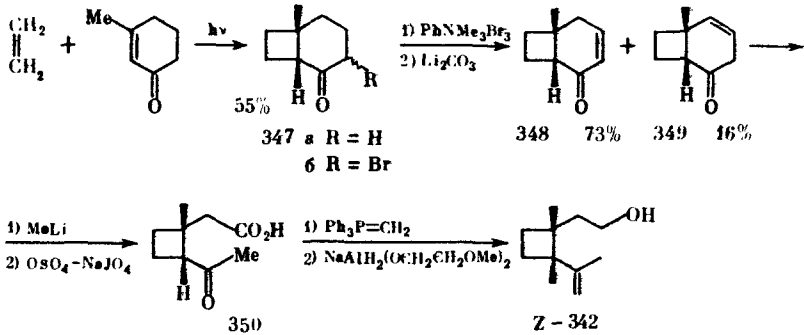
Грандизол, *цис*-2-изопропенил-1-метилциклобутил-этанол (342), является одним из четырех компонентов феромона хлопкового долгоносика *Anthonomus grandis*. Грандизол имеет два асимметрических атома углерода и существует в виде четырех энантиомеров.

Практическая важность феромона для контроля и борьбы с хлопковым долгоносиком побудила многих химиков к синтезу грандизола как в рацемической, так и в хиральной форме.

Схема 111

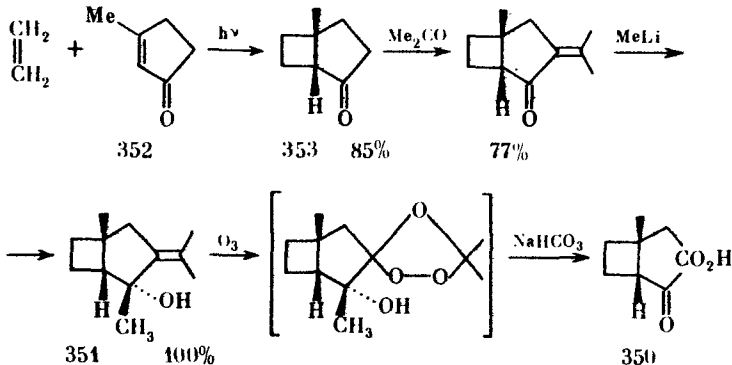


Среди многообразия подходов к синтезу грандизола выделяется фотохимическое циклоприсоединение олефинов к ненасыщенным кетонам, примененное многими авторами для образования четырехчленного цикла. Для подтверждения структуры использовано фотоциклоприсоединение изопрена к метилвинилкетону [314, 810, 811] (схема 111). При облучении смеси метилвинилкетона и изопрена с использованием в качестве сенсibilизатора ацетофенона образуется сложная смесь соединений, в которой сумма *цис*- и *транс*-кетонов (345, 346) составляет лишь 1,2%. Алкилирование по Гриньяру проведено со смесью изомеров, полученные третичные спирты разделены препаративной ГЖХ. Оба спирта отдельно гидроборируют с окислением продуктов присоединения перекисью водорода в спирте. Диолы ацетируют и подвергают пиролизу в одну стадию, и полученные ненасыщенные эфиры восстанавливают алюмогидридом лития до (*Z*-342) и (*E*-342). Сравнением ЯМР-спектров синтезированных соединений с веществом из самцов хлопкового долгоносика доказана *Z*-конфигурация природного феромона.



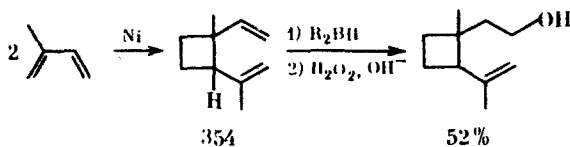
С большими выходами и с контролируемым Z-расположением изопренильной группы проходит синтез грандизола на основе циклоприсоединения этилена к метилциклогексенону [812] (схема 112). В реакции получается 55% бициклического кетона (347). Для размыкания 6-членного кольца бромированием—дегидробромированием вводят двойную связь [812, 813], при этом образуется в основном α, β -изомер (348) и 16% β, γ -изомера (349). После метилирования цикл расщепляют окислением. Метиленовую группу в кислоту (350) вводят с метилентрифенилфосфораном по Виттигу и восстанавливают в спирт. Легко происходит циклоприсоединение к лактонам, например к 5,6-дигидро-4-метил-2Н-пиран-2-ону, что использовано в синтезе грандизола [814–816].

Схема 113



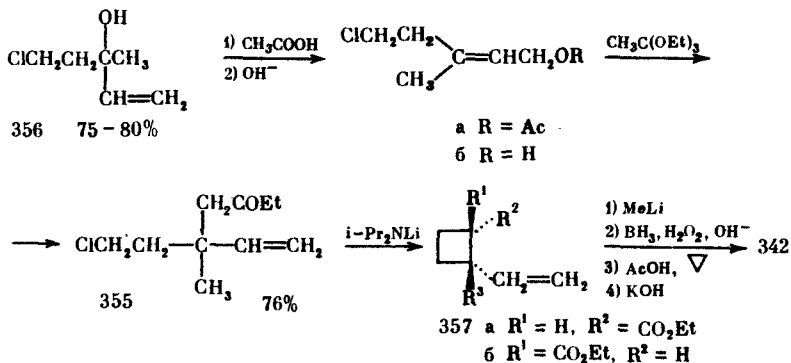
Пятичленный цикл в бициклическом спирте (351), полученном циклоприсоединением этилена к метилциклопентенону (352), реакцией кетона (353) с ацетоном и затем с метиллитием, легко размыкается озонлизом [817] (схема 113) или окислением [818]. Все стадии синтеза идут достаточно легко, общий выход кетокислоты (350) на циклопентенон (352) — 40–50%.

Схема 114



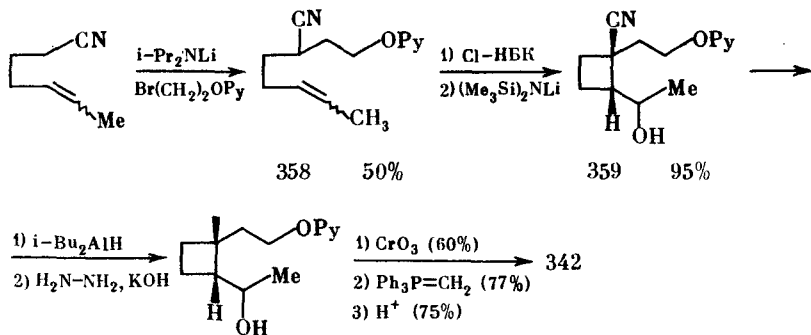
Образование четырехчленного цикла достигается также реакциями димеризации непредельных соединений с использованием химических активаторов двойной связи [819–824]. Так, при димеризации изопрена под влиянием нульвалентного никеля образуется 12–15% циклобутана (354) в смеси с другими соединениями [819]. При гидроборировании циклобутана (354) получают грандизол, который выделяют препаративной ГЖХ. Несмотря на сложность выделения грандизола, синтез привлекает своей простотой (схема 114).

Схема 115



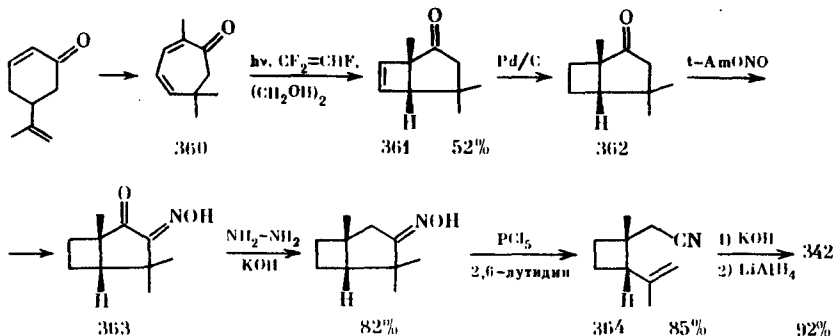
Анионная циклизация эфира (355), полученного из карбинола (356) изомеризацией и реакцией с этил-ортоацетатом, приводит после известных превращений, показанных на схеме 115, к грандизолу (342) [820, 821]. Этот путь не стереоселективен, полученный циклобутан (357) содержит Z- и E-изомеры в соотношении 65:35.

Схема 116

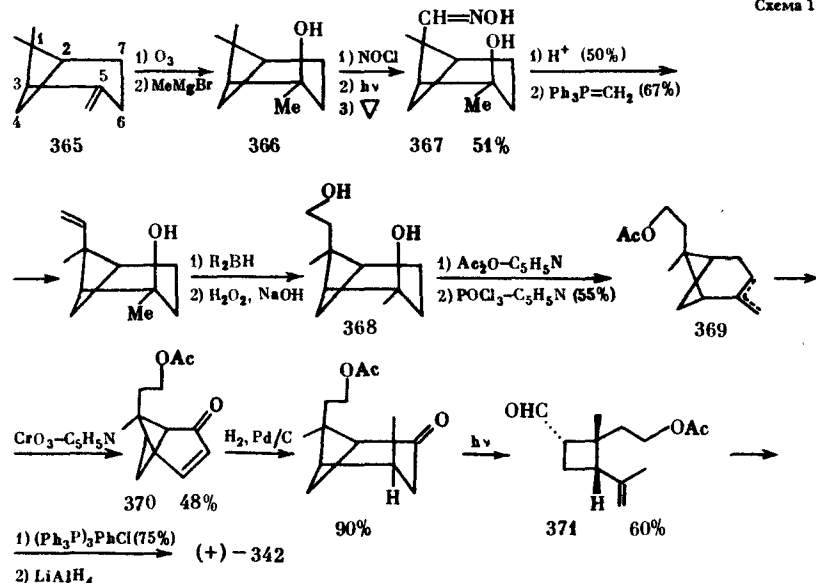


Анионная циклизация нитрилов (358) также приводит к циклобутанолам (359) [822] (схема 116). Если циклизацию проводить с помощью гексаметилдисилазана лития, то получается наилучшее соотношение Z- и E-изомеров – 95:5.

Внутримолекулярная циклизация эукарвона (360), легко получаемого изомеризацией карвона, идет с образованием бициклического кетона (361), в котором необходимо прогидрировать четырехчленный цикл и перенести кетогруппу от C₂ в C₃ (схема 117) [823]. После гидрирования кетона (361) в насыщенный кетон (362) перенос кетогруппы осуществлен через оксиминокетон (363), полученный с изо-амилнитритом. Кето-



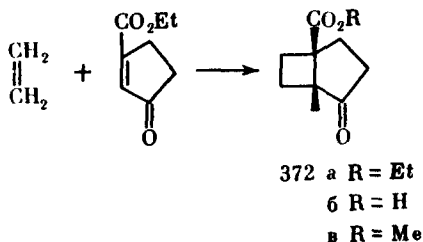
группа при C_2 восстановлена гидразином по Вольфу—Кижнеру. Расщепление кольца осуществлено по Бекману с пятихлористым фосфором. Полученный нитрил (364) после омыления и восстановления дает грандизол с общим выходом на эукарвон 20%.



Оптически активный грандизол синтезирован из (-)- β -пинена (365) [825, 826], который содержит циклобутановое кольцо (схема 118). Первой задачей синтеза является превращение одной из метильных групп β -пинена в этанольную. Это достигается нитрозированием пинан-2- β -ола (366), гидролизом альдоксиа (367), введением метиленовой группы по Виттигу и гидрофорированием с образованием диола (368).

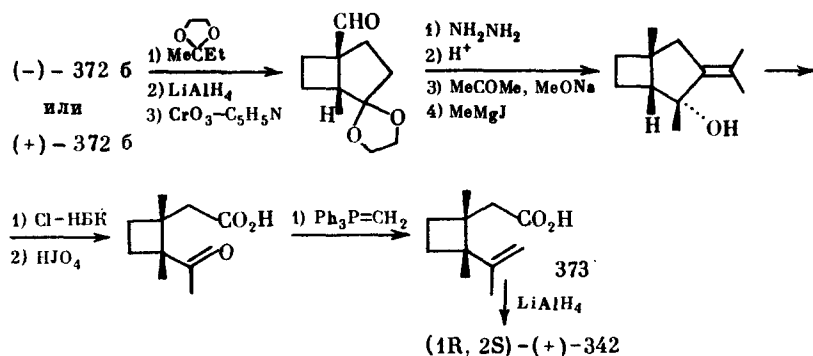
Следующей задачей является расщепление моста $C_5-C_6-C_7$. Ацетилирование и дегидратация приводят к смеси эндо- и экзо-циклического олефина (369) в соотношении 1:2. Аллильное окисление дает кетон (370), который гидрируют, а затем подвергают фотохимическому распаду с образованием изопропенильной группы в альдегиде (371). Синтез завершается декарбонилированием и снятием защитной ацетильной группы.

Схема 119



Однако (+)-грандизол, полученный в этом синтезе, имеет низкую степень оптической чистоты. Поэтому была предпринята попытка получить оба энантиомера грандизола из бициклической кислоты (372) [827]. (схема 119), которая разделена: в виде солей с хинином получена (-)-1R,5S-кислота (372б), а с бруцином – (+)-кислота. Далее синтез продолжают с хиральными кислотами. Известными превращениями, показанными на схеме 120, из (-)-кислоты (372б) получен 1R,2S-(+)-грандизол с удельным вращением $19,6 \pm 2^\circ$, что соответствует 80% оптической чистоты. Аналогично из (+)-кислоты получен (-)-1S,2R-грандизол. С помощью хининовых солей можно разделить на энантиомеры и кислоту (373) [828].

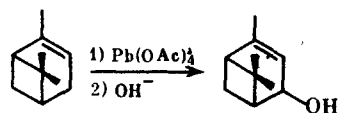
Схема 120



Синтез цис- и транс-вербенола. Цис-(+)-вербенол [Z-(+)-344] синтезирован восстановлением (-)-вербенона [351, 783, 829, 830] натрийборгидридом или алюмогидридом лития. Восстановление идет с преимущественным образованием Z-изомера (86%).

Из 1S, 5S-(-)- α -пинена получен 1S, 4S, 5S-2-пинен-4-ол (S-цис-вербенол), идентичный веществу, выделенному из *Ips ragosonifusus*, на основании этого природному феромону приписана 1S, 4S, 5S-конфигурация [830].

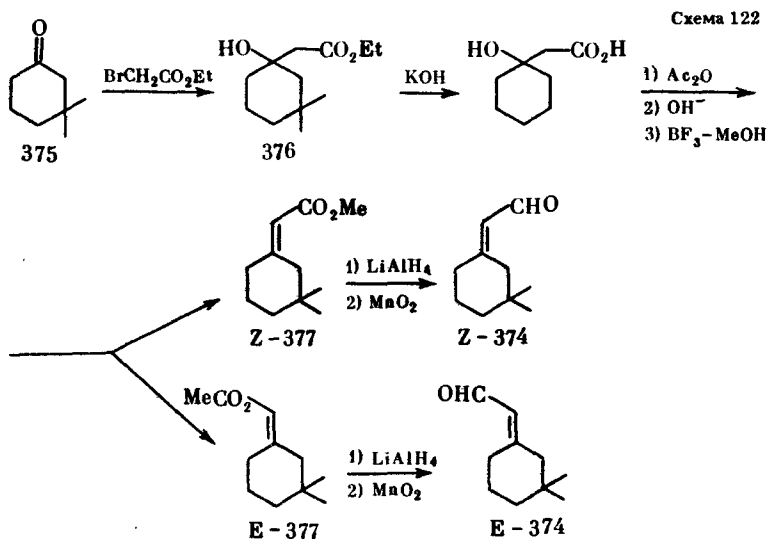
Схема 121



Транс-(+)-вербенол синтезирован из α -пинена [829, 831] окислением тетраацетатом свинца с последующим гидролизом ацетата (схема 121). Из (+)- α -пинена, 80% оптической чистоты, и его энантиомера, 70% оптической

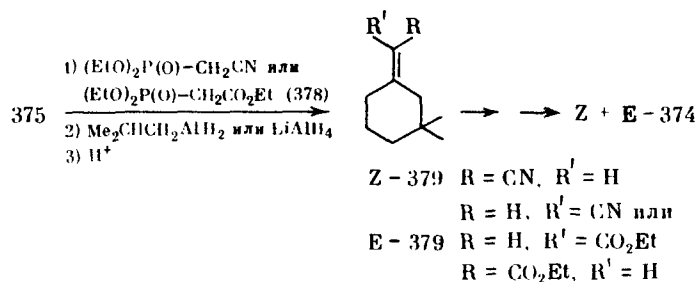
чистоты, получены оптически чистый (+)-транс-вербенол и его энантиомер [831].

Цис-3,3-диметил- $\Delta^{1,\beta}$ -циклогексан-этанол (343) получен восстановлением соответствующего альдегида [314, 810, 811, 832–836], синтез которого описан в следующем разделе.



Циклические альдегиды. В состав феромона хлопкового долгоносика входит Z- и E-3,3-диметил- $\Delta^{1,\alpha}$ -циклогексанацетальдегид (374). Для подтверждения структуры при идентификации эти компоненты синтезированы [314, 810, 811, 837] из 3,3-диметилциклогексанона (375) присоединением этилбромацетата по Реформатскому (схема 122). Омыление эфира (376), дегидратация и этерификация приводят к метиловому эфиру насыщенной кислоты (377), который делят на цис- и транс-изомеры дистилляцией с последующей препаративной газожидкостной хроматографией. Z- и E-эфиры (377) восстанавливают в спирты и окисляют в альдегиды (Z- и E-374). Сравнением спектральных свойств и биологической активности альдегидов с природными компонентами подтверждена структура альдегидов, выделенных из самок хлопкового долгоносика.

Схема 123

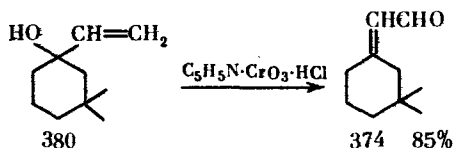


Улучшенный метод введения группы =CH-CHO заключается в реакции кетона (375) с диэтил-цианометилфосфонатом (схема 123) [832, 833]

или с эфиром (378) [838]. Этот метод позволяет с помощью растворителя и основания, использованного в модифицированной реакции Виттига, контролировать соотношение Z- и E-изомеров (379). Если используется метиллитий-бензол или $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{OH}^-$ -бензол-метанол, то получается преимущественно E-изомер (соотношение Z:E – 28:72), если же применить гидрид натрия-бензол, ДМФА или ДМСО или этилат натрия – спирт, то образуется примерно равное количество Z- и E-изомеров. Необходимый для синтеза диметилциклогексанон получают из анизола восстановлением и алкилированием диметилмедьюлитием [833] или из доступного 3-метил-2-циклогексена присоединением MeMgBr [835, 837] или диметиллитийкупрата [834, 835].

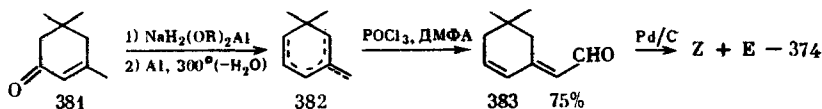
Если в реакцию берут фосфоноацетат (378), то дальнейшие превращения проводят аналогично схеме 122.

Схема 124



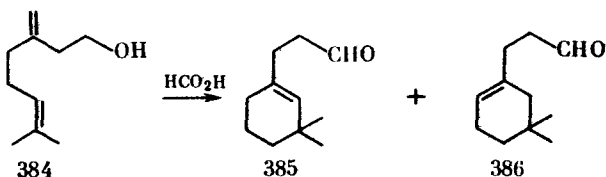
Из диметилциклогексанона (375) альдегиды (Z- и E-374) получают присоединением триэтилортоформиата [835] или ацетиленида лития с последующей перегруппировкой образовавшегося спирта [834] или присоединением 2-этоксивиниллития [839]. Третичные виниловые спирты (380) перегруппировываются в α, β -ненасыщенные альдегиды (374) при окислении реактивом Кори [840], с образованием смеси изомеров – 1:1 (схема 124).

Схема 125

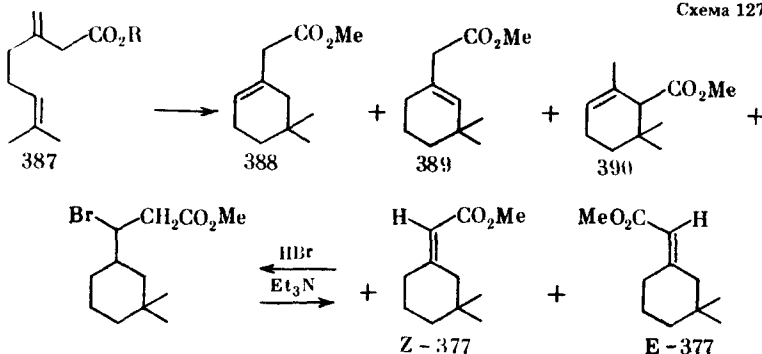


Описан простой двухстадийный путь к альдегидам (374), имеющий практическое значение, использующий формилирование ненасыщенных кетонов (381) в энольной форме [841, 842] (схема 125). Восстановление изофорона (381), сопровождающееся дегидратацией спирта на алюминии при 300° , дает смесь трех возможных конъюгированных диенов (382). Из-за стерических препятствий формилирование направлено на экзоциклическую двойную связь. Альдегид (383) образуется с выходом 75%, избирательное восстановление его приводит к желаемым цис-, транс-альдегидам (374).

Схема 126



Проверен биогенетический путь образования альдегидов (374) из γ -гераниола (384) [836, 843, 844]. Циклизация γ -гераниола, катализируемая муравьиной кислотой, приводит к более термодинамически устойчивым эндоциклическим изомерам (385 и 386) со следами спиртов (схема 126).

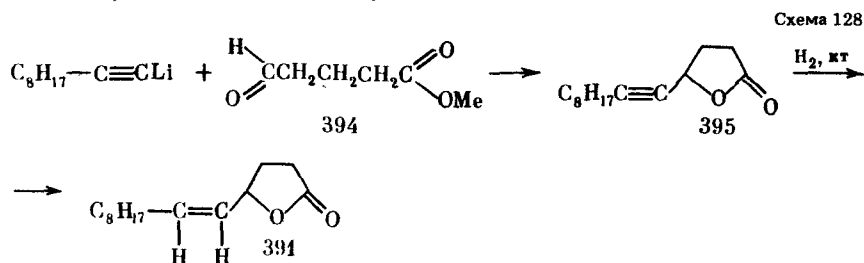


Цель, однако, достигнута циклизацией эфира (387), который при нагревании с полифосфорной кислотой дает смесь циклических эфиров (388—390, Z - и E -377). Для того чтобы увеличить количество Z - и E -377, смесь обрабатывают бромистым водородом и дегидробромируют с триэтиламино, получают смесь, содержащую 80% экзоциклических изомеров (377). Эфиры (377) восстанавливают в спирты и окисляют в альдегиды (Z - и E -374).

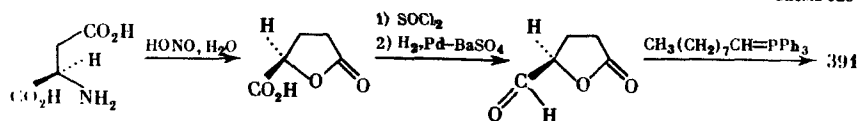
ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

Производные фурана и пирана

Среди феромонов жесткокрылых известны производные фуранового и пиранового циклов: Z -5-(1-децил)-дигидро-2(3H)-фуранон (391) — феромон японского жука (*Porillia japonica*), 5-октил-дигидро-2(3H)-фуранон (392) — феромон жука-стафилинида и 2,3-дигидро-2,3,5-триметил-6-(1-метил-2-оксобутил)-4H-пиран-4-он (393) — феромон жука *Stegobium paniceum*. Первые два вещества могут быть отнесены к лактонам.

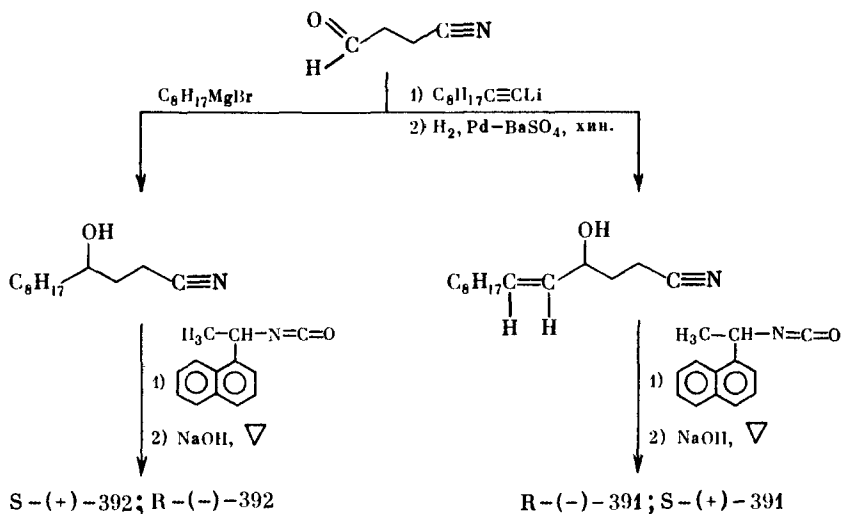


Для подтверждения структуры в ходе идентификации феромона японского жука соединение (391) в рацемической форме синтезировано реакцией 1-литийдецина с метиловым эфиром (394) [331, 846] (схема 128). В ходе реакции сразу образуется лактон (395), который восстанавливают в Z -олефиновый лактон (391). Для установления конфигурации природно-



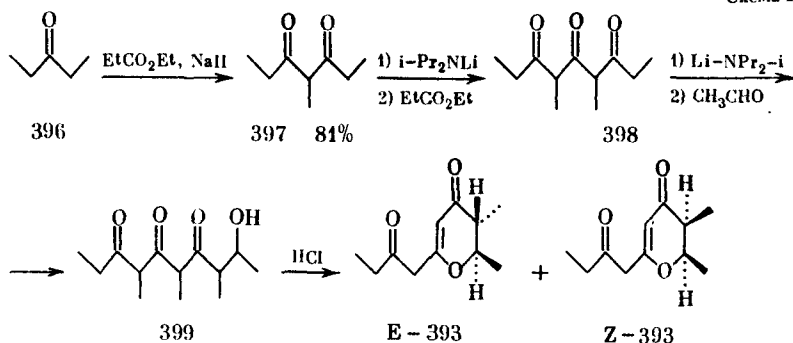
го феромона синтезированы RZ- и SZ-энантиомеры, исходя из оптически активных (R)- и (S)-глутаминовых кислот [331], соответственно (схема 129). Z-Двойную связь вводят с помощью реакции Виттига.

Схема 130



Синтез оптически активных форм значительно упрощается, если использовать разделение промежуточных соединений в виде карбаматов (схема 130) или сложных эфиров [847, 848] с помощью препаративной жидкостной хроматографии. По этой схеме из γ -цианопропионового альдегида получены оба энантиомера феромона как японского жука, так и жука-стафилинида (392).

Схема 131



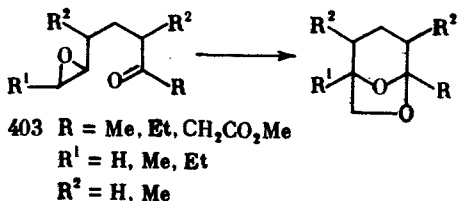
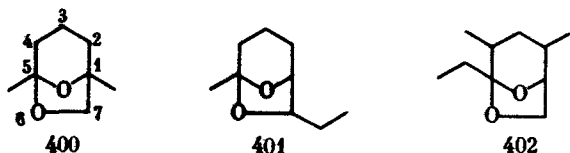
Феромон жука *Stegobium paniceum*, названный стегобиноном (393), синтезирован почти одновременно, независимо друг от друга, двумя группами авторов, использовавших способность ди- и трикетонеров образовывать ди- и три-анионы при обработке сильными щелочными агентами (схема 131) [849, 850]. Так, диэтилкетон (396) ацилируют этиловым эфиром пропионовой кислоты в присутствии гидрида натрия. Полученный дикетон (397) с диизопропиламидом лития дает дианион, который реагирует

снова с этиловым эфиром пропионовой кислоты, образуя трикетон (398). Повторная обработка диизопропиламидом лития приводит к трианиону, а его реакция с уксусным альдегидом приводит к спирту (399), который в кислой среде дает смесь E-393- и Z-393-изомеров, разделяемых колоночной хроматографией на силикагеле.

Бициклические соединения

Три вида жесткокрылых выделяют феромоны, представляющие собой бициклические соединения: 1,5-диметил-6,8-диоксабицикло-[3, 2, 1]-октан (фронталин) (400) – *Dendroctonus frontalis* (схема 132); 7-этил-5-метил-6,8-диоксабицикло-[3, 2, 1]-октан (бревикомиин) (401) – *D. brevicomis*; 2,4-диметил-5-этил-6,8-диоксабицикло-[3, 2, 1]-октан (α -мультистриатин) (402) – *Scolytes multistriatus*.

Схема 132

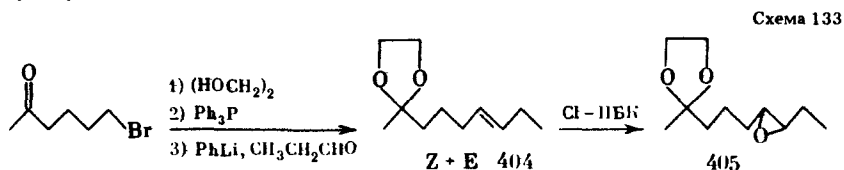


Фронталин имеет асимметрический атом углерода – C₁; природный феромон, выделяемый самками *D. frontalis*, обладает S-(-)-конфигурацией, а его антипод не активен. Бревикомиин может существовать в экзо- и эндоформе. Активный компонент феромона, выделенного из *D. brevicomis*, имеет экзоформу. Эндо-бревикомиин также найден в составе секрета *D. brevicomis*, но он не привлекает жуков [373] этого вида, хотя и участвует в реакции на феромон как *D. brevicomis*, так и *D. frontalis*. Бревикомиин имеет C₁- и C₇-асимметрические атомы. Природный феромон *D. brevicomis* обладает 1R, 7R-(+)-экзоконфигурацией.

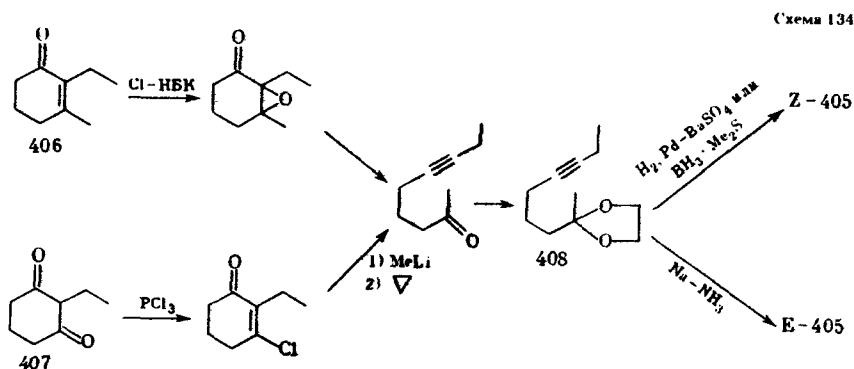
Мультистриатин имеет четыре асимметрических атома углерода – C₁, C₂, C₄, C₅ и может существовать в виде четырех диастереоизомеров (α - δ) и восьми энантиомеров. Природный феромон *Scolytes multistriatus* обладает 1S, 2R, 4S, 5R-(-)-конфигурацией и только этот изомер является биологически активным. Стереохимия мультистриатина и фронталина рассмотрена с помощью ЯМР-спектров с использованием сдвигающих реагентов, органических соединений европия [851].

Описан ряд общих подходов создания этих родственных бициклических систем. Один из них – циклизация эпоксикетонов и эпоксиацетоацетатов (схема 132). Эпоксикетоны (403) или их этиленкетали циклизуются при нагревании до 180–210° [852–854] в присутствии кислот Льюиса [855–857], в присутствии эфирата трехфтористого бора [858, 859] или

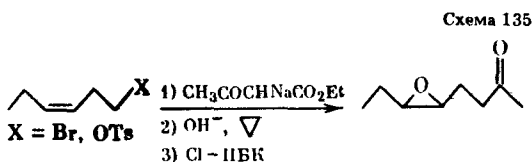
надкислоты [373, 860–863]. Циклизация может происходить и в мягких условиях, в присутствии кислоты, используемой для расщепления эпоксида [864].



Эпоксикетоны получают из соответствующих непредельных кетонов, для синтеза которых описан ряд методов [373, 860, 865]. Так, этиленкеталь (404) получают по реакции Виттига из галоидкетонов [373, 860] (схема 133). Цис- и транс-изомеры (405) разделяют препаративной газожидкостной хроматографией. Из Z-эпоксида получают экзо-бревикомин, из E-405 – эндо-бревикомин. Эпоксид (E-405) получен также с помощью реакции Виттига [866]. Оба изомера (405) синтезированы стереоспецифическим восстановлением ацетиленового кетала (408), полученного трехстадийным синтезом с общим выходом 73%, из замещенного циклогексенона (406) [864] или дикетона (407) [852] (схема 134).

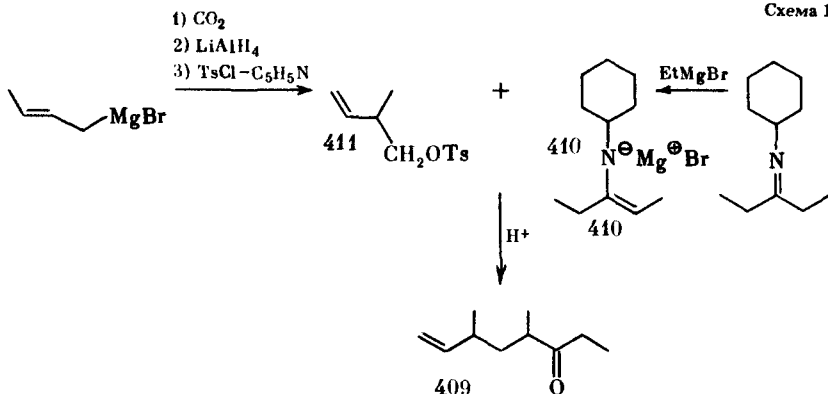


Применяется также алкилирование цис-1-тозил- или 1-бром-гексена-3 ацетоуксусным эфиром с последующим омылением и декарбоксилированием [853, 861–863] (схема 135).



Высокий выход кетона (409) обеспечивает синтез, основанный на алкилировании соли кетимина (410) тозилатом (411), полученным в три стадии из бутенил-магнийбромида [431, 857] (схема 136).

Катализируемая палладием димеризация бутадиена, сопровождаемая карбонилированием, приводит к нонадиенату (412), который известным



способом превращают в диен (413), а затем либо в гликоль (414), либо в эпоксид (403) [854] (схема 137).

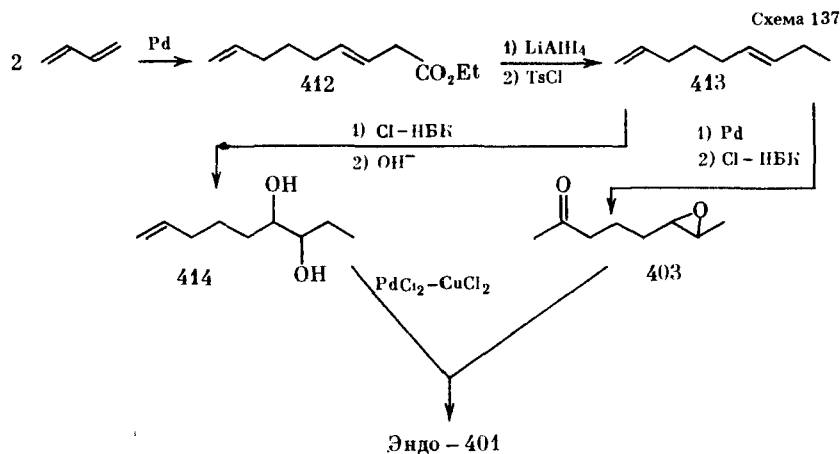


Схема 137

Короткий путь к 3-нонен-2-ону (415), который используется для синтеза бревикомина [854, 864], достигается с помощью смешанного электролиза Е-3-гексеновой и левулиновой кислот. Кетон (415) получается в электрохимической смеси в количестве 33% [867].

Циклизацией хиральных эпоксидов возможно получение оптически активных бициклических феромонов [855, 858, 859]. Примером может служить синтез R-(+)-фронталина из 3R-(-)-линалоола (схема 138) [858].

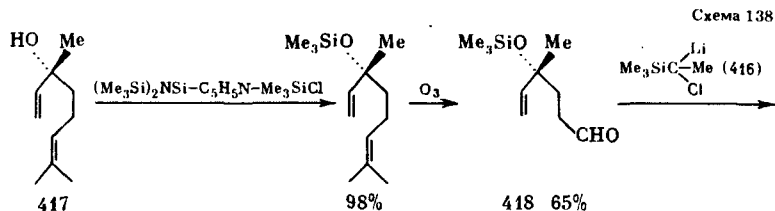
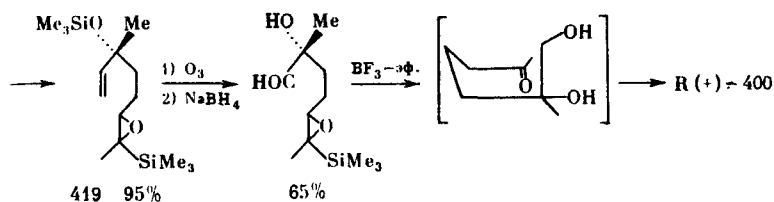
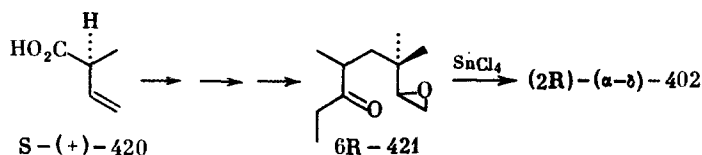


Схема 138



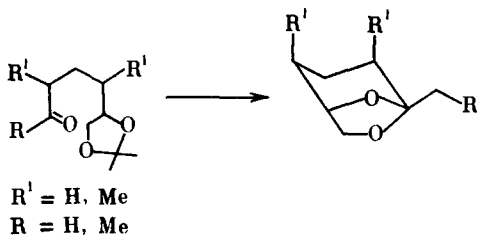
Для синтеза использованы новые реагенты: α -хлортриметилсиллил и α -метил, α -хлортриметилсиллилкарбанионы (416), которые позволяют превращать кетоны и альдегиды в гомологические метилзамещенные кетоны и альдегиды, а также в эпоксиды. После защиты гидроксильной группы в линалооле (417) и избирательного озонлиза получают альдегид (418), который с карбанионом (416) дает хиральный эпоксид (419). Последний под действием эфирата трехфтористого бора превращается в R-(+)-фронталин. Общий выход на 3R-(–)-линалоол 23–29%.

Схема 139

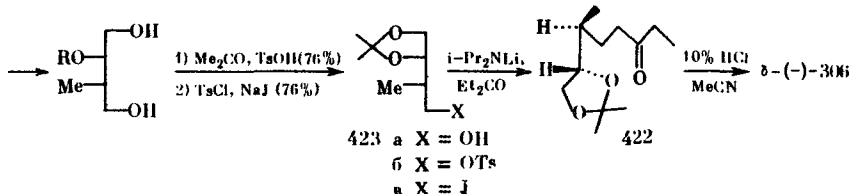
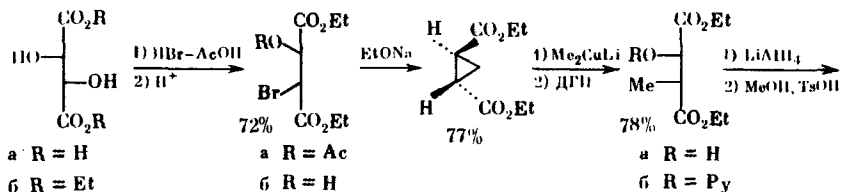


Другим примером является синтез (+)- и (–)- α -мультистриатина из 5S-(+)- и 5R-(–)-бутен-1-карбоновой кислоты (420) [857], оптически активные формы которой получены разделением рацемической кислоты с (+)- и (–)- α -метилбензиламином до 70 и 60% оптической чистоты. Кислоту [S-(+)-(420)] с помощью превращений, показанных на схеме 137, переводят в хиральный эпоксид (421), имеющий 6R-конфигурацию, что соответствует 2R-конфигурации в α -мультистриатине (схема 139). Синтез приводит к смеси α - δ -изомеров мультистриатина, которые были разделены препаративной газожидкостной хроматографией. Выделение одного из энантиомеров из смеси изомеров может быть достигнуто образованием комплекса кетала с четыреххлористым титаном с последующим легким гидролизом комплекса и возвращением 93% кетала, обогащенного одним из изомеров [868].

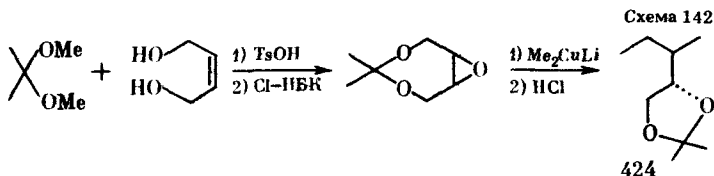
Схема 140



В синтезе хиральных мультистриатина и фронталина использована циклизация кетоацетонидов (схема 140) [869–874]. Для синтеза δ -(–)-мультистриатина соответствующий хиральный кетоацетонид (422) получают из D-(–)-винной кислоты [869] (схема 141). Образование кетоацетонида (422) достигается конденсацией йодацетонида (423в) с енольной формой 2-пентанона, получаемой из диэтилкетона с диизопропиламидлитием.

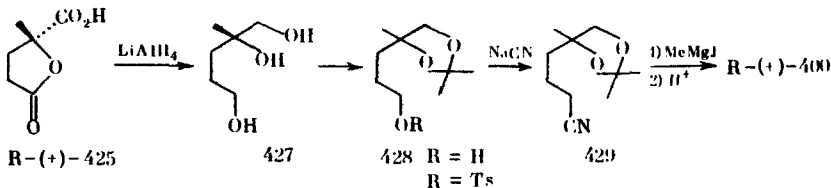


Циклизацию осуществляют в кислой среде. По такой же схеме из L-(-)-винной кислоты получают (+)- δ -мультистриатин, содержащий > 99% δ -изомера.



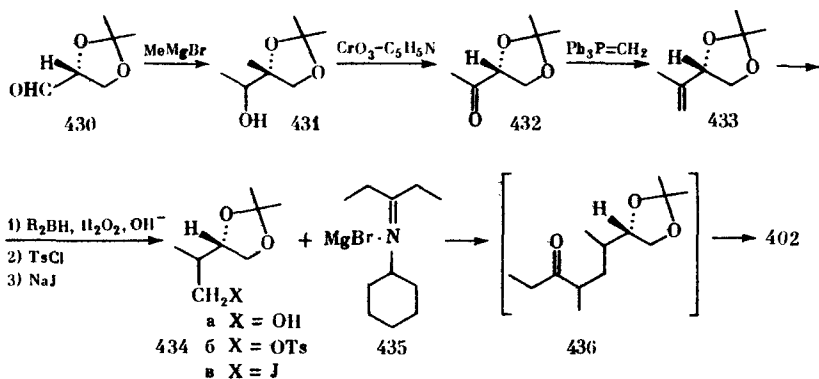
α -Мультистриатин в виде смеси, содержащей 85% α - и 14% γ -изомера, синтезирован [870, 871, 875] из доступного Z-2-бутен-1,4-диола, который в четыре стадии превращен в диоксолан (424) (схема 142). Диоксолан (424) далее переводят в указанную выше смесь изомеров мультистриатина, аналогично [869].

Схема 143



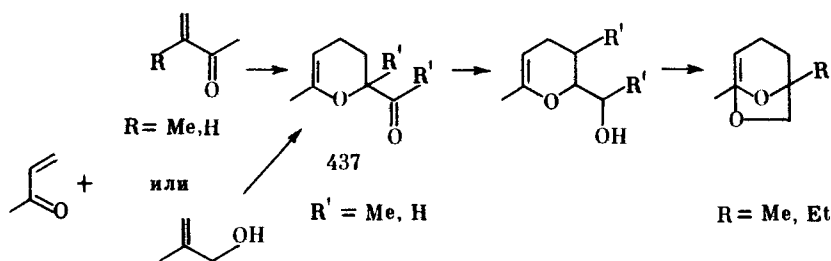
Оба энантиомера фронталлина синтезированы из лактона (425), полученного из (+)- и (-)-2-окси-2-метил-пентан-1,5-диовой кислоты (426) (схема 143) [872]. Рацемическая исходная кислота (426), в свою очередь, получена из левулиновой кислоты и разделена с хинином на антиподы. Лактон R(+)- и S(-)-кислоты (426) восстановлен алюмогидридом лития в триол (427), который при обработке *p*-толуолсульфокислотой в ацетоне образует ацетонид (428). Соответствующий тозилат с NaCN в ДМСО дает нитрил (429). Присоединение MeMgBr к нитрилу (429) и последующее подкисление приводит к фронталину. Из R-(+)-кислоты (426) получают R-(+)-фронталлин, из S(-)-кислоты (426) — S(-)-фронталлин.

Смесь энантиомеров мультистриатина в соотношении (1 α : 1 β : 1 γ : 1 δ = 32,5 : 1,5 : 11 : 55) синтезирована, исходя из R-(+)-ацетонида глицерино-

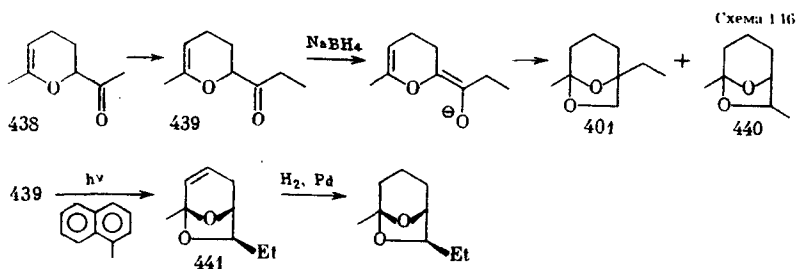


вого альдегида (430) (схема 144), [874] легко получаемого из D-маннитола [876]. Реакция альдегида (430) с $MeMgBr$ приводит к эпимерной смеси спирта (431) (57,5% и 27,3% по ГЖХ). Неочищенный спирт при окислении по Джонсу дает кетон (432), который по Виттигу с метилтрифенилфосфораном дает олефин (433). Оптическая чистота олефина (433) подтверждена с помощью ЯМР-спектра со сдвигающим реагентом, так как в ходе реакции Виттига не исключается рацемизация. Гидроборированием—окислением олефин (433) превращают в эпимерный спирт (434а) (50% и 37% по ГЖХ), а затем в тозилат (434б) и йодид (434в). Йодид (434в) алкилируют магниевой солью, полученной из имина (435) и $MeMgBr$, а затем циклизуют ацетонид. Реакция идет через соединение (436). В результате получается смесь четырех энантиомеров мультитриастина, которую разделяют препаративной ГЖХ. α -Мультитриастин с абсолютной конфигурацией 1S:2R:4S:5R является левовращающим, 1S:2S:4S:5R— δ -мультитриастин также обладает левым вращением. Оптическая чистота (–) α - и (–) δ -мультитриастина подтверждена спектрами ЯМР со сдвигающими реагентами.

Схема 145

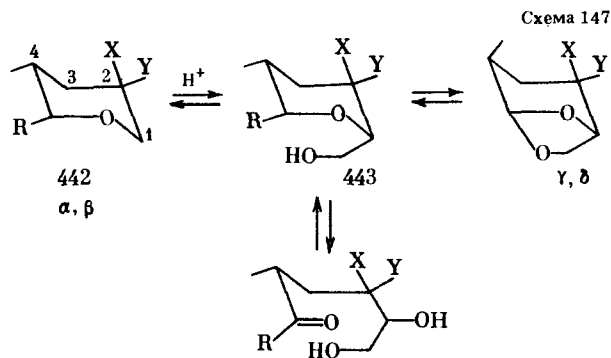


В поисках практического пути синтеза, позволяющего получать бревикомин, фронталин, мультитриастин в значительных количествах, изучена реакция присоединения α, β -ненасыщенных альдегидов и кетонов к α, β -ненасыщенным спиртам [877–881] (схема 145). Взаимодействие указанных соединений проходит при высокой температуре (200–250°) в автоклавах или запаянных трубках. Реакция идет через замещенные пирены. Общий выход бициклических соединений по данной схеме 35–40%, считая на непрелюбительный спирт. Однако выделение альдегидов и кетонов (437) трудно, поэтому сделана попытка зациклизовать стабильный метилвинил-кетон димер (438) [880] (схема 146). Алкилирование его приводит



к кетону (439), который восстанавливают боргидридом натрия и циклизируют с помощью меркурирования — демеркурирования. Однако полученная смесь содержит лишь 6,6% брвикомина, а кроме того, соединение (440) и другие полиалкилированные продукты. Лучшие результаты получены [882] при фотохимической циклизации кетона (439). При этом образуется в присутствии метилнафталина в качестве сенсбилизатора кеталь (441) с выходом 23%. Каталитическое восстановление его приводит к экзобревикомину с 95%-ным выходом. Общий выход в этом трехстадийном синтезе 14%. При восстановлении замещенные пирены могут частично сразу циклизоваться в кетали [883].

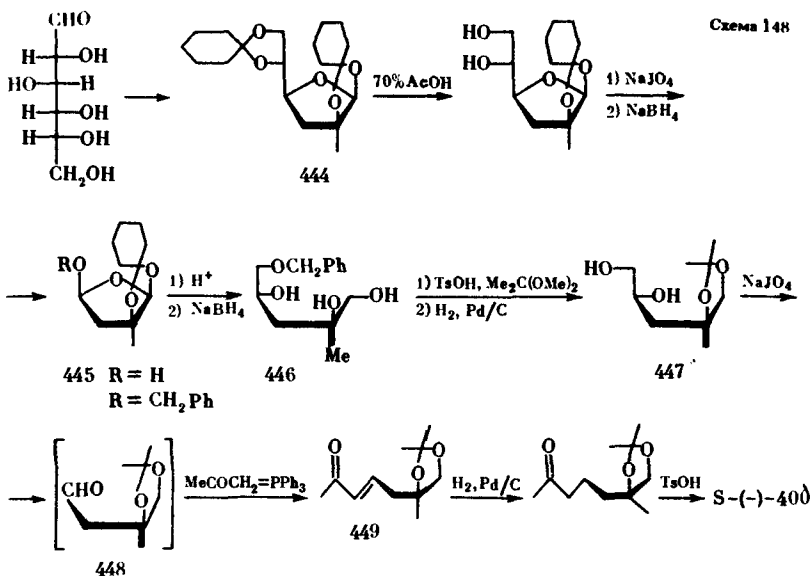
Кетали (442) при кислотном гидролизе до гликолей, который идет через пиреновые производные (443), эпимеризируются с изменением конфигурации C_4 и сохранением конфигурации C_2 (схема 147).



При эпимеризации в разбавленной фосфорной кислоте α -мультистриатин дает смесь α - и γ -изомеров — 8 : 2, в этих же условиях γ -изомер дает ту же самую смесь, в то же время β - и δ -изомеры дают смесь γ - и δ - в соотношении 95 : 5 без примесей α - и γ -изомеров.

Наиболее чистые хиральные фронталин, бревикомин, мультистриатин синтезированы из хиральных соединений, в частности из сахаров [884—886] и из D- и L-винных кислот [551, 887]. Эти синтезы многостадийны, идут с низким общим выходом, предпринимаются для установления абсолютной конфигурации феромонов и для изучения зависимости биологической активности от хиральности.

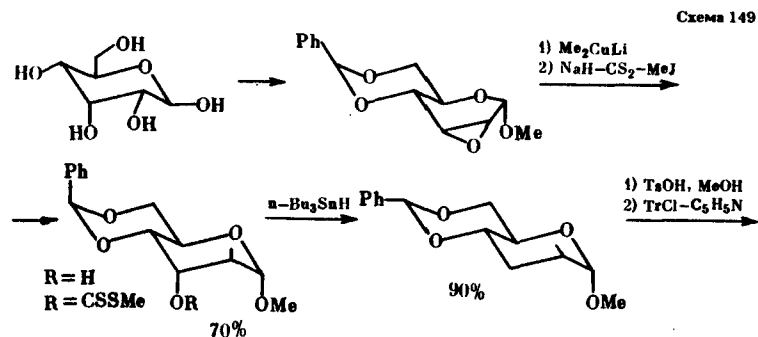
Так, для однозначного определения абсолютной конфигурации природного фронталина выполнен синтез S-(-)-формы из D-глюкозы [885] по схеме 148. Исходным веществом является дициклогексилденфураноза (444), полученная из D-глюкозы, D-арабино-конфигурация ее установлена

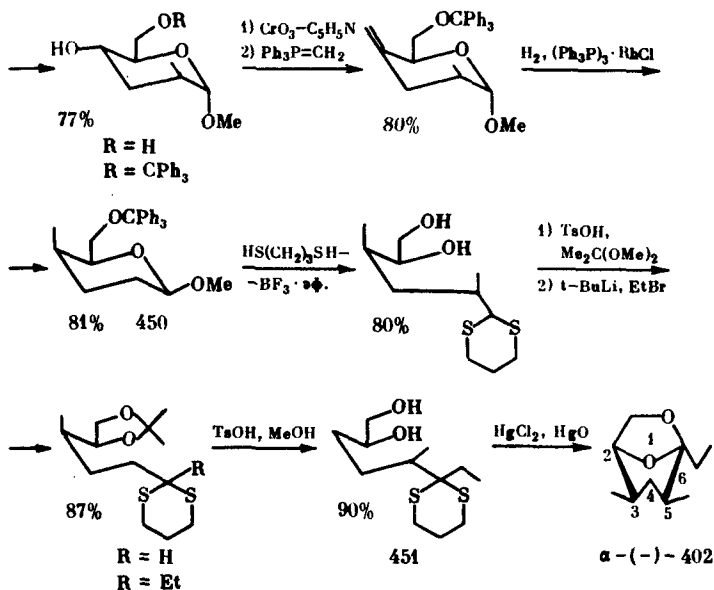


превращением в S- (+)-2-метилмалоновую кислоту и сравнением спектральных данных с кислотой известной абсолютной конфигурации.

Частичный гидролиз соединений (444) приводит к избирательному отщеплению циклогексилиденовой группы. Перйодатным окислением гликольную группу превращают в альдегидную и восстановлением боргидридом натрия получают спирт (445). Удаление второй циклогексилиденовой группы кислотным гидролизом с последующим восстановлением боргидридом натрия приводит к триолу (446), который превращают в ацетонид (447). Бензильную группу удаляют гидрированием и диол (447) периодатным окислением переводят в альдегид (448). Последний без выделения с ацетилметилентрифенилфосфораном превращают в кетон (449). После восстановления двойной связи и обработки *p*-толуолсульфокислотой получают S-(-)-фронталин, который по величине и знаку удельного вращения соответствует ранее описанному S-(-)-энантиомеру фронталина.

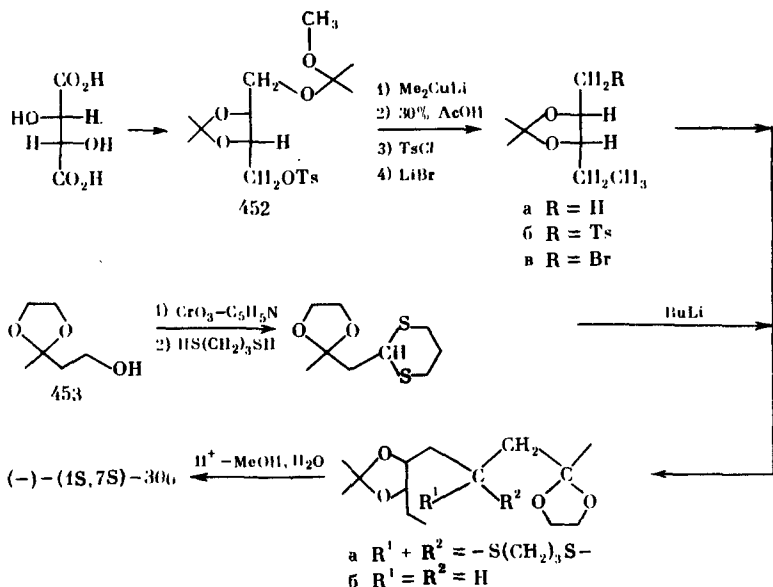
α -(-)-Мультистриатин, в котором не найдено примеси других изомеров, синтезирован из D-глюкозы 16-стадийным синтезом, показанным на схеме 149 [884]. Определяющей стадией в этом синтезе является создание систе-





мы с 1,3-диаксиальными метильными группами в соединении (450). Это достигается стереоселективным восстановлением с катализатором Вилкинсона [888]. С помощью ЯМР-спектра показано, что при восстановлении цикл остается в конформации кресла, а обе метильные группы – в аксиальном положении к циклу. Эта конформация обеспечивает относительную и абсолютную конфигурацию углеродных атомов 2,4 и 5, соответствующую $\alpha-(-)$ -мультистриатину. Эпимеризация метильной группы, соседней к кар-

Схема 150



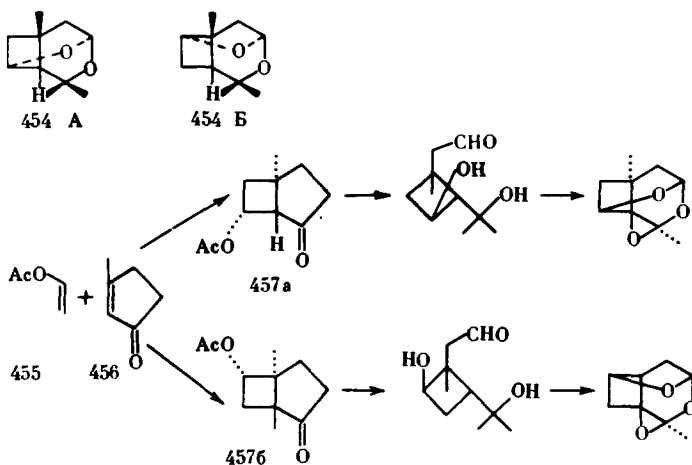
бонилу, может происходить при кетализации. Однако в случае циклизации дитиокетала (451) в присутствии хлорида ртути и окиси ртути в безводном ацетонитриле эпимеризация не происходит [884]. Многостадийность, низкий общий выход (0,8%) снижает препаративную ценность этих методов.

Более удачным является альтернативный путь [887] к (-)-(1S, 7S)-экзо-бrevикомину из (+)-2R, 3R-винной кислоты с использованием изопропиллиденовой защитной группы для диольной части винной кислоты (схема 150). Общий выход в этой схеме 27% на тозилат (452). Тозилат (452) из D-винной кислоты получают описанным методом [889]. Спирт (453) синтезируют из ацетоуксусного эфира. Дальнейшая последовательность реакций показана на схеме 150.

Трициклический ацеталь

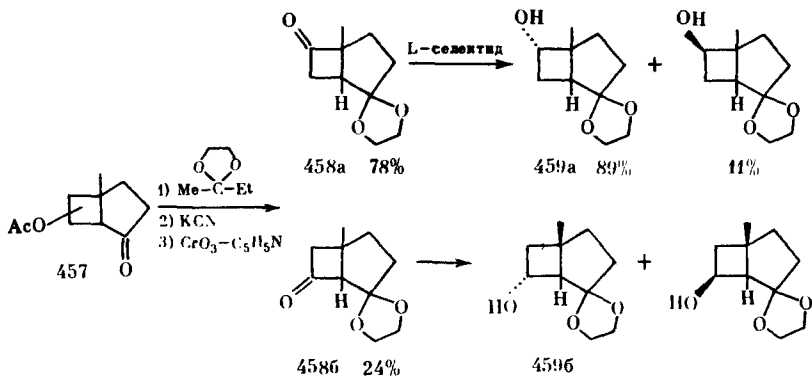
Для агрегационного феромона жука *Tripodendron lineatum* установлена структура 3,3,7-триметил-2,9-диокса-трицикло [3,3-1,0^{4,7}]-нонана, он назван линеатином. Первоначальное сообщение о структуре не описывало абсолютную конфигурацию линеатина, а также оставляло возможность отнесения структуры к одному из изомеров – А (454) или Б [438] (схема 151). Для выяснения этих вопросов предпринят синтез рацемических (454) (А и Б), а также 1S, 4R, 5S, 7S-(+)-454А [438, 890–892].

Схема 151



Схематичный путь синтеза линеатина и его изомера выглядит, как показано на схеме 151 [890–891]. При фотоприсоединении винилацетата (455) к енону (456) образуется смесь четырех возможных стерео- и регио-изомеров (457а,б), разделить которые невозможно. Поэтому далее синтез проводят с этой смесью. Обработка ее этиленкеталем бутанона в присутствии *p*-толуолсульфокислоты дает смесь ацетокисеталей, которые превращают в смесь оксикеталей и окисляют в кетоны (458а,б). Кетоны разделяют на силикагеле. Эти реакции позволяют снизить число изомеров до двух (схема 152). Из смеси выделяют 78% кетона (458а) и 24% кетона (458б).

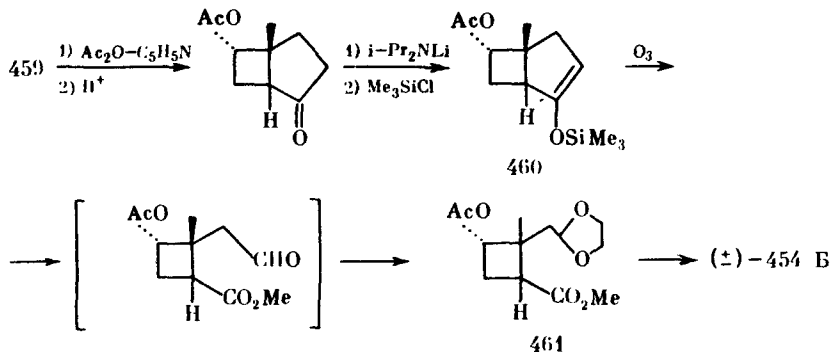
Следующей задачей в синтезе является стереоселективное восстановление кетонов (458а,б) в эндо-спирты (459а,б). Экзо-спирты не могут



при дальнейших превращениях дать внутримолекулярный ацеталь, вследствие неблагоприятной ориентации гидроксильной группы. Наиболее селективным из ряда гидридов металлов для восстановления оказался L-селектид $[Li-(\text{втор-Bu})_3BH]$, он дает 89% эндо- и 11% экзо-изомеров.

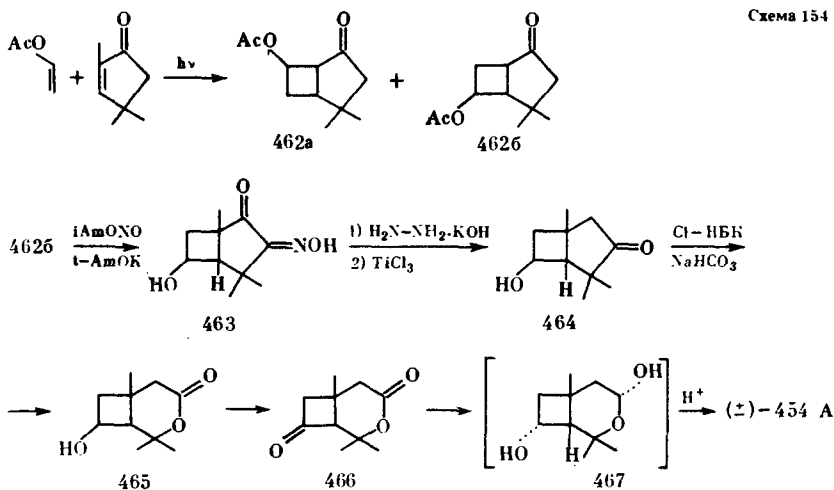
Следующим этапом является размыкание 5-членного цикла. Для этого спирты (459а,б) переводят в ацетаты и обработкой диизопропиламидом лития и триметилхлорсиланом превращают в силильные производные (460), в которых цикл расщепляют озонлизом. Озонид без выделения обрабатывают трифенилфосфином и уксусной кислотой и этерифицируют в альдозфир (461). При действии $MeMgJ$ последний циклизуется в (\pm) -3,3,7-триметил-2,9-диоксатрицикло- $\{4,2,1,0^{4,7}\}$ -нонан (схема 153).

Схема 153



Аналогично из кетона (458б) синтезируют 3,3,7-триметил-2,9-диоксатрицикло- $\{3,3,1,0^{4,7}\}$ -нонан (454А). Путем сравнения спектральных данных его и природного феромона подтверждена структура линеатина как изомера (454А).

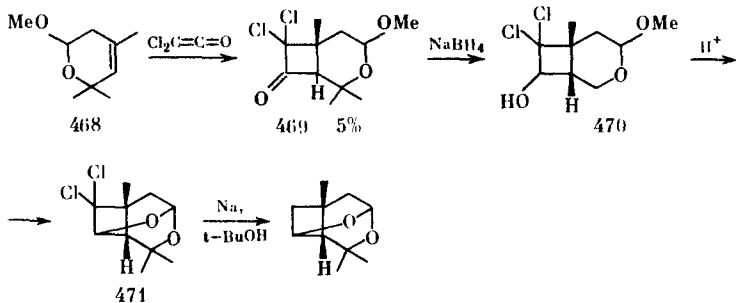
Описанный синтез неудачен для получения природного изомера. Поэтому изучена циклизация винилацетата с другим циклопентеноном (схема 154) [891], которая приводит к смеси двух кетонов (462а) и (462б) в соотношении 2 : 3. Перенос $C=O$ -группы от C_2 к C_3 осуществляют через образование оксимов (463), которые восстанавливают по Вольфу—Кижнеру и далее превращают в кетоны (464). Кетон (464) окисляют в оксилактон (465).



Первое восстановление оксилактона (465) диизобутилалюминийгидридом не приводит к линеатину, так как OH-группа имеет экзо-конфигурацию. Для обращения конфигурации OH-группы лактон (463) окисляют в кето-лактон (466), восстанавливают в эндо-оксилактон (467). При подкислении лактона (467) происходит внутримолекулярная ацетализация в (\pm)-линеатин.

Для синтеза хирального линеатина в качестве исходного хирального соединения был взят оксикетон (465). Рацемический кетон делят на энантиомеры с помощью хирального S-(+)-N-нафтил-N-метилизоцианата. Образующуюся диастереоизомерную смесь соответствующих карбаматов делят хроматографией [891]. Из (+)-[1S, 5R, 6R]-465 по описанной выше схеме получают (1S, 4R, 5S, 7S)-(+)-линеатин, $[\alpha]_D^{22} + 36^\circ$ (н-пентан), а из (-)-[1R, 5S, 6S]-465 — (1R, 4S, 5R, 7R)-(-)-линеатин.

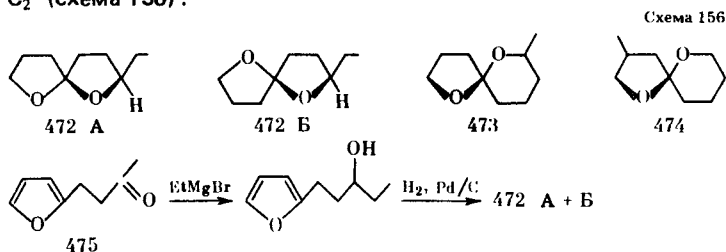
Схема 155



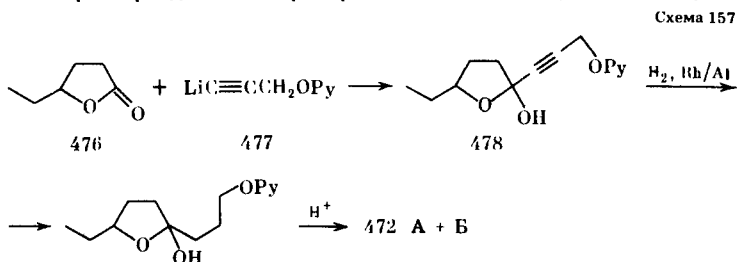
Описан синтетический подход к созданию четырехчленного цикла, использующий циклоприсоединение дихлоркетена к некоторым непредельным циклическим соединениям [892]. Эти синтезы многостадийны, не имеют практического значения. Представляет определенный интерес лишь схема 155, включающая реакцию дихлоркетена с замещенным пиреном (468). Кетон (469), получающийся с низким выходом, восстанавливают в соответствующий спирт (470), а затем циклизуют в ацеталь (471) и дегалогенируют.

Феромоны со спиро-циклической структурой

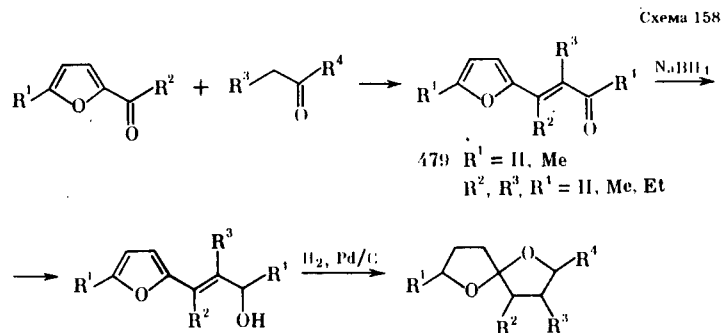
До сих пор было известно одно соединение со спиро-циклической структурой в качестве феромона жесткокрылых. Это основной компонент агрегационного феромона жука *Pityogenes chaetognathus* — вредителя канадской ели [427], названный халкограном. Природный феромон существует в диастереоизомерных формах — 472А и 472Б (1 : 1), каждая из которых может иметь два энантиомера, благодаря хиральности углеродного атома C₂ (схема 156).



Интересно, что близкие по структуре соединения (473, 474) найдены в феромонной композиции у рабочих ос *Paravespula vulgaris* [893, 894], они являются следовыми феромонами. Для подтверждения структуры рацемическая смесь двух пар диастереоизомеров (472) синтезирована из 3-(2-фурил)-пропионового альдегида (475) реакцией Гриньяра и последующей редуцивной циклизацией (схема 156) [427]. Диастереоизомеры разделены препаративной газожидкостной хроматографией.



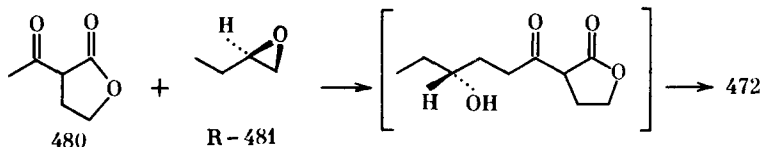
Синтез халкограна осуществлен, исходя из γ -капролактона (476) и пропаргилового спирта по схеме 157. Реакция γ -капролактона (476) и литиевого производного (477) приводит к замещенному фуриловому спирту (478), который гидрируют и циклизуют в смесь изомеров халкограна в кислой среде. Общий выход 37%, считая на γ -капролактон.



Ряд рацемических 1,6-диоксаспиро-4,4-нонанов, аналогов халкограна, синтезирован четырьмя различными методами [896], из которых интерес представляет альдольная конденсация замещенных фурфуродов с кетонами (схема 158), с последующим восстановлением непредельного кетона (479), гидрированием и циклизацией.

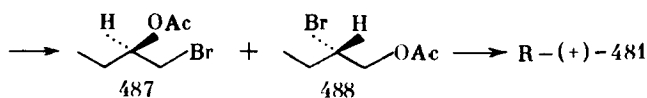
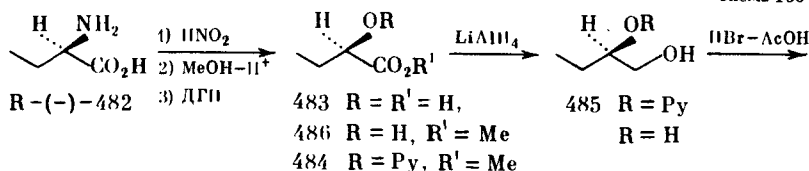
Для установления абсолютной конфигурации у углеродного атома C₂ синтезированы две пары оптически активных диастереомеров: (2R, 5R)-472A + (2R, 5S)-472A и (2S, 5R)-472B + (2S, 5S)-472B [897, 898]. В синтезе использованы реакции, контролирующие конфигурацию при C₂.

Схема 159



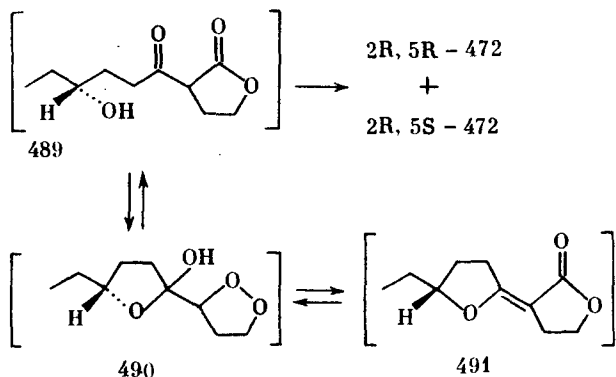
Ключевой стадией в этом синтезе является алкилирование дианиона (480) хиральным эпоксидом R- или S-481 (схема 159). Эпоксид R-(+)-1,2-эпоксидбутан (R-481) получен из R-(-)- α -аминомасляной кислоты (482) (схема 160), обработкой HNO₂, этерификацией образующейся R- α -оксимасляной кислоты (483), 98%-ной оптической чистоты. Тетрагидропираниловый эфир (484) восстановлен в спирт и после снятия защиты получен R-(+)-1,2-бутандиол (485), выход 50%, считая на метиловый эфир (486). Превращение диола (485) в эпоксид (481) проведено обработкой смесью бромистоводородной и уксусной кислот, что приводит к смеси первичного и вторичного бромидов (487) и (488), которые при нагревании с KOH дают R-(+)-эпоксид (481).

Схема 160



Из соединения (480) дианион образован последовательной обработкой гидридом натрия и бутиллитием [899]. В этой реакции, предположительно, образуется равновесная смесь соединений (489, 490 и 491), которые при кислотом гидролизе дают смесь 2R, 5R- и 2R, 5S-472 с 39,4%-ным выходом (схема 161).

Аналогичным методом из S-(+)- α -аминомасляной кислоты синтезирован S-(-)-эпоксид (481), который при обработке дианионом, полученным из (480), дает диастереоизомерную смесь (2S, 5R)- и (2S, 5S)-472 с выходом 30,1%. Эффективное разделение энантиомеров достигается хроматографией комплексов с оптически активными металлическими хелатами, например хелатным соединением никеля [900].

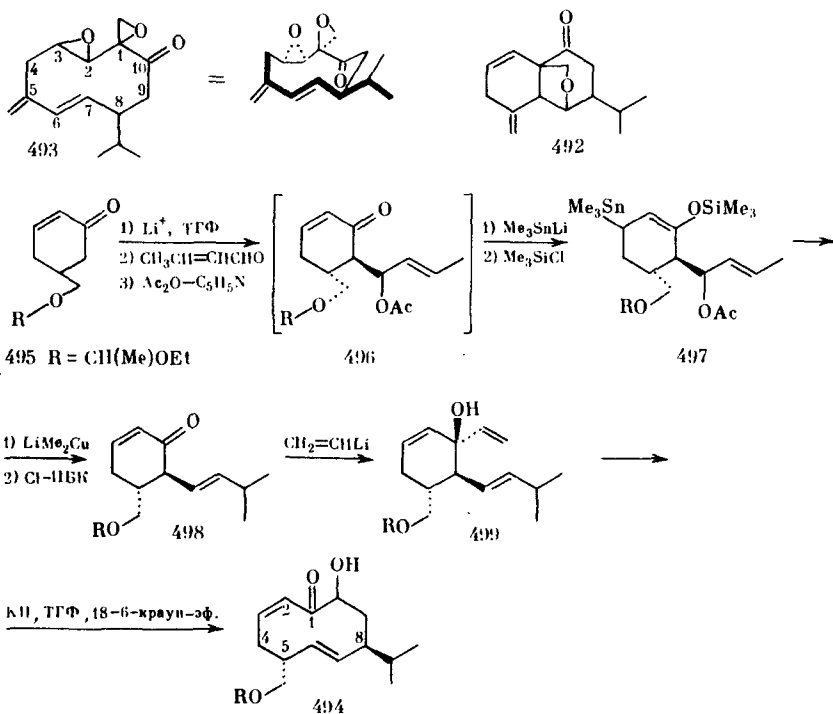


Так как природный феромон является диастереоизмерной смесью, разделения энантиомеров не проводилось и абсолютную конфигурацию C_2 установить пока не удалось.

Циклический кетодизпоксид

Структура полового феромона американского таракана *Periplaneta americana* состоит из ряда веществ, два из которых идентифицированы и названы перипланон А (492) и перипланон В (493) (схема 162). Пери-

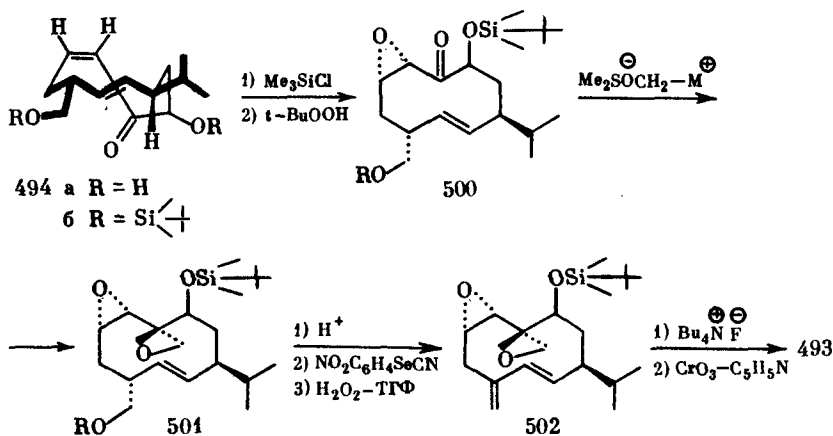
Схема 162



планон А является, по-видимому, продуктом неполного распада периплана В [514].

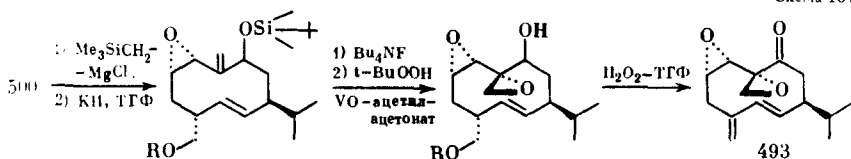
Относительная и абсолютная конфигурация периплана В установлена [901] с помощью кристаллографических исследований и спектров кругового дихроизма производных периплана В. Для подтверждения структуры осуществлен синтез периплана В [902] (схема 162). Ключевым соединением в синтезе диастереоизомеров периплана В является кетоспирт (494), так как он дает возможность проводить дальнейший синтез, сохраняя определенную конфигурацию атомов С-1, С-2, С-8. Синтез кетоспирта (494) проводят, исходя из замещенного циклогексенона (495) (схема 162), который при металлизации, взаимодействии с кротоновым альдегидом и последующем ацетилировании дает енон (496). Енон (496) без выделения и очистки подвергают реакции с триметиллитийстираном и триметилхлорсиланом. Полученный силильный эфир (497) реагирует с диметиллитийкупратом, последующее окисление приводит к кетону (498), с выходом 74%, считая на исходный (495). Создание 10-членного цикла достигается взаимодействием с виниллитием и последующей окислительной перегруппировкой калиевого алкоголята спирта (499). Далее один из диастереоизомеров, отличающийся от периплана В лишь расположением изопропильной группы при С-8 (псевдоаксиальное по данным ЯМР-спектров), синтезирован из (494) (схема 163) реакциями защиты гидроксильной группы, эпоксицирования. Силильный эфир (494) существует в показанной конформации, поэтому эпоксицирование проходит по периферийной двойной связи с образованием эпокси одного лишь цис-эпокси-кетона (500).

Схема 163



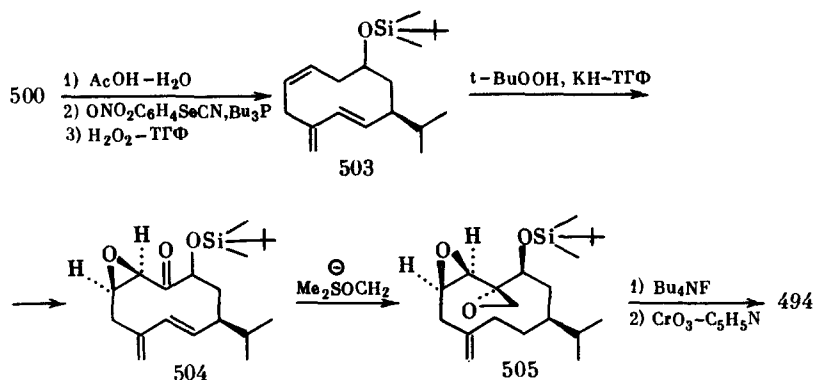
Превращение кетогруппы в эпоксигруппу достигается окислением диметилсульфонийметилидом с выходом 75% диэпоксида (501). Защиту экзо-метиленовой группы удаляют в кислой среде. Образующийся первичный спирт дегидратируют селенированием и отщеплением селеноксида. После снятия силильной защиты в диэпоксиде (502) и окисления получают диастереоизомер периплана В.

Второй диастереоизомер, являющийся эписмером при С-1, получают из (500) олефинированием и эпоксицированием, направленным к гидроксильной группе [903], окислением и реставрацией метиленовой группы, приемами, описанными в схеме 164.



Третий диастереоизомер должен отличаться расположением С-2—С-3-эпоксигруппы. Для получения его использована новая тактика, заключающаяся в первоначальном создании конъюгированной диеновой системы и последующем избирательном эпексидировании (схема 165).

Схема 165



В силилированном (494) реставрируют метиленовую группу, как описано в схеме 165. Диен (503) вследствие пространственных затруднений в 1-3-транс-диеновом фрагменте преимущественно эпексидируется по С-2-С-3-двойной связи (схема 165). Желаемый эпексид (504) (74% в смеси) выделяют кристаллизацией и превращают в диэпоксид (505) аналогично описанному выше (схемы 163, 164). Путем сравнения полученного диастереоизомера с перипланом В (ЯМР-, ИК-, масс-спектры) показана их полная идентичность, что позволяет приписать природному половому феромону американского таракана относительную стереохимию и конформацию соединения 494.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Butenandt A., Beckmann R. et al.* — Ztschr. Naturforsch. C., 1959, Bd. 14, S. 283—285.
2. *Hoshino C., Mori K.* — Agr. and Biol. Chem., 1980, vol. 44, N 12, p. 3007—3009.
3. *Beroza M., Bierl B. et al.* — J. Econ. Entomol., 1971, vol. 64, N 6, p. 1499—1508.
4. *Berger R.S.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1966, vol. 59, p. 767—771.
5. *Sekul A.A., Sparks A.N.* — J. Econ. Entomol., 1967, vol. 60, N 5, p. 1270—1272.
6. *Roelofs W.L., Arn H.* — Nature, 1968, vol. 219, N 5153, p. 513.
7. *Read J.S., Warren F.L., Hewitt P.H.* — Chem. Commun., 1968, N 14, p. 792—793.
8. *Sekul A.A., Sparks A.N. et al.* — J. Econ. Entomol., 1975, vol. 68, N 5, p. 603—604.
9. *Dunkelblum E., Gothill S., Kenat M.* — Phytoparasitica, 1980, vol. 8, N 3, p. 209—211.
10. *Roelofs W.L., Hill A. et al.* — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 5, p. 747—751.

11. *Roelofs W.L., Tette J.P.* — *Nature*, 1970, vol. 226, N 5251, p. 1172–1173.
12. *Struble D.L., Buser H.R.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1980, vol. 6, N 3, p. 573–574.
13. *Röbeller H., Biemann R.* et al. — *Acta entomol. bohemosl.*, 1968, vol. 65, N 3, p. 208–211.
14. *Brady E.U., Nordland D.A.* — *Life Sci.*, 1971, vol. 10, N 14, p. 797–801.
15. *Naoshima J., Yamamoto T.* et al. — *Agr. and Biol. Chem.*, 1980, vol. 44, N 9, p. 2231–2232.
16. *Roelofs W.L., Carde A.* et al. — *Environ. Entomol.*, 1976, vol. 5, N 4, p. 649–652.
17. *Piccardi P., Capizzi A.* et al. — *J. Insect Physiol.*, 1977, vol. 23, p. 1443–1444.
18. *Carlson D.A., Mayer M.S.* et al. — *Science*, 1971, vol. 174, N 4004, p. 76–77.
19. *Negishi T., Ishiwatari T.* — *Appl. Entomol. and Zool.*, 1979, vol. 14, N 4, p. 478–483.
20. *Meijer G.M., Ritter F.J.* et al. — *Science*, 1972, vol. 175, N 4029, p. 1469–1470.
21. *Karandinos M.G., Tumlinson J.H., Eichlin T.D.* — *J. Chem. Ecol.*, 1977, vol. 3, N 1, p. 57–64.
22. *Sonnet P.E., Uebel E.C.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1979, vol. 5, N 3, p. 353–361.
23. *Sower L.L., Vick K.W., Tumlinson J.H.* — *Environ. Entomol.*, 1974, vol. 3, N 1, p. 120–122.
24. *Eiter K.* — *Naturwissenschaften*, 1972, Bd. 59, N 10, S. 468–469.
25. *Hirano C., Tanomchi M., Horiike M.* — *Appl. Entomol. and Zool.*, 1980, vol. 15, N 4, p. 502–503.
26. *Arn H., Staedler E.* et al. — *Ztschr. Naturforsch. C*, 1980, Bd. 35C, N 11/12, S. 986–989.
27. *Read J.S., Haines C.P.* — *J. Chem. Ecol.*, 1979, vol. 5, N 2, p. 251–255.
28. *Roelofs W.L., Hill A.S., Carde R.T.* — *J. Chem. Ecol.*, 1975, vol. 1, N 1, p. 83–89.
29. *Roelofs W.L., Carde R.T.* — *Ann. Rf Entomol.*, 1977, vol. 22, p. 377–401.
30. *Klun J.A., Plimmer J.R., Bierl-Leonardt B.A.* — *Science*, 1979, vol. 204, N 4399, p. 1328–1329.
31. *Klun J.A., Bierl-Leonardt B.A.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1980, vol. 6, N 1, p. 177–183.
32. *Bogenschütz H.* — *Allg. Forstzeitschrift*, 1980, Bd. 35, N 14, S. 375–379.
33. *Tamaki Y., Osawa T.* et al. — *Appl. Entomol. and Zool.*, 1976, vol. 20, N 2, p. 81–86.
34. *Klun J.F., Chapman O.L.* et al. — *Science*, 1973, vol. 181, p. 661–663.
35. *Kochansky J., Carde R.T.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1975, vol. 1, N 2, p. 225–230.
36. *Коевалев Б.Г., Бедный В.А., Карде Р.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1980, с. 109–112.
37. *Weatherston J., Percy J.E.* — *Insect Biochem.*, 1976, vol. 6, N 4, p. 413–417.
38. *Clearwater J.R.* — *Comp. Biochem. and Physiol.*, 1975, vol. 50, N 1, p. 77–82.
39. *Voppre M., Petty R.L.* et al. — *J. Comp. Physiol.*, 1978, vol. 126A, N 2, p. 97–103.
40. *Schmidt S.P., Monroe K.E.* — *Insect Biochem.*, 1976, vol. 6, N 4, p. 377–380.
41. *Bjostad L.B., Wolf W.A., Roelofs W.L.* — *Insect Biochem.*, 1981, vol. 11, N 1, p. 73–79.
42. *McDonough L.M., George D.A.* et al. — *J. Econ. Entomol.*, 1969, vol. 62, N 1, p. 62–65.
43. *Smith R.G., Daterman G.E.* et al. — *J. Insect Physiol.*, 1974, vol. 20, N 4, p. 661–666B.
44. *Коевалев Б.Г., Стан В.Р.* и др. — *Журн. орган. химии*, 1977, т. 13, № 10, с. 2049.
45. *Ando Tetsu, Kishino Kenichi* et al. — *Agr. and Biol. Chem.*, 1980, vol. 44, N 4, p. 765–775.
46. *Jacobson M., Redfern R.E.* et al. — *Science*, 1970, vol. 170, N 3957, p. 542–544.
47. *Eiter K.* — *Ger. Offenlegung*, N 2249679.
48. *Jewett D., Matsumura F., Coppel H.C.* — *J. Chem. Ecol.*, 1978, vol. 4, N 3, p. 277–287.
49. *Roelofs W.L., Comeau A., Selle R.* — *Nature*, 1969, vol. 224, N 5220, p. 723.
50. *Chisholm M.D., Underhill E.M.* et al. — *Environ. Entomol.*, 1980, vol. 9, p. 278–282.
51. *Kasang G., Schneider D., Beroza M.* — *Naturwissenschaften*, 1977, Bd. 61, N 3, S. 130.
52. *Bierl B.A., Beroza M.* — *J. Econ. Entomol.*, 1971, vol. 64, N 1, p. 297.
53. *Blenda F., Nesbitt B.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1979, vol. 5, N 1, p. 153–158.
54. *Nesbitt B.F., Beevor P.S.* et al. — *J. Insect Physiol.*, 1975, vol. 21, N 12, p. 1883–1886.
55. *Weatherston J., Roelofs W.* et al. — *Can. Entomol.*, 1971, vol. 103, N 12, p. 1741–1745.
56. *Sonnet P.E.* — *J. Chem. Ecol.*, 1979, vol. 5, N 3, p. 415–422.
57. *Küpper F.W., Streck R.* — *Ztschr. Naturforsch. C*, 1976, Bd. 31, N 9, S. 1256–1264.
58. *McDonough L.M., Kamm J.A.* — *J. Chem. Ecol.*, 1979, vol. 5, N 2, p. 211–219.

59. Kaufmann T. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1968, vol. 61, N 1, p. 38—44.
60. Kenji N., Tamaki Y. et al. — J. Insect Physiol., 1972, vol. 18, N 2, p. 339.
61. Barratt B.J.P. — Bull. Entomol. Res., 1977, vol. 63, N 3, p. 491—493.
62. Lum P.T., Brady U.E. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 4, p. B21—B23.
63. Kochansky J.P., Roelofs W.L. — J. Chem. Ecol., 197B, vol. 4, N 6, p. 623—627.
64. Klun J.A., Junk G.A. — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 4, p. 447—451.
65. Solomon J.D., Doolittle R.E., Beroza M. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 5, p. 1058—1059.
66. Toth H., Jakab J., Novak L. — Ztschr. angew. Entomol., 1980, Bd. 90, N 5, S. 505—510.
67. Bjostad L.B., Gaston L.K. et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 4, p. 727—734.
68. Bjostad L.B., Gaston L.K., Shorey H.H. — J. Insect Physiol., 1980, vol. 26, N 7, p. 493.
69. Küpper F.W., Streck R. — Chem. Ztg., 1975, Bd. 99, N 11, S. 464—465.
70. Küpper F.W., Streck R. — Ger. Of-felegung, N 2533247.
71. Sower L.L., Fish J.C. — Environ. Entomol., 1975, vol. 4, N 1, p. 168—169.
72. Küpper F.W., Streck R. — Ger. Offen-legung, N 2512741.
73. Gribble G.W., Sarstead J.K. — J. Chem. Soc. D., 1973, N 19, p. 735—736.
74. Tamaki J., Noguchi H. et al. — Appl. Entomol. and Zool., 1979, vol. 14, N 1, p. 101—113.
75. Richerson J.V., Cameron E.A. — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 3, p. 475—47B.
76. Sower L.L., Shorey H.H., Gaston L.K. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 4, p. 954.
77. Tingle F.C., Mitchell E.R. — Experientia, 1978, vol. 34, N 2, p. 153—154.
78. Byrne K.L., Gore W.E. et al. — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 1, p. 1—7.
79. Jolly M.S., Sinha S.S., Sinha A.K. — Sci. and Culture, 1970, vol. 36, N 3, p. 161—163.
80. Heath R.R., McLaughlin J. et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 6, p. 941—953.
81. Jones R.L., Sparks A.N. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 5, p. 721.
82. Hall D.R., Beavor P.S. et al. — Experientia, 1980, vol. 36, N 2, p. 152—154.
83. Kaisling K.E., Kasang G. et al. — Naturwissenschaften, 197B, Bd. 65, N 7, S. 382—384.
84. Hill A.S., Rings R.W. et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 3, p. 439—458.
85. Gieslmann M.J., Moreno D.S. et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 1, p. 27—33.
86. Hill A.S., Carde R.T. et al. — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 2, p. 215—224.
87. Cargill R.L. Pat. 379B273 (USA).
88. George D.A., McDonough L.M. — Nature, 1972, vol. 239, N 5367, p. 109—110.
89. Wang Liang-Chen, Wang Wei-Kuo, Yu Chung-Min. — K'un Ch'ung Chih Shih, 1980, vol. 17, N 6, p. 276—278; C.A., 1981, vol. 94, N 21, 170597 h.
90. Tamaki Y., Noguchi H., Jushima T. — Appl. Entomol. and Zool., 1971, vol. 6, N 3, p. 139—141.
91. Ohta Kyuji, Tatsuki Satahiro et al. — Agr. and Biol. Chem., 1975, vol. 39, N 12, p. 2437.
92. Cardill R.L., Rosenblum M.G. — J. Org. Chem., 1972, vol. 37, N 24, p. 3971.
93. McDonough L.M., Moreno D.S. et al. — Environ. Entomol., 1982, vol. 11, N 3, p. 660—662.
94. Pop L.M., Gherdau J., Hodosau F.P. Pat. 70999 (CPP).
95. Weatherston J., Hedlin A.F. et al. — Experientia, 1975, vol. 33, N 6, p. 723—724.
96. Ho Tse-Lok, Wong Chin Ming. — Can. J. Chem., 1974, vol. 52, N 10, p. 1923—1924.
97. Otto D., Pilz R., Bechnisch I. — Arch. Phytopathol. und Pflanzenschutz, 1976, Bd. 12, N 3, S. 197—212.
98. Bestmann H.J., Vostrovsky O. et al. — Angew. Chem., 197B, Bd. 90, S. B15—B16.
99. Millon T.O., Butt B.A. — J. Econ. Entomol., 1962, vol. 55, N 3, p. 419—421.
100. Berger R.S., McGough J.M. et al. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1974, vol. 57, p. 606.
101. Brady U.E., Daley R.C. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 6, p. 1356—1358.
102. Ten S.H., Palaniswamy P., Schmidt J.O. — Can. Entomol., 1979, vol. 111, N 11, p. 1311.
103. Sugie Hajime, Yaginuma Kaoru, Tamaki Yoshio. — Appl. Entomol. and Zool., 1977, vol. 12, N 1, p. 69—74.
104. Berger R.S. — J. Econ. Entomol., 1968, vol. 61, N 1, p. 326—327.
105. Roelofs W., Kochensky J. et al. — Environ. Entomol., 1975, vol. 4, N 4, p. 580—582.
106. Ritter F.J. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 7, p. 1181—1184.
107. Hendry L.B., Gill R.J. et al. — Entomol. exp. et appl., 1974, vol. 17, N 4, p. 459—461.
108. Roelofs W.L., Feng Kuo-Cheni. —

- Ann. Entomol. Soc. Amer., 1967, vol. 60, N 6, p. 1199-1201.
109. Kasang G., Schneider G., Schäfer W. — Naturwissenschaften. 1978, Bd. 65, N 6, S. 337-338.
 110. Vu Manh Huynh, Yoshida Shigeo et al. — Agr. and Biol. Chem., 1979, vol. 43, N 7, p. 1615.
 111. Nesbitt B.F., Cole R.A. et al. — J. Insect Physiol., 1975, vol. 21, N 5, p. 1091-1094.
 112. Roelofs W.L., Hill A.S. et al. — Life Sci., 1974, vol. 14, N B, p. 1555-1562.
 113. Struble D.L., Jacobson M. et al. — Can. Entomol., 1975, vol. 107, N 4, p. 355-359.
 114. Chisholm M., Steck W.F. et al. — Can. Entomol., 1975, vol. 107, N 4, p. 361-366.
 115. Roelofs W., Hill A. et al. — Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 2, p. 362-364.
 116. K'O Hsueh T'ung Pao, 197B, vol. 23, N 7, p. 438-41, 435; C.A., 1978, vol. 89, N 17, 143603.
 117. Tamaki Y., Honma K., Kawasaki K. — Appl. Entomol. and Zool., 1977, vol. 12, N 1, p. 60-68.
 118. Persoons C.J., Ritter F.J., Nooyen W.J. — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 6, p. 717-721.
 119. Underhill E.W., Arthur A.R. et al. — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 4, p. 740-743.
 120. Noguchi H., Tamaki Y., Yushimo T. — Appl. Entomol. and Zool., 1979, vol. 14, N 2, p. 225-228.
 121. Roelofs W.L., Reissig W.H., Weires R.N. — Environ. Entomol., 1977, vol. 6, N 3, p. 373-375.
 122. Hulsman H.L. Заявка ФРГ кл. С07 с 11/02, 1977. РХХ, 197B, 60368П.
 123. Tetsu Ando, Osamu Saito et al. — Agr. and Biol. Chem., 1980, vol. 44, N 11, p. 2643-2649.
 124. Yang Zan-Xi. — Hua Hsueh Tung Pao, 1980, N 7, p. 421, 440-442.
 125. Smith R.G., Daterman G.E., Davies J.D. — Science, 1975, vol. 188, N 4183, p. 63-64.
 126. Ковалева Б.Г., Недопекина С.Ф. и др. — В кн.: Тез. докл. сов.-инд. симп. по химии природных соединений. Ереван, 1978, с. 3В.
 127. Chow J.S., Chiu S.C., Chien C.C. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1974, vol. 67, N 3, p. 510-512.
 128. Campion D.G., McVeigh L.Y. et al. — Experimentia, 1979, vol. 35, N 9, p. 1146-1147.
 129. Roelofs W.L., Hill A.S. et al. — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 5, p. 894-896.
 130. Coffelt J.H., Vick K.W. et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 6, p. 955-966.
 131. Struble D.L., Lilly C.E. — Can. Entomol., 1977, vol. 109, N 2, p. 261-265.
 132. Starratt H.N., Dahm K.H. et al. — Ztschr. Naturforsch. C, 1979, Bd. 34, N 1/2, S. 9-12.
 133. Hill A.S., Roelofs W.L. — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 1, p. 91-98.
 134. Abe K., Jamasaki T. et al. — Bull. Chem. Soc. Jap., 1977, vol. 50, N 10, p. 2792.
 135. Sower L.L., Vick K.W., Long J. S. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 1, p. 184-187.
 136. Richter J., Mangold H.K. — Chem. and Phys. Lipids, 1973, vol. 11, p. 210-214.
 137. Hummel H.E., Gaston L.K. et al. — Science, 1973, vol. 181, N 4102, p. 873-874.
 138. Shani A. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 4, p. 557-564.
 139. Grant G.G. — Can. Entomol., 1975, vol. 107, N 3, p. 303-309.
 140. Bestmann H.J., Vostrowsky O. et al. — Tetrahedron, Lett., 1979, N 6, p. 497-500.
 141. Mitchell E.R., Tumlinson J.H. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 4, p. 917-918.
 142. Lalann-Cassone B., Frerot B. — C.r. Acad. Sci. D, 1980, t. 291, N 10, p. 845-848.
 143. Haynes K.F., Birch M.C., Klun J.A. — Calif. Agr., 1981, vol. 35, N 1/2, p. 13-14.
 144. Klun J.A., Plimmer J.R. et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 1, p. 165-174.
 145. Neal J.W., Klun J.A. et al. — Environ. Entomol., 1982, vol. 11, N 4, p. 893-896.
 146. McDonough L.M., Kamm J.A., Bierl-Leonardt B.A. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 3, p. 565.
 147. Klun J.A., Bierl-Leonardt B.A. et al. — Life Sci., 1980, vol. 27, N 17, p. 1603-1606.
 148. Bierl B.A., Beroza M. — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 3, p. 659-662.
 149. Kuwahara Y., Casida J. — Agr. and Biol. Chem., 1973, vol. 37, N 3, p. 681-684.
 150. Keys R.F., Mills R.B. — J. Econ. Entomol., 1968, vol. 66, N 1, p. 46-49.
 151. Klun J.A., Brindley T.A. — J. Econ. Entomol., 1970, vol. 63, N 3, p. 779-782.
 152. Smithwick E.B., Brady U.E. — J. Ga Entomol. Soc., 1977, vol. 12, N 1, p. 1-13.
 153. Read J.S., Beevor P.S. — J. Stored Prod. Res., 1976, vol. 12, N 1, p. 55-57.
 154. Nesbitt B.F., Beevor P.S. et al. —

- Insect Biochem., 1977, vol. 7, N 4, p. 355-359.
155. *Gaston L.K., Fukuto T.R., Shorey H.H.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1966, vol. 59, N 6, p. 1062.
 157. *Bjostad L.B., Roelofs W.L.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 4, p. 797-804.
 158. *Benn M.H., Galbraeth R.A.* et al. — Ztschr. Naturforsch., C., 1981, Bd. 36, N 1/2, S. 17B-179.
 159. *Roelofs W.L., Carde R.T.* et al. — Experientia, 1971, vol. 27, p. 143B-1439.
 160. *Beevor P.S., Hall D.R.* et al. — Experientia, 1975, vol. 31, N 1, p. 22-24.
 161. *Ковалева Б.Г., Недопекина С.Ф., Кост А.Н.* — Докл. АН СССР, 1979, т. 249, № 2, с. 370-374.
 162. *Hill A.S., Carde R.T.* et al. — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 4, p. 369-376.
 163. *Sower L.L., Coffelt J.A., Vick K.W.* — J. Econ. Entomol., 1973, vol. 66, N 5, p. 1220-1222.
 164. *Tumlinson J.H., Hendricks D.E.* et al. — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 2, p. 203-214.
 165. *Mori K., Masuda S., Matsui M.* — Agr. and Biol. Chem., 1978, vol. 42, N 5, p. 1015-1018.
 166. *Read J.S., Hemitt P.H.* et al. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 3, p. 441-450.
 167. *Underhill E.W., Steck W.E., Chisholm M.D.* — Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 2, p. 307.
 168. *Kochansky J., Tette J.* et al. — J. Insect. Physiol., 1975, vol. 21, N 12, p. 1977-1983.
 169. *Henderson H.E., Warren T.L.* et al. — J. Insect Physiol., 1973, vol. 19, N 6, p. 1257-1262.
 170. *Hintenlang D.M., Wichmann J.K.* — Science, 1975, vol. 195, N 4273, p. 86-89.
 171. *Struble D.L., Jacobson L.A.* — J. Econ. Entomol., 1970, vol. 63, N 3, p. 841-844.
 172. Яп. заявка № 0315518, кл. C07c 49/17, 1980.
 173. *Srinivasan A., Coffelt J.A., Obeslander H.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 5, p. 653.
 174. *Conner W.E., Eisner T.* et al. — Behav. Ecol. Sociobiol., 1980, vol. 7, N 1, p. 55-63; ПЖБ, 1981, т. 10, Е 280.
 175. *Kocienski P.P., Ansell J.M.* — J. Org. Chem., 1977, vol. 42, N 6, p. 1102-1103.
 176. *Nesbitt B.F., Beevor P.S., Cork A.* — Trop. Pest. Manag., 1980, vol. 26, N 3, p. 327-328; ПЖБ, 1981, т. 2, Е 433.
 177. *Marks R.J.* — Bull. Entomol. Res., 1976, vol. 66, N 2, p. 219-241.
 178. *Place P., Roumestant M.L., Gore J.* — J. Org. Chem., 1978, vol. 43, N 5, p. 1001.
 179. *Mori K.* — Tetrahedron, 1977, vol. 33, N 3, p. 289-294.
 180. *Mori K.* — Tetrahedron, 1980, vol. 36, N 15, p. 2209-2213.
 181. *Suguro T., Mori K.* — Agr. and Biol. Chem., 1979, vol. 43, N 4, p. 869-871.
 182. *Nesbitt B.F., Beevor P.S.* et al. — Entomol. exp. and appl., 1980, vol. 27, N 3, p. 306-308.
 183. *Tamaki K., Kawasaki K.* et al. — Appl. Entomol. and Zool., 1977, vol. 12, N 2, p. 20B-210.
 184. *Hirai Y., Kimura H.* — Appl. Entomol. and Zool., 1978, vol. 13, N 2, p. 136-137.
 185. *Sanders C.J., Weatherston J.* — Can. Entomol., 1976, vol. 10B, N 11, p. 1285-1287.
 186. *Wakamura Sadao.* — Appl. Entomol. and Zool., 1978, vol. 13, N 4, p. 290-295.
 187. *Baker T.C., Carde R.T., Miller J.R.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 4, p. 749-75B.
 188. *Carde A.M., Baker T.C., Carde R.T.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 3, p. 423-431.
 189. *Baker T.C., Carde R.T.* — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 5, p. 956-968.
 190. *Mori K., Tamada S.* — Tetrahedron, 1979, vol. 35, N 10, p. 1279-1284.
 191. *Kuwahara Y., Kitamura C.* — Science, 1971, N 3973, p. 801.
 192. *Underhill E.W., Steck W.* et al. — Can. Entomol., 1978, vol. 110, N 5, p. 495-498.
 193. *Underhill E.W., Steck W.F., Chisholm M.D.* — Can. Entomol., 1977, vol. 109, N 10, p. 1335.
 194. *Grujić-Jnjac, Bojana; Stefanović G., Lajsić S.* — Bull. Acad. Serbe Sci., Arts. Cl. Sci. Math. Nat., Sci. Nat., 1976, vol. 54, N 14, p. 7-B; C.A., 1977, vol. 87, N 5, 36126f.
 195. *Berger R.S., McDonough L.M.* — J. Econ. Entomol., 1965, vol. 58, N 5, p. 1023-1024.
 196. *Roelofs W., Gieselmann M.* et al. — J. Chem. Ecol., 1978, vol. 4, N 2, p. 211-224.
 197. *Roelofs W.L., Tette J.P.* et al. — J. Insect Physiol., 1971, vol. 17, N 11, p. 2235-39.
 198. *Fonda H.G., Sliber J.N., Bacon O.G.* — J. Econ. Entomol., 1975, vol. 68, N 4, p. 423-427.
 199. *Bierl B.A., Beroza M.* — Science, 1970, vol. 170, N 3953, p. B7-8B.
 200. *Beroza M., Bierl B.A., Moffitt H.R.* — Science, 1974, vol. 183, N 4120, p. 89-90.
 201. *Hirano C., Muramoto H., Horiike M.* — Naturwissenschaften, 1976, Bd. 63, N 9, S. 439-441.
 202. *Mori K., Tamada S., Matsui M.* — Tet-

- rahedron Lett., 1978, N 10, p. 901–904.
203. Wallis R.L., Butler L.I., McDonough L.M. — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 4, p. 945.
 204. Singh D., Sidhu H.S., Kalsi P.S. — Riechst., Aromen; Körperpflegemittel, 1973, Bd. 23, N 7, S. 213–216.
 205. Tai A., Imaida M. et al. — Chem. Lett., 1978, N 1, p. 61–64.
 206. Vick K.W., Su H.C.F. et al. — Experimentia, 1974, vol. 30, N 1, p. 17–18.
 207. Takahashi S., Kawaradani M. et al. — Appl. Entomol. and Zool., 1980, vol. 15, N 4, p. 499–501.
 208. Roelofs W.L., Lagier R.F., Hoyt S.C. — Environ. Entomol., 1977, vol. 6, N 3, p. 353–355.
 209. Persoons C.J., Voerman S. et al. — Entomol. exp. et appl., 1976, vol. 20, N 3, p. 289–292.
 210. Heath R.R., Tumlinson J.H. et al. — J. Chromatogr. Sci., 1975, vol. 13, N B, p. 380–383.
 211. Tumlinson J.H., Heath R.R. — J. Chem. Ecol., 1976, vol. 2, N 1, p. 87–99.
 212. Carde R.T., Kochansky J.P., Roelofs W.L. — Pat. 4010255 (USA).
 213. Magnusson G. — Tetrahedron Lett., 1977, N 31, p. 2713–2716.
 214. Rhelan P.L., Miller J.R. — J. Chromatogr. Sci., 1981, vol. 19, N 1, p. 13–17.
 215. Warthen J.D.Jr. — J. Chromatogr. Sci., 1976, vol. 14, N 11, p. 513–518.
 216. Brady U.Eugene. — Life Sci., 1973, vol. 13, N 3, p. 227–235.
 217. Vu Mank Huynh, Ando Tetsu et al. — Agr. and Biol. Chem., 1980, vol. 44, N 1, p. 231–233.
 218. Dahm R.H., Richter J. et al. — Life Sci., 1971, vol. 10, N 9, p. 531–533.
 219. Hill A.S., Roelofs W.L. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 1, p. 3–11.
 220. Brownlee R.G., Silverstein R.M. — Anal. Chem., 1968, vol. 40, p. 2077–2079.
 221. Shani A., Klug J.T. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 5, p. 875–881.
 222. Hill A., Carde R. et al. — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 2, p. 249–252.
 223. Disselkötter H., Eiter K. et al. — Tetrahedron, 1976, vol. 32, N 13, p. 1591–1596.
 224. Beroza M. — J. Chromatogr. Sci., 1975, vol. 13, p. 314–321.
 225. Nesbitt B.F., Beevor P.S. et al. — Nature. New Biol., 1973, vol. 244, N 137, p. 208–209.
 226. Struble D.L., Arn H. et al. — Ztschr. Naturforsch. C, 1980, Bd. 35, N 1/2, S. 45–48.
 227. Tumlinson J.H., Jonce C.E. et al. — Science, 1974, vol. 185, N 4154, p. 614–616.
 228. Magnusson J. — Tetrahedron, 1978, vol. 34, N 9, p. 1385–1388.
 229. Carde R.T., Carde A.M. et al. — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, p. 71–84.
 230. Henderson H.E., Warren F.L. et al. — J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1972, vol. 11, p. 686–688.
 231. Green N., Warthen J.D. et al. — J. Econ. Entomol., 1971, vol. 64, N 6, p. 1381–1384.
 232. Corey E.J., Durst T. — J. Amer. Chem. Soc., 1968, vol. 90, p. 5548–5549.
 233. Beroza M., Sarmiento R. — Anal. Chem., 1966, vol. 38, N 8, p. 1042–1048.
 234. Yceda R.M., Simmons D.E., Grossmann J.D. — Anal. Chem., 1964, vol. 36, p. 2188–2195.
 235. Hefendehl F.W. — Naturwissenschaften, 1964, Bd. 51, S. 138–141.
 236. Allen R.R. — Anal. Chem., 1966, vol. 38, p. 1287–1293.
 237. Осокин Ю.Г., Фельдблюм В.С., Крюков С.И. — Нефтехимия, 1966, № 6, с. 333–336.
 238. Davison V.L., Dutton H.J. — Anal. Chem., 1966, vol. 38, p. 1302–1311.
 239. Bieri B.R., Beroza M. et al. — J. Econ. Entomol., 1974, vol. 67, N 2, p. 211–216.
 240. Beroza M., Sarmiento R. — Anal. Chem., 1963, vol. 35, p. 1353–1360.
 241. Beroza M. — J. Gas. Chromatogr., 1966, vol. 4, N 6, p. 199–202.
 242. Frater G. — Helv. chim. acta, 1979, vol. 62, N 8, p. 2829–2832.
 243. Заезион Л.П., Зубов П.А. и др. — В кн.: Химические средства защиты растений. М., 1980, с. 14–20.
 244. Beroza M., Bieri B.A. — Anal. Chem., 1967, vol. 39, p. 1131–1138.
 245. Beroza M., Bieri B.A. — Anal. Chem., 1966, vol. 38, p. 1976–1982.
 246. Beroza M., Bieri B.A. — Mikrochim. acta, 1969, N 4, p. 720–723.
 247. Schwartz N.N., Blumbergs J.H. — J. Org. Chem., 1964, vol. 29, N 7, p. 1976–1979.
 248. Arthur A.P., Underhill E.W. — Can. Entomol., 1975, vol. 107, p. 361–366.
 249. Ковалев Б.Г., Ищенко Р.И. и др. — В кн.: Новые методы в защите растений. Кишинев, 1978, с. 8–15.
 250. K'O Hsuch, T'ung. — PaO, 1979, vol. 24, N 21, p. 1004–1008; C.A., 1980, vol. 92, N 19, 160825a.
 251. Brenda F., Beevor P.S. et al. — Insect Biochem., 1976, vol. 6, N 1, p. 105–108.
 252. Roelofs W.L., Kochansky L.P. et al. — Life Sci., 1975, vol. 17, N 5, p. 699–705.
 253. Steck W.F., Underhill D.W. et al. —

- Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 2, p. 373-375.
254. *Moorhouse J.E., Geadon R.* et al. — Nature, 1969, vol. 223, N 5211, p. 1174-1175.
255. *Persoons C.J., Ritter F.J.* et al. — Meded. Fac. landbouwwetensch. Rijksuniv. Gent, 1976, vol. 4, N 2, pt. 1, p. 937-943.
256. *Renon M., Descoins C.* et al. — Entomol. exp. et appl., 1981, vol. 29, N 2, p. 198-208.
257. *Bestmann M.J., Brosche T.* et al. — Tetrahedron Lett., 1980, vol. 21, N B, p. 747-751.
258. *Frerot B., Priesner E., Gallois M.* — Ztschr. Naturforsch. C, 1979, Bd. 34, N 12, S. 1248-1251.
259. *Minks A.K., Roelofs W.L.* et al. — Science, 1973, vol. 180, N 4090, p. 1073-1074.
260. *Roelofs W.L., Comeau A.* et al. — Science, 1971, vol. 174, N 4006, p. 297-299.
261. *King S.T.* — J. Agr. and Food Chem., 1973, vol. 21, p. 526-530.
262. *Hung D.F., McEwen C.N., Upham R.A.* — Anal. Chem., 1972, vol. 44, p. 1292-1294.
263. *Hunt D.F., Ryan J.F.* — Anal. Chem., 1972, vol. 44, p. 1306-1369.
264. *Rossi R., Conti C.* — Chim. et ind. (Ital.), 1975, vol. 7, N 9, p. 581.
265. *Hunt D.F., Ryan L.F.* — Tetrahedron Lett., 1971, N 47, p. 4535-4538.
266. *Hunt D.F., McEwen., Upham R.A.* — Tetrahedron Lett., 1971, N 47, p. 4539-4542.
267. *Buser H.R., Rauscher S., Arn H.* — Ztschr. Naturforsch. C, 1974, Bd. 29, N 11/12, p. 781-783.
268. *Buser H.R., Arn H.* — J. Chromatogr., 1975, vol. 106, p. 83-95.
269. *Bestmann H.J., Vostrowsky O.* et al. — Tetrahedron Lett., 1978, N 6, p. 605-609.
270. *Hendry L.B., Yugovich J.* et al. — Experientia, 1974, vol. 30, N 8, p. 886-888.
271. *Storherr R.W., Watts R.R.* — J. Assoc. Offic. Agr. Chem., 1965, vol. 46, N 6, p. 1154-1157.
272. *Descoins C., Gallois M.* — Ann. zool. Ecol. anim., 1979, vol. 11, N 4, p. 521-532.
273. *Karlson J.* — J. Chromatogr. Sci., 1972, vol. 10, N 10, p. 642-643.
274. *Morgan E.D., Tyler R.C.* — J. Chromatogr., 1977, vol. 134, N 1, p. 174-177.
275. *Morgan E., Wadhams L.J.* — J. Chromatogr., Sci., 1972, vol. 10, N B, p. 52B-529.
276. *Stålberg-Stenhagen S.* — Chem. Scripta, 1972, vol. 2, p. 97-100.
277. *Grob K., Grob G.* — Chromatographia, 1972, Bd. 5, S. 3-12.
278. *Neuner-Jehle N., Etzweiler F., Zurske G.* — Chromatographia, 1973, Bd. 6, S. 211-214.
279. *Kochansky J., Liebherr J.* et al. — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 2, p. 225-231.
280. *Beroza M., Muschik G.M., Glutry G.R.* — Nature. New Biol., 1973, vol. 244, N 135, p. 149-150.
281. *Roelofs W.L., Carde R.T., Tette J.* — Environ. Entomol., 1973, vol. 2, N 2, p. 252-254.
282. *Шамшурич А.А., Рехтер М.А., Влад Л.А.* — Химия природн. соединений, 1973, № 4, с. 545-548.
283. *Кост А.Н., Ковалев Б.Г.* и др. — Биоорган. химия, 1977, т. 3, № 7, с. 934-942.
284. *Heath R.R., Jordan J.R.* et al. — Resolut. Chromatogr. Chromatogr. Commun., 1979, vol. 2, N 12, p. 712-714.
285. *Lester R.* — J. Chromatogr., 1978, vol. 156, N 1, p. 55-57.
286. *Lester R., Hall D.R.* — J. Chromatogr., 1980, vol. 190, N 1, p. 35-41.
287. *Leadbetter G., Plimmer J.R.* — Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 1, p. 101-108.
288. *Visser J.H., Straten S., Maarse N.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 1, p. 13-18.
289. *Nara J.M., Lindsay R.C., Burkholder W.E.* — J. Agr. and Food Chem., 1981, vol. 29, N 1, p. 68.
290. *Hedin P.A., Hardee D.D.* et al. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 9, p. 1707-1712.
291. *Mitlin N., Hedin P.A.* — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 9, p. 1825-1832.
292. *Hedin P.A.* — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 3, p. 279-289.
293. *Hughes P.R.* — Ztschr. angew. Entomol., 1973, Bd. 73, N 3, S. 294-312.
294. *Eiter K.* Pat. 3975409 (USA).
295. *Bekke A.* — Norw. J. Entomol., 1975, vol. 22, p. 67-69.
296. *Renwick J.A.A., Hughes P.R., Kruel I.S.* — Science, 1976, vol. 191, N 4223, p. 199-200.
297. *Hughes P.R., Renwick J.A.A.* — Physiol. Entomol., 1977, vol. 2, N 2, p. 117-123.
298. *Eiter K.* — Angew. Chem., 1972, Bd. B4, S. 67.
299. *Brand J.M., Brache J.W.* et al. — Nature, 1975, vol. 254, p. 136-137.
300. *Brand J.M., Brache J.W.* et al. — J. Chem. Ecol., 1976, vol. 2, N 2, p. 195-199.
301. *Chararas C., Riviere J.* et al. — C.r. Acad. sci. D, 1980, t. 291, N 2, p. 299-302; C.A., 1980, vol. 93, N 11, 201393z.
302. *Renwick J.A.A., Hughes P.R.* — Insect Biochem., 1975, vol. 5, N 4, p. 459-463.

303. *Borden J.H., Dolinski M.G.* et al. — *Can. Entomol.*, 1979, vol. 111, N 6, p. 681—688.
304. *Quesneau T.A., Huiguard J., Barbier M.* — *C.r. Acad. sci. D*, 1975, t. 280, N 22, p. 2603—2605; *C.A.*, 1975, vol. 83, N 17, 144731a.
305. *Horler D.F.* — *J. Chem. Soc. C*, 1970, p. 859—862.
306. *Halstead D.G.H.* — *J. Stored Prod. Res.*, 1973, vol. 9, N 2, p. 109—111.
307. *Burkholder W.E., Kuwahara Y., Matsumura F.* — *Can. Entomol.*, 1974, vol. 106, N B, p. B35—B38.
308. *Fukui H., Fumio M.* et al. — *Tetrahedron. Lett.*, 1974, N 40, p. 3563—3566.
309. *Ma M., Hummel H.E., Burkholder W.E.* — *J. Chem. Ecol.*, 1980, vol. 6, N 3, p. 597—607.
310. *Silverstein R.M., Rodin J.O.* et al. — *Science*, 1967, vol. 157, N 3784, p. 85—87.
311. *Яцынин В.Г., Опещенко И.Н.* и др. — *Химия в сел. хоз-ве*, 1980, т. 18, № 12, с. 33—35.
312. *Tumlinson J.M., Hardee D.D.* — *J. Econ. Entomol.*, 1968, vol. 61, N 2, p. 470—474.
313. *Tumlinson J.H., Gueldner R.C.* et al. — In: *Chem. Contr. Insect Behav. Proc. Symp. L.*, 1969 (publ. 1970), p. 41—58.
314. *Tumlinson J.H., Hardee D.D.* et al. — *Science*, 1969, vol. 166, N 390B, p. 1010—1012.
315. *Hedin P.A., Hardee D.D.* et al. — *J. Insect. Physiol.*, 1974, vol. 20, N 9, p. 1707—1712.
316. *Bull D.L., Stokes R.A.* et al. — *J. Agr. and Food Chem.*, 1971, vol. 19, N 1, p. 202—207.
317. *Hedin P.A., McKibber G.H.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1979, vol. 5, N 4, p. 617—627.
318. *Hedin P.A., Gueldner R.C.* et al. — *J. Insect Physiol.*, 1974, vol. 20, N 11, p. 2135—2142.
319. *Henzell R.F., Lowe M.D.* — *Science*, 1970, vol. 168, N 3934, p. 1005—1006.
320. *Henzell R.F.* — *N.Z.J. Agr. Res.*, 1970, vol. 13, N 2, p. 294—296.
321. *Mody N.V., Miles D.H.* et al. — *J. Insect Physiol.*, 1973, vol. 19, N 10, p. 2063—2071.
322. *Hedin P.A., Payne J.A.* et al. — *Environ. Entomol.*, 1979, vol. 8, N 3, p. 521—523.
323. *Levinson H.Z., Levinson A.R.* et al. — *Naturwissenschaften*, 1978, Bd. 65, N 10, S. 543—545.
324. *Sheads R.E., Beroza M.* — *J. Agr. and Food Chem.*, 1973, vol. 21, p. 751.
325. *Higgs M.D., Evans D.A.* — *Experientia*, 1978, vol. 34, N 1, p. 46—48.
326. *Paavo K.* — *Finn. Chem. Lett.*, 1979, N 6, p. 189—191.
327. *Coffelt J.A., Burkholder W.E.* — *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 1972, vol. 65, N 2, p. 447—450.
328. *Chuman T., Kohno M.* et al. — *Tetrahedron Lett.*, 1979, N 25, p. 2361—2364.
329. *Jacobson M., Lilly C.E., Hardling C.* — *Science*, 1968, vol. 159, N 3811, p. 208—210.
330. *Butler L.I., McDonough L.M.* et al. — *Environ. Entomol.*, 1975, vol. 4, N 2, p. 229—231.
331. *Tumlinson J.H., Klein M.G.* et al. — *Science*, 1977, vol. 197, N 4305, p. 789—792.
332. *Khorramshahi A., Burkholder W.E.* — *J. Chem. Ecol.*, 1981, vol. 7, N 1, p. 33—44.
333. *Kuwahara J., Fukami H.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1975, vol. 1, N 4, p. 413—420.
334. *Kuwahara J., Fukami H.* et al. — *Tetrahedron*, 1978, vol. 34, N 12, p. 1769—1774.
335. *Happ G.M., Whedler J.* — *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 1969, vol. 62, N 4, p. 846—849.
336. *Tschinkel W.R.* — *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 1970, vol. 63, N 2, p. 626—628.
337. *Faustini D.L., Burkholder W.E., Laub R.J.* — *J. Chem. Ecol.*, 1981, vol. 7, N 2, p. 465—480.
338. *Suzuki T., Sugawara R.* — *Appl. Entomol. and Zool.*, 1979, vol. 14, N 2, p. 228—230.
339. *Suzuki T.* — *Agr. and Biol. Chem.*, 1960, vol. 44, N 10, p. 2519—2520.
340. *Vick K.W., Burkholder W.E., Gorman J.E.* — *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 1970, vol. 63, N 2, p. 379—383.
341. *Levinson H.Z., Barlean A.R.* — *J. Insect Physiol.*, 1970, vol. 16, p. 561—572.
342. *Greenblatt R.E., Burkholder W.E.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1977, vol. 3, N 3, p. 337—342.
343. *Levinson A.R., Levinson H.Z.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1978, vol. 4, N 1, p. 95—104.
344. *Cross J.H., Byler R.S.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1977, vol. 3, N 2, p. 115—123.
345. *Rodin J.O., Silverstein R.M.* et al. — *Science*, 1969, vol. 165, N 3896, p. 904.
346. *Yarger R.G., Silverstein R.M.* — *J. Chem. Ecol.*, 1975, vol. 1, p. 323—334.
347. *Silverstein R.M., Young J.C.* — In: *Pest Management with Insect Sex Attractants: Proc. Symp. Pestic. Chem. at the 170th Meeting of Amer. Chem. Soc. Wash.*, 1975 (publ. 1976), p. 1—9.
348. *Levinson A.R., Levinson H.L.* et al.

- J. Chem. Ecol., 197B, vol. 4, N 1, p. 95–108.
349. *Rossi R., Niccoli A.* — Naturwissenschaften, 197B, Bd. 65, N 5, S. 259–261.
350. *Ikan A.R., Bergmann E.D.* et al. — Nature, 1969, vol. 223, N 5203, p. 317–318.
351. *Silverstein R.M., Rodin J.O., Wood D.L.* — Science, 1966, vol. 154, N 3748, p. 509–510.
352. *Renwick J.A.A., Vite J.P.* — Nature, 1969, vol. 224, N 5225, p. 1222.
353. *Pitman G.B.* — Science, 1969, vol. 166, N 3907, p. 905.
354. *Beker J.E., Norris D.M.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 196B, vol. 61, N 5, p. 1248–1249.
355. *Vite J.P.* — Biologie in unserer Zeit, 197B, Bd. B, N 4, S. 112–119.
356. *Borden J.H.* — In: Pheromones. Amsterdam, 1974, p. 135–160.
357. *Pitman G.B., Vite J.P., Renwick J.A.* — Naturwissenschaften, 1966, Bd. 53, S. 46–47.
358. *Vite J.P., Renwick J.A.A.* — Contribs. B. Thompson Inst. Plant. Res., 1970, vol. 24, N 13, p. 323.
359. *Rudinsky J.A.* — Can. Entomol., 1966, vol. 98, N 1, p. 98–111.
360. *Chararas C.* — C.r. Acad. sci. D, 1980, t. 290, N 4, p. 375–378.
361. *Chararas C.* — C.r. Acad. sci. D., 1980, t. 291, N 6, p. 561–564.
362. *Alfaro R.I., Pierson N.D.* et al. — Can. J. Zool., 1980, vol. 58, N 4, p. 626–628; C.A., 1980, vol. 93, N 2, 23055 f.
363. *Массел Г.И., Плешанов А.С., Дубоенко Ж.В.* — В кн.: Тез. докл. I Всесоюз. конф. по проблемам физиологии и биохимии древесных насаждений. Иркутск, 1974, № 4, 28–30.
364. *Heeman V., Francke W.* — Planta med., 1977, vol. 32, N 4, p. 342–344; C.A., 197B, vol. BB, N 15, 101563 h.
365. *Chararas C.* — C.r. Acad. sci., 1978, t. 286, N 4, p. 343–348.
366. *Sumimoto M., Kondo T., Kamiyama Y.* — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 10, p. 2071.
367. *Franke W., Heemann V.* — Ztschr. angew. Entomol., 1976, Bd. B2, N 1, S. 117–119.
368. *Wood D.L.* — Symp. Roy. Entomol. Soc., 1972, vol. 6, p. 101–117.
369. *Lanier G.N., Burkholder W.E.* — In: Pheromones. Amsterdam, 1974, p. 161–170.
370. *Vite J.P.* — Ztschr. angew. Entomol., 1976, Bd. 82, N 1, S. 112–116.
371. *Libbey L.M., Morgan M.E.* et al. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N B, p. 1667–1671.
372. *Renwick J.A.A., Vite J.P.* — Contribs B. Thompson Inst. Plant. Res., 1970, vol. 24, N 13, p. 283.
373. *Silverstein R.M., Brownlie R.G.* et al. — Science, 1968, vol. 159, N 3817, p. 889–891.
374. *Kinzer G.W., Fentiman A.F.* et al. — Nature, 1969, vol. 221, N 5179, p. 477.
375. *Renwick J.A.A.* — Contribs. B. Thompson Inst. Plant. Res., 1967, vol. 23, p. 355–360.
376. *Browne L.E., Wood D.L.* et al. — J. Econ. Entomol., 1979, vol. 5, N 3, p. 397–414.
377. *Coster J.E.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1970, vol. 63, N 4, p. 1186–1187.
378. *Coster J.E., Vite J.P.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 1, p. 263–267.
379. *Renwick J.A.A., Hughes T.D.J.* — J. Insect Physiol., 1973, vol. 19, p. 1735–1739.
380. *Brand J.M., Bracke J.W.* et al. — J. Chem. Ecol., 1976, vol. 2, N 2, p. 195–199.
381. *Brand J.M., Schultz J.* et al. — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 6, p. 657–666.
382. *Pitman G.B., Vite J.P.* et al. — Nature, 1968, vol. 218, N 5137, p. 168–169.
383. *Hughes P.R.* — Naturwissenschaften, 1973, Bd. 60, N 5, S. 261–263.
384. *Rudinsky J.A., Morgan M.E.* et al. — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 1, p. 90–92.
385. *Kinzer G.W., Fentiman A.F.* et al. — J. Econ. Entomol., 1971, vol. 64, N 4, p. 970–971.
386. *Vite J.P., Pitman G.B.* et al. — Naturwissenschaften, 1972, Bd. 59, N 10, S. 469–471.
387. *Libbey L.M., Morgan M.E.* et al. — J. Insect Physiol., 1976, vol. 22, N 6, p. 871–873.
388. *Rudinsky J.A., Morgan M.E.* et al. — Ztschr. angew. Entomol., 1976, Bd. 81, N 3, S. 267–269.
389. *Plummer E.L., Stewart T.E.* et al. — J. Chem. Ecol., 1976, vol. 2, N 3, p. 307–331.
390. *Borden J.H., Stokkink E.* — Can. J. Zool., 1973, vol. 51, N 4, p. 469–471.
391. *Byrne R.J., Swigar A.A.* et al. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 10, p. 1895–1900.
392. *Vite J.P., Bakke A., Renwick J.A.A.* — Can. Entomol., 1972, vol. 104, N 12, p. 1967–1972.
393. *Birch M.C., Wood D.L.* — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 1, p. 101–105.
394. *Klimetzek D., Francke W.* — Experientia, 1980, vol. 36, N 12, p. 1343–1345.
395. *Pitman G.B., Renwick J.A.A., Vite J.P.* — Contribs B. Thompson Inst. Plant. Res., 1966, vol. 23, N 6, p. 243–250.
396. *Ковалев Б.Г., Ищенко Р.И., Марчен*

- ко В.А. — Журн. общей химии, 1973, т. 9, № 1, с. 6—В.
397. *Silverstein R.M., Rodin J.O.* et al. — *Tetrahedron*, 1966, vol. 22, p. 1929—1933.
398. *Young J.C., Silverstein R.M., Birch M.C.* — *J. Insect Physiol.*, 1973, vol. 19, N 11, p. 2273—2277.
399. *Толстиков Г.А., Джемилев У.М.* и др. — А.с. 734203 (СССР).
400. *Renwick J.A.A.* — *J. Insect Physiol.*, 1972, vol. 18, N 6, p. 1215—1219.
401. *Birch M.S., Tilden P.E.* et al. — *J. Insect Physiol.*, 1977, vol. 23, N 11—12, p. 1373—1376.
402. *Bakke A.* — *Oikos*, 1978, vol. 31, N 2, p. 1B4—1B8; *C.A.*, 1979, vol. 91, N 1, 2761 b.
403. *Vite J.P., Renwick J.A.A.* — *J. Insect Physiol.*, 1971, vol. 17, p. 1699—1704.
404. *Renwick J.A.A., Pitman G.B.* — *Naturwissenschaften*, 1966, Bd. 53, N 3, S. B3—B4.
405. *Vite J.P., Klimetzek D.* et al. — *Naturwissenschaften*, 1976, Bd. 63, S. 582—583.
406. *Kikuchi Toshihite, Ogura Kyozo.* — *Insect Biochem.*, 1976, vol. 6, N 2, p. 115—122.
407. *Werner R.A.* — *J. Insect Physiol.*, 1972, vol. 18, N 3, p. 423—427.
408. *Werner R.A.* — *J. Insect Physiol.*, 1972, vol. 18, N 5, p. 1001—1005.
409. Pat. N 2145454, BDR.
410. *Vite J.P., Hedden R., Mori K.* — *Naturwissenschaften*, 1976, Bd. 63, N 1, S. 43—44.
411. *Mustaparata H., Angst M.E., Lanier G.N.* — *J. Chem. Ecol.*, 1980, vol. 6, N 3, p. 689—695.
412. *Young J.C., Silverstein R.M.* et al. — *J. Insect Physiol.*, 1973, vol. 19, N 8, p. 1615.
413. *Birch M.C., Light D.M.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1980, vol. 6, N 3, p. 703—706.
414. *Lanier G.N., Classon A.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1980, vol. 6, N 3, p. 677—687.
415. *Vite J.P., Bakke A., Hughes P.R.* — *Naturwissenschaften*, 1974, Bd. 61, N B, p. 365—366.
416. *Озол Г.Э., Бичевскис М.Я., Ганванс У.И.* — В кн.: *Защита леса*. Рига: Зинатне, 1973, с. 24—28.
417. *Vasechko G.I.* — *Ztschr. angew. Entomol.*, 1978, Bd. B5, N 2, S. 141—153.
418. *Bakke A.* — *Naturwissenschaften*, 1976, Bd. 63, N 1, S. 92—98.
419. *Bakke A., Froyen P., Skattebol L.* — *Naturwissenschaften*, 1977, Bd. 64, N 1, S. 98—99.
420. *Васильева В.С., Лебедева К.В.* и др. — В кн.: *Защита хвойных в ЛатвССР*. Рига: Зинатне, 1976, с. 5—1В.
421. *Озол Г.Э., Бичевскис М.Я.* — В кн.: *Защита хвойных в ЛатвССР*. Рига: Зинатне, 1976, с. 19—42.
422. *Иванченко В.А., Лебедева К.В.* и др. — В кн.: *Хеморецепция насекомых*. Вильнюс, 1979, № 4, с. 113—120.
423. *Тищенко А.И., Лебедева К.В.* и др. — В кн.: *Хеморецепция насекомых*. Вильнюс, 1979, № 3, с. 23.
424. *Лебедева К.В., Васильева В.С., Щербакова Г.Д.* — В кн.: *Хеморецепция насекомых*. Вильнюс, 1975, № 2, с. 203—206.
425. *Botar A.A., Mantsch H.H., Hodoshan F.P.* — Pat. 63672 (CPP).
426. *Тищенко А.И., Лебедева К.В., Васильева В.С.* — В кн.: *Хеморецепция насекомых*. Вильнюс, 1982, № 7, с. 38—41.
427. *Franke W., Heemann V.* et al. — *Naturwissenschaften*, 1977, Bd. 64, N 11.
428. *Harring C.M.* — *Ztschr. angew. Entomol.*, 1978, Bd. B5, N 3, S. 2B1—317.
429. *Renwick J.A.A., Vite J.P., Billings R.F.* — *Naturwissenschaften*, 1977, Bd. 64, N 4, S. 226—229.
430. *Peacock J.W., Silverstein R.M.* et al. — *Environ. Entomol.*, 1973, vol. 2, N 3, p. 355—357.
431. *Pearce G.T., Gore W.E.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1975, vol. 1, N 1, p. 115—124.
432. *Gore W.E., Pearce G.T.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1977, vol. 3, N 4, p. 429—446.
433. *Silverstein R.M., Gore W.E.* et al. — Pat. 4034080 (USA).
434. *Blight M.M., King C.J., Wadhams L.J.* — *Experientia*, 1978, vol. 34, N 9, p. 1119—1120.
435. *Castek K.L., Barbour J.F., Rudinsky J.A.* — *J. Econ. Entomol.*, 1967, vol. 60, N 3, p. 65B.
436. *Borden J.H.* — *Can. Entomol.*, 1968, vol. 100, p. 629—636.
437. *Borden J.H., Ochislagler A.C.* et al. — *Can. Entomol.*, 1980, vol. 112, N 1, p. 107—109.
438. *McConnell J.G., Borden J.H.* et al. — *J. Chem. Ecol.*, 1977, vol. 3, N 5, p. 549—562.
439. *Klimetzek D., Vite J.P., Mori K.* — *Ztschr. angew. Entomol.*, 1980, Bd. B9, N 1, S. 57—63.
440. *Heeman V., Francke W.* — *Naturwissenschaften*, 1976, Bd. 63, N 7, S. 344—346.
441. *Kerk K.* — *Naturwissenschaften*, 1972, Bd. 59, N 9, S. 423—426.
442. *Franke W., Heeman V., Heyns K.* — *Ztschr. Naturforsch.*, C, 1974, Bd. 29, N 5/6, S. 243—245.
443. *Bierl B.A., Beroza M., Collier C.W.* — *J. Econ. Entomol.*, 1972, vol. 65, N 3, p. 659.
444. *Franke W., Heyns K.* — *Ztschr. Naturforsch.*, C, 1974, Bd. 29, N 5/6, S. 246—247.

445. Merker E. — Pat. 950968 (BDR). C.A., 1960, vol. 53, 3590 e.
446. Renwick J.A.A., Hughes P.R., Tanletlin D.T. — J. Insect Physiol., 1973, vol. 19, p. 1735.
447. Renwick J.A.A. — Contribs B. Thompson Inst. Plant. Res., 1970, vol. 24, N 13, p. 337–342.
448. Kasang G., Kaissling K.E., Bestmann H.J. — Angew. Chem., 1978, Bd. 90, N 1, S. 74–75.
449. Brady U.E., Nordlund D.A., Daley R.C. — J. Ga Entomol. Soc., 1971, vol. 6, N 4, p. 215.
450. Negishi T., Ishiwatari T., Asano S. — Appl. Entomol. and Zool., 1977, vol. 12, N 2, p. 178–183.
451. Sugie Hajime, Jemazaki Shozaburo, Tamaki Yoshio. — Appl. Entomol. and Zool., 1976, vol. 11, N 4, p. 371–375.
452. Nesbitt B.F., Beavor P.S. et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 2, p. 385–394.
453. Silk P.J., Tan S.H. et al. — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 5, p. 640–644.
454. Arn H., Rauscher S. et al. — Ztschr. Naturforsch. C, 1976, Bd. 31, N 9/10, S. 499–503.
455. Struble D.L., Swailes G.E. — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 3, p. 384–386.
456. Saglio P., Descoins C. et al. — C.r. Reun. Phms. Sex. Lipid, 1976, p. 118–126; I.N.R.A. Cent. Rech. Bordeaux; Pont de la Maye. C.A., 1978, vol. 88, N 9, 602B6 z.
457. Hall A.S., Berisford C.W. et al. — Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 5, p. 959–960.
458. Biver G., Descoins C., Gallois M. — C. r. Acad. Sci. D, 1979, t. 288, N 4, p. 413–416.
459. Nesbitt B.F., Beavor P.S. et al. — J. Insect Physiol., 1979, vol. 25, N 6, p. 535–541.
460. Takahashi Shozo; Kawaradani Mitsuo et al. — Nippon Oyo Dobytsu Konchu Gakkaishi, 1979, vol. 23, N 2, p. 78–81; C.A., 1979, vol. 91, N 21, 171920 h.
461. Renon M., Descoins G. et al. — Ztschr. angew. Entomol., 1980, Bd. 90, N 3, S. 275–289.
462. Descoins C., Priesner E. et al. — C.r. Acad. Sci. D, 1979, t. 288, N 20, p. 1559–1562.
463. Underhill E.W., Chisholm M.D. et al. — Can. Entomol., 1980, vol. 112, N 6, p. 629–631.
464. Novak L., Toth H. et al. — Acta Chim. Acad. Sci. Hung., 1979, vol. 102, N 2, p. 135–140; C.A., 1980, vol. 92, N 21, 177687 e.
465. Descoins C., Priesner E. et al. — C.r. Aced. Sci. D, 1978, t. 286, N 1, p. 77–80.
466. Farine Jean Tierre, Frerot Brigitte, Isart Joan. — C.r. Acad. sci. C, 1981, t. 292, N 1, p. 101–104.
467. Ando T., Kishino K. et al. — Agr. and Biol. Chem., 1977, vol. 41, N 9, p. 1819–1820.
468. Smith L.M., Smith R.G. et al. — J. Org. Chem., 1978, vol. 43, N 12, p. 2361–2366.
469. Cheng Zhi Qing, Xiao Jin Cheng, Huang Xian Ting. — J. Chem. Ecol., 1981, vol. 7, N 5, p. B41–851.
470. Cheng Tse-Chung, Hsiao Chin-Mien et al. — K'O Hsueh T'ung Pao, 1980, vol. 25, N 14, p. 658–661; C.A., 1980, vol. 93, N 15, 14666B g.
471. Толстиков Г.А., Джемилев У.М. и др. — Химия природ. соединений, 1978, № 6, с. 792–795.
472. Voerman S., Minks A.K., Persoons C.J. — Potato Res., 1977, vol. 20, p. 123–126.
473. Jamaoka Ryohei, Fukami Hiroshi, Ishii Shoziro. — Agr. and Biol. Chem., 1976, vol. 40, N 10, p. 1971–1977.
474. Comeau A., Roelofs W. et al. Pat. 3743718, USA.
475. Tumlinson J.H., Mitchell E.R. et al. — Environ. Entomol., 1972, vol. 1, N 4, p. 466–468.
476. Chow J.S., Lin J.M., Hsu C.L. — Bull. Inst. Zool. Acad. Sci., 1977, vol. 16, N 2, p. 99.
477. Hill A.S., Roelofs W.L. — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 4, p. 408–411.
478. Bjostad L.B., Taschenberg E.F., Roelofs W.L. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 2, p. 487.
479. Brady U.E. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 4, p. 898–899.
480. Tamaki J., Jushima T. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 6, p. 1005–1014.
481. Tumlinson J.H., Mitchell E.R., Sonnet P.E. — J. Environ. Sci. Health Part A, 1981, vol. 16, N 2, p. 189–200.
482. Daterman G.E., Robbins R.G. et al. — Can. Entomol., 1977, vol. 109, p. 875–878.
483. Struble D.L., Lilly C.E. — Can. Entomol., 1977, vol. 109, p. 261–266.
484. Fukui H., Matsumura F. — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 5, p. 539–540.
485. Francke W., Levinson A.R. et al. — Ztschr. angew. Chem., 1979, Bd. 91, N 10, S. B43–844.
486. Baker J.E., Nelson D.L. — J. Chem. Ecol., 1981, vol. 7, N 1, p. 175–181.
487. Harring C.M., Vite J.P., Hughes P.R. — Naturwissenschaften, 1975, Bd. 62, N 10, S. 488–491.
488. Payne T.L. — Ann. Entomol. Soc.

- Amer., 1971, vol. 64, N 1, p. 266–268.
489. *Francke W., Sauerwein P.* et al. – Naturwissenschaften, 1980, Bd. 67, N 3, S. 147–148.
490. *Stoakley J.T., Bakke A.* et al. – Ztschr. angew. Entomol., 1978, Bd. 86, N 2, S. 174–177.
491. *Levinson H.Z., Mori K.* – Naturwissenschaften, 1980, Bd. 67, N 3, S. 148–151.
492. *Bestmann H.J., Vostrowsky O.* – Tetrahedron Lett., 1974, N 2, p. 207–208.
493. *Renwick J.A.A., Pitman G.B.* – Environ. Entomol., 1979, vol. B, N 1, p. 40–41.
494. *Borden J.H., Handley J.R.* et al. – J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 2, p. 445–456.
495. *Gieselmann M.J., Rice R.E.* et al. – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 6, p. 891–900.
496. *Bestmann H.J., Vostrowsky D., Stransky W.* – Chem. Ber., 1968, Bd. 109, N 10, S. 3375–3378.
497. *Roelofs W.L., Tashiro H.* et al. – Nature, 1977, N 5613, p. 698–699.
498. *Bierl-Leonardt B.A., Moreno D.S.* – Tetrahedron Lett., 1981, vol. 22, N 5, p. 389–392.
499. *Negishi T., Uchida M.* et al. – Appl. Entomol. and Zool., 1980, vol. 15, N 3, p. 328–333.
500. *Bierl-Leonardt B.A., Moreno D.S.* et al. – Life Sci., 1980, vol. 27, N 5, p. 399–402.
501. *Riecke R.E., Hoyt S.C.* – Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 2, p. 190–194.
502. *Matsumura F., Tai A.* et al. – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 2, p. 237–249.
503. *Ahlgren G., Bergström G.* et al. – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 3, p. 309–319.
504. *Robacker D.C., Hendry L.B.* – J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 5, p. 563–566.
505. *Hefetz A., Batra S.W.* – Experientia, 1979, vol. 35, N 9, p. 1138–1139.
506. *Hefetz A., Batra S.W., Blum M.S.* – Experientia, 1979, vol. 35, N 3, p. 319–320.
507. *Brown W.V., Moore B.P.* – Insect Biochem., 1979, vol. 9, N 5, p. 451–460.
508. *Caviel D.W.K., Davies N.W., McDonald F.J.* – J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 2, p. 371–384.
509. *Ikan R., Gottlieb R., Bergmann E.D.* – J. Insect Physiol., 1969, vol. 15, N 9, p. 1709–1712.
510. *Ubik K., Vrkoč J.* et al. – Naturwissenschaften, 1975, Bd. 62, N 7, S. 348–349.
511. *Kontev C., Zdarek J.* et al. – Wiss. Beitr. M.-Luther-Univ. Halle-Wittenberg, 1978, Bd. 5, N 14, S. 161–165.
512. *Sannasi A., George C.J.* – Nature, 1972, vol. 237, N 5356, p. 457–459.
513. *Persoons C.J., Verwiel P.E.J.* et al. – Tetrahedron Lett., 1976, N 24, p. 2055–2058.
514. *Talman E., Verwiel P.E.* et al. – Isr. J. Chem., 1978, vol. 17, N 3, p. 227–235.
515. *Persoons C.J., Verwiel P.E.J., Talman E.* – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 2, p. 221–236.
516. *Nishida R., Sato T.* et al. – J. Chem. Ecol., 1976, vol. 2, N 4, p. 449–455.
517. *Nishida R., Fukami H., Ishii S.* – Experientia, 1974, vol. 30, N 9, p. 978–979.
518. *Nishida R., Fukami H., Ishii S.* – Appl. Entomol. and Zool., 1975, vol. 10, N 1, p. 10–18.
519. *Nishida R., Kuwahara J.* et al. – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 2, p. 289–297.
520. *Harris R.L., Oehler D.D., Berry J.L.* – Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 5, p. 973–977.
521. *Carlson D.A., Mayer M.S.* et al. – Science, 1971, vol. 174, N 4004, p. 76–78.
522. *Bolton H.T., Butler J.F., Carlson D.A.* – J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 5, p. 951–964.
523. *Kostelc J.G., Girard J.E., Henry L.B.* – J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 1, p. 1–11.
524. *Baker B., Herbert R.* et al. – J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1980, N 2, p. 52–53.
525. *Uebel E.C., Sonnet P.E.* et al. – J. Chem. Ecol., 1975, N 3, p. 377–379.
526. *Girard J.E., Germino F.J.* et al. – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 1, p. 125–130.
527. *Uebel E.C., Sonnet P.E.* et al. – J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 2, p. 195–202.
528. *Uebel E.C., Schwarz M.* et al. – Lloydia, 1979, vol. 41, N 1, p. 63–65.
529. *Mazomenos B.E., Haniotakis G.E.* – J. Chem. Ecol., 1981, vol. 7, N 2, p. 437–444.
530. *Jacobson M., Ohinata K.* et al. – J. Med. Chem., 1973, vol. 16, N 3, p. 248–250.
531. *Carlson D.A., Langley P.A., Huyton P.* – Science, 1978, vol. 199, N 4357, p. 750–751.
532. *Nofte D.J., Eggers S.H.* – J. Insect Physiol., 1973, vol. 19, N 8, p. 1547–1554.
533. *Uebel E.C., Schwarz M.* et al. – J. Chem. Ecol., 1978, vol. 4, N 1, p. 83–93.
534. *Uebel E.C., Sonnet P.E.* et al. – J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 3, p. 269–278.
535. *Sonnet P.E., Uebel E.C., Miller R.W.* – Environ. Entomol., 1975, vol. 4, N 5, p. 761–764.
536. *Sonnet P.E., Uebel E.C.* et al. – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 3, p. 353–361.
537. *Bierl B., Beroza M., Adler V.E.* – Ztschr. Naturforsch. C, 1975, Bd. 30, N 9/10, S. 672–675.
538. *Tamaki J., Noguchi H., Jushima T.* –

- Appl. Entomol. and Zool., 1973, vol. 8, N 3, p. 200–203.
539. *Roelofs W.L., Carde R.T.* — Science, 1971, vol. 171, p. 684.
540. *Chan T.H., Mychajlowski W.* — Tetrahedron Lett., 1974, N 2, p. 171–174.
541. *Chan T.H., Chang E.* — J. Org. Chem., 1974, vol. 39, N 22, p. 3264–3266.
542. *Okada K., Mori K., Matsui M.* — Agr. and Biol. Chem., 1977, vol. 41, N 12, p. 2485–2486.
543. *Толстикова Г.А., Одинокое В.Н.* и др. — ДАН СССР, 1978, т. 239, № 6, с. 1377–1380.
544. *Tolstikov G.A., Odinokov V.N.* et al. — Tetrahedron Lett., 1978, N 21, p. 1857–1858.
545. *Одинокое В.Н., Галеева Р.И.* и др. — Журн. орган. химии, 1979, т. 15, № 7, с. 1403–1411.
546. *Klünenberg H., Schäfer H.* — Angew. Chem., 1978, Bd. 90, N 1, S. 48–49.
547. *Kupper F.W., Streck R.* — Pat. 2531959 (BDR).
548. *Iwahi S., Marumo S.* et al. — J. Amer. Chem. Soc., 1974, vol. 96, N 25, p. 7842–7844.
549. *Mori K., Takigawa T., Matsui M.* — Tetrahedron Lett., 1976, N 44, p. 3953–3956.
550. *Mori K., Takigawa T., Matsui M.* — Tetrahedron, 1979, vol. 35, p. 833–837.
551. *Mori K.* — Tetrahedron, 1974, vol. 30, p. 4223–4227.
552. *Stinson S.C.* — Chem. Eng. News, 1981, vol. 59, N 6, p. 22–23.
553. *Horrike M., Tanouchi M., Hirano C.* — Agr. and Biol. Chem., 1978, vol. 42, N 10, p. 1963–1965.
554. *Ковалева А.С., Иванов Л.Л.* и др. — Журн. орган. химии, 1972, т. В, № 12, с. 2613–2614.
555. *Ковалева А.С., Булина В.М.* и др. — Журн. орган. химии, 1974, т. 10, № 4, с. 696–700.
556. *Bestmann H.J., Range R., Kunstmann R.* — Chem. Ber., 1971, Bd. 104, N 1, S. 65–70.
557. *Bestmann H.J., Kantardjeev I.* et al. — Chem. Ber., 1978, Bd. 111, N 1, S. 248–253.
558. *Bestmann H.J., Koschatzky K.H., Vostrowsky O.* — Chem. Ber., 1979, Bd. 112, N 5, S. 1923–1925.
559. *Horrike M., Tanouchi M., Hirano C.* — Agr. and Biol. Chem., 1980, vol. 44, N 2, p. 257–261.
560. *Bestmann H.J., Vostrowsky O.* — Chem. Ber., 1979, Bd. 112, N 11, S. 3740–3742.
561. *Bestmann H.J., Stransky W.* et al. — Chem. Ber., 1975, Bd. 108, N 11, S. 3582–3595.
562. *Джемилев У.М., Балезина Г.Г.* и др. — Химия природ. соединений, 1980, № 1, с. 97–102.
563. *Canevet C., Roeder T.* et al. — Chem. Ber., 1980, Bd. 113, N 3, S. 1115–1120.
564. *Nagarkatti J.P., Aschley K.R.* — J. Indian. Chem. Soc., 1978, vol. 55, N 6, p. 589–592.
565. *Kondo K., Negishi A., Tunermoto D.* — Pat 53–24922 (Jap.).
566. *Bestmann H.L., Stransky W., Vostrowsky O.* — Chem. Ber., 1976, Bd. 109, N 6, 1694–1700.
567. *Kondo K., Negishi A., Tunemoto D.* — Angew. Chem., 1974, Bd. 86, N 11, S. 415.
568. *Рошка Г.К., Хинкулова Л.А.* — В кн.: Новые методы в защите растений. Кишинев: Штиинца, 1978, с. 3–8.
569. *Leadbetter G.* — Pat. 4170601 (USA).
570. *Horrike M.* — Agr. and Biol. Chem., 1980, vol. 44, N 9, p. 2229–2230.
571. *Bestmann H.J., Stransky W., Vostrowsky O.* — Pat. 2355534 (BDR).
572. *Holan G., O'Keefe D.F.* — Tetrahedron Lett., 1973, N 9, p. 673.
573. *Holan G.* — Pat. 3906035 (USA).
574. *Ковалев Б.Г., Матвеева Е.Д.* и др. — Журн. органич. химии, 1980, т. 16, № 10, с. 2032–2038.
575. *Warthen D., Jacobson M.* — J. Med. Chem., 1968, vol. 11, N 2, p. 373.
576. *Ковалева А.С., Иванов Л.Л.* и др. — В кн.: Химические средства защиты растений. М.: НИИТЭХИМ, 1976, с. 82–88.
577. *Ковалева А.С., Борисов Н.Н.* и др. — Журн. орган. химии, 1972, т. 8, № 12, с. 2474–2478.
578. *Кыскина А.С., Борисов Н.Н.* и др. — В кн.: Физиология и биология основных защитных растений. Воронеж: Центр. Чернозем. кн. изд-во, 1974, с. 27–28.
579. *Green N., Jacobson M.* et al. — J. Med. Chem., 1967, vol. 10, N 4, p. 533–535.
580. *Green N., Keller J.C.* — Pat. 3586712 (USA).
581. *Green N., Keller J.C.* — Pat. 3702358 (USA).
582. *Warthen D.* — J. Med. Chem., 1968, vol. 11, N 2, p. 371.
583. *Brattesam D.N., Heathcock C.N.* — Synth. Commun., 1973, vol. 3, N 4, p. 245–247.
584. *Schwarz M., Waters R.M.* — Synthesis, 1972, p. 567–568.
585. Pat. 2317272 (France).
586. *Henry L.B., Korzeniowski S.H.* et al. — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 3, p. 317–322.
587. *Ковалев Б.Г., Ищенко Р.И.* — Журн. орган. химии, 1974, т. 10, № 3, с. 463–465.
588. *Ковалев Б.Г.* — А.с. 475845 (СССР).
589. *Botar A.A., Jacob M., Hodosan F.P.* — Pat. 71231 (CPP).

590. *Sharma S.C., Lynch B.M.* — Chem. Ind., 1981, N 12, p. 434—435.
591. *Svirskaya P.I., Leznoff C.C.* et al. — J. Chem. Eng. Data, 1979, vol. 24, N 2, p. 152—155.
592. *Leznoff C.C.* — Accounts Chem. Res., 1978, vol. 11, N 9, p. 327—333.
593. *Leznoff C.C., Fyles T.M.* — J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1976, N 7, p. 251—252.
594. *Leznoff C.C.* — Amer. Chem. Soc. Polym. Prepr., 1976, vol. 17, N 2, p. 217—221.
595. *Leznoff C.C., Fyles T.M., Weatherston J.* — Can. J. Chem., 1977, vol. 55, N 7, p. 1143—1155.
596. *Fyles T.M., Leznoff C.C., Weatherston J.* — J. Chem. Ecol., 1978, vol. 4, N 1, p. 109—116.
597. *Fyles T.M., Leznoff C.C., Weatherston J.* — Can. J. Chem., 1977, vol. 55, N 23, p. 4135—4143.
598. *Kobayashi A., Sugawara F., Jamashita K.* — Agr. and Biol. Chem., 1978, vol. 42, N 10, p. 1973—1974.
599. *Underhill E.W., Chisholm M.D.* et al. — Pat. 4042681 (USA).
600. *Chisholm M.D., Steck W.F., Underhill E.W.* — J. Chem. Ecol., 1978, vol. 4, N 6, p. 657—663.
601. *Конюхов В.П., Ковалев Б.Г.* и др. — В кн.: Хеморцепция насекомых. Вильнюс, 1978, № 3, с. 37—40.
602. *Ковалева А.С., Ташлыкова Т.М.* и др. — В кн.: Тез. докл. XI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. Алма-Ата, изд-во "Наука", 1975, т. 7, с. 86.
603. *Warthen J.D., Jacobson M.* — Synthesis, 1973, N 10, p. 615—616.
604. *Rossi R., Carpita A.* — Synthesis, 1977, N 8, p. 561—562.
605. *Popovici N.-A.I., Hodosan F.P.* et al. — Pat. 64552 (CPP).
606. *Tolstikov G.A., Odinokov V.N.* et al. — Tetrahedron Lett., 1979, N 50, p. 4851—4854.
607. *Rossi R.* — Chim. et ind., 1978, vol. 60, N 8, p. 652—653.
608. *Viorica A., Gocan M.* et al. — Pat. 71284 (CPP).
609. *Mori K., Uchida M., Matsui M.* — Tetrahedron, 1977, vol. 33, N 4, p. 385—388.
610. *Jacobson M., Harding C.* — J. Econ. Entomol., 1968, vol. 61, N 2, p. 394.
611. *Wiesner C.J.* — Pat. 4212830 (USA).
612. *Wiesner C.J.* — Pat. 1077059 (Canada).
613. *Mayashi T., Midorikawa H.* — Synthesis, 1975, N 2, p. 100—101.
614. *Macdonald T.L., Narayanan B.A., O'Dell D.E.* — J. Org. Chem., 1981, vol. 46, N 7, p. 1504—1506.
615. *Savoia D., Tagliavini E.* et al. — J. Org. Chem., 1980, vol. 45, N 16, p. 3227—3229.
617. *Mori K.* — Tetrahedron, 1975, vol. 31, N 24, p. 3011—3012.
618. *Eguchi C., Kakuta A.* — Bull. Chem. Soc. Jap., 1974, vol. 47, p. 1704.
619. *Schuler H.R., Slessor K.N.* — Can. J. Chem., 1977, vol. 55, N 18, p. 3280—3287.
620. *Johnston B.D., Slessor K.N.* — Can. J. Chem., 1979, vol. 57, N 2, p. 233—235.
621. *De Graw J.I., Rodin J.O.* — J. Org. Chem., 1971, vol. 36, N 19, p. 2902—2904.
622. *Mori K.* — Tetrahedron Lett., 1973, N 39, p. 3869—3878.
623. *Mori K.* — Tetrahedron, 1974, vol. 30, N 21, p. 3817—3826.
624. *Comeau A., Roelofs W., Hill A.* — Pat. 461516 (Australia).
625. *Roelofs W.L., Hill A., Comeau A.* — Pat. 1299691 (England).
626. *Roelofs W.L., Hill A., Comeau A.* — Pat. 2123434 (BDR).
627. *Ковалев Б.Г., Ищенко Р.И.* и др. — Хеморцепция насекомых, 1978, № 4, с. 33—34.
628. *Coffelt J.A., Vick K.W.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 6, p. 955—966.
629. *Nesbitt B.F., Beevor P.S.* et al. — Tetrahedron Lett., 1973, N 47, p. 4669—4671.
630. *Joto G., Shima T.* et al. — Chem. Lett., 1975, N 2, p. 103—106.
631. *Truscheit E., Eiter K.* — Ann. Chem., 1962, Bd. 658, S. 65—90.
632. *Butenandt A., Hecker E.* — Angew. Chem., 1961, Bd. 73, N 11, S. 349—353.
633. *Butenandt A., Hecker E.* et al. — Ann. Chem., 1962, Bd. 658, S. 39—64.
634. *Roelofs W., Comeau A.* — Pat. 3852419 (USA).
635. *Chisholm M.D., Warren S., Underhill E.W.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 1, p. 203—212.
636. *Cassani G., Massardo P., Piccardi P.* — Tetrahedron Lett., 1979, N 7, p. 633—634.
637. *Bestmann H.J., Süß J., Vostrowsky O.* — Tetrahedron Lett., 1979, N 26, p. 2467—2471.
638. *Bestmann H.J., Vostrowsky O.* et al. — Tetrahedron Lett., 1977, N 1, p. 121—124.
639. *Babler J.H., Martin M.I.* — J. Org. Chem., 1977, vol. 42, N 10, p. 1799—1800.
640. *Булина В.М., Кислицына Т.И.* и др. — В кн.: Хеморцепция насекомых. Вильнюс, 1975, № 2, с. 211—212.
641. *Пятрайтис Ю.* — В кн.: Хеморцепция насекомых. Вильнюс, 1975, № 2, с. 209—210.
642. *Манявичене З.П., Скуркявичене З.Ю.* — Хеморцепция насекомых, 1980, № 5, с. 173—175.

643. *Bestmann H.J., Süß L., Vostrowsky O.* — *Tetrahedron Lett.*, 1978, N 36, p. 3329–3332.
644. *Wollenberg R.H., Peries R.* — *Tetrahedron Lett.*, 1979, N 4, p. 297–300.
645. *Roelofs W., Kochansky J., Carde R.* — *Pat.* 3845108 (USA).
646. *Vig O.P., Vig A.K.* et al. — *J. Indian Chem. Soc.*, 1975, vol. 7, p. 541–542.
647. *Butt B.A., McGovern T.P.* et al. — *J. Econ. Entomol.*, 1974, vol. 67, N 1, p. 37–40.
648. *Mandai T., Yasuda H.* et al. — *Tetrahedron*, 1979, vol. 35, N 3, p. 309–311.
649. *Descoins C.E., Henrick C.A.* — *Pat.* 3825607 (USA).
650. *Descoins C.E., Lalanne-Cassou B., Samain D.* — *Pat.* 2267705 (France).
651. *Кузнецов Н.В., Мырзина Р.А.* — *A.c.* 503845 (СССР).
652. *Labovitz J.N., Henrick C.A.* — *Pat.* 3985813 (USA).
653. *Labovitz J.N., Henrick C.A.* — *Pat.* 3954818 (USA).
654. *Labovitz J.N., Henrick C.A.* — *Pat.* 4014946 (USA).
655. *Descoins C., Samain D., Lalanne-Cassou B.* — *Pat.* 2341548 (France).
656. *Descoins C., Samain D., Lalanne-Cassou B.* — *Pat.* 2341546 (France).
657. *Descoins C., Henrick C.A.* — *Tetrahedron Lett.*, 1972, N 30, p. 2999–3002.
658. *Descoins C., Samain D.* et al. — *Bull. Soc. Chim. France*, 1977, pt 2, N 9/10, p. 941–946.
659. *Gassani G., Massardo P., Piccardi P.* — *Tetrahedron Lett.*, 1980, vol. 21, N 36, p. 3497–3498.
660. *Massardo P., Cassani G., Piccardi P.* — *Pat.* 2004279 (England).
661. *Mori K.* — *Tetrahedron*, 1974, vol. 30, N 20, p. 3807–3810.
662. *Ratovelomanana V., Linstrumelle J.* — *Tetrahedron Lett.*, 1981, vol. 22, N 4, p. 315–318.
663. *Babler J.H., Invergo B.J.* — *J. Org. Chem.*, 1979, vol. 44, N 21, p. 3723–3724.
664. *Descoins C., Samain D.* — *Tetrahedron Lett.*, 1976, N 10, p. 745–748.
665. *Толстиков Г.А., Джемилев У.М., Хуснутдинов Р.И.* — *Химия природ. соединений*, 1978, № 1, с. 125–127.
666. *Fouquet G., Schlosser M.* — *Angew. Chem.*, 1974, Bd. 86, S. 50.
667. *Samain D., Descoins C.* — *Synthesis*, 1978, N 5, p. 388–389.
668. *Normant J.F., Commerson A., Villieras J.* — *Tetrahedron Lett.*, 1975, N 18, p. 1465–1468.
669. *Samain D., Descoins C., Kunesch G.* — *Pat.* 2417487 (France).
670. *Samain D., Descoins C., Langlois J.* — *Nouv. J. Chim.*, 1978, vol. 2, N 3, p. 249–254.
671. *Jushima T., Tamaki J., Noguchi H.* — *Pat.* 2406259 (BDR).
672. *Tamaki J., Noguchi H., Jushima T.* — *Appl. Entomol. and Zool.*, 1973, vol. 18, N 3, p. 200.
673. *Decodts G., Dressaire G., Langlois J.* — *Synthesis*, 1979, N 7, p. 510–513.
674. *Dressaire G., Langlois J.* — *Tetrahedron Lett.*, 1980, vol. 21, N 1, p. 67–70.
675. *Henrick C.A., Siddall J.B.* — *Pat.* 3818049 (USA).
676. *Henrick C.A., Siddall J.B.* — *Pat.* 3856866 (USA).
677. *Henrick C.A., Siddall J.B.* — *Pat.* 37B3135 (USA).
678. *Henrick C.A., Siddall J.B.* — *Pat.* 3943157 (USA).
679. *Naoshima J., Nakagawa E.* et al. — *Agr. and Biol. Chem.*, 1980, vol. 44, N 6, p. 1419–1420.
680. *Kasang G.* — *Ztschr. Naturforsch. B*, 1968, Bd. 23, N 10, S. 1331–1335.
681. *Carney R.L., Henrick A.* — *Pat.* 4198533 (USA).
682. *Sonnet P.E., Heath R.R.* — *J. Chem. Ecol.*, 1980, vol. 6, N 1, p. 221–228.
683. *Carney R.L., Henrick C.A.* — *Pat.* 4228093 (USA).
684. *Svirskaya P.J., Leznoff C.C., Roelofs W.L.* — *Synth. Commun.*, 1980, vol. 10, N 5, p. 391–397.
685. *Negishi E., Lew G., Joshida T.* — *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1973, N 22, p. 874–876.
686. *Negishi E., Abramovitch A.* — *Tetrahedron Lett.*, 1977, N 5, p. 411–414.
687. *Negishi E., Joshida T.* — *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, 1973, N 17, p. 606–607.
688. *Voerman S., Persoons C.J., Ritter F.J.* — *Pat.* 4188374 (USA).
689. *Pat.* 2360255 (France).
690. *Voerman S., Rothschild G.H.L.* — *J. Chem. Ecol.*, 1978, vol. 4, N 5, p. 531–542.
691. *Labovitz J.N., Henrick C.A.* — *Pat.* 4014942 (USA).
692. *Labovitz J.N., Henrick C.A.* — *Pat.* 3991125 (USA).
693. *Su H.C.F., Mahany P.G., Brady U.E.* — *J. Econ. Entomol.*, 1973, vol. 66, N 4, p. B45.
694. *Su H.C.F., Mahany P.G.* — *J. Econ. Entomol.*, 1974, vol. 67, N 3, p. 319.
695. *Mori K., Tominada M., Matsui M.* — *Agr. and Biol. Chem.*, 1974, vol. 38, N 8, p. 1551.
696. *Mori K., Tominada M., Matsui M.* — *Tetrahedron*, 1975, vol. 31, N 16, p. 1846–1848.
697. *Alexakis A., Caniez G., Normant J.F.* — *Tetrahedron Lett.*, 1978, N 23, p. 2027–2030.
698. *Friedman L., Chanan H.H.* — *Pat.* 3996270 (USA).
699. *Bierl B.A., Beroza M.* et al. — *J. Econ.*

- Entomol., 1974, vol. 67, N 2, p. 211–214.
700. *Doolittle P.E., Proveaux A.T., Heath R.R.* – J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 1, p. 271–284.
701. *Uchida M., Mori K., Matsui M.* – Agr. and Biol. Chem., 1978, vol. 42, N 5, p. 1067–1070.
702. *Voerman S.* – J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 5, p. 759–765.
703. *Anderson R.J., Henrick C.A.* – J. Amer. Chem. Soc., 1975, vol. 97, N 15, p. 4327–4329.
704. *Anderson R.J., Henrick C.A.* – Pat. 3919329 (USA).
705. *Anderson R.J., Henrick C.A.* – Pat. 3953532 (USA).
706. *Anderson R.J., Henrick C.A.* – Pat. 3987073 (USA).
707. *Anderson R.J., Henrick C.A.* – Pat. 3989729 (USA).
708. *Ebata T., Mori K.* – Agr. and Biol. Chem., 1979, vol. 43, N 7, p. 1567–1570.
709. *Hammoud A., Descoins C.* – Bull. Soc. Chim. France, 1978, pt 2, N 5/6, p. 299–303.
710. *Bestmann H.J., Koschatzky K.H.* et al. – Tetrahedron Lett., 1976, N 5, p. 353–356.
711. *Bestmann H.J., Vostrowsky O., Plenchette A.* – Tetrahedron Lett., 1974, N 9, p. 779–781.
712. *Sonnet P.E.* – J. Org. Chem., 1974, vol. 39, N 25, p. 3793–3794.
713. *Sonnet P.E.* – J. Amer. Chem. Soc., 1976, vol. 53, N 1, p. 36–38.
714. *Bestmann H.J., Süß J., Vostrowsky O.* – Tetrahedron Lett., 1979, N 3, p. 245–246.
715. *Jones G., Acquadro M.A., Carmody M.A.* – J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1975, N 6, p. 201–207.
716. *Rossi R.* – Chim. e ind., 1975, vol. 57, p. 243–244.
717. *Conti C., Rossi R.* – Chim. e ind., 1975, vol. 57, p. 785.
718. *Rossi R., Carpita A.* – Tetrahedron, 1977, vol. 33, N 18, p. 2447–2450.
719. *Rossi R., Carpita A.* – Chim. e ind., 1977, vol. 59, N 8, p. 592.
720. *Suguro T., Mori K.* – Agr. and Biol. Chem., 1979, vol. 43, N 2, p. 409–410.
721. *Mori K., Suguro T., Uchida M.* – Tetrahedron, 1978, vol. 34, N 20, p. 3119–3123.
722. *Rossi R., Salvadori P.A.* et al. – Tetrahedron, 1979, vol. 35, N 17, p. 2039–2042.
723. *Rosenblum L.D., Anderson R.J., Henrick C.A.* – Tetrahedron Lett., 1976, N 6, p. 419–422.
724. *Burgstahler A.W., Sanders M.E.* et al. – Synthesis, 1977, N 6, p. 405–407.
725. *Place P., Roumestant M.L., Gore J.* – Tetrahedron, 1978, vol. 34, N 13, p. 1931–1933.
726. *Mori K., Suguro T., Masuda S.* – Tetrahedron Lett., 1978, N 37, p. 3447–3450.
727. *Conti C., Niccoli A., Rossi R.* – Chim. e ind., 1976, vol. 58, N 12, p. 877.
728. *Mori K., Tamada S., Matsui M.* – Tetrahedron Lett., 1978, N 10, p. 901–904.
729. *Schwarz M., Oliver J.B., Sonne T.P.E.* – J. Org. Chem., 1975, vol. 40, N 16, p. 2410–2413.
730. *Burgstahler A.W., Weigel L.O.* – J. Org. Chem., 1975, vol. 40, N 23, p. 3456–3458.
731. *Seedel W., Schäfer H.* – Chem. Ber., 1980, Bd. 113, N 2, S. 451–456.
732. *Burgstahler A.W., Weigel L.O.* et al. – J. Org. Chem., 1977, vol. 42, N 3, p. 566–568.
733. *Nishida R., Sato T.* et al. – Agr. and Biol. Chem., 1976, vol. 40, N 7, p. 1407–1410.
734. *Chuman T., Kato K., Nogushi M.* – Agr. and Biol. Chem., 1979, vol. 43, N 9, p. 2005.
735. *Ono M., Onishi J.* et al. – Agr. and Biol. Chem., 1980, vol. 44, N 9, p. 2259–2260.
736. *Kamikado T., Aoki I.* – Pat. 54–81208 (Japan); C.A., 1980, vol. 92 N 11, p. 93899 n.
737. *Usima K., Tamaki K., Kavasaki K.* – Pat. 53–77004 (Japan); РЖХим., 1979, № 12, о 424.
738. *Соколовская С.В.* – Химия природ. соединений, 1980, № 1, с. 102–104.
739. *Tamada S., Mori K., Matsui M.* – Agr. and Biol. Chem., 1978, vol. 42, N 1, p. 191–192.
740. *Vig O.P., Sharma M.L.* et al. – Indian J. Chem., 1980, vol. 19B, N 11, p. 950–951.
741. *Fetizon M., Lazare C.* – J. Chem. Soc. Perkin Trans. Part 1, 1978, N 8, p. 842–844.
742. *Smith R.G., Daves G.D.* – J. Org. Chem., 1975, vol. 40, N 11, p. 1593.
743. *Akermark Björn, Ljungqvist Anders.* – J. Org. Chem., 1978, vol. 43, N 22, p. 4387–4388.
744. *Kondo K., Murchashi S.I.* – Tetrahedron Lett., 1979, N 14, p. 1237–1240.
745. *Kocienski P., Cernigliaro G.I.* – J. Org. Chem., 1976, vol. 41, N 17, p. 2927–2928.
746. *Naoshima G., Kawakubo M.* et al. – Agr. and Biol. Chem., 1981, vol. 45, N 2, p. 439–442.
747. *Celmer W.D., Solomons I.A.* – J. Amer. Chem. Soc., 1957, vol. 75, p. 3430.
748. *Rodin J.O., Laaffer R.M., Silverstein R.M.* – J. Org. Chem., 1970, vol. 35, N 9, p. 3152–3154.

749. *Burkholder W.E., Silverstein R.M.* et al. — Pat. 3501566 (USA).
750. *Landor P.D., Landor S.P., Mukasa S.* — J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1971, N 24, p. 1638—1639.
751. *Baudony R., Gore J.* — Synthesis, 1974, N 8, p. 573—574.
752. *Kocienski P.J., Cernigliaro G., Faldstein G.A.* — J. Org. Chem., 1977, vol. 42, N 2, p. 353—355.
753. *Descoins C., Henrick C.A., Siddall J.B.* — Tetrahedron Lett., 1972, N 36, p. 3777—3780.
754. *Kleijn H., Westmijza H.* et al. — Rec. trav. chim., 1979, vol. 98, N 2, p. 27—31.
755. *Michelot D., Linstrumello G.* — Tetrahedron Lett., 1976, N 4, p. 275—276.
756. *Pirkle W.H., Boeder C.W.* — J. Org. Chem., 1978, vol. 43, N 11, p. 2091—2093.
757. *Lucho J.L., Barreiro E.* et al. — Tetrahedron Lett., 1975, p. 4615.
758. *Butler C.G., Callow R.K., Johnston N.C.* — Proc. Roy. Soc. London B, 1962, vol. 155, N 960, p. 417—432.
759. *Callow R.K., Johnson N.C.* — Bee World, 1960, vol. 41, p. 152.
760. *Trost B.M., Salzmann T.N., Hiroi K.* — J. Amer. Chem. Soc., 1976, vol. 98, N 16, p. 4887—4902.
761. *Tsuji J., Masaoka K., Takahashi T.* — Tetrahedron Lett., 1977, N 26, p. 2267.
762. *Hase T.A., McCoy K.* — Synth. Commun., 1979, vol. 9, N 2, p. 63—67.
763. *Barbier M., Lederer E., Nomura T.* — C. r. Acad. sci. C, 1960, t. 251 p. 1133.
764. *Barbier M., Hügel M.F.* — Bull. Soc. Chim. France, 1961, N 5, p. 951—954.
765. *Kennedy J., McCorkindale N.J., Raphael R.A.* — J. Chem. Soc., 1961, p. 3813.
766. *Sisido K., Kawanisi M.* et al. — J. Org. Chem., 1962, vol. 27, N 11, p. 4073.
767. *Sisido K., Kawanisi M., Norihiko F.* — Pat. 15171 (Japan).
768. *Fsuji J., Hara M.* — Pat. 7308 (Japan).
769. *Jaeger R.H., Robinson R.* — Tetrahedron, 1961, vol. 14, N 2, p. 320—321.
770. *Пятрайтис Ю.К.* — Хеморецепция насекомых. 1975, с. 213—214.
771. *Van der Plas H.C., Persoons C.J.* — Rec. trav. chim., 1964, vol. 83, N 7, p. 701.
772. *Таксиди В.Х., Лавренко С.Г.* и др. — В кн.: Новые химические средства защиты растений. М.: НИИТЭХИМ, 1979, с. 37—44.
773. *Джемилев У.М., Балезина Т.Г., Толстиков Г.А.* — Химия природ. соединений, 1980, № 3, с. 387—389.
774. *Пятрайтис Ю.К., Даукшас В.К.* — Хеморецепция насекомых. 1980, № 2, с. 55—67.
775. *Кыскина А.С., Ганкина Л.В.* и др. — Журн. орган. химии, 1971, т. 7, № 1, с. 51—55.
776. *Raphael R.A.* — Pat. 1030491 (England).
777. *Eiter K.* — Angew. Chem., 1961, Bd. 73, S. 619.
778. *Eiter K.* — J. Liebigs Ann. Chem., 1962, Bd. 658, S. 91.
779. *Vig O.P., Vig A.K.* et al. — J. Indian Chem. Soc., 1975, vol. 52, N 6, p. 538—540.
780. *Eiter K.* — Pat. 1219019 (BDR).
781. *Vig O.P., Vig A.K., Grewal M.S.* — J. Indian Chem. Soc., 1975, vol. 52, N 6, p. 543—545.
782. *Bestmann H.J., Kunstmann R., Schulz H.* — J. Liebigs An. Chem., 1966, Bd. 699, S. 33.
783. *Reece C.A., Rodin J.O.* et al. — Tetrahedron, 1968, vol. 24, N 11, p. 4249—4255.
784. *Kondo K., Dabashi S., Matsumoto M.* — Chem. Lett., 1976, N 10, p. 1077—1080.
785. *Karlsen S., Froyan P., Skattabol L.* — Acta chem. scand. B, 1976, vol. 30, N 7, p. 684—668.
786. *Clinet J.C., Linstrumelle G.* — Nouv. J. Chim., 1977, vol. 1, N 5, p. 373—374.
787. *Hosomi A., Saito M., Sakurai H.* — Tetrahedron Lett., 1979, N 5, p. 429—432.
788. *Ческус Б.А., Лебедева К.В.* и др. — Хеморецепция насекомых. 1979, № 4, с. 129—135.
789. *Riley R.G., Silverstein R.M.* et al. — J. Org. Chem., 1974, vol. 39, N 11, p. 1957.
790. *Garbers C.F., Scott F.* — Tetrahedron Lett., 1976, N 19, p. 1625—1628.
791. *Wilson S.R., Phillips L.R.* — Tetrahedron Lett., 1975, N 35, p. 3047—3050.
792. *Mori K.* — Tetrahedron Lett., 1975, N 26, p. 2187—2190.
793. *Mori K.* — Tetrahedron, 1976, vol. 32, N 10, p. 1101—1106.
794. *Mori K., Takigawa T., Matsuo T.* — Tetrahedron, 1979, vol. 35, N 8, p. 933—940.
795. *Ohloff G., Giersch W.* — Helv. chim. acta, 1977, vol. 60, N 5, p. 1496—1500.
796. *Uchida M., Nakagawa K.* et al. — Agr. and Biol. Chem., 1981, vol. 45, N 2, p. 369—372.
797. *Anderson R.J., Chinn H.R.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 6, p. 919—927.
798. *Terei S., Shirarski M., Kato K.* — Synthesis, 1979, p. 467—468.
799. *Brewster P., Hiron F.* et al. — Nature, 1950, vol. 166, p. 179.
800. *Baer E.* — Biochem. Prepn., 1952, vol. 2, p. 31—35.

801. *Still W.C., Mitra A.* — J. Amer. Chem. Soc., 1978, vol. 100, N 6, p. 1927–1931.
802. *Anderson R.J., Adams K.G.* et al. — J. Org. Chem., 1980, vol. 45, N 11, p. 2229–2236.
803. *Anderson R.J., Henrick C.A.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 5, p. 773–779.
804. *Anderson R.J., Henrick C.A.* — Pat. 4267363, (USA).
805. *Heath R.R., Doolittle R.E.* et al. — J. Org. Chem., 1980, vol. 45, N 14, p. 2910–2912.
806. *Shider B.D., Rodini D.* — Tetrahedron Lett., 1978, N 16, p. 1399–1400.
807. *Noyori R., Umeda I., Ishigami N.* — J. Org. Chem., 1972, vol. 37, p. 1542–1545.
808. *Anderson R.J.* — Pat. 4158096 (USA).
809. *Anderson R.J., Henrick C.A.* — Pat. 4169860 (USA).
810. *Gueldner R.C., Tumlinson J.H.* et al. — Pat. 3813443 (USA).
811. *Tumlinson J.H., Gueldner R.C.* et al. — J. Org. Chem., 1971, vol. 36, N 18, p. 2612–2621.
812. *Zurflüh R., Dunham L.L.* et al. — J. Amer. Chem. Soc., 1970, vol. 92, N 2, p. 425–427.
813. *Zurflüh R.C., Siddall J.B.* — Pat. 3701800 (USA).
814. *Gueldner R.C., Thompson A.C., Hedin P.A.* — J. Org. Chem., 1972, vol. 37, N 11, p. 1854.
815. *Kosugi H., Skiguchi S.* et al. — Bull. Chem. Soc. Jap., 1976, vol. 49, N 2, p. 520–528.
816. *Siddall J.B.* — Pat. 3700696 (USA).
817. *Cargill R.L., Wright B.W.* — J. Org. Chem., 1975, vol. 40, N 1, p. 120–122.
818. *Rosini G., Salomoni A., Sguarza F.* — Synthesis, 1979, N 12, p. 942–944.
819. *Billups W.E., Cross J.H., Smith C.V.* — J. Amer. Chem. Soc., 1973, vol. 95, N 10, p. 3438–3439.
820. *Babler J.H.* — Tetrahedron Lett., 1975, N 25, p. 2045–2048.
821. *Babler J.H.* — Pat. 3994953 (USA).
822. *Stork G., Cohen J.F.* — J. Amer. Chem. Soc., 1974, vol. 96, N 16, p. 5270–5272.
823. *Ayer W.A., Browne L.M.* — Can. J. Chem., 1974, vol. 52, N 8, p. 1352–1360.
824. *Trost B.M., Kealay D.E.* — J. Org. Chem., 1975, vol. 40, N 13, p. 2013.
825. *Hobbs P., Magnus P.D.* — J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1974, N 21, p. 856–857.
826. *Hobbs P., Magnus P.D.* — J. Amer. Chem. Soc., 1976, vol. 98, N 15, p. 4594–4600.
827. *Mori K.* — Tetrahedron, 1978, vol. 34, N 7, p. 915–920.
828. *Mori K., Tamada S.* — Naturwissenschaften, 1978, Bd. 65, N 12, S. 653–654.
829. *Cooper M.A., Salmon J.R.* et al. — J. Chem. Soc. B, 1967, N 12, p. 1259–1261.
830. *Mori K., Mizumachi N., Matsui M.* — Agr. and Biol. Chem., 1976, vol. 40, N 8, p. 1611.
831. *Mori K.* — Agr. and Biol. Chem., 1976, vol. 40, N 2, p. 415–418.
832. *Babler J.H.* — Pat. 3852321 (USA).
833. *Babler J.H., Mortell T.R.* — Tetrahedron Lett., 1972, N 8, p. 669–672.
834. *Pelletier S.W., Mody N.V.* — J. Org. Chem., 1976, vol. 41, N 6, p. 1069–1071.
835. *Souza J.P., Goncalves A.M.R.* — J. Org. Chem., 1978, vol. 43, N 10, p. 2068–2069.
836. *Bedoukian R.H., Wolinsky J.* — J. Org. Chem., 1975, vol. 40, N 15, p. 2154.
837. *Richard C., Hedin P.A.* et al. — Pat. 3895078 (USA).
838. *Vig O.P., Bhagat R., Jatinder K.* — J. Indian Chem. Soc., 1972, vol. 49, N 11, p. 1181–1182.
839. *Wollenberg R.H., Peries R.* — Tetrahedron Lett., 1979, N 4, p. 297–300.
840. *Babler J.H., Coghlan M.J.* — Synth. Commun., 1976, vol. 6, N 7, p. 469–474.
841. *Traas P.C., Boelens H., Takkan H.J.* — Rec. trav. chim., 1976, vol. 95, N 12, p. 308–311.
842. *Traas P.C., Boelens H., Takken H.J.* — Synth. Commun., 1976, vol. 6, N 8, p. 489–493.
843. *Thompson A.C., Mitlin Norman.* — Insect Biochem., 1979, vol. 9, N 3, p. 293–294.
844. *Uwakura J., Toda F.* et al. — Bull. Chem. Soc. Jap., 1969, vol. 42, p. 841–843.
845. *Sato T., Kaneko H., Jamaguchi S.* — J. Org. Chem., 1980, vol. 45, N 19, p. 3778–3782.
846. *Doolittle R.E., Tumlinson J.H.* et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 2, p. 473–485.
847. *Pirkle W.H., Adams P.E.* — J. Org. Chem., 1979, vol. 44, N 13, p. 2169–2175.
848. *Sato K., Nakayama T., Mori K.* — Agr. and Biol. Chem., 1979, vol. 43, N 7, p. 1571.
849. *Ansell J.M., Hassner A., Burkholder W.E.* — Tetrahedron Lett., 1979, N 27, p. 2497–2498.
850. *Sakakibara M., Mori K.* — Tetrahedron Lett., 1979, N 26, p. 2401–2402.
851. *Gore W.E., Armitage I.M.* — J. Org. Chem., 1976, vol. 41, p. 1926–1930.
852. *Coke J.L., Williams H.J., Natarajan S.* — J. Org. Chem., 1977, vol. 42, N 14, p. 2380–2382.
853. *Wesserman H.H., Barber E.H.* — J.

- Amer. Chem. Soc., 1969, vol. 91, N 13, p. 3674.
854. *Byrom N.T., Grigg R., Kongkathip B.* — J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1976, N 6, p. 216.
855. *Cernigliaro G., Kocienski P.I.* — J. Org. Chem., 1977, vol. 42, N 22, p. 3620–3624.
856. *Bartlett P.A., Myerson G.* — J. Org. Chem., 1979, vol. 44, N 10, p. 1625–1627.
857. *Pearce G.T., Gore W.E., Silverstein R.M.* — J. Org. Chem., 1976, vol. 41, N 17, p. 2797–2803.
858. *Magnus P., Roy G.* — J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1978, p. 297–298.
859. *Sum P.E., Weiler L.* — Can. J. Chem., 1979, vol. 57, N 12, p. 1475–1480.
860. *Bellas T.E., Brownlee R.G., Silverstein R.M.* — Tetrahedron, 1969, vol. 25, N 21, p. 5149–5150.
861. *Melvin L.* — J. Chem. Ecol., 1976, vol. 2, N 1, p. 83–86.
862. *Rodin J.O., Reece C.A. et al.* — J. Chem. Eng. Data, 1971, vol. 16, N 3, p. 380–382.
863. *Mori K., Kobayashi S., Matsui M.* — Agr. and Biol. Chem., 1975, vol. 39, N 9, p. 1889.
864. *Kocienski P.J., Ostrow R.W.* — J. Org. Chem., 1976, vol. 41, N 2, p. 398–400.
865. *Wilson R.M., Rekers J.W.* — J. Amer. Chem. Soc., 1981, vol. 103, N 1, p. 206–207.
866. *Mori K.* — Agr. and Biol. Chem., 1976, vol. 40, N 12, p. 2499–2500.
867. *Knolla J., Schäfer H.J.* — Angew. Chem., Int. Edit. England, 1975, vol. 14, N 11, p. 758.
868. *Lipkowitz K.B., Mundy B.P.* — J. Org. Chem., 1976, vol. 41, N 2, p. 373–375.
869. *Mori K., Iwasawa H.* — Tetrahedron, 1980, vol. 36, N 1, p. 87–90.
870. *Elliott W.J., Fried J.* — J. Org. Chem., 1976, vol. 41, N 14, p. 2475–2476.
871. *Fried J., Elliott W.J.* — Pat. 4108870 (USA).
872. *Mori K.* — Tetrahedron, 1975, vol. 31, N 11, p. 1381–1384.
873. *Sakito Y., Mukaiyama T.* — Chem. Lett., 1979, N 8, p. 1027–1028.
874. *Mori K.* — Tetrahedron, 1976, vol. 32, N 16, p. 1979–1981.
875. *Elliott W.J., Hromnak G. et al.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 2, p. 279–287.
876. *Baer E., Fischer H.O.L.* — J. Biol. Chem., 1939, vol. 128, p. 463.
877. *Rinzer G.W., Fentiman A.F. et al.* — Nature, 1969, vol. 221, N 5179, p. 477.
878. *Fentiman A.F., Vite J.P.* — Pat. 3755365 (USA).
879. *Mundy B.P., Otzenberger R.D., Deber-*
- hardis A.R.* — J. Org. Chem., 1971, vol. 36, p. 2390–2392.
880. *Lipkowitz K.B., Mundy B.P., Geeseman D.* — Synth. Commun., 1973, vol. 3, N 6, p. 453–456.
881. *Gore W.E., Pearce G.T., Silverstein R.M.* — J. Org. Chem., 1975, vol. 40, N 12, p. 1705–1708.
882. *Chaquin P., Morezur J.-P., Kossanyi J.* — J. Amer. Chem. Soc., 1977, vol. 99, N 3, p. 903–905.
883. *Lipkowitz K.B., Mundy B.P., Mat-sko T.H.* — J. Org. Chem., 1976, vol. 41, N 2, p. 371–373.
884. *Sum P.E., Weiler Z.* — Can. J. Chem., 1978, vol. 56, N 20, p. 2700–2704.
885. *Ohrui H., Emoto S.* — Agr. and Biol. Chem., 1976, vol. 40, N 11, p. 2267–2270.
886. *Hicks D.R., Fraser-Raid B.* — J. Chem. Soc. Chem., Commun., 1976, p. 869–870.
887. *Meyer H.H.* — J. Liebigs Ann. Chem., 1977, N 5, S. 732–736.
888. *Osborn J.A., Jardine J.N. et al.* — J. Chem. Soc. A, 1966, p. 1711.
889. *Meyer H., Seabach D.* — J. Liebigs Ann. Chem., 1975, S. 2261.
890. *Mori K., Sasaki M.* — Tetrahedron Lett., 1979, N 15, p. 1326–1332.
891. *Mori K., Sasaki M.* — Tetrahedron, 1980, vol. 36, N 15, p. 2197–2208.
892. *Borden J.H., Handley J.R.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 5, p. 681–689.
893. *Francke W., Hindorf G., Raith W.* — Angew. Chem., Int. Edit. England, 1978, vol. 17, p. 862.
894. *Hintzar K., Weber R., Schurig V.* — Tetrahedron Lett., 1981, vol. 22, N 1, p. 55–58.
895. *Smith L.R., Williams H.J., Silverstein R.M.* — Tetrahedron Lett., 1978, N 35, p. 3231–3232.
896. *Francke W., Reith W.* — J. Liebigs Ann. Chem., 1979, N 1, p. 1–10.
897. *Mori K., Sasaki M. et al.* — Heterocycles, 1978, vol. 10, Spec. Issue, p. 111–116.
898. *Mori K., Sasaki M. et al.* — Tetrahedron, 1979, vol. 35, N 13, p. 1601–1615.
899. *Huckin S.N., Weiler L.* — J. Amer. Chem. Soc., 1974, vol. 96, N 5, p. 1082–1087.
900. *Koppenhoefer B.* — Angew. Chem., 1980, vol. 92, N 6, p. 473–474.
901. *Adams M.A., Nakanishi K. et al.* — J. Amer. Chem. Soc., 1979, vol. 101, N 9, p. 2495–2498.
902. *Clark S.W.* — J. Amer. Chem. Soc., 1979, vol. 101, N 9, p. 2493–2495.
903. *Sharpless K.B., Michaelson R.C.* — J. Amer. Chem. Soc., 1973, vol. 95, N 18, p. 6136.

ВВЕДЕНИЕ

Феромоны как биологически активные вещества обнаруживаются и оцениваются по их активности в соответствующих биологических испытаниях (тестах). Практически ни одна работа с феромонами не может обойтись без использования методов биологического испытания (тестирования) феромонов. Чтобы узнать, есть ли у данного вида насекомых феромон, проводят тот или иной биотест. Успех выделения и идентификация феромона в значительной степени зависит от правильно поставленного тестирования. Синтетические вещества и их препараты проверяются на активность биологическими испытаниями. Методы биологического тестирования — основа получения самых разнообразных биологических данных. Продуцирование и выделение феромонов насекомыми, восприятие феромонов и ответы насекомых на них, обусловленность этих процессов физиологическим состоянием насекомых и внешней средой — все это изучается обычно с помощью биологического тестирования. При разработке методов использования феромонов в борьбе с вредителями также не обойтись без различных биотестов. Можно назвать и другие применения биотестирования.

Методы биологического тестирования феромонов стали разрабатываться в основном с разворачиванием интенсивных исследований феромонов с конца 50-х, начала 60-х годов текущего столетия. В первое время существовали только поведенческие тесты, возможность применения для тестирования феромонов электрофизиологических методик была обнаружена позднее.

Для становления поведенческого биотестирования большое значение имели работы Г. Шори и его сотрудников, в частности серия по половым феромонам совок (см. библиографию в конце раздела, а также в обзорах [1, 2]). После этих исследований стало ясно, что и как следует изучать для построения поведенческого биотеста. Частные методы поведенческого биотестирования являются плодом работы многих исследователей, создававших или совершенствовавших их для тех или иных конкретных целей и объектов. Техника биотестирования (ольфактометры) в начальный период в некоторой степени была позаимствована у исследователей, изучавших привлекательность пищевых приманок (например, растительных продуктов для растительноядных насекомых или запахов животных и человека для кровососов).

К сегодняшнему дню в литературе накоплена масса частных данных по поведенческому биотестированию. Практически в каждой статье есть описание каких-то методов тестирования, от простейших до достаточно сложных. Однако применить эти данные как готовые рецепты часто оказывается не так просто, как можно было бы думать. Опыт показывает, что при использовании сходной аппаратуры и методов в одних случаях они обеспечивают успех, а в других приводят к ошибочным выводам. Эффективных процедур поведенческого биотестирования феромонов, которые стали бы стандартными, нет. Может быть, некоторые современные методы и средства тестирования могли бы претендовать на роль таких стандартов. Но они обычно не являются наиболее доступными. Биотест — этот инструмент для получения тех или иных данных часто приходится выбирать, маневрируя между желаемым, необходимым и возможным. При этом желания могут быть противоречивы, а необходимое неясно. Обычно сталкиваются стремления к простоте и эффективности; ограни-

ченные возможности, как правило, толкают к простоте. Поскольку биотест пытаются разработать как можно скорее, то недостаточные знания о насекомом не всегда позволяют верно установить предел необходимого, провести грань, где простота уже переходит в неэффективность. По указанным причинам, несмотря на разработанность в эти дни общих подходов, при создании поведенческих биотестов всегда можно ожидать нечто неожиданное. Остается справедливым высказывание, что разработка биотестирования требует большой изобретательности и экспериментирования [3]. Наконец, далеко не все изучено и ясно в поведении насекомых и в механизмах поведенческих ответов насекомых на феромоны [4].

Электрофизиологический метод изучения ответов на запахи — метод электроантеннограмм (ЭАГ), разработанный Д. Шнайдером [5] в 50-е годы, вскоре после появления позволил выполнить ряд интересных работ. Однако как метод тестирования феромонов он начал широко применяться только с конца 60-х, начала 70-х годов, после того как была показана его пригодность для обнаружения феромонов на выходе колонки газового хроматографа [6]. Метод был подхвачен и очень эффективно использован при идентификации феромонов У. Роелюфсом [7], теперь метод ЭАГ — обязательное вооружение всех химиков, занимающихся идентификацией феромонов. Техника метода чрезвычайно проста, но то, на чем он основывается, далеко не просто и пока недостаточно изучено.

ОБЩИЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ АКТИВНОСТИ

Активность феромона измеряют интенсивностью ответов насекомых на определенное его количество. Обычно выбирают те или иные поведенческие реакции, следующие в ответ на феромон, и фиксируют количество насекомых, проявляющих эти реакции при действии феромона (поведенческое биотестирование). Нередко для оценки активности используют не поведенческий ответ насекомого, а, например, электрофизиологическую реакцию его хеморецепторов, воспринимающих феромон (электрофизиологическое тестирование). Качественное тестирование (феромон или не феромон, содержится или нет в смеси) удовлетворяет только в немногих случаях, наибольшее значение имеет количественное тестирование (насколько активен феромон). Во многих случаях решается и обратная задача — с помощью биотестов оценивается количество феромона.

В связи с тем, что феромоны, по-видимому, многокомпонентны, в последнее время становится все более важным определение биологической роли отдельных компонентов феромонов (своеобразное качественное тестирование).

Общей проблемой для разных видов биотестирования является предъявление феромонов подопытным насекомым.

Активность феромона определяется, как указано, по отношению к определенному его количеству. Количество феромона легко отмерить, если он доступен в чистом виде. Количество феромона, полученного из насекомых (экстрагированием желез, из воздуха, пропускаемого через сосуд с насекомыми, и т.д.) и не выделенного в чистом виде, измеряют в относительных единицах: эквивалентах самки, эквивалентах самко-часа и самко-суток. Эквивалент самки — количество феромона, экстрагируемое из одной самки, эквивалент самко-часа — количество, выделяемое самкой за 1 ч, и т.д. Но насекомые способны воспринимать с помощью своих рецепторов феромонов только пары феромонов в воздухе. Для того

чтобы вызвать реакцию у насекомого, феромон должен быть предъявлен насекомому в виде паров.

Используют два способа предъявления феромонов насекомым. При первом из них тестируемые вещества предъявляются в виде паров известной концентрации в воздухе. Концентрация обычно определяется в единицах массы, молях или количестве молекул на единицу объема. Полученную этим способом оценку активности можно назвать абсолютной. Такая оценка очень удобна, так как пригодна для сравнения с любыми подобными данными, для различных расчетов и т.п. При втором способе известные количества вещества выставляют для испытаний на том или ином испарителе, полагая, что создающиеся в воздухе концентрации паров пропорциональны величине образца. Оценка активности, полученная этим способом, относительна, так как концентрация паров феромона, которую воспринимают насекомые, неизвестна и зависит от многих факторов (например, от конструкции аппаратуры, используемой в биотесте, и режима ее работы). Сравнение данных разных опытов при этом подходе не всегда возможно.

Несмотря на явные достоинства первого способа, он применяется мало. Дело в том, что непосредственное измерение концентрации паров представляет непростую техническую задачу, которая еще усложняется тем, что "рабочие" концентрации феромонов чрезвычайно низки. Например, поведенческая пороговая концентрация бомбикола, феромона тутового шелкопряда *Bombyx mori*, при 21°C составляет около 10^4 молекул/см³. Она была определена с использованием бомбикола, меченного тритием [8]. Поэтому концентрацию феромона в пространстве, где находится насекомое, обычно непосредственно не измеряют, а рассчитывают, исходя из скорости выделения феромона испарителем и объема воздуха, в котором разбавляется феромон. Таким путем, например, определены пороговые концентрации поведенческих ответов совки *Trichoplusia ni* [9], огневки *Plodia interpunctella* [10] и некоторых других насекомых. Однако это тоже представляет по ряду причин значительную сложность. Поэтому абсолютные оценки активности феромонов до сих пор являются редкостью.

Второй способ предъявления феромонов благодаря простоте используется повсеместно. Несмотря на указанные выше его недостатки, получаемые оценки пригодны для многих целей при химических и биологических работах.

ИСТОЧНИКИ ФЕРОМОНОВ (ИСПАРИТЕЛИ)

При любом способе предъявления феромон испаряется в воздух некоторым устройством — испарителем. Основные характеристики испарителей — скорость выделения феромона в единицу времени, степень изменения этой скорости во времени и продолжительность испарения. Та или иная характеристика выступает на передний план в зависимости от назначения испарителя, но в общем наиболее важно, чтобы заданная скорость испарения сохранялась неизменной во времени.

Скорости выделения феромонов, необходимые для привлечения насекомых. Исходный пункт для выбора скоростей испарения феромонов искусственными испарителями — скорости испарения феромонов самими насекомыми. К сожалению, таких данных относительно немного. Наивысшие скорости выделения феромонов зарегистрированы до сих пор у самки непарного шелкопряда *Porthetria dispar* [11] и совки *Trichoplusia ni* [9],

они равны соответственно 0,8 и 0,6 мкг/ч. Для *T. pi* позже была указана несколько меньшая скорость выделения [12, 13]. Наименьшая скорость выделения отмечена у огневки *Plodia interpunctella* [14] — 3 нг/ч, почти такая же скорость у восточной плодоярки *Grapholitha molesta* [15] — 3,2 нг/ч. Гораздо больше данных о количествах феромонов в экстрактах самок. Судя по тому, что эти количества почти всегда очень малы, можно полагать, что чаще скорость выделения измеряется в нанограммах в час.

Интересны также данные о скоростях выделения феромонов, оптимальных для привлечения и отлова насекомых в ловушки. Самцы хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* одинаково хорошо отлавливались в ловушки при скорости выделения феромона госсиплюра в мае — июне 0,012—0,98 мкг/ч, а в августе 0,084—8,6 мкг/ч [16], для совки *Diparopsis castanea* оптимальная скорость 0,7 мкг/ч [17]. Оптимальная, избыточная и недостаточная (при которых улов существенно снижался) скорости испарения феромонов равны соответственно у побеговьюна *Rhyacionia buoliana* 3,6 и 0,1 мкг/ч [18], у яблонной плодоярки *Laspeyresia pomonella* 1,3; 2 и 0,5 [19] и у совки *Trichoplusia pi* 60; 180 и 2 мкг/ч [20]. В последнем случае оценки, вероятно, завышены, так как недавно найден дополнительный компонент феромона, увеличивающий улов при добавлении к основному [21].

Характеризуют диапазон скоростей выделения феромонов и многочисленные данные об оптимальных количествах феромонов на испарителе для разных видов. Такие насекомые, как листовничная листовертка *Zeiraphera diniana* [22], листовертка *Paralobesia viteana* [23] и совка *Agrotis ipsilon* [24] эффективно привлекаются малыми дозами феромонов, оптимальные количества феромонов на резине для отлова этих видов равны соответственно 10, 30 и 40 мкг. Увеличение дозы в одну и другую сторону в 3—10 раз резко снижает уловы. Для восточной плодоярки *Grapholitha molesta* приблизительно одинаковой привлекательностью обладали дозы от 1 до 1000 мкг феромона на полиэтилене, различаясь лишь по длительности действия [25]. Для листовертки *Platynota idaeusalis* хорошей приманкой были 12 мкг феромона на резине [26].

В целом у насекомых диапазон скоростей выделения феромонов, на которые они способны отвечать, простирается, по-видимому, минимум порядка на четыре, начиная с нанограммовых количеств в час.

Измерение скоростей выделения феромонов. Для определения скоростей выделения феромонов насекомыми и из искусственных испарителей используют несколько способов. Наиболее простой способ, пригодный для оценки испарения феромонов из испарителей при достаточной больших дозах веществ, весовой [27, 28]. Однако при этом надо учитывать, что из испарителей могут улетучиваться, в зависимости от их типа, кроме феромонов, некоторые другие вещества. Так, из поливинилхлоридных (ПВХ) испарителей теряются пластификатор и стабилизатор [28]. Вес может, по-видимому, изменяться также из-за поглощения (или отдачи) из воздуха влаги [29] и других веществ. Более чувствительна как метод для оценки скорости выделения феромонов газовая хроматография (ГХ). Обычно определяют после экстрагирования испарителей, "состаренных" в тех или иных условиях, остатки феромонов в них [28, 30, 31]. Однако иногда собирают и определяют с помощью ГХ непосредственно улетучивающийся с испарителя феромон [32—34]. Таким же образом определяют скорость выделения феромонов живыми насекомыми. Феромоны при этом собирают в растворителях, на специальных адсорбентах, просто на поверхности стекла и т.п. [13, 15, 35, 36]. Скорость выделения феромонов, особенно относительную, можно оценивать и с

помощью поведенческих биотестов [35]. Поскольку поведенческие и электрофизиологические ответы коррелируют, может быть применен и метод ЭАГ [37]. Однако он менее чувствителен и дает не совсем определенные результаты [38]. Для оценки выделения феромона в весовых единицах сначала строят, используя синтетическое вещество, кривую зависимости ответов от количества феромона [9]. Предложены и некоторые другие методы. В частности, для изучения скорости выделения ацетатов были использованы меченные ^{14}C ацетаты. Остатки ацетатов в испарителе после выдерживания испарителей в течение заданного времени определяли с помощью сцинтилляционного спектрометра [39]. В прозрачных капиллярах расход можно легко определить по изменению длины столбика вещества.

Испарители феромонов конструктивно весьма разнообразны. Можно попытаться разделить их на несколько категорий, хотя это деление будет в большой степени условно.

Испарение с поверхности твердых тел (адсорбционные испарители). В наиболее чистом виде — это поверхности из непоглощающих феромон материалов (например, из меди [9], стекла [10, 40]), на которые наносится феромон. Из этой же категории стеклянные капиллярные трубки, в которых собирают фракции с ГЖХ-колонки [7]. Сюда можно отнести наиболее часто используемый в лабораторных биотестах испаритель из фильтровальной бумаги, а также ватные фитили, хотя удерживание феромонов на них скорее всего определяется несколькими процессами. Феромоны обычно наносят на такие испарители в виде растворов. Молекулы феромонов адсорбируются на поверхности материалов, а затем постепенно уходят с нее. Важно не перегружать испаритель веществом. Чем меньше адсорбирующая поверхность, тем меньше можно нанести на нее феромона. Сравнимые вещества должны наноситься на испарители одинаковых размеров и в одинаковом количестве растворителя. Все эти условия необходимы, чтобы обеспечить пропорциональность скорости испарения нанесенному количеству, которая сохраняется при очень низких степенях заполнения поверхности адсорбента адсорбатом. Количество вещества с молекулярной массой около 200 на фильтровальной бумаге площадью 10 см^2 и массой около 0,07 г не должно, например, превышать десятков микрограммов [41].

Для адсорбционных испарителей характерна относительно большая скорость испарения. Вследствие пропорциональности количеству вещества, имеющемуся на испарителе, скорость испарения непостоянна. Зато время исчезновения с испарителя половины нанесенной дозы в широких пределах доз изменяется сравнительно мало. Наибольшие абсолютные изменения скорости испарения приходится на начальный период работы испарителя. Так, с медного диска при нанесении 1; 0,3; 0,1 и 0,01 мкг Z7DDA при 24°C и скорости азота 1 см/с половина ацетата испарялась соответственно за 2,6; 3,8; 5,7 и 5 мин [9]. С фильтровальной бумаги половина нанесенного количества Z7DDA исчезала примерно за 8 мин, но $3 \cdot 10^{-5}$ первоначальной дозы еще обнаруживалось через 24 ч [42].

Вследствие быстрой потери вещества и непостоянства скорости испарения адсорбционные испарители с большинством веществ, если они выставляются на открытом воздухе или в потоке воздуха, могут быть использованы лишь в кратковременных тестах. Чаще всего такие испарители применяют в опытах в ольфактометрах. Иногда их используют в биотестах с ловушками, устанавливаемыми в закрытых помещениях. В полевых опытах адсорбционные испарители используются редко. Во

всех случаях испарители заряжают перед самыми опытами, в тестах с ловушками их помещают в ловушки обычно непосредственно в часы лета насекомого, иначе большая часть вещества может быть потеряна до опыта. Например, Z7TDAI на хлопчатобумажном фитиле и фильтровальной бумаге сохранял привлекательность для самцов моли *Prays citri* в течение одной ночи [43]. Только несколько часов привлекала огневку *Chilo suppressalis* смесь Z11HDAI и Z130DAL, помещенная на сигаретный фильтр [44].

При нанесении на адсорбционные испарители (например, на фильтровальную бумагу) миллиграммовых количеств веществ на их поверхности, по-видимому, образуется пленка жидкости. Только после испарения основного количества вещества испарители работают как адсорбционные. Скорость испарения на этих двух этапах различна [27]. Однако в целом большинство веществ исчезает с них и в этом случае практически за несколько часов.

Достоинства адсорбционных испарителей — простота и возможность создания широкого диапазона концентраций феромонов в воздухе с расходом небольших количеств феромонов. Вследствие этого они используются при поведенческом биотестировании в процессе выделения и идентификации феромонов.

В небольших закрытых сосудах заряженные феромоном адсорбционные испарители (в частности, из фильтровальной бумаги) могут храниться длительное время, определяемое химической стабильностью феромона. В этих условиях между парами феромона в сосуде и феромоном на бумаге устанавливается адсорбционное равновесие, и количество феромона на испарителе не убывает. Феромоны на кусочках фильтровальной бумаги, помещенные в закрываемые стеклянные трубки, это один из основных типов испарителей при ЗАГ-методе. При малом расходе воздуха из трубки и кратковременной периодической подаче его концентрация паров в трубке существенно не изменяется ни во время одного периода стимуляции, ни при значительном числе повторных стимуляций. При использовании такого испарителя следует особенно избегать перегрузки его феромоном. Кроме указанного выше, перегрузка нежелательна здесь и потому, что в трубке могут образоваться насыщенные пары феромона. При приближении к насыщению доза все меньше влияет на концентрацию пара, а после достижения его не влияет совсем, так как концентрация насыщенного пара зависит только от температуры.

Испарение с поверхности жидкости. Феромон, налитый в какой-либо открытый сосуд — пример испарителя этого типа. Такие испарители широко используются для привлечения короедов в природе [45—47]. К этой категории относятся разного рода планшеты из металла и других материалов, используемые в природе для выделения значительных количеств феромонов [48—50]. Достоинства таких испарителей — простота, а также возможность обеспечить неизменность скорости испарения во времени, если использовать сосуды с параллельными стенками, в которых испарение происходит с одинаковой поверхности. Расход регулируется изменением площади испарения [48]. Для дополнительного замедления испарения и защиты сосуды с феромонами помещают в банки с небольшими отверстиями [47]. Феромоны короедов иногда выставляются в летучих растворителях, хотя это, по-видимому, может приводить к изменению скорости испарения со временем.

Модификацией описанного выше испарителя является капилляр. Открытый с двух сторон капилляр (калиброванную капиллярную трубку на 5 мкл) использовали в качестве источника феромонов в лабораторном

биотесте для короедов [51]. Феромон вытекает и испаряется с нижнего конца с постоянной скоростью (за исключением первых и последних 0,5 мкл). Скорость испарения можно регулировать разбавлением феромона растворителем (гексаном, эфиром).

В качестве испарителей используются также капилляры, закрытые на одном конце [45]. Микрокапилляры такого типа, которые могут изготавливаться из полиэфирных, полиолефиновых, полиамидных или полиакрилатных материалов, запатентованы в качестве устройства для испарения летучих веществ [52]. Они выпускаются в США для продажи под названием Конрел и стали одним из самых широко распространенных испарителей, применяемых для испарения феромонов самых разных насекомых как в ловушках, так и для насыщения атмосферы [53–56]. Обычно в одном испарителе объединено по нескольку десятков капилляров длиной в несколько сантиметров и диаметром в доли миллиметра, но производятся и одиночные капилляры [56]. Микрокапилляры содержат чистый феромон, хотя при заполнении он может быть разбавлен растворителями.

Скорость испарения из капилляра, закрытого с одного конца, непостоянна и является степенной функцией времени (показатель степени $1/2$), так как мениск удаляется от конца капилляра и затрудняется диффузия паров феромона [57]. Скорость можно регулировать изменением внутреннего диаметра капилляров и их числа, а продолжительность действия — изменением длины капилляров [58]. Микрокапилляры обеспечивают достаточно длительное испарение феромонов, измеряемое неделями и месяцами. Так, феромон агрегации короеда *Scolytus multistriatus* мультрилюр выделялся из капиллярных испарителей Конрел 80–90 суток [53], феромон листовертки *Paralobesia viteana* из подобных испарителей — в течение более 70 суток [59].

Испарение из растворов в слаболетучих жидкостях. Скорость испарения феромонов при их растворении в слаболетучих жидкостях заметно уменьшается. Для использования в качестве таких замедлителей пригодны разные масла, полиизобутилен [60, 61], смеси на основе полиэтиленгликоля [62], полиэтиленгликольдистеарат [60] и другие вещества. Такие растворы наносят на бумагу, сигаретные фильтры и другие материалы [60–62]. Для дополнительного замедления испарения фильтры с зарядом грандлюра и других феромонов помещали в стеклянные сосудики с узким горлом [60, 63]. Растворы можно также наливать в разные сосуды, трубки. Микрограммовые количества сильно летучих феромонов в таком растворе удерживаются часами, а миллиграммовые, как, например, грандлюр на сигаретных фильтрах [62], в течение нескольких дней. Диспарлюр в количестве 1 мкг в 5 мг триоктаноина оставался привлекательным в ловушках в природе по крайней мере три месяца [29]. Основное применение жидкостных испарителей этого рода — в ловушках в природе.

Испарение из объема твердых тел. В качестве носителей феромонов испытаны песок [64, 65], хлопчатобумажные фитили [65, 66], сигаретные фильтры [60, 62], огнеупорный кирпич [67] и другие подобные материалы. В таких материалах феромоны занимают в основном пустоты в их объеме. Испарение из них происходит быстро, и поэтому они применяются редко. Грандлюр пытались вводить в различные синтетические смолы, а также в такие вещества, как парафин и воск [68], однако эти препараты не имели особых преимуществ по сравнению с растворами в слаболетучих жидкостях. Достаточно длительным действием и привлекательностью на уровне живого хлопкового долгоносика *Anthonomus grandis* обладал препарат фирмы Зоекон (США) под названием грандамон (грандлюр, заключенный в гель) [69].

Наиболее употребительны сейчас из этой категории испарителей испарители из полимеров. Было обнаружено, что полиэтиленовая пленка проницаема для феромона совки *Trichoplusia ni* [65]. Затем выяснилось, что если полиэтилен пропитать феромоном он медленно отдает его в атмосферу. Такими же свойствами обладают резина, поливинилхлориды (ПВХ) и другие синтетические полимерные материалы. Хорошим испарителем феромонов может служить состоящая из природных полимеров кожа [70].

Феромоны могут вноситься в синтетические полимеры в процессе производства, например перед вулканизацией примешиваться к ингредиентам резиновой смеси [71] или перед пластификацией — к компонентам ПВХ смолы [72]. При экспериментальных работах чаще всего используются резиновые испарители (пробки, кусочки шланга и т.п.), на которые феромоны можно легко нанести в растворителе. Вместе с растворителем феромон проникает в глубину резины. В зависимости от растворителя в резину впитывается разное количество феромона, эффективным с этой точки зрения является хлористый метилен, причем его рекомендуют наносить в большем, чем необходимо для отмеривания феромона, количестве [19].

Скорость выделения феромонов из полимеров непостоянная, причем особо быстро она изменяется в первый период работы испарителя. В последующем наклон линии, выражающей зависимость скорости от времени, становится все меньше. Так, в лабораторных условиях при 26°С и хорошей вентиляции у ПВХ цилиндра диаметром 1 см, содержащего 5% (по весу) Z7DDA, за первые 25 дней скорость испарения уменьшалась с 200 до 50 мкг/ч, а затем к 135-му дню только до 26 мкг/ч [28] (рис. 1). Подобные данные получены для феромонов яблонной *Laspeyresia pomonella* [73—75] и восточной *Grapholitha molesta* [30] плодовых жорков при испарении из резины и ПВХ.

Для описания процесса выделения летучих веществ из полимеров были предложены уравнения [76], которые позже были усовершенствованы введением дополнительного поправочного коэффициента "а" и приобрели вид:

$$M = M_0 \cdot e^{-kt^a}; \quad C \approx M \cdot kat^{a-1} \quad [73],$$

где M_0 — начальная доза вещества; M — количество вещества в композиции в момент времени t ; C — скорость выделения аттрактанта; k, a — постоянные. Сообщается, что последние уравнения хорошо описывают убыль феромонов восточной и яблонной плодовых жорков из ПВХ и резины [30, 73—75]. Однако физический смысл коэффициентов не вполне ясен и их определяют в каждом опыте по экспериментальным данным. В связи с этим большим шагом вперед было обнаружение того, что важной характеристикой полимерного испарителя является время потери испарителем половины нанесенной на него дозы $t_{0,5}$ [77].

Это время, по крайней мере в некоторых пределах, не зависит от первоначальной дозы. Так, при испарении из резины $t_{0,5}$ было практически одинаковым для 0,1—4 мг E8E10DDDOL [19] и для 0,5—5 мг госсиплюра [16]. С использованием параметра $t_{0,5}$ уравнения для определения M и C имеют вид:

$$M = M_0 e^{-tt_{0,5}^{-1} \ln 2}; \quad C = Mt_{0,5}^{-1} \cdot \ln 2 \quad [77].$$

Эти уравнения могут быть использованы для расчета испарителей [31, 77].

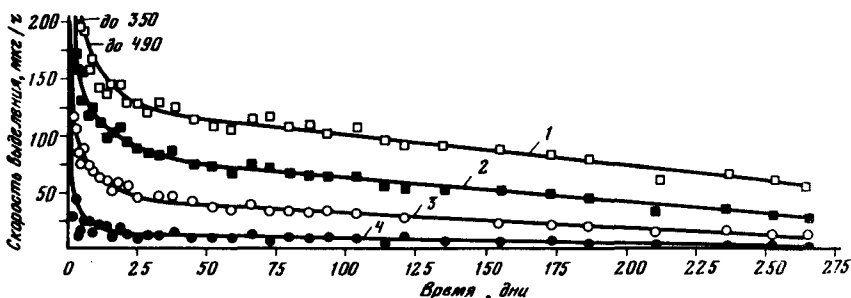


Рис. 1. Скорость выделения Z7DDA из поливинилхлоридных цилиндров при температуре $26 \pm 2,5^\circ\text{C}$ [28]

Концентрация феромона: 1 — 20%, 2 — 10%, 3 — 5%, 4 — 1%.

Поскольку скорость испарения и продолжительность испарения из полимерных испарителей в целом пропорциональны дозе, их регулируют величиной наносимой дозы феромона. Сообщается [28], что скорость испарения из ПВХ можно регулировать также изменением соотношения поверхности к объему и приготовлением полимера разной жесткости. Неодинакова скорость испарения из резин разного состава: силиконовая резина хуже удерживала диеновый феромон совки *Spodoptera litura*, чем натуральная резина [78]. Свойства полимеров, несомненно, влияют на выделение феромонов из них, однако этот вопрос детально не изучался.

Полимерные испарители могут применяться в самых разных биотестах в лаборатории, но, благодаря большой длительности испарения большинства феромонов из них, особенно широко они используются как приманки в ловушках в природе. В этом случае надо отличать от продолжительности испарения длительность (практическую) действия, которую определяют как период, когда улов в ловушку с приманкой не изменяется существенно по сравнению с уловом на новую приманку. Например, 1 мг E8E10DDDOL на резине сохраняет постоянный уровень привлекательности для яблонной плодовой гнильницы *Laspeyresia romonella* по крайней мере 16 недель [79]. Очень долго, более 16 недель, может привлекать щитовку *Apidiella aurantii* без снижения аттрактивности ее половой феромон (3Z, 6R)-3-метил-6-изопропенил-3,9-декадиен-1-илацетат в дозах 1000, 100 и 10 мкг на резине [80]. Испарителем с большой длительностью действия оказалась кожа. Ловушки с кусочками кожи, заряженными 500 мкг E3Z130DDA, отловили за восемь недель в 1,3–2,4 раза больше самцов стеклянницы *Synanthedon pictipes*, чем ловушки с резиновыми пробками с тем же количеством вещества, заменявшимся каждые три недели [70].

Испарение сквозь полимерные мембраны. Первыми испарителями этого типа были полиэтиленовые мешочки [65, 81]. В последующем широкое применение в качестве испарителей нашли различные выпускаемые промышленностью полиэтиленовые полые пробки, маленькие флакончики, пробирки, трубки и т.п. [39, 70, 82, 83]. Помещенные внутрь них феромоны медленно диффундируют сквозь стенки в течение длительного времени. Кривая скорости выделения DDA из полый полиэтиленовой пробки [39] (рис. 2) имеет перегиб, характеризующий резкий переход к снижению скорости испарения. До и после перегиба скорость выделения довольно стабильна. С увеличением дозы вещества скорость испарения увеличивается, но не прямо пропорционально дозе. С увеличением дозы DDA в 10 раз (от 10 до 100 мкл) скорость испарения в

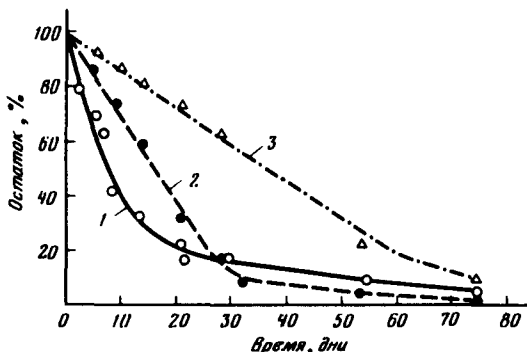


Рис. 2. Выделение DDA из полистиленовой пробки при разной первоначальной дозе [39]
1 — 10 мкл; 2 — 30 мкл; 3 — 100 мкл

первые 10 дней работы испарителей увеличилась в 2 раза [39]. В связи с этим изменение дозы — не лучший способ регулирования скорости испарения из таких испарителей. С увеличением дозы возрастает время, в течение которого сохраняется неизменной первоначальная скорость испарения. Скоростью испарения лучше всего управлять подбором соответствующей толщины стенок или их площади. Можно изменять скорость также помещением внутрь испарителей каких-либо поглотителей феромона [39].

С помощью описанных выше мембранных испарителей можно обеспечить длительное выделение феромонов с постоянной скоростью. Например, в эксперименте в природе, длившемся более 60 дней, при средних температурах 14–18°С скорость испарения DDA и TDA из полиэтиленовых испарителей (доза каждого 10 мкл) оставалась неизменной на уровне около 6,1 и 4,6 мкг/ч соответственно [39]. Вследствие этого такие испарители применяются в разнообразных опытах в природе.

Дальнейшим усовершенствованием мембранного испарителя явились трехслойные пластиковые испарители типа Геркон, выпуск которых был начат в США. Это плоские контейнеры разного размера (обычно несколько сантиметров), внутренний слой которых, пропитанный феромоном, покрыт двумя слоями полимера. Скорость выделения феромона из них также в определенной степени зависит от дозы, но по сравнению с однослойными испарителями они обеспечивают еще более равномерное выделение во времени. Так, в опытах с диспарлюром [32] скорость испарения его оставалась неизменной в течение более 100 суток (все время опытов). Сходные результаты получены с тем же диспарлюром и позже [33]. Как и у однослойных испарителей, скорость выделения удобно регулировать изменением толщины стенок испарителей или их площади [33].

Испарители типа Геркон сейчас используются очень широко с феромонами разных насекомых в полевых опытах, так как обеспечивают длительное испарение феромонов с заданной скоростью. Например, выделение мультитриатина, феромона короеда *Scolytus multistriatus*, из такого испарителя было достаточным для отлова вредителя в ловушки в течение 80–90 суток [53]. Трехслойный испаритель, содержащий во внутреннем слое 40 мг грандлюра, привлекал долгоносика *Anthonomus grandis* в течение восьми недель [84].

Микрокапсулы в качестве испарителей. Первые микрокапсулы диамет-

ром 100–300 мкм из желатины, покрытой пластиком, были разработаны для испарения диспарлятора, который помещали внутрь капсул в виде раствора в ксилоле [85]. Феромон листовертки *Argyrotaenia velutinana* Z11TDA заключали в микрокапсулы из полиамида диаметром 30–50 мкм [86]. Такие же микрокапсулы служили для испарения Z9DDA, феромона другой листовертки *Paralobesia viteana* [59]. Микрокапсулы с Z9TDA, ингибитором привлечения самцов совки *Spodoptera littoralis*, изготавливали из полимочевины или комбинации полимочевины с полиамидом, они имели средний размер 2 мкм [87].

Микрокапсулировали и целый ряд других феромонов. Феромоны микрокапсулируют путем коацервации или межфазной полимеризации [88]. Полимерные оболочки микрокапсул нередко состоят из нескольких разных полимеров. Размеры микрокапсул колеблются между единицами и сотнями микрометров.

Скорость выделения феромонов из микрокапсул непостоянна, в начальный период она высока, а потом сильно уменьшается [86, 87]. Так, скорость испарения из взятого для опыта образца полиамидных микрокапсул с феромоном листовертки *Argyrotaenia velutinana* была на 1, 2, 5, 8 и 16-й день соответственно 9,6; 7,1; 3,6; 1,2 и 0,2 мкг/ч. За 16 дней испарилось только около 3,7% феромона [86]. Аналогично испарение диспарлятора из микрокапсул на основе желатины: за 66 дней опыта в природе испарилось 2,3 и 12,2% его первоначального количества (при концентрации раствора в микрокапсулах 2,2 и 10%) [89]. Микрокапсулы из полимочевины лучше отдавали Z9TDA: при помещении их на фильтровальную бумагу при 20–22°С и отсутствии ветра они потеряли за 20 суток около 2/3 первоначального количества ацетата [87].

Скорость выделения феромонов определяется диффузией через оболочку, и ею можно управлять, изменяя проницаемость полимерной оболочки [87]. В частности, оболочки из разных материалов обладают разной проницаемостью. Микрокапсулы из полимочевины выделяли Z9TDA быстрее, чем микрокапсулы из комбинации ее с полиамидом [87].

Микрокапсулы обычно применяют для насыщения атмосферы феромонами в природе [59, 86, 87, 89]. Так как обработки ими могут проводиться с помощью обычных опрыскивателей, они очень удобны для этой цели. Однако разновидности микрокапсул, разработанные до сих пор, часто не вполне удовлетворяют предъявляемым требованиям из-за указанного выше характера выделения феромонов. Возможно, дальнейшая работа по технологии микрокапсул позволит в определенной мере улучшить их свойства. Предполагается, что лучшие характеристики, по сравнению с микрокапсулами, будут иметь резиновые сферы или сферы из других эластомеров одинакового с микрокапсулами размера, особенно если в полимерах увеличить плотность поперечных связей [31].

Разные испарители. Для испарения феромонов короедов в опытах в природе предложено использовать шприц в 1 мкл, поршень в котором медленно передвигается с постоянной скоростью с помощью часового механизма, применяемого в самопишущих метеоприборах, и выталкивает из шприца феромон [51]. Другое устройство, также для испарения феромонов короедов, содержит реле времени и позволяет распылять феромон из аэрозольной упаковки в нужное время и в нужном количестве [90]. Для испарения 2-компонентного феромона совки *Spodoptera litura* испытывали комплекс мочевины с феромоном, спрессованный в виде таблеток. Он предохранял диеновые ацетаты от разложения под действием света и нагревания [78, 91]. Выделение простых фенольных соединений, половых аттрактантов хруща *Costelytra zealandica*, с заданной скоростью было

достигнуто при использовании сульфированных полистирольных смол. Фенолы могут быть нанесены прямо на полимер из водных растворов или введены как потенциальные фенолы через стабилизированный сульфонат диазония. Фенолы выделяются при взаимодействии препаратов с влажным воздухом [92].

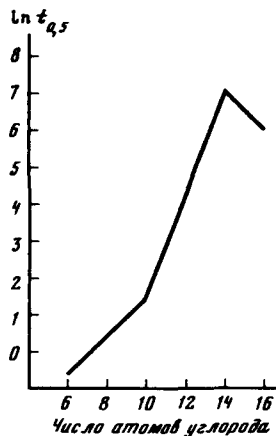
Зависимость скорости испарения феромонов из испарителей от химического строения феромонов. Испарение из адсорбционных испарителей определяется характером взаимоотношений адсорбент — адсорбат. Специальных исследований взаимоотношений такого рода по феромонам нет.

Испарение из жидкостных испарителей и при нанесении веществ в большом количестве на разные фитили (испарение с пленки жидкости) является функцией летучести веществ, которая зависит от их структуры. Однако данных о летучести феромонов мало. В работе [27] собраны сведения о скорости испарения некоторых феромонов и подобных им по структуре веществ с фильтровальной бумаги. Скорость испарения быстро падает с увеличением температуры кипения. Определены значения летучести и давления насыщенного пара для феромонов неярного шелкопряда *Porthetria dispar*, капустной совки *Mamestra brassicae*, гроздовой листовертки *Lobesia botrana* и яблонной плодовой *Laspeyresia pomonella* [34, 93], которые составляют при температурах 15–50°С соответственно 0,09–1,2; 0,1–1,6; 1,3–27,6 и 0,82–11,22 мкг/л и $(0,7–11,5) \cdot 10^{-3}$, $(1,1–15,6) \cdot 10^{-3}$, $(1,4–33,1) \cdot 10^{-2}$ и $(1,09–16,56) \cdot 10^{-2}$ Па. Давление паров госсиплюра при 30°С равно $0,38 \cdot 10^{-2}$ Па [57]. Сопоставление этих данных со структурами (см. Приложение) свидетельствует о большой зависимости летучести от структуры.

Имеются немногие данные о влиянии структуры феромонов и их гомологов на испарение их сквозь полимеры или из полимеров. При испарении сквозь полиэтилен [39] DDA, TrDA, TDA и HDA скорости их испарения в первые 10–15 суток существенно различались, уменьшаясь с увеличением длины молекулы (25 мкг/ч у DDA 1 мкг/ч у HDA). Однако через 30 суток скорости всех этих веществ стали очень близкими (около 1 мкг/ч). Добавление полярных групп (бром- и пропоксид-) к ацетатам оказывало на испарение большее влияние, чем небольшие изменения углеродного скелета. Опыты с Z9TDA и Z7TDAL показали, что скорость их испарения через полиэтилен почти одинакова, несмотря на различные функциональные группы [94].

При испарении из натуральной резины было определено время потери половины нанесенного количества $t_{0,5}$ для серии ацетатов [31]. Это время находится в очень широких пределах — от 0,456 суток для гексилацетата до 3664 суток для Z3Z130DDA (последняя цифра получена расчетом, так как продолжительность опыта 272 суток). Для предельных ацетатов (рис. 3) логарифмы $t_{0,5}$ связаны линейно с числом атомов углерода в 10–15-углеродных ацетатах. Для 6–10-углеродных ацетатов эта зависимость также линейна, но линия имеет другой наклон, чем для 10–15-углеродных ацетатов. Для PDA $t_{0,5}$ 1353 суток, но HDA только 478 суток. Выказано предположение [31], что указанные отклонения от линейности вызваны наличием в резине характерных для полимеров поперечных связей, которые образуют “клетки” молекулярного размера. Мелкие молекулы, такие как 6–10-углеродные ацетаты, способны проникать внутрь этих клеток и выходить из них так же легко, как и при отсутствии поперечных связей. Для этих молекул $t_{0,5}$ увеличивается с увеличением молекулярного веса. В противоположность этому более крупные молекулы (10–15-углеродные

Рис. 3. Зависимость времени испарения половины нанесенной дозы ($t_{0,5}$) от числа атомов углерода в цепи *n*-алкилацетатов (испаритель — резина) [31]



ацетаты) передвигаются среди поперечных связей с трудом и это обуславливает увеличение крутизны линии зависимости. Увеличение молекул выше некоторого критического предела приводит к тому, что они уже почти не попадают в молекулярные "клетки" и поэтому отдают резину быстрее.

Для четырех изученных [31] однопредельных ацетатов (10-, 11-, 14- и 16-углеродных) $t_{0,5}$ мало отличались от таковых предельных ацетатов. Введение второй двойной связи в двух исследованных случаях действовало неодинаково [31]. Отношение $t_{0,5}$ для госсиплюра (смесь Z7E11- и Z7Z11HDDA, 1 : 1) к $t_{0,5}$ для Z11HDA равно 0,25 по сравнению с 1,33 для Z11HDA/HDA. Эти же отношения для Z9E12TDDA, Z11TDA и TDA составляют 1,03 и 0,89. Предполагается [31], что причина этого также во взаимодействии молекул с поперечными связями в полимере. Двойные связи при разном положении неодинаково влияют на форму молекул, а форма молекул определяет возможность их проникновения в молекулярные "клетки". Расположенные в центре молекулы двойные связи должны больше влиять на форму, чем концевые связи.

Кроме длины молекулы и двойных связей в ней, на скорость испарения феромонов из полимеров влияют функциональные группы. Так, спирт Z8DDOL испаряется из резины в три раза быстрее, чем Z8DDA [15].

Влияние на скорость испарения температуры и ветра. Имеются разрозненные данные о влиянии температуры и скорости ветра на скорость испарения феромонов из разных испарителей или на длительность действия испарителей. Например, на улице при "прохладных" условиях (дневные максимумы 20–26°С) и при "жаркой" погоде (максимумы 27–30°С) потери E9DDA из ПВХ испарителя были примерно на 10% ниже и выше, чем при постоянной температуре 24°С [72]. Привлекательность резиновых испарителей с 10 и 100 мкг феромона щитовки *Aonidiella aurantii*, выдержанных при 43°С в течение шести недель, уменьшалась незначительно, а с 1000 мкг не уменьшалась совсем. Испарители с последней дозой практически не теряли привлекательности за тот же срок и при более жестких условиях, при 54°С, в то время как испарители с меньшими дозами теряли или снижали ее [80]. Значения $t_{0,5}$, определенные для госсиплюра в лаборатории, а также в двух разных полевых опытах были равны соответственно 159, 106 и 133 суткам, эти различия обусловлены действием температуры и ветра [16].

Проведены специальные исследования влияния скорости ветра и температуры на убыль феромона яблонной плодовой гнили *Laspeyresia pomonella* из резины [75]. При увеличении скорости ветра с 0 до 2 м/с в первые дни опыта наблюдалось увеличение скорости испарения в 2 раза. Дальнейшее увеличение скорости ветра до 4 м/с не усиливало испарения. Увеличение температуры с 15 до 30°С вызвало усиление испарения из свежезаряженных испарителей в первые дни также примерно в 2 раза. По мнению авторов, ветер и температура почти не влияют на скорость испарения в последующие

дни. Но в приведенных ими данных это влияние, по-видимому, просто "замаскировано" неодинаковым изменением остатка феромона при ветре и при безветрии и при разных температурах.

Отмечено увеличение скорости испарения с ростом температуры и скорости ветра из трехслойных испарителей [33] и из микрокапсул [87]. В последнем случае из микрокапсул из полимочевины за 10 дней при 20–22° С и безветрии испарилось около половины первоначального количества, а при 30° С и ветре 2–3 м/с — около 90%.

С повышением температуры скорость испарения феромонов из всех испарителей увеличивается, что, очевидно, в первую очередь связано с увеличением летучести феромонов с ростом температуры. Это увеличение летучести может быть весьма существенным. Например, летучесть диспарлюра при изменении температуры от 15 до 50° С изменяется приблизительно в 12 раз, а Z11HDA и E7Z9DDDA — в 16 и 21 раз соответственно [93].

При нанесении веществ на разные испарители на зависимость летучести от температуры, по-видимому, накладываются и влияние испарителей. Так, при повышении температуры с 10 до 35° С скорость испарения миллиграммовых количеств DDA с кружка фильтровальной бумаги увеличилась в 21 раз, а с джаншета из нержавеющей стали — только в 8,5 раз [27]. Такое же влияние испарителей имеет место, несомненно, и при испарении из полимерных объемных и мембранных испарителей и большинства остальных их типов. Выбор соответствующих испарителей может, вероятно, уменьшить зависимость скорости испарения от температуры, характерную для самого феромона. Однако эти вопросы совершенно не изучены.

Действие ветра на скорость испарения из таких испарителей, как, например, полимерные объемные и мембранные, заключается, по-видимому, в удалении молекул феромона из слоя воздуха над поверхностью испарителей, а также с их поверхности. Поэтому понятно, что ветер усиливает выделение феромона только до достижения им определенной скорости [75].

В целом действие температуры и ветра на испарение феромонов может быть существенным, но следует согласиться с утверждением, что оно мало по сравнению с влиянием структуры вещества [31].

Роль химической нестабильности феромонов. Многие феромоны — довольно нестабильные химические вещества. Они могут разрушаться еще в процессе приготовления их препаративных форм. Это отмечено для E8E10DDDL и Z8DDA при изготовлении приманок из резины путем вулканизации. Отдельные компоненты резины (тиурам, сера, сульфенамид Ц и другие) при нагреве взаимодействуют с феромонами [71]. Некоторые сорта красной резины содержат 1,2-дианилинэтан — соединение, которое реагирует с альдегидами. Перед нанесением на такую резину феромонов-альдегидов резину надо экстрагировать в горячем спирте [95].

При использовании испарителей в длительных опытах, особенно в природе, надо иметь в виду возможность изменения скорости выделения феромонов из-за их разрушения под действием ряда факторов среды. На необходимость защиты феромонов от действия кислорода, солнечного света, водяных паров, пыли и различных загрязнений в атмосфере указывалось вскоре после идентификации первого феромона [96]. Однако данных о химическом разложении аттрактантов в испарителях немного. Продемонстрировано действие УФ-радиации на феромон яблонной плодовой Laspeyresia pomonella [75, 97] в виде пленки на стекле при облучении лампой ПРК-2 или солнечным светом он почти полностью разрушался за 4 ч, причем скорость разложения не зависит от источника излучения. Это связано, по-видимому, с тем, что происходит сенсibilизированная реакция фотоокисления. В атмосфере азота этот феромон практически не разлагается.

В резиновом испарителе процесс разложения идет медленно. Феромон огневки *Plodia interpunctella* Z9E12TDDA на воздухе при действии солнечного света также подвергается фотоокислению [98]. Активность госсиплюра в поле, по-видимому, снижается от изомеризации. Получающиеся при этом EE- и ZZ- изомеры подавляют привлечение на активные компоненты [99]. Основной компонент феромона совки *Spodoptera littoralis* Z9E11TDDA, содержит систему конъюгированных двойных связей, чувствительную как к изомеризации, так и к окислению. В природе под действием света происходит фотоизомеризация, при которой образуются все четыре возможных изомера, но нужный изомер составляет в динамической смеси только около 13%. Продуктом фотоокисления является производное фурана. Этот нежелательный процесс может быть замедлен использованием антиоксидантов [100, 101]. Для предотвращения или замедления нежелательных изменений феромонов под действием кислорода воздуха и других причин испытаны добавки различных антиоксидантов и к феромонам других насекомых. Испытано, например, восемь антиоксидантов для продления действия феромона совки *Trichoplusia ni* Z7DDA. Приманка с N, N'-двузамещенным п-фенилендиамином сохраняла полностью активность после 158 суток экспозиции на улице, тогда как без антиоксидантов она ее теряла полностью [102]. Сохранность Z3E5TDDA в приманке продляли антиоксиданты: сустан-6, N-октил-N'-фенил-п-фенилендиамин [103]. Последнее вещество использовалось с такой же целью совместно с госсиплюром [104]. Кроме антиоксидантов, для защиты феромонов от УФ-радиации предложено использовать поглощающие коротковолновую радиацию вещества, аналогичные используемым в солнцезащитной косметике. Испытания одного из них — 2-этилгексил-4-диметиламинобензоата (эскалол 507) показали, что при нанесении совместно с феромоном огневки *Plodia interpunctella* на бумагу или резину он увеличивал продолжительность сохранения феромона в лаборатории и в природе более чем в 10 раз [105].

Насекомые как источник феромона. Живые насекомые нередко служат источником феромона в биотестах разного назначения. Обычно их помещают в садочек, который располагают таким образом, чтобы выделяемый насекомыми запах мог быть воспринят теми насекомыми, реакция на запах которых изучается. Размер садочков не должен препятствовать нормальному поведению, например принятию самками призывной позы. То же касается и числа насекомых в садочках. Иногда обходятся и без садочков. Например, если самки некоторых бабочек бескрылы или малоподвижны, их можно поместить в нужном месте без садочка. Таким образом высаживали бабочек (или помещали куколок) непарного шелкопряда *Porthetria dispar* для привлечения самцов на деревья в лесу. Большинство бабочек находили при учете на том же месте, и можно было по наличию спермы в семяприемниках определить, были ли они обнаружены самцами [106]. В некоторых случаях лишают насекомых возможности улететь, подрезав или склеив крылья, и помещают их на особую площадку, окруженную металлическим барьером, обработанным тальком (стол для наблюдения за спариванием) [107]. Иногда насекомым не дают улететь, привязывая тонкой нитью, приклеенной к переднеспинке [108].

Использование живых источников феромона требует принимать во внимание ряд обстоятельств. Мы их только кратко перечислим (см. обзоры [1, 109]). На выделение феромонов насекомыми влияют возраст и связанные с ним другие процессы в организме, особенно половое созревание. Динамика выделения феромонов в течение жизни у разных насекомых может очень отличаться. Во многих случаях она зависит от питания имаго. Спаривание часто коренным образом изменяет продуцирование и выделение

феромонов. Для каждого насекомого, как правило, характерен определенный суточный ритм продуцирования феромона, синхронизированный со сменой дня и ночи. Из факторов внешней среды на выделение феромонов чаще в сильной степени влияет освещенность, этот процесс ограничен как сверху, так и снизу определенными температурами, а также может зависеть от скорости ветра. В некоторых случаях решающее значение имеет присутствие хозяина насекомого. Если насекомое происходит из лабораторной культуры, следует учитывать возможность изменений, вызванных особенностями содержания культуры и отбором в условиях изоляции. При одновременном изменении нескольких условий, управляющих выделением феромонов, результат нельзя представлять как простую сумму независимых влияний. При некоторых воздействиях одного фактора может изменяться реакция на другие факторы. Так, температура может модифицировать ритм активности, который в общем управляется режимом освещенности [110]. Наконец, важное значение имеет техника работы и обращение с насекомыми. Если насекомых для удобства работы анестезируют (например, с помощью CO_2 или холода), необходимо знать влияние этой обработки. Для достижения нормального поведения насекомых во время опыта надо, как правило, дать им успокоиться после всех манипуляций с ними. Для правильного использования в качестве источников феромона живых насекомых необходимо знание основных моментов их поведения. Наиболее просто использовать насекомых в качестве приманки в ловушках в естественных условиях, для этой цели их наиболее часто и применяют. Однако их используют и в поведенческих биотестах в лаборатории. В некоторых случаях "заставляют" насекомое выделять феромон в нужное экспериментатору время, искусственно выпячивая феромонную железу [9].

Испарение смесей веществ и сравнение разных веществ. Феромонный сигнал насекомых — это обычно смесь нескольких веществ, соотношение отдельных компонентов в которой строго фиксировано. Например, при изучении изменчивости соотношения компонентов феромона листовертки *Argyrotaenia velutinana* обнаружено, что доля E-изомера колеблется у отдельных самок в небольших пределах — между 4—15% [111]. При несоблюдении соотношения компонентов активность феромонов, как обнаружено у многих насекомых, уменьшается, может снижаться при этом и видоспецифичность феромонов [112]. Отсюда следует требование к испарителям — они должны выделять компоненты феромонов в заданном соотношении в течение всего времени их работы.

Специальных исследований испарения смесей нет. По-видимому, в большинстве случаев испарение одного компонента смеси практически не зависит от испарения другого. Так, при испарении сквозь полиэтилен присутствие одного ацетата не влияло на испарение другого [39]. Обычно подбирают дозы отдельных компонентов для тех или иных испарителей опытным путем в природе [113], добиваясь наибольшего и наиболее продолжительного отлова насекомых на приманку. Очевидно, что затруднение здесь может быть вызвано различиями свойств компонентов феромонов — летучести, размеров молекул и их конфигурации, функциональных групп и т.п., которые влияют, как видно из изложенного выше, на скорость испарения из разных испарителей. Если свойства компонентов близки, то указанное требование к испарителям может быть выполнено довольно легко.

Но представим, что при использовании полимерных испарителей время испарения половины дозы $t_{0,5}$ компонентов существенно различается. Такие случаи вполне реальны: например, есть феромоны, у которых длина углеродной цепи компонентов неодинакова, у других различны функциональные группы. Первоначальное оптимальное соотношение скоростей выделе-

ния компонентов или соотношение в любой заданный момент может быть достигнуто подбором доз, однако при удалении от этого момента соотношение будет все больше отклоняться от оптимального. Если у какого-либо насекомого соотношение компонентов критично, это может быть причиной снижения практической длительности действия испарителей. При использовании этого типа испарителей или других с аналогичной характеристикой испарения это затруднение, очевидно, принципиально непреодолимо, если помещать все компоненты на один испаритель. В таких испарителях, как капилляры, где скорость испарения не зависит от дозы, можно успешно регулировать испарение, заполняя отдельные капилляры (или разное их число) разными компонентами, однако с практической точки зрения это неудобно. При заполнении капилляров смесями различающихся по своим свойствам веществ обеспечить постоянное соотношение веществ: при испарении невозможно. Мембранные испарители также мало пригодны с этой точки зрения. При их использовании необходимое соотношение паров разнородных компонентов феромонов можно поддерживать, если помещать каждый компонент в отдельный испаритель. Очевидно, что существующие типы испарителей в целом не могут конкурировать с живыми насекомыми в способности создавать специфический феромонный сигнал.

При сравнении активности разных веществ возникающие затруднения аналогичны рассмотренным выше. В настоящее время обычно сравнивают довольно различные вещества как в поведенческих, так и в ЭАГ-тестах без учета существующих различий между ними в способности испаряться. Обоснованием такой позиции является то, что влияние летучести и подобных характеристик вещества относительно мало по сравнению с влиянием степени сродства к рецепторам феромонов. С точки зрения конкретных целей некоторых работ это может быть правильным. Однако точное сравнение активности веществ возможно только при одинаковой скорости испарения веществ с источника или одинаковой концентрации их паров в воздухе.

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ФЕРОМОНОВ – МЕТОД ЭЛЕКТРОАНТЕННОГРАММ

Обнаружение того, что антенны насекомых очень хорошо "настроены" на восприятие феромонов [114, 115], явилось основой использования метода электроантеннограмм (ЭАГ) для тестирования феромонов. Метод ЭАГ оказался настолько полезным при изучении феромонов, что его применение постоянно опережало знания о нем. Все же накопленные к настоящему времени данные позволяют в целом достаточно четко представить его возможности, достоинства и недостатки. Несомненно, что информация, перехваченная на пути к мозгу, иногда дает возможность увидеть то, что трудно или невозможно обнаружить другими методами.

Восприятие феромонов и его отражение в электрических сигналах в организме насекомого

Электрические ответы на запах и их возникновение. Запахи воспринимаются насекомыми в основном с помощью антенн [116]. Молекулы пахучего вещества, в том числе феромона, попадая на обонятельные сенсиллы антенн насекомого, возбуждают рецепторные клетки, способные воспринимать вещество. В этих клетках возникает медленный потенциал и одновременно серия нервных импульсов (рис. 4), которые направляются в ольфакторный центр мозга. Такой ответ можно зарегистрировать с помощью

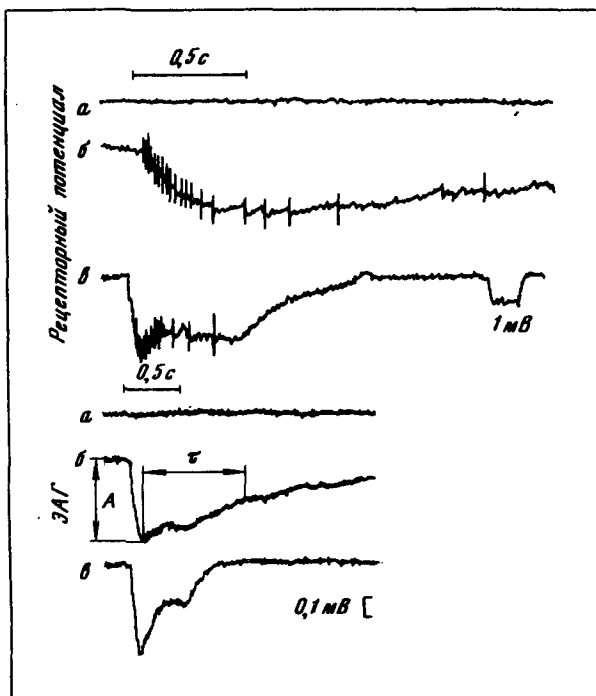


Рис. 4. Рецепторный потенциал с импульсами альдегидного рецепторе и ЗАГ самца сатурнии *Antheraea pernyi* в ответ: а — на воздух; б — на 10^{-3} мкг E6Z11HDDAL; в — на 1 мкг Z11HDDAL [117]

микроэлектродов, один из которых (регистрирующий) введен в основание сенсиллы, а другой (индифферентный) соединен с гемолимфой антенны [118, 119]. Часто регистрирующий электрод одевают на обрезанный кончик ольфакторной трихоидной сенсиллы [118]. Основная характеристика этого сигнала — частота импульсов.

Если один электрод подвести к вершине антенны, а другой — к ее основанию, обеспечив контакт с гемолимфой, то электроды зарегистрируют при раздражении запахом сигнал, который называют ЗАГ (рис. 4). По форме сигнал сходен с рецепторным потенциалом, и, как полагает Д. Шнайдер, разработавший этот метод отведения, ЗАГ в приближении представляет сумму рецепторных потенциалов отдельных клеток, которые можно рассматривать как последовательно соединенные источники тока [5, 114]. Вершина антенны при использовании большинства раздражителей становится отрицательной по отношению к основанию. У ЗАГ обычно измеряют только максимальную амплитуду (А), реже скорость спада, которую характеризуют временем, необходимым для снижения амплитуды наполовину (τ).

Если ввести регистрирующий электрод в обонятельный центр дейтоцебрума, можно обнаружить сигнал, являющийся результатом обработки информации, поступающей сюда по аксонам от обонятельных рецепторов [120—122]. Иногда регистрируют также эфферентный сигнал, возникающий при раздражении феромоном. Для этого вводят электрод в птероторакаль-

ный ганглий, где расположены мотонейроны, иннервирующие крыловые мышцы [123].

У тутового шелкопряда *Bombyx mori* рассмотрено возникновение ответов у самцов в зависимости от интенсивности стимуляции компонентом полового феромона бомбиколом [124] (рис. 5). На антенне самца имеется около 17 тыс. трихонидных сенсилл [114] и в каждой из них по одной рецепторной клетке, воспринимающей бомбикол. Эти рецепторы и без раздражения бомбиколом изредка генерируют импульсы — всего около 1600 имп/с в одной антенне. При раздражении бомбиколом число импульсов увеличивается. Однако чтобы сигнал о присутствии бомбикола в воздухе был “замечен” центральной нервной системой (ЦНС) на фоне “шума” рецепторов, должно быть активировано около 200 рецепторов бомбикола из общего числа их на антенне. Поскольку при низких концентрациях феромона рецепторы работают как счетчики молекул, для возбуждения 200 рецепторов достаточно попадания на них такого же числа молекул бомбикола [8, 114]. Это происходит при концентрации бомбикола 10^3 молекул/см³ воздуха в течение 1 с при скорости воздуха около 60 см/с. При достижении этого порога часть самцов начинает реагировать на бомбикол вибрацией крыльев, проявляя поведенческий ответ на феромон. Однако трудно рассчитывать, что регистрирующий электрод окажется возле одной из отвечающих клеток. Поэтому ответ при отведении от отдельных клеток (импульсы) с уверенностью может быть зарегистрирован при концентрации раздражителя на порядок с лишним выше [125, 126], когда каждый рецептор раздражается минимум одной молекулой бомбикола. При дальнейшем усилении стимуляции еще примерно на порядок появляется заметный суммарный ответ антенны — ЭАГ. По некоторым данным, для появления ЭАГ требуется концентрация феромона на три—четыре с лишним порядка больше, чем для поведенческого ответа [40, 127].

Диапазон ответов и адаптация рецепторов. Начиная с пороговых концентраций, ответы насекомых на раздражитель нарастают (рис. 5), но не бесконечно, а до определенного предела. Общий диапазон рецепторов в целом может охватывать, по-видимому, около шести порядков концентрации феромона. Из них рост на три порядка необходим для активации 100% клеток [114], дальнейшее увеличение концентрации примерно на три порядка ведет к достижению максимальной частоты импульсации рецепторов [119, 128]. Кривая зависимости ответов рецепторов от интенсивности стимула имеет форму, близкую к S-образной. Провышение стимулом определенной величины ведет к прекращению роста (плато) или уменьшению ответа — частоты импульсации [119, 129].

Амплитуда ЭАГ после достижения потолка ответов рецепторами феромона продолжает увеличиваться с увеличением концентрации феромона еще примерно на два порядка. Этот рост, по-видимому, связан с вовлечением в ЭАГ при сверхвысоких концентрациях стимула менее чувствительных к феромону неспецифических рецепторов [125]. Диапазон роста ЭАГ на феромон в связи с этим составляет до пяти-шести порядков, после чего амплитуда ЭАГ, достигнув максимума, стабилизируется или начинает снижаться [130, 135]. Абсолютная величина ЭАГ у чешуекрылых 1 — 10 мВ [7]. В этих же пределах ее амплитуда и в других отрядах [132, 135, 137]. Следует отметить, что диапазон зависит также от природы раздражителя. Например, ЭАГ самцов листовертки *Clepsia spectrana* на один из компонентов феромона Z9TDA переходила в плато за четыре десятичные степени концентрации, а ЭАГ на другой компонент Z11TDA нарастала без признаков ограничения по крайней мере в пределах пяти порядков [130]. В случае ЭАГ кривая “концентрация — ответ” имеет форму, близкую к S-образной.

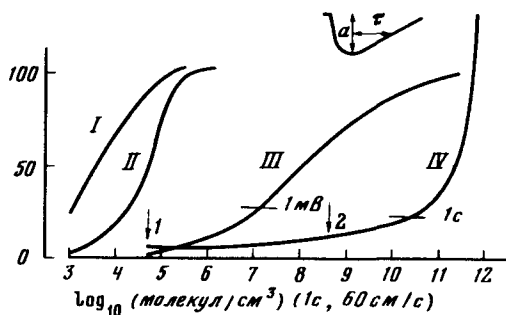


Рис. 5. Зависимость электрофизиологических и поведенческих ответов тутового шелкопряда *Bombyx mori* от концентрации бомбикола [124]

По оси абсцисс: 1 — одна молекула на клетку; 2 — одна молекула на поровую трубочку. По оси ординат: I — процент поведенческих ответов; II — процент клеток, дающих один или более нервных импульсов; III — амплитуда ЭАГ, а; IV — время полувисочного ЭАГ, т

В целом интенсивность ответов как рецепторов, так и антенн целиком пропорциональна логарифму концентрации раздражителя, в средней части S-кривой эта зависимость близка к прямолинейной [119, 129, 130, 133, 134]. С возрастанием концентрации раздражителя растет крутизна переднего фронта ЭАГ и уменьшается скорость спада ЭАГ.

В тесной связи с концентрацией раздражителя находится адаптация рецепторных клеток, обратимое изменение их чувствительности под действием адекватных стимулов. Адаптация — сложное, еще недостаточно изученное явление, результат суммирования ряда составляющих на молекулярном и клеточном уровне (аккумуляция молекул раздражителя на антенне, перегрузка механизма дезактивации и т.п.) [124]. При действии неадекватных раздражителей адаптация на уровне рецепторов практически отсутствует, что показано при регистрации ЭАГ от антенн мухи *Lucilia sericata* на этилацетат, n-гептанол и другие вещества [138]. При раздражении феромоном малые концентрации раздражителя также не вызывают адаптации. При использовании в качестве раздражителя 1 мкг компонента феромона совки *Trichoplusia ni* Z7DDA и малой скорости воздуха ($50 \text{ см}^3/\text{мин}$) адаптация при регистрации ЭАГ у самцов не отмечалась при 40–50 повторных стимуляциях длительностью до 200 мс с промежутком 10–15 с [38]. При большей скорости воздуха ($800 \text{ см}^3/\text{мин}$) вынос феромона из источника увеличивался и наблюдалась кратковременная адаптация. В другом опыте с этим видом при использовании 10 мкг феромона на бумаге и двухсекундной экспозиции чувствительность антенн восстанавливалась через 30–60 с [139]. Восстановление исходного уровня ЭАГ через 3 мин после длительной экспозиции к госсиплюру отмечено у хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* [140]. Длительная адаптация может иметь место при очень сильных раздражителях (рис. 5). У тутового шелкопряда *Bombyx mori* временное уменьшение чувствительности при отведении от отдельных рецепторов становится очевидным при концентрации бомбикола примерно 10^7 молекул/см³. Удлинение суммарного потенциала, очевидно, из-за аккумуляции становится заметным при 10^9 молекул/см³. Наконец, при действии концентрации 3×10^{11} молекул/см³ в течение 4 с достигается сильная адаптация, после которой полное восстановление амплитуды ЭАГ происходит через несколько часов. Такие концентрации достигаются при миллиграммовых количествах феромона на фильтровальной бумаге в

источнике, при этом нагрузка на каждую рецепторную клетку составляет около 10^7 молекул.

Антенна как детектор феромонов. ЭАГ вызывают разные пахучие вещества — из растений [141, 142] и из самих насекомых, в том числе феромоны дистантного действия, рассматриваемые в этой книге, и феромоны, действующие только на близком расстоянии (например, половые феромоны самцов многих чешуекрылых [143, 144]). Форма ЭАГ на разные вещества очень сходна или одинакова. Однако благодаря особенностям обонятельной системы насекомых ЭАГ на феромоны дистантного действия может быть относительно легко выделена из ответов на другие вещества [115].

Как обнаружено Д. Шнайдером и его сотрудниками, обонятельные рецепторные клетки делятся на две группы — неспециализированные и специализированные [115, 126]. Неспециализированные клетки отвечают на разные химические соединения, каждая клетка имеет неповторимый спектр восприятия, который, однако, широко перекрывается со спектрами других таких рецепторов. Специализированные рецепторы все настроены на один и тот же спектр веществ и обладают наибольшей чувствительностью к определенному биологически важному веществу. Специализированные рецепторы феромонов наиболее чувствительны к феромонам.

Накопленный до сих пор материал по чешуекрылым подтверждает существование у них специализированных рецепторов феромонов с указанными выше свойствами. Некоторый диссонанс в сложившееся представление о рецепторах вносят лишь немногие данные, в частности данные о неодинаковости спектров ответов рецепторов феромонов листовертки *Argyrotaenia velutinana* [119] и о восприятии ингибитора [131] или нескольких компонентов феромона [145] одним и тем же рецептором у листовертки и совки соответственно. Однако в принципе последнее, по-видимому, не является невозможным, так как в гибридном потомстве двух форм листовертки *Zeiraphera diniana*, привлекающихся соответственно на E9DDA и E11TDA, при отведении от сенсилл обнаружены рецепторы, имеющие акцепторы для аттрактантов обеих родительских форм [146].

Данных по другим таксономическим группам насекомых мало, но, по-видимому, в разных группах возможны различные варианты рецепторов феромонов [147]. В частности, у короедов и других жуков одна рецепторная клетка может, по-видимому, иметь акцепторы для нескольких компонентов феромонов; отдельные рецепторные клетки, воспринимающие феромоны, могут по-разному отвечать на аналоги феромонов, и т.п. [129, 147–149].

Кроме указанной выше особенности специализированных рецепторов дистантных феромонов — высокой чувствительности, для них характерна также большая численность. Так, у самцов некоторых бабочек они составляют до 60% от общего числа рецепторов на антеннах [150]. Поэтому на раздражение феромоном одновременно отвечает масса высокочувствительных к нему клеток, а на раздражение другими веществами — сравнительно небольшое число клеток, причем часто не обладающих максимальной чувствительностью к ним. Но выше было показано, что для возникновения ЭАГ требуется одновременное достаточно сильное возбуждение многих рецепторов. В таких условиях ЭАГ на феромоны может быть вызвана малыми концентрациями раздражителей, тогда как биологически нейтральные или менее значимые запахи для получения заметной ЭАГ должны иметь большую концентрацию. При испытании методом ЭАГ на колорадском жуке *Leptinotarsa decemlineata* 53 летучих веществ, встречающихся в растениях (особенно в представителях семейства пасленовых), а также их изомеров

пороговая концентрация наиболее эффективного соединения E2HOL составила $1,2 \times 10^8$ молекул/см³ воздуха [141]. Это примерно на два порядка выше указанного значения для феромона бомбикола [124]. Антенна насекомого при отведении от нее ЭАГ может поэтому служить своеобразным детектором для обнаружения дистантных феромонов, на которые настроены рецепторы этой антенны. Несмотря на меньшую чувствительность по сравнению с поведенческими тестами, метод ЭАГ пригоден для обнаружения и оценки очень малых количеств феромонов — нанограммовых и даже пикограммовых на источнике феромона [7, 40, 151, 152]. Это одна из причин, почему метод ЭАГ нашел широкое применение для тестирования феромонов.

Пол и ответы антенн на феромон. Для регистрации ЭАГ на половые феромоны используют антенны того пола, который воспринимает феромон. У большинства изученных до сих пор бабочек половые феромоны самок воспринимают только самцы. У самок некоторых видов, например у сатурнии *Antheraea pernyi*, отсутствуют трихоидные сенсиллы, в которых у самцов находятся рецепторы феромона [153]. У других бабочек, как у тутового шелкопряда *Bombyx mori*, аналогичные трихоидные сенсиллы имеются у обоих полов, но только сенсиллы самцов отвечают на феромон самок [154]. Исключение составляют некоторые рода совок и листоверток, у которых антенны самок всех до сих пор исследованных видов обнаруживают ЭАГ-ответ на собственные феромоны [147]. Антенны самок совки *Trichoplusia ni* на выделяемый ими компонент феромона Z7DDA дают ЭАГ, которая по всем параметрам аналогична ЭАГ самцов, но меньше по амплитуде на 25%, феромон также привлекает самок в поле [155, 156]. Однако в отличие от самцов антенна самок дает более сильный ответ на Z7TDA, биологическая функция которого неизвестна [147]. Самки совки *Spodoptera littoralis* дают ЭАГ на все четыре компонента собственного феромона [157]. У листовертки *Choristoneura fumiferana* самки тоже отвечают на собственный феромон, причем как в ЭАГ-, так и в поведенческих тестах. Предполагается, что он действует как стимулятор яйцекладки [133, 158]. Показано восприятие собственных феромонов и самками некоторых других бабочек [159, 160]. Самки хруща *Costelytra zealandica* также отвечали на собственный феромон — фенол в ЭАГ-тесте [132]. Антенны самок, которые не отвечают на феромон, иногда используют для своеобразного контроля активности веществ. Так, у таракана *Periplaneta americana* по отношению ЭАГ-ответов самцов и самок можно, как полагают, судить о близости структуры вещества половому феромону [161].

Феромоны агрегации воспринимают оба пола и для регистрации ЭАГ пригодны антенны как самцов, так и самок [149, 162].

Многокомпонентность феромонов и взаимодействие компонентов на уровне организма. С каждым днем накапливаются факты, свидетельствующие о том, что феромоны (скорее всего большинство) многокомпонентны. Поведенческие тесты феромонов и их отдельных компонентов, особенно испытания на привлекательность в природе, обнаружили разнообразные взаимодействия компонентов в сочетаниях, основные из которых следующие:

1. Аддитивность. Компоненты феромона активны (привлекательны) каждый в отдельности, и действие их складывается (хотя, может быть, и не совсем строго аддитивно). По-видимому, к этой категории можно отнести взаимодействие компонентов феромона шелкопряда *Malacosoma disstria* [163].

2. Синергизм. Один компонент вызывает сам по себе поведенческий ответ, а другой (или другие) — нет. Но при совместном действии компонен-

тов эффект больше, чем при действии одного первого компонента. Примеры такого рода взаимодействия отмечены у совок озимой *Scotia segetum* [164], сосновой *Panolis flammea* [165], капустной металловидки *Trichoplusia ni* [21], у сатурнии *Antheraea polyphemus* [166] и многих других насекомых.

3. Взаимный синергизм. Этот термин предложен [117] для описания ситуации, когда ни одно из веществ по отдельности не вызывает ответов и активна только их смесь. Взаимный синергизм также обычен у насекомых, например у хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* [99] и у совок *Polia pisi* [167], *Mamestra configurata* [168], *Agrotis venerabilis* и *Euxoa albipennis* [169]. Для последнего вида аттрактивна только смесь трех веществ, поодиночке или в сочетаниях по два они не привлекательны.

4. Ингибирование. Вещество или смесь веществ возбуждает у данного вида полный поведенческий ответ. Другое вещество само по себе поведенчески неактивно, но при совместном действии с активным компонентом (компонентами) подавляет частично или полностью ответ. Практически для каждого идентифицированного феромона или найденного подбором аттрактанта известны ингибиторы.

Иногда ингибитор феромона данного вида может выделяться этим же видом. У тутового шелкопряда ингибитор бомбикаль, по-видимому, корректирует кривую доза—ответ на бомбикол таким образом, что обеспечивается лучшая возможность для ответов в широком диапазоне концентраций бомбикола [117]. Внутривидовые ингибиторы (антиагрегационные феромоны) могут выделяться короедом для предотвращения внутривидовой конкуренции. Таким веществом у короеда *Dendroctonus pseudotsugae* является 3-метил-2-циклогексен-1-он [170].

Однако в большинстве случаев ингибиторы содержатся в феромонах других, обычно родственных видов. Родственные виды часто имеют общие основные компоненты феромонов, которые могут быть привлекательными для всех них. Межвидовую изоляцию обеспечивают дополнительные, специфичные для видов вещества. У продуцирующих их видов они входят в состав феромонов, а для других видов могут быть ингибиторами. Это характерно, например, для многих видов совок, имеющих в качестве общего компонента в феромонах Z11HDA [171].

В принципе ингибиторы могут участвовать во взаимоотношениях не только родственных видов, но и вообще любых видов в биоценозе, использующих близкие феромоны. Феромоны являются несомненно продуктом развития не только отдельных видов, но и биоценозов [109].

Необходимо подчеркнуть отмеченную выше относительность роли веществ в комбинациях (для одного вида вещество может быть синергистом, а для другого — ингибитором). Также же изменение роли веществ возможно и в зависимости от их количеств или соотношений. Например, у совки *Pseudaletia unipuncta* Z9TDA при добавлении к основному компоненту феромона Z11HDA в количестве 0,01% (оптимум) увеличивает улов в ловушку более чем на 50%, но в количестве 1% полностью подавляет улов [172]. Подобным образом, по-видимому, функционируют многие минорные компоненты феромонов [152].

Кроме тех веществ, которые явно подпадают под определение феромонов, в выделениях феромонных желез самок нередко обнаруживают вещества, которые не вызывают ни ЭАГ-, ни поведенческой реакции у самцов [152, 173—177]. Большой частью назначение "лишних" компонентов в выделениях желез пока неясно. Возможно, некоторые компоненты играют ту или иную роль во взаимоотношениях полов на близком расстоянии. Так как основным критерием для оценки феромонов служит отлов

в ловушки, такая их роль не всегда может быть обнаружена. Эти вещества могут и не иметь определенной функции, являясь побочными продуктами биосинтеза или остатками прежних феромонов, изменившихся с развитием феромонных систем. Они могут служить одновременно и материалом для дальнейшего изменения феромонов [177]. Вместе с тем некоторые из них, вероятно, выступают как активные на межвидовом уровне изолирующие сигналы [177].

Множественность рецепторов и восприятие химического сигнала. Описанные выше сложные взаимодействия многокомпонентных феромонов на приемной стороне возможны благодаря специальной системе для их восприятия и переработки. Для восприятия многокомпонентных феромонов у насекомых имеются специализированные наборы рецепторов. Регистрация активности от отдельных трихоидных сенсилл на антеннах самцов выполнена у представителей разных семейств чешуекрылых — у Saturniidae [117], Lymantriidae [17B], Tortricidae [119, 146, 160, 179], Yponomeutidae [159], Noctuidae [145, 146, 165, 167], а также Sphingidae, Phycitidae и Arctiidae [147]. В одной сенсилле найдено от двух до пяти рецепторных клеток, каждая из которых специализирована на определенное вещество, наборы типов клеток в сенсилле обычно стабильны.

Различные типы клеток в сенсилле можно отличить по амплитуде импульсов, но чем больше клеток, тем это труднее. Для различения ответов отдельных клеток иногда применяют метод селективной адаптации. При этом методе подают друг за другом два одинаковых стимула так быстро, чтобы ответ на второй стимул подавлялся. Затем заменяют вещество, подаваемое при второй стимуляции. Если в этом случае ответ меньше, чем при подаче этого вещества отдельно, то оба вещества действуют на один рецептор. Если получен полный ответ на второй стимул, то это вещество действует на другой рецептор, не возбуждаемый первым стимулом и поэтому не адаптировавшийся к нему [117]. Селективная адаптация используется и при ЭАГ-методе для аналогичной цели [148, 180]. Ответы отдельных клеток в сенсилле часто различаются также по амплитуде рецепторного потенциала и времени его спада, это может отражаться и на ЭАГ. Если форма ЭАГ (время спада амплитуды и т.п.) при ответе на разные вещества отличается, то это может свидетельствовать о восприятии их разными рецепторами [1B1]. Однако форма ЭАГ по неясным причинам часто не соответствует таковой рецепторного потенциала: нарастание и спад ЭАГ часто более быстры, чем у соответствующего им рецепторного потенциала [117] (см. рис. 4).

Рецепторные клетки в трихоидной сенсилле могут быть настроены на разные сочетания веществ. Это могут быть рецепторы на альдегид и спирт, как у тутового шелкопряда *Bombyx mori* [182], или четыре рецептора на разные ацетаты, как у совки *Polia pisi* [167], или три рецептора на ацетаты и по одному на спирт (совки *Cacoecimorpha pronubana*, *Peridroma saucia* [146]) или альдегид (совка *Pseudaletia unipuncta* [147]). У ряда совок из Hadeninae, включая *Scotogramma trifolii*, *Polia oleracea*, *P. contigua*, *P. thalassina*, *Mamestra configurata*, *M. brassicae*, в трихоидных сенсиллах самцов обнаружены рецепторные клетки, дающие максимальные ответы на Z11HDA, Z9TDA, еще один ацетат и Z11HDOL [146]. У луговой совки *Pseudaletia unipuncta* рецепторный аппарат трихоидной сенсиллы состоит из четырех клеток (A—D), максимально отвечающих на Z11HDA, Z9TDA, Z7DDA и Z11HDAL [147] (табл. 1).

В трихоидных сенсиллах самцов чешуекрылых, как показывают все полученные до сих пор данные, обязательно имеются рецепторы для главных компонентов феромонов. Однако обычно нет полного совпадения спе-

Таблица 1

Ответы антенны самца луговой совки *Pseudaletia unipuncta* (четыре клетки в трихотидной сенсилле и ЭАГ) на синтетические ацетаты, спирты и альдегиды [147, 183]

Вещество	Количество, мкг	Ответы клеток				Амплитуда ЭАГ, % от амплитуды на Z11HDA	Клетки, участвующие в ЭАГ-ответе	Количество идентифицированных компонентов по отношению к Z11HDA, %
		A	B	C	D			
Z5DDA	10	—	I	II	—			
Z6DDA	10		I					
Z7DDA	0,1			II		50	C	
	1	—		IV				
	10	II	III	V	—			
E7DDA	10			IV	—			
Z8DDA	10	I		III				
Z9DDA	10	II	II	II	—			
Z7TDA	10	II		III	—			
Z8TDA	10	IV						
Z9TDA	0,1		II	—		65	B (AC?)	
	1	II	IV					
	10	IV	V	IV	—			
E9TDA	10	III	IV	III	—			
Z10TDA	10	II	III		—			
Z11TDA	10	III	II	II	—	65	ABC?	
HDA							15	
Z9HDA	10	III	II	II	—		2	
Z10HDA	10	IV		—				
Z11HDA	0,01	I				100	A	
	0,1	III	—					
	1	IV		—	—			
	10	VI	III	I	—			
E11HDA	10	IV	II	—	—		< 1	
Z12HDA	10	III		—				
Z13HDA	10	II	I	—	—			
Z7DDOL	10	—		I	—			
Z9TDOL	10	—		—	—			
Z11HDOL	10	II	—	—	I		13	
Z7DDAL	10	—		—	I			
Z9TDAL	10	—	—	—	III			
Z11TDAL	10	—	—	—	II	60	D?	
Z9HDAL	10	—			I			
Z10HDAL	10		—		II			
Z11HDAL	0,1				II	50	D	
	1	—			IV			
	10	I	—	—	V			
E11HDAL	10	—		—	IV			
Z12HDAL	10	—			II			
Z13HDAL	10	—			I			
Z7DDF	10	—		III	III			
Z9TDF	10	I	III	—	IV			
Z11HDF	10	III	—		I			

Условные обозначения: I—V) — оценка частоты нервных импульсов по шестиступенчатой шкале (I — min., V) — max.; " — " — отсутствие ответа).

циализации рецепторов с набором веществ, секретируемых феромонными железами. В выделениях самок нередко обнаруживают вещества, для которых нет рецепторов на антеннах самцов этого вида. И, наоборот, в сенсиллах самцов находят рецепторы, для которых нет эквивалентов в феромонах самок. Это несоответствие связано с присутствием на антеннах рецепторов межвидовых ингибиторов, а также с наличием в выделениях феромонных желез неактивных биологически (по крайней мере для этого вида) веществ, о которых говорилось выше. У совки *Polia pisi* две рецепторные клетки настроены на восприятие двух ацетатов (Z9- и Z11TDA), которые в смеси 1 : 1 обладают сильной привлекательностью для этого вида. Еще две рецепторные клетки специализированы на рецепции Z7DDA и Z11HDA, которые в количестве более 10% от количества привлекающих компонентов являются сильными ингибиторами привлечения [167]. Очевидно несоответствие рецепторов и компонентов в секрете феромонной железы у совки *Pseudaletia unipuncta* (табл. 1). Лишь для одного из пяти идентифицированных компонентов — Z11HDA (главного компонента феромона [183]) в трихонидной сенсилле имеется рецептор (клетка А). Рецепторы В и D рассчитаны на восприятие ингибиторов [172]. Назначение рецептора С неизвестно. Рецепторы для компонентов феромонов и для их ингибиторов обнаружены также у яблонной плодовой гусеницы *Laspeyresia pomonella* [146], листовертки *Choristoneura fumiferana* [146, 174, 184], совки *Agrotis venerabilis* [169] и других насекомых.

Процесс восприятия феромонов был бы прост при существовании однокомпонентных феромонов и специализированных рецепторов для них. Необходимая для ЦНС информация о наличии феромона и его концентрации могла бы однозначно кодироваться частотой импульсации рецепторов. Первоначально химический язык насекомых и представлялся исследователям однословным — одно слово-феромон несет весь смысл сообщения. При многокомпонентности феромонов и множественности рецепторов процесс восприятия, конечно, гораздо сложнее и пока практически не изучен. Многокомпонентный феромонный сигнал — это уже не слово, а целая фраза, что-то вроде: "Приди ко мне, сядь рядом и полюби меня", как в шутку расшифровывает ее Ф. Риттер [185]. В фразе каждое слово-компонент может нести свой особый смысл, но еще большее значение имеют сочетания слов. Основные возможные результаты взаимодействия компонентов феромонов рассмотрены в предыдущем разделе. Такие определения взаимодействия компонентов феромонов, как синергизм и ингибирование, основываются на представлениях о взаимодействии веществ типа лекарств или инсектицидов. На самом деле взаимодействие компонентов феромонов скорее сходно взаимодействию букв в слове, слов в предложении или взаимодействию каких-либо других знаковых сигналов. Например, дорожный знак "место стоянки" может издали привлекать водителей. Однако если при приближении к нему они прочтут на маленькой табличке "только для служебного транспорта", реакция у водителей служебного и личного транспорта будет различной. Для первых эта надпись будет "синергистом", а для вторых — "ингибитором". Реакция насекомых на отдельные компоненты феромонных сигналов обычно, по-видимому, аналогична. То, что у одного вида данное вещество выступает в роли главного компонента феромона или синергиста, а у другого — является ингибитором, не обозначает, как правило, особых взаимоотношений его в этих случаях с другими веществами или с рецепторными клетками. Различие в том, что за одинаковым материально сигналом (или их комбинацией) в ЦНС закреплены разные значения и соответственно в ответ на него следуют разные ответы.

Представление о воспринимаемом феромонном сигнале создается в ЦНС на основе интегрирования информации от всех рецепторов, отвечающих на компоненты феромона. Если оно совпадает с некоторым стандартным образом, хранимым в ЦНС, то следует соответствующий поведенческий ответ.

Восприятие феромонов насекомыми весьма динамичный процесс. Его динамичность обусловлена рядом факторов: сложным составом феромонов, движением насекомых к источнику феромона и т.п. Очевидно, что при неодинаковом соотношении компонентов феромона восприятие каждого из них становится возможным на разном расстоянии от источника феромона. По ветру от источника создается многослойная пахучая струя [186]. Если для "включения" поведенческой реакции необходимо сразу несколько компонентов, то расстояние феромонной связи лимитирует меньший по количеству компонент. Если насекомое способно привлекаться одним преобладающим по количеству компонентом, то по мере приближения к источнику воспринимаемый запаховый образ будет все время меняться, дополняться на фоне возрастающей концентрации основного компонента новыми штрихами — запахами меньших компонентов. В таком случае ЦНС должна содержать целую "библиотеку" стандартов для оценки поступающей информации, и "отключение" реакции может произойти на любом этапе, когда информация от рецепторов перестанет соответствовать требованиям внутренних стандартов. Полагают [186], что появление в воздухе в пахучей струе дополнительного запаха может "запускать" новую форму поведения, но значение минорных компонентов может быть и опознавательным. В естественных условиях сила обонятельных стимулов невелика и переменна, но при следовании насекомого по пахучей струе к источнику феромона органы обоняния в той или иной мере адаптируются к запахам, а в ЦНС происходит привыкание к ним. Эти процессы также участвуют в формировании образа феромонного сигнала в ЦНС.

Многокомпонентность феромонов и множественность рецепторов позволяют насекомым иметь множество специфических феромонов при сравнительно небольшом числе используемых веществ [117]; такие феромоны, очевидно, более гибки в эволюционном плане. Возможный недостаток — уменьшение расстояния, на котором они действуют, так как насекомым приходится продуцировать и воспринимать несколько веществ, а размеры желез и антенн ограничены [117].

Возможность ингибирования или синергизма на уровне рецептора. На основании приведенных выше данных можно заключить, что те ингибиторы и синергисты, которые "созданы" самой природой и используются насекомыми в феромонной связи, по-видимому, все действуют на отдельные специфические рецепторы. Но в принципе ингибирование и синергизм могут иметь место и на уровне одного рецептора.

ЭАГ положительной полярности (гиперполяризация) и подавление импульсной активности разных обонятельных рецепторов отмечены при действии на рецепторы ряда раздражителей [187]. У самцов тутового шелкопряда *Bombyx mori* рецепторные клетки базиконической сенсиллы сильно активируются летучими веществами шелковицы. Ответ указанных рецепторов подавляется (происходят гиперполяризация рецепторного потенциала и блокировка нервных импульсов) под действием бомбикола [147]. Эти факты доказывают реальность ингибирования на уровне рецепторов, хотя не на примере рецепторов феромонов. Имеются сообщения, что у листовёртки *Choristoneura fumiferana* [131] и совки *Spodoptera litura* [145] импульсная активность рецепторных клеток в трихоидных сенсиллах в ответ на компоненты феромона подавляется при действии соответственно ингибитора и второго компонента феромона. Высказано предпо-

ложение, что эти вещества действуют на один рецептор. Но указанные данные требуют проверки [117]. В частности, у совки *S. litura* найдены отдельные рецепторы для обоих веществ, использовавшихся в указанном выше эксперименте [146]. Экспериментальных данных, показывающих наличие синергизма на уровне рецепторов, нет.

При ингибировании на уровне рецепторов, как полагают [117], потребовалась бы очень высокая концентрация ингибитора. По крайней мере необходима одна молекула на рецептор, если она может заблокировать работу рецептора, или если молекула блокирует только акцептор, то во много раз больше. Чтобы заблокировать у тутового шелкопряда *Bombux mori* только 10% рецепторных молекул, потребовалась бы концентрация ингибитора 10^8 молекул/см³, что в 10^5 раз больше, чем для возбуждения вибрации крыльев бомбиколом.

При многокомпонентных феромонах с точной настройкой рецепторной системы на определенное соотношение компонентов эффект ингибирования, можно предположить, мог бы быть достигнут при меньшем количестве ингибитора, чем указано выше. В этом случае достаточно заблокировать часть рецепторов, чтобы сигнал, поступающий в ЦНС, стал "неузнаваемым". Если такой вариант взаимодействия пахучих веществ и не используется в природе из-за "неэкономичности", он, вероятно, может быть иногда применен человеком в борьбе с вредителями.

Спектры ответов рецепторов. Кроме наиболее активного, вызывающего максимальный ответ соединения (ключевого), каждый рецептор отвечает на целый ряд других, родственных этому соединению. У некоторых видов чешуекрылых сняты путем отведения от трихонидных сенсилл ответы наборов рецепторов на ряды химических веществ [146, 147]. Однако подобных работ мало. Гораздо больше данных такого рода получено с помощью метода ЭАГ. Разнообразие веществ, способных возбуждать рецептор, отражается в "профилях амплитуд ЭАГ" или в "спектрах ответов" (о возможных искажениях при этом см. далее).

Профили амплитуд ЭАГ (рис. 6) представляют относительные величины амплитуд ЭАГ на стандартное количество систематически изменяемых соединений [7], "спектры ответов" (табл. 2) — количества таких соединений, требующиеся для получения стандартного ЭАГ-ответа [151]. Полученные одним и другим методом данные рассматриваются как оценка связи структуры соединения с его активностью по отношению к рецепторам антенн (связи структура — ответ). В связи с предполагаемой настройкой антеннальных рецепторов на феромоны получаемая оценка, как полагают, отражает и близость структуры испытываемых соединений к феромонам. При достаточно большом и полном наборе соединений нередко удается найти среди них ключевые соединения.

Выявлены некоторые связи структура—активность у эфиров алкенолов [146, 147, 151] для ряда семейств чешуекрылых, в первую очередь совков и листоверток. Спектры ЭАГ-ответов двух видов бабочек на набор ацетатов алкенолов общей формулы $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-\text{CO}-\text{CH}_3$ представлены в табл. 2. Внутри каждого спектра ответы постепенно уменьшаются при изменении длины цепи и сдвиге двойной связи от оптимума. Подобные результаты получены для многих насекомых также в ЭАГ-тестах при работах по идентификации их феромонов [7]. У совков удлинение или укорачивание цепи на группу CH_2 смещает оптимальное положение Z-двойной связи на два атома углерода (например, с Z7DDA к Z9TDA и далее к Z11HDA), при этом число групп CH_2 в алкильном конце молекулы остается все время таким же, как и в ключевой молекуле [151]. Наоборот, у листоверток, как показывают все проведен-

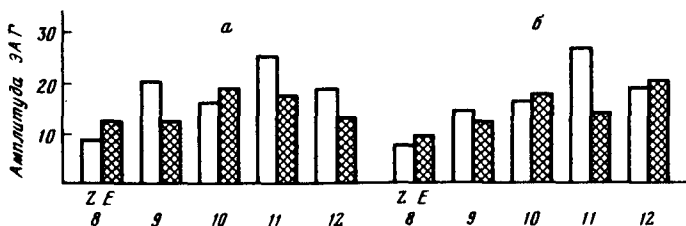


Рис. 6. ЭАГ-профили самцов листовертки *Argyrotaenia citrana* на серии однопредельных 14-углеродных ацетатов (а) и альдегидов (б)
Амплитуда ЭАГ нормализованная [7]

ные опыты, одно и то же положение двойной связи остается оптимальным при всех изменениях длины цепи [146]. Правило, установленное для совок, применимо и для ряда других семейств чешуекрылых (*Notodontidae*, *Cyatophoridae*, *Drepanidae*, *Cochliidiidae*, *Zygaenidae*, *Cossidae*, *Aegeridae*, *Yponomeutidae*, *Gelechiidae*, *Pyralidae*, (*Geometridae*, *Saturniidae* и *Lasiocampidae*) [151]. Между совками и листовертками существует еще одно различие: их рецепторы неодинаково стереоселективны. У совок E-изомеры феромонов электрофизиологически менее эффективны раз в 10, в то время как у листоверток различие в эффективности 100- и даже 1000-кратное, как, например, в рецепторах *Grapholitha molesta* и *G. funebrana* для Z8DDA (данные получены при отведении от отдельных рецепторов) [146].

Если рецептор "рассчитан" на восприятие диенового соединения, структура последнего отражается в ЭАГ-профилях на моноены [7]. Максимальные ответы дают моноены с двойной связью в положениях, соответствующих таковым в диене. Двойную связь в 11-м положении не удалось выявить в таком тесте на хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* (компоненты феромона Z7Z11- и Z7E11HDA), в то время как связь в 7-м положении выявлялась отчетливо. Феромон сатурнии *Antheraea polyphemus* E6Z11HDA, и в ЭАГ-профилях у этого вида обнаруживались обе связи. Предполагают, что причиной неудачи с хлопковой молью является Z-связь в середине молекулы, которая сильно влияет на конфигурацию молекулы [7].

Замена ацетатной группы на валериатную или формиатную равноценна по влиянию на активность удлинению или укорочению спиртовой части ацетата на один атом углерода [151]. Однако замена ацетатной группы на спиртовую или альдегидную может вызвать значительно большее падение активности вещества, вплоть до 10^4 раз [146]. Несмотря на сильное падение активности при замене концевой группы, предпочтительным остается, по-видимому, то же положение двойной связи, что и в ключевом соединении [146, 151].

Эффективность алкилразветвленных производных обычно в 300–1000 раз хуже таковой веществ с неразветвленной цепью той же длины и с тем же положением двойной связи [188]. Действие разветвления зависит от типа рецептора, длины исходной цепи и положения двойной связи в ней, вида и положения алкильного заместителя. Наибольшая активность производных отмечена по отношению к рецепторам для феромонов с $n = 1$, Z9DDA и Z11TDA, когда α -метильную группу вводили в удлиненные производные. Некоторые из таких аналогов феромонов могут, по-видимому, не уступать в активности естественным феромонам или даже превосходить их. Рацемический (R, S)-11-метил-(Z)-9-гексадецилацетат, высоко-

Таблица 2

ЗАГ-спектр ответов самцов совки *Amathes c-nigrum* и листовертки *Spilonota larisapa* на Z- и E-алкенилацетаты с разной длиной цепи (12–16 атомов углерода) и с разным положением двойной связи (от C₅ до C₁₂) * [147]

Алкенилацетат	A. c-nigrum				
	DDA	TrDA	TDA	PDA	HDA
Z5	0,03	0,03	0,01	0,03	0,3
Z6	0,1	0,03	0,01		0,3
Z7	0,03	0,01	0,001	0,01	0,1
Z8	0,1	0,03	0,1	0,01	0,8
Z9	0,1	0,03	0,01	0,03	0,03
Z10	0,3	0,1	0,1	0,1	0,3
Z11			0,1	0,1	0,1
Z12			0,3		0,3
—					
E5	0,1		0,03	0,3	1
E6	0,3	0,1	0,03		
E7	0,1	0,03	0,003	0,03	0,3
E8	0,3		0,03		0,3
E9	0,3	0,1	0,03	0,1	0,1
E10	0,3	0,1	0,1	1	1
E11		0,3	0,3	0,3	0,3
E12			0,3	1	1
—					

* Цифры обозначают количества веществ (в мкг), вызывающие одинаковый ответ.

активный по отношению к рецептору феромона *Euroscilia ambiguella* (Z9DDA) [188], привлекал в ловушки столько же самцов этого вида, сколько и феромон [146]. Разветвленные производные также воспринимаются рецепторами совок и листоверток неодинаково.

Существенные различия в восприятии одних и тех же веществ характерны не только для представителей разных семейств. Даже виды одного рода, имеющие общее ключевое соединение, могут по-разному отвечать на другие соединения.

Для описания зависимости структура—активность предложена и испытана упрощенная физико-математическая модель взаимодействия пахучих молекул с акцепторами, основанная на связи в трех—пяти точках. Специальные места акцептора по этой модели соответствуют, в частности, конечной функциональной группе, —C=C— связи и конечной CH₃-группе. Модель оправдала себя, с ее помощью удавалось предсказать активность соединений в электрофизиологических тестах [151, 189].

Отражение ответов рецепторов в ЗАГ. В трихонидных сенсиллах луговой совки *Pseudaletia unipuncta* имеются четыре рецептора, все они ЗАГ-активны, но ЗАГ на Z11HDA (ключевое вещество рецептора главного компонента феромона) наибольшая, а на ключевые вещества других рецепторов она существенно меньше (табл. 1). Как указывалось выше, у ряда совок из *Nadeniinae* в трихонидных сенсиллах есть по четыре рецептора на разные вещества [146], но в ЗАГ-ответах они отражаются неодинаково. У *Mamestra brassicae* и *M. oleracea* сильные ответы вызывают по два вещества: Z11HDA и Z9TDA у первого вида и Z11HDA и Z11HDOL

S. laricana					
DDA	TrDA	TDA	PDA	HDA	
1	0,3	0,3	1	1	
1	0,3	0,3	1		
0,3	0,1	0,03	0,3	1	
0,03	0,003	0,001	0,01	0,03	
0,3	0,1	0,03	0,03	0,1	
1	0,1	0,1	0,1		
	0,3	0,1	0,3	0,3	
		0,1	1	0,3	
1		1		3	
	1				
1		0,1	1	1	
1	0,3	0,1	0,3	1	
1	1	0,3	1	1	
1	1	0,3			
		0,3	0,3	1	
		0,3	1	1	

у второго [190]. У сосновой совки *Panolis flammea* в трихонидных сенсиллах два типа рецепторов — на Z9TDA (рецептор A) и Z11TDA (рецептор B). Эти оба вещества необходимы для привлекательности в природе (оптимальная смесь Z9 : Z11 = 100 : 5). Однако в ЭАГ-реакциях рецептор B совершенно не отражается [165]. Следует согласиться с утверждением, что ответы не всех рецепторов разной химической специфичности способны отражаться в ЭАГ [191]. Наиболее плохо отражаются или совсем не отражаются в ЭАГ ответы рецепторов минорных компонентов феромонов. В связи с этим, а также потому, что количества этих компонентов очень малы, высказываются сомнения в пригодности метода ЭАГ для изучения минорных компонентов (как для обнаружения при выделении, так и для регистрации ЭАГ-профилей) [173, 177].

Существует мнение, что основной компонент феромона всегда вызывает наибольшую ЭАГ [7]. Это, по-видимому, почти всегда так. Однако у *Chrysoteuchia topiaria* ЭАГ-ответ на Z9TDA, который не оказывал в полевых условиях влияния на улов, был на 30% больше, чем на Z11HDAL — основной компонент феромона [192]. Что определяет амплитуду ЭАГ на ключевые вещества разных рецепторов, — неизвестно. Можно указать на два фактора, которые могут влиять на амплитуду — число рецепторных клеток и чувствительность к воспринимаемому веществу. Но наборы рецепторов в трихонидных сенсиллах по имеющимся данным стереотипны [147], и можно предполагать примерно равную численность разных рецепторов (хотя степень изученности этого вопроса недостаточна). У сосновой совки *Panolis flammea* при записях от 36 сенсилл в 29 случаях получены

ответы от двух рецепторов, а в семи — только от рецептора А [165]. Хотя, по-видимому, рецепторов типа В несколько меньше, но маловероятно, чтобы это могло быть причиной отсутствия ЭАГ-ответа от них. Чувствительность рецепторов феромонов, как отмечалось выше, очень высока. Но сравнительных данных о чувствительности рецепторов отдельных компонентов нет. По ЭАГ-измерениям все рецепторы отвечают по крайней мере на 1 нг ключевого вещества на источнике [151]. Нет данных о том, как чувствительность рецепторов отражается на ЭАГ. Рецептор А луговой совки *Pseudaletia unipuncta*, дающий ЭАГ наибольшей амплитуды, в то же время имеет и наибольшую частоту разрядов из всех рецепторов на стимул одинаковой интенсивности (табл. 1). Однако является ли это правилом, неизвестно.

Поскольку ЭАГ — суммарный ответ рецепторов, при наличии нескольких ЭАГ-активных рецепторов различной специфичности вероятны различные их проекции на ЭАГ. Возможны, по-видимому, "чистые" [146] ЭАГ-спектры, отражающие ответы практически только одного рецептора на весь набор испытываемых соединений, как, например, у совки *Papalis flammea* [165] или у шелкопрядов *Porthetria dispar* и *P. monacha* [178]. Если ЭАГ дают рецепторы, настроенные на два сильно различающихся вещества, например на ацетаты и спирты, ацетаты и альдегиды, то регистрируются "бинарные" [146] ЭАГ-спектры, состоящие из двух неперекрывающихся спектров одного и другого рецепторов. Такие спектры наблюдаются, в частности, у листовёртки *Sparganthis pilleriana*, имеющей рецепторы на E9DDA и E9DDOL [193]. С помощью селективной адаптации можно устранить один из этих спектров, оставив другой неизменным [147]. Однако при наличии на антеннах нескольких ЭАГ-активных рецепторов с близкими ключевыми соединениями, например геометрическими и позиционными изомерами ацетатов, ЭАГ-ответы рецепторов могут в разной степени перекрываться (при действии одного вещества возбуждается несколько разных рецепторов). Так, у луговой совки *Pseudaletia unipuncta* в определенной степени перекрываются ответы трех ацетатных рецепторов — А, В и С (табл. 1). Можно предполагать, что ЭАГ-ответ этой совки на Z11TDA (65% ответа на главный компонент феромона Z11HDA) скорее всего представляет суммарный отклик трех рецепторов — А, В и С и это вещество не является для луговой совки специфическим раздражителем с сигнальным значением. Ответы нескольких рецепторов на одно вещество могут затруднять использование метода ЭАГ [146, 191, 194].

ЭАГ-ответы на смеси веществ. Если каждый компонент смеси действует на отдельный ЭАГ-активный рецептор, то должно происходить сложение амплитуд ЭАГ. Это следует из представления о природе ЭАГ [130]. При смешивании в разных соотношениях двух компонентов феромона листовёрток *Adoxophyes orana* (Z9- и Z11TDA) и *Clepsis spectrana* (E9- и E11TDA) ответная ЭАГ была примерно равна сумме ответов на отдельно взятые вещества [130]. Такое же суммирование ответов на смесь нескольких веществ разной химической природы, в частности ванилина и гексанола, которые, как полагают, также действуют на разные рецепторы, получено в опытах на клопе-черепашке *Eurygaster integriceps* [136].

Однако подобное явное сложение амплитуд наблюдается не всегда. Например, транс-изомеры компонентов феромона *Adoxophyes orana*, которые подавляют привлечение в поле (амплитуда ЭАГ на каждый из них равна примерно 40% от амплитуды на равное количество наиболее активного компонента феромона), при совместном действии с феромоном (8 мкг феромона и 2 мкг ингибиторов) не увеличивали существенно ЭАГ-ответ [130]. Примесь 10—40% одного вещества к другому часто может

не вызывать существенных отличий в ЭАГ, но быть в то же время достаточной для репродуктивной изоляции видов в природе [7]. Отсутствие существенных различий в ЭАГ-ответе на смеси при очевидном отличии на поведенческом уровне может быть следствием ряда причин, в том числе неодинакового отражения работы разных рецепторов в ЭАГ, а также логарифмической зависимости ЭАГ от дозы раздражителя.

В противоположность рассмотренному суммированию ЭАГ-ответов на вещества, возбуждающие разные рецепторы, при действии нескольких веществ на один и тот же рецептор принципиально возможно как уменьшение, так и увеличение амплитуды ЭАГ. Однако, как указывалось выше, ингибиторы и синергисты такого рода для рецепторов феромонов пока не найдены.

Как при действии компонентов смеси на отдельные рецепторы, так и в случае, если бы они действовали на один рецептор, очевидна неспецифичность получаемой ЭАГ. ЭАГ одинаковой амплитуды и формы может возникнуть при действии ряда разных веществ и их смесей. Поэтому следует согласиться с утверждением, что метод ЭАГ в общем не пригоден для анализа смесей веществ [7]. По ЭАГ можно лишь сделать заключение, что в смеси имеется (или отсутствует) ЭАГ-активное вещество (или вещества).

Перекрестное испытание феромонов разных видов. В шестидесятые годы Э. Признер [195] испытал методом ЭАГ перекрестное действие феромонов у 104 видов Saturniidae (1900 комбинаций видов), а также в других группах чешуекрылых. Источниками феромонов служили изолированные железы самок. Все виды сатурний удалось распределить по 19 группам, внутри которых разные межвидовые ответы не отличались от внутривидовых. Определенное взаимодействие было обнаружено также между этими группами и даже между представителями разных семейств, на которых были проведены подобные исследования [147, 195] (рис. 7). В силу преобладавшего тогда представления об однокомпонентности феромонов из этих данных был сделан вывод, что половые привлекающие вещества не являются изолирующим фактором между близкородственными видами. Хотя использование ЭАГ-техники для межвидовых сравнений дает, безусловно, ценные сведения о родстве феромонных сигналов и рецепторов внутри тех или иных таксономических групп, такой вывод, как отмечено [7], неправилен. Феромоны многокомпонентны, компоненты воспринимаются специфическими для каждого из них рецепторами, наборы рецепторов не обязательно соответствуют наборам веществ, продуцируемых железами, ответы рецепторов неодинаково отражаются в ЭАГ, состав смесей не поддается анализу с помощью ЭАГ. Эти и другие имеющиеся сейчас факты заставляют по-иному подходить к оценке результатов межвидовых тестов. Например, *Antheraea pernyi* и *Telea polyphemus* в перекрестном тесте отвечают одинаково как на собственные, так и на чужие железы (рис. 7). Однако это происходит не потому, что их феромоны одинаковы. В качестве основных компонентов феромонов они продуцируют разные вещества — E6Z11HDDA и E6Z11HDDAL соответственно [166], но оба вида имеют отражающиеся в ЭАГ рецепторы для обоих компонентов [117]. Для интерпретации перекрестных ЭАГ-тестов необходимы дополнительные данные, получаемые при отведении от отдельных рецепторов, при снятии профилей амплитуд ЭАГ и т.д.

Электрофизиологические и поведенческие ответы на структурные аналоги феромонов. Очевидно, что поведенческий ответ возможен только в том случае, если химическое вещество способно возбуждать рецепторы. Как было показано выше, несмотря на специфичность, рецепторы феромонов способны отвечать на целый ряд веществ. У некоторых насекомых

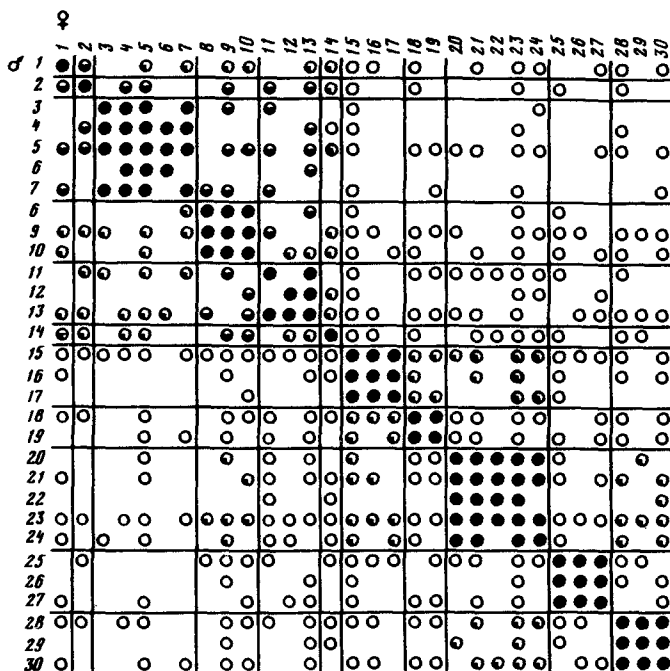


Рис. 7. Межвидовые ЗАГ-ответы на феромонные железы самок 30 видов бабочек

1 — Bombycidae, *Bombyx mori*; 2 — Endromiidae, *Endromis versicolor*; 3–7 — Sphingidae: 3 — *Amorpha populi*, 4 — *Mimas tiliae*, 5 — *Celerio euphorbix*; 6 — *C. vespertilio*, 7 — *Pergesa elpenor*; 8–30 — Saturniidae (8–10 — Citheroniinae, 11–13 — Hemileucinae, 14 — Agliinae, 15–30 — Saturniinae): 8 — *Sysphinx molina*, 9 — *Citheronia brissottii*, 10 — *Eacles magnifica*, 11 — *Automeris memusa*, 12 — *Hyperhiria io*, 13 — *H. incisa*, 14 — *Aglia tau*, 15 — *Philosamia cynthia*, 16 — *Callosamia promethea*, 17 — *Eupackardia callata*, 18 — *Platysamia cecropia*, 19 — *P. gloveri*, 20 — *Saturnia pyri*, 21 — *Eudia pavonia*, 22 — *E. spini*, 23 — *Antheraea pernyi*, 24 — *Telea polyphemus*, 25 — *Nudaurelia dione*, 26 — *N. krucki*, 27 — *N. cytherea*, 28 — *Actias selene*, 29 — *A. artemis*, 30 — *Tropaea luna*

Сплошь заполненные кружки обозначают одинаковые внутри- и межвидовые ответы, пустые кружки — отсутствие ответов, другие символы — частичные ответы. ЗАГ-группы полностью взаимно отвечающих видов отделены линиями [147]

отмечена корреляция электрофизиологической активности с поведенческими ответами при действии аналогов феромонов. В частности, это продемонстрировано в опытах с аналогами Z7DDA — основного компонента полового феромона совки *Trichoplusia ni* [196], а также с аналогами диспарлюра — феромона непарного шелкопряда *Portheria dispar* [178, 197]. Вещества, которые вызывали большие ЗАГ-ответы или ответы отдельных рецепторов, были более активны в лабораторных поведенческих биотестах или привлекательны в природе. Такая простая корреляция, по-видимому, возможна тогда, когда феромон однокомпонентен (или главный компонент достаточно активен сам) и в восприятии феромона участвует один акцептор и один тип клетки. Насекомое, очевидно, воспринимает аналоги как разные концентрации феромона [198]. Однако это наблюдается не всегда. У яблонной плодовой гортки найден рецептор [146], действие на который феромона E8E10DDDOL вызывает поведенческий ответ. Моноеновый аналог этого феромона E10DDOL в соответствующих

концентрациях вызывает электрофизиологические ответы рецептора, не отличающиеся от таковых на феромон, однако в туннельном ольфактометре это вещество было неаттрактивным, а в высоких дозах обладало небольшим ингибирующим действием [146]. Предполагают, что оценивая ответы от тысяч рецепторных клеток, ЦНС насекомого обнаруживает небольшую разницу в качестве сигнала, не заметную при записях от рецепторов [146]. Но, по-видимому, не менее вероятно, что среди массы рецепторов, настроенных на феромон, есть небольшое число их, отвечающих на определенные родственные феромону вещества. Сигналы от этих рецепторов позволяют проводить указанную выше дифференциацию.

В многорецепторных системах имитация действия феромонов их аналогами более сложна. Если компоненты феромона имеют близкую структуру, то иногда они могут быть заменены одним имитатором. Феромон хлопковой моли госсиплюр (смесь Z7Z11- и Z7E11HDDA) имитируется гексальюром (Z7HDA), но гексальор в 100 раз менее активен [199].

Когда структуры компонентов не столь близки, одно вещество обычно не может стимулировать нормальный поведенческий ответ. Однако в этом случае отдельные компоненты в феромонах могут быть иногда заменены их имитаторами. Выше был приведен пример с листоверткой *Euroscilia ambiguella*, у которой разветвленный аналог феромона активизирует рецептор главного компонента феромона и обеспечивает полный поведенческий ответ [146]. Формиаты являются эффективными имитаторами некоторых альдегидных компонентов феромонов у ряда чешуекрылых. У совка рода *Heliothis*, включая *H. virescens*, *H. zea* и *H. armigera*, Z9TDF полностью заменяет Z11HDAL в ЭАГ-тестах [146, 151, 200]. Продемонстрирована возможность замены им Z11HDAL в феромоне *H. virescens* без потери аттрактивности феромона [201]. Было обнаружено, что совку *Euxoa ochrogaster* привлекает смесь Z5DDA и Z8DDA (1:2 — 1:5), при этом ряд веществ действует в качестве синергистов [202]. Но рецептор для последнего ацетата на антеннах самцов не был найден, и последующая идентификация показала присутствие в феромоне Z7DDA и отсутствие Z8DDA, который, очевидно, имитировал действие настоящего компонента феромона [152, 147]. Смесь Z- и E11TrDA (85:15) привлекает самцов листовертки *Argyrotaenia velutinana* не хуже естественного феромона (Z- и E11TDA и TDA, 92:8:150) [203]. Этот случай особо интересен, так как три компонента заменяются двумя, причем при добавлении к имитирующей смеси TDA он подавляет привлечение.

Изменчивость ЭАГ, обусловленная внутренним состоянием насекомого. ЭАГ зависит от возраста насекомого. Способность антенн давать ЭАГ в ответ на механическое и химическое раздражение возникает иногда еще за несколько дней до выхода имаго из куколки, как это показано у бражника *Manduca sexta* [204]. Первыми у этого вида появлялись ответы на механические раздражители, затем на E2HAL и, наконец, на экстракт феромона. При этом не было отмечено соответствующей разницы в морфологическом развитии разных сенсилл, все они развивались синхронно. У совки *Trichoplusia ni* антенны также отвечали на феромон еще до выхода самцов из куколок. У имаго этого вида вплоть до 3,5 суток после выхода из куколки ЭАГ-ответы оставались неизменными [139]. У яблонной плодоярки *Laspeyresia pomonella* максимум амплитуды ЭАГ на феромон достигается по истечении одних суток после выхода самца из куколки, затем ответы сохраняются на постоянном уровне по крайней мере до восьми суток [205]. Подобное изменение амплитуды ЭАГ с возрастом отмечено также у кородеды *Ips tyrographus* и у пчелы *Apis mellifica*. При этом ход нарастания чувствительности к разным веществам может быть

неодинаковым [206]. Снижение ЭАГ-ответов с возрастом наблюдали у листовертки *Argyrotaenia velutinana* [181]. У самцов и самок совки *Pseudaletia unipuncta* ЭАГ-ответы на компоненты феромона самцов достигают максимума на третий день, а затем уменьшаются [207].

Не все антенны реагируют на химические вещества. При этом антенны разных особей могут отвечать или не отвечать на один и тот же раздражитель. Это отмечено у пчел, короедов и тараканов [135, 206, 208]. Амплитуда ЭАГ у разных особей имеет большой индивидуальный разброс (например, [206]). Причины и механизмы всех этих явлений почти не изучены. Предполагают, что изменение ЭАГ с возрастом связаны с первоначальным увеличением, а затем с уменьшением числа реагирующих акцепторов на рецепторных мембранах [207]. Допускается возможность гормонального [124, 206] или нервного [206] управления функционированием рецепторов, в частности их чувствительностью. Отмечено изменение амплитуды ЭАГ у самок и самцов листовертки *Choristoneura fumiferana* при действии аналога ювенильного гормона альтозида [209].

Влияние факторов среды на ЭАГ. На ЭАГ влияет температура. Бабочки плодовой гнили *Laspeyresia pomonella* реагируют на феромон электрофизиологически между 5–32°С, оптимальные температуры 15–26°С [210]. У мухи *Lucilia sericata* амплитуда ЭАГ с понижением температуры до 6°С растет [138]. Освещенность не влияет на амплитуду ЭАГ [139]. Имеются данные о существовании суточного ритма изменения чувствительности у яблонной плодовой гнили [210], а также огневки *Diatraea grandiosella* [211], причем по этим данным ответы в разные часы отличаются весьма существенно. Однако у совки *Trichoplusia ni* влияния времени суток на амплитуду ЭАГ не зарегистрировано [139]. Учитывая массовое использование метода ЭАГ и отсутствие других сообщений о роли суточного ритма, можно предположить, что это явление по крайней мере мало существенно с точки зрения ЭАГ-тестов.

Техника метода ЭАГ

Описано много вариантов техники метода ЭАГ. Все они отличаются только незначительными деталями в методах отведения электрического сигнала от антенны, в системах подачи раздражителя и способах регистрации сигнала.

Отведение сигнала от антенны. ЭАГ регистрируется как от антенны живого насекомого [139, 195, 212, 213], так и от отрезанной антенны [7, 214]. В целом оба способа являются эффективными. Использование живых насекомых позволяет отводить ЭАГ в течение многих часов и даже суток [195], а ампутированных антенн — несколько часов.

Иногда высказывается мнение [215, 216], будто ЭАГ во многих случаях является артефактом и может быть получена на прокипяченных антеннах, от куска ваты, смоченного физиологическим раствором, и т.д. В принципе сигнал, подобный ЭАГ, действительно может быть получен даже от куска ваты, но исследователи, которые широко используют метод ЭАГ, не отмечают каких-либо затруднений из-за артефактов (например, [7]).

Отведение от живого насекомого более сложно технически. Приходится закреплять само насекомое, а также антенну. У насекомых часто отрезают крылья и закрепляют туловище с помощью клейкой ленты. Чтобы насекомые оставались живыми длительное время, брюшко не закрепляют, и насекомые могут совершать дыхательные движения [195]. Иногда для иммобилизации насекомое помещают в трубку, так чтобы голова была ровень с ее краем [139, 217]. Антенну у крупных насекомых прикалывают

к пробке с помощью проволочных крючков [133, 195]. Иногда антенна удерживается в нужном положении просто с помощью электрода, вставленного в отрезанный конец антенны [139], укрепляется на клейкой ленте [217] или другими способами.

Для использования ампутированной антенны ее отрезают вблизи головы или вместе с головой. Последний вариант применяют при работе с мелкими насекомыми, при этом ненужную антенну отрезают [7]. Проксимальным концом антенну прикрепляют вертикально к куску влажного воска на часовом стекле и наливают в него раствор соли, чтобы он контактировал с концом антенны. К другому концу антенны подводят пипетку, заполненную тем же раствором, обеспечивая контакт жидкости с гемолимфой [7]. Иногда концы антенны помещают в две пипетки или трубки или, наоборот, микрокапилляры вводят в концы антенны, антенна удерживается между ними в подвешенном состоянии [206]. Можно также помещать антенну между двумя углублениями в парафине или другом несмазываемом водой изоляционным материале, заполненными раствором соли (концы антенн контактируют с раствором соли в одном и другом углублениях) [214].

У антенны обычно отрезают несколько члеников на ее дистальном конце, чтобы обеспечить лучший контакт электрода с гемолимфой. Это делается с многочлениковыми антеннами, например, чешуекрылых. На таких антеннах хеморецепторные сенсиллы распределены на многих члениках флагеллула, и потеря нескольких члеников мало сказывается на ЭАГ. Однако в целом распределение разных сенсилл на антенне может быть неравномерным. У таракана *Periplaneta americana* рецепторы феромона наиболее многочисленны в средней части антенны [218]. Неодинаково может быть число тех или иных сенсилл и с разных сторон одного членика, и для большей воспроизводимости результатов в некоторых случаях желательно помещать антенну к источнику раздражителя всегда определенной стороной [195]. Кончики антенн не обрезают, если антенны небольшого размера или имеют такую форму, что отрезание кончика может существенно повредить сенсорный аппарат (например, у короедов).

Электрический сигнал отводится через раствор соли, как указано выше. Обычно используют физиологический раствор для насекомых, например такого состава: $\text{NaCl} - 7,5 \text{ г/л}$; $\text{CaCl}_2 - 0,21 \text{ г/л}$; $\text{KCl} - 0,35 \text{ г/л}$ и $\text{NaHCO}_3 - 0,2 \text{ г/л}$ [7], но состав не очень критичен.

Если работают с живыми насекомыми, то один электрод в виде пипетки может быть присоединен к отрезанному концу антенны. Другой электрод обычно вводят через межсегментную мембрану между скапусом и педицеллусом или другими члениками вблизи основания антенны. При введении этого электрода в голову иногда могут регистрироваться потенциалы мышц, очевидно педицеллуса [5, 219]. Для отведения ЭАГ, особенно от мелких насекомых, иногда используют в качестве обоих электродов микрокапилляры (стеклянные микроэлектроды). У крупных бабочек сатурний ЭАГ регистрировали, подводя капиллярные электроды к боковым ветвям антенн у вершины ее и основания [195]. У короедов оказалось удобным подсоединять антенну к аппаратуре через агаровый мостик [220].

Сообщается, что ЭАГ можно регистрировать с помощью металлических (например, вольфрамовых) микроэлектродов [139] или отводить сигнал от жидкости, непосредственно контактирующей с антенной, через серебряную, платиновую или другую проволоку [132, 133, 137]. Однако во избежание поляризации, из-за которой постоянно смещается нулевая линия, усилительная аппаратура обычно соединяется с раствором и антен-

ной через хлорированную серебряную проволоку (Ag-AgCl-переход). Хлорирование производится пропусканием слабого тока через серебряную проволоку, погруженную в раствор NaCl, или погружением ее в расплав AgCl [7].

При использовании отрезанных антенн подготовка препарата к работе занимает минуты. Подготовка к регистрации ЭАГ у живых насекомых требует больше времени, так как приходится закреплять насекомых и их антенны, а также вводить электроды с помощью микроманипулятора под контролем бинокулярного микроскопа. Поэтому при рутинном использовании метода удобнее работать с отрезанными антеннами, если позволяет объект.

Регистрация ЭАГ. Препарат антенны, когда отведение производится без помощи микроэлектродов, имеет сравнительно небольшое сопротивление, скорость нарастания ЭАГ относительно невелика, амплитуда имеет значительную величину. Поэтому ЭАГ может регистрироваться сравнительно простой аппаратурой. В качестве предварительного усилителя может быть использован простой самодельный усилитель постоянного тока с входным сопротивлением в несколько десятков мОм и выше (например, [221]). Еще лучшие результаты могут быть получены при использовании в таком усилителе микросхемы — операционного усилителя с полевыми транзисторами на входе. Во входной цепи должен быть калибратор, его удобно включать в цепь индифферентного электрода последовательно — в этом случае он одновременно используется для контроля подключения антенны. Сигнал с предварительного усилителя может поступать на осциллограф и воспроизводиться на экране электроннолучевой трубки. Если усиление прокалибровано, амплитуду легко отсчитать непосредственно с экрана. Наиболее удобны осциллографы с запоминанием, но можно использовать и обычные осциллографы с трубкой с длительным послесвечением [7, 214]. Если необходимо, сигнал можно фотографировать с экрана или записать с помощью самопишущего прибора (например, светового осциллографа).

Поскольку для большинства биотестов важна только амплитуда ЭАГ, предложено простое устройство, позволяющее измерять амплитуду с помощью цифрового вольтметра. Оно объединяет предварительный усилитель и пиковый детектор [222].

Для устранения наводок из цепи переменного тока регистрацию ЭАГ выполняют в экранированной камере, но чаще экранируют только сам препарат антенны и входные цепи предварительного усилителя. Хорошую экранировку стеклянных пипеток-электродов обеспечивает обертывание их фольгой, присоединяемой к корпусу усилителя, в этом случае может не потребоваться никакая дополнительная экранировка [7].

Подача раздражителя. Для целей ЭАГ-тестирования на антенну должны поступать в течение определенного времени пары феромона заданной концентрации, при этом начало и конец подачи их должны быть четко фиксированы. Такая подача может быть осуществлена только с потоком какого-либо не вызывающего существенной ЭАГ-реакции газа. В качестве последнего обычно используют воздух, предварительно очищая его от загрязнений. Воздух вызывает ЭАГ небольшой амплитуды в момент попадания его струи на антенну или при изменении скорости струи. Эта ЭАГ, как полагают, обусловлена стимуляцией механорецепторов [204].

Иногда стимуляция антенны производится продуванием воздуха в течение определенного времени (около секунды) через трубку, где находится источник феромона [195]. В этом случае в ЭАГ имеется максимально возможная составляющая от действия толчка самого воздуха.

Наиболее распространен способ, при котором из трубки на антенну постоянно подается поток воздуха. Феромон вводится в этот поток в виде паров через боковое отверстие в подающей воздух трубке. Подача обычно осуществляется кратковременным толчком воздуха с помощью шприца через трубку с испарителем феромона [7, 214]. В этом случае действие самого толчка воздуха выражено несколько меньше. Наиболее совершенные системы подачи предусматривают плавную, но достаточно быструю замену чистого воздуха воздухом, несущим феромон, и наоборот [41, 139]. В этом случае удается снизить до минимума влияние на ЭАГ раздражения воздухом. Предложены и более сложные системы подачи раздражителя на антенну, обеспечивающие замещение, разбавление и смешивание нескольких раздражителей [41]. Такие системы нужны, например, для изучения селективной адаптации и для других исследований.

Скорость воздуха, поступающего на антенну, устанавливают обычно в пределах от нескольких десятков сантиметров в секунду до 1–2 м/с. Диаметр подающей трубки выбирают от долей миллиметра до сантиметра. Выходное отверстие трубки располагают на расстоянии 2–5 см от антенны, ориентируя ось трубки в середину антенны. Для массовых тестов трубки малого диаметра не совсем удобны, так как трудно добиться точного попадания струи на антенну.

Конкретные параметры одной из наиболее простых и удобных систем подачи воздуха таковы [7]. Воздух со скоростью около 1 м/с подается через трубку диаметром 1 см на антенну, помещенную в 2–3 см от конца трубки. Пары феромона вводятся в этот поток воздуха через отверстие диаметром 0,5 см, расположенное на расстоянии 2,5 см от конца трубки продуванием 1 см³ воздуха с помощью шприца через капилляр с адсорбированным на его стенках феромоном, или пипетку, где находится кусочек фильтровальной бумаги с образцом феромона.

На амплитуду и форму ЭАГ влияют многие особенности системы подачи раздражителя: скорость воздуха, взаимное расположение антенны и подающей трубки, длительность подачи раздражителя и др. [7, 37, 83]. Аппаратура для регистрации ЭАГ нестандартизована и поэтому сравнивать абсолютные величины ЭАГ, полученные разными исследователями, обычно нельзя.

Для корректировки ответов с учетом работоспособности антенны, снижающейся во время опыта, на нее периодически подают контрольный раздражитель. Корректировку амплитуды ЭАГ проводят по формуле:

$$X_{io} = \frac{K_0 X_{in}}{K_n},$$

где X_{io} и X_{in} — соответственно скорректированный и нескорректированный ответы на раздражитель i ; K_0 и K_n — ответы на контрольный раздражитель в начале опыта и в момент n регистрации ответа X_{in} (определяется со вспомогательного графика) [214] или непосредственно до или после этого.

Возможности и ограничения метода ЭАГ и других электрофизиологических методов

Простота аппаратуры, высокая чувствительность (нанограммы и пикограммы на источнике феромона), простота подготовки и проведения тестов, быстрота их выполнения (за час можно испытать десятки веществ), возможность обойтись для испытания небольшим количеством насекомых (единицами или десятками), высокая воспроизводимость результатов,

малое влияние состояния насекомых и внешних факторов по сравнению с поведенческими тестами [7] — это те достоинства метода ЭАГ, которые обеспечили его широкое применение.

Основное применение метод ЭАГ находит при идентификации феромонов. Антенна используется как детектор компонентов феромонов при разделении феромонов различными хроматографическими методами, особенно при газовой хроматографии. При установке делителя потока на выходе колонки может производиться параллельная запись детектором хроматографа и ЭАГ-детектором [6, 175]. Однако чаще собирают одномоментные фракции с выхода колонки в капилляры и затем тестируют их [7]. При этом обнаруживаются основные ЭАГ-активные компоненты феромонов. Обнаружение минорных компонентов не всегда возможно или затруднено, так как они могут содержаться в незначительном количестве и вызывать малую ЭАГ или могут не вызывать ЭАГ-ответа вовсе. Иногда для поиска некоторых веществ в феромонах используют антенны других видов, обладающих заведомо высокой чувствительностью к этим веществам [152]. Достоинство ЭАГ-метода по сравнению с поведенческими методами тестирования — обнаружение тех компонентов, которые по отдельности не вызывают поведенческого ответа. При биотесте из осевшего в капилляре вещества расходуется очень малая часть, и после теста вещество может быть вымыто из капилляра и использовано для дальнейшей работы.

Метод ЭАГ применяется также для контроля результатов разных химических реакций, проводимых с микроколичествами феромона (с целью определения функциональных групп и т.п.). Однако при этом следует помнить о множественности рецепторов. Активность может, например, сохраниться после омыления эфира, если на антенне есть рецептор для соответствующего спирта.

Метод ЭАГ помогает и после выделения компонентов феромона и получения определенной информации об их строении. ЭАГ-профили на стандартные ряды веществ позволяют проверить правильность информации о длине цепи молекулы, о наличии тех или иных функциональных групп, о положении двойной связи, установить геометрическую изомерию веществ, на которые настроены рецепторы антенны.

ЭАГ-профили помогают также при поисках синергистов, а особенно ингибиторов феромонов. Ингибиторы, как правило, не содержатся в феромонах, но для них на антеннах есть рецепторы. Наиболее просто их можно обнаружить методом ЭАГ.

ЭАГ-профили или спектры реакций являются очень ценными данными, облегчающими расшифровку феромонов в целых группах родственных видов. Они могут быть основой для полевого отбора аттрактантов насекомых, экономя много средств и времени [223].

Однако интерпретация ЭАГ-профилей связана с возможностью ряда ошибок. В большинстве случаев максимальные ответы вызывает основной компонент феромона, но это, по-видимому, не общее правило. Полученные с помощью ЭАГ-профилей сведения могут вывести не на компоненты феромонов, а на их ингибиторы, а иногда и на имитаторы феромонов. Деориентировать могут также ответы на вещество нескольких рецепторов одновременно.

ЭАГ-данные ничего не говорят о поведенческой роли обнаруженных активных компонентов, она должна устанавливаться в поведенческих биотестах.

Еще одно применение метода ЭАГ — сравнение феромонов различных видов до их идентификации. В целом сравнение смесей веществ и сравнение феромонов разных видов в смысле установления их идентичности

методом ЭАГ невозможно. Однако этот метод, как и метод ЭАГ-профилей, полезен при систематическом изучении феромонов разных таксономических групп. Он позволяет обнаружить активные в межвидовом плане вещества и рецепторы и создает определенную основу для исследований феромонов другими методами. Возможности внутривидовых сравнений, например сравнения феромонов разных географических популяций [224], ограничены по тем же причинам, что и межвидовые сравнения (см. выше).

Имеется еще ряд возможностей использования метода ЭАГ. Его можно применять для количественного определения малых количеств феромонов по заранее построенным кривым количество — ответ. Поскольку общее состояние организма в известной степени отражается и на реактивности органов обоняния, предложено использовать электрофизиологическую реакцию их в экспресс-методе определения токсичности и содержания инсектицидов [225].

Отведение электрофизиологических ответов от отдельных сенсилл (внеклеточное отведение от рецепторов) технически более сложно, требует предварительного изучения сенсорного аппарата антенны и в некоторых случаях затруднено особенностями его строения. Однако получаемые этим методом данные представляют большой интерес как с точки зрения накопления данных о функционировании обонятельной системы, так и практической точки зрения. Они, в частности, могут помочь разобраться в сложных случаях (минорные компоненты, не отражающиеся в ЭАГ рецепторы и т.п.) в составе феромонов [152, 147].

Отведение от нервных центров мозга, грудных ганглиев, мышц дает ценную информацию о функционировании нервной системы насекомого. Однако очевидно, что все эти подходы не могут быть широко использованы для тестирования феромонов. Регистрация активности нейронов обонятельного центра дейтоцеребрума [121] из-за технической сложности не может рассматриваться как практичный метод тестирования феромонов. Методы тестирования должны быть максимально простыми [7]. С другой стороны, пока неизвестно, каким образом будет отражаться на высших уровнях восприятие отдельных компонентов феромонов.

ПОВЕДЕНЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ

При всех достоинствах электрофизиологических методов с их помощью обычно невозможно оценить активность вещества или комбинации веществ с точки зрения организма как целого. Поведенческая роль веществ может быть определена только с помощью поведенческих биотестов в лаборатории или в природе.

Поведенческие ответы на феромоны

Реакции на половые феромоны и феромоны агрегации довольно разнообразны в зависимости от систематической группы насекомых и пола [2, 226—229]. Однако поскольку оба класса феромонов используются насекомыми для обнаружения источников феромонов, то до приближения к источнику ответы на них сходны. Большинство ответов представляет те или иные движения. Рассмотрим обобщенную схему ответов насекомых на половой феромон в естественных условиях (рис. 8).

Несмотря на различия в деталях у разных насекомых, характерным является фиксированный порядок следования ответов. Функционально ответы на феромон делятся на три следующие одна за другой группы:

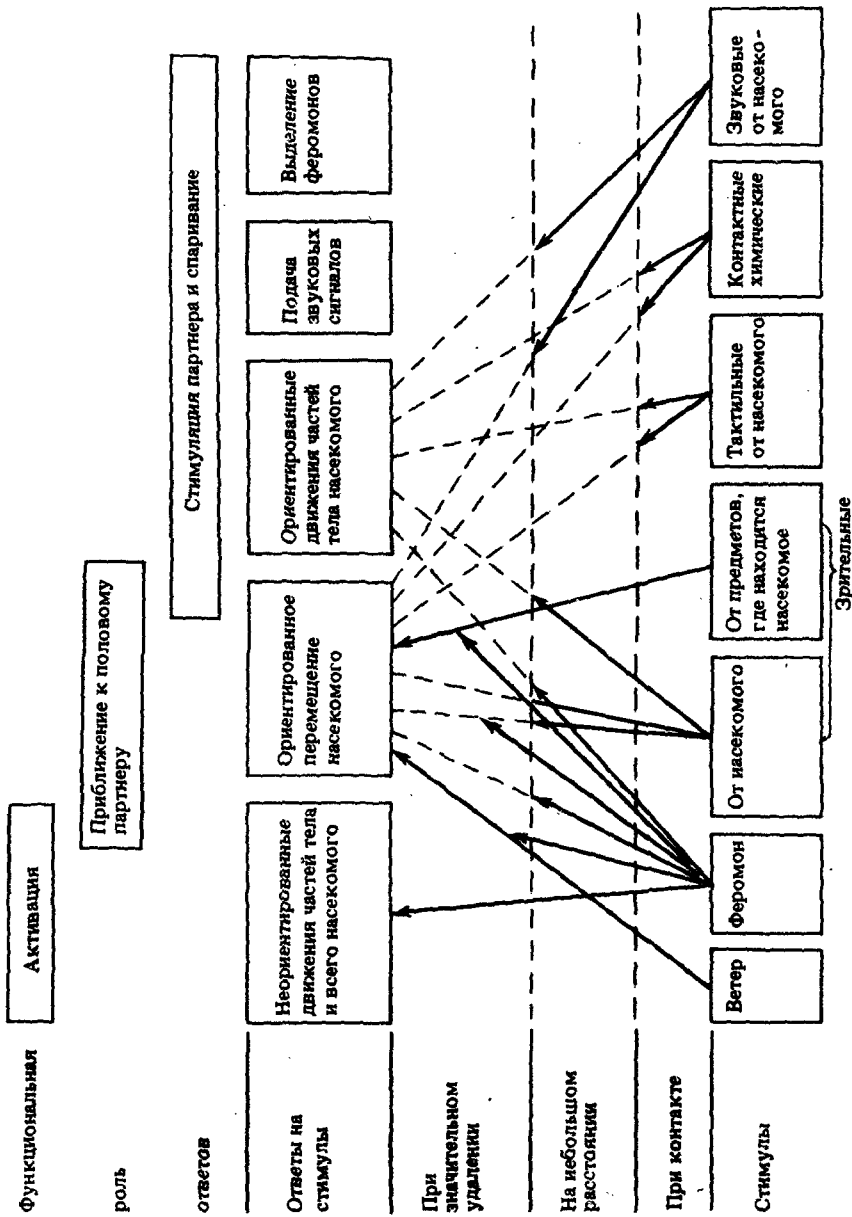


Рис. 8. Стимуляционная обстановка при ответах на половой феромон. Зона действия стимулов обозначена стрелками в виде сплошной линии. Объединение стрелок показывает, что данные стимулы действуют совместно

1) движения, связанные с переходом в активное состояние; 2) ответы, ведущие к сближению половых партнеров и 3) действия с целью стимуляции полового партнера и осуществления спаривания. Такая иерархическая последовательность ответов продемонстрирована у чешуекрылых, жуков, тараканов и других насекомых [2, 109, 228].

Активация. Насекомое, сидевшее неподвижно, поднимает антенны, начинает двигать ими, иногда "чистит" их, затем начинает вибрировать крыльями, иногда поворачиваясь на месте. Движения антенн аналогичны, очевидно, "принюхиванию" позвоночных, так как при этом увеличивается вероятность попадания молекул феромона к рецепторам. Вибрация крыльями может, по-видимому, предназначаться для повышения температуры тела перед полетом [228], она может содействовать также указанному выше принюхиванию. Отмечено, что при полете мимо антенн проходит больший объем воздуха, чем в покое, это может снизить пороговую концентрацию, необходимую для получения ответа [230]. Вибрация крыльями на месте вызывает поток воздуха возле антенн, аналогичный таковому в полете. Совместно с поворотами на месте вибрация крыльями может рассматриваться как попытка определить, с какой стороны концентрация феромона больше [116]. На большом расстоянии от полового партнера это невозможно, и возбужденное феромоном насекомое начинает ползать или летать в поисках пути к источнику феромона.

Приближение к половому партнеру. Если феромон остается единственным стимулом (например, в неподвижном воздухе закрытого помещения), то движение насекомого будет неориентированным и может быть классифицировано как кинез (хемокинез). Кинез — ненаправленный покомоторный ответ на запах. Насекомое под воздействием запаха начинает двигаться, ускоряет или замедляет движение, останавливается (ортокинез) или изменяет частоту поворотов при движении (клинокинез), причем все это безотносительно к положению источника запаха. Очевидно, что на небольшом расстоянии от выделяющего феромон полового партнера даже ненаправленная повышенная двигательная активность может привести к встрече с ним. Подобное действие полового феромона в неподвижном воздухе в помещении продемонстрировано в опытах с огневкой *Ephestia cautella* [231]. При значительном расстоянии между половыми партнерами возможность сближения их благодаря хемокинезу мала.

Движение к источнику феромона издали в целом мало изучено, но представляется неоднородным и достаточно сложным [232—235]. От источника по ветру распространяется постепенно расширяющаяся пахучая струя. В целом насекомое движется против ветра, несущего запах. В дальнем от источника, широком конце феромонной струи полет насекомого может быть довольно быстрым, направление его может быть прямолинейным на значительных отрезках или широко зигзагообразным. По мере приближения к источнику зигзаги становятся все более выраженными и сужаются, скорость движения уменьшается [233]. Наблюдения в туннельных ольфактометрах показали, что на небольшом расстоянии от источника зигзаги в целом вписываются в очертания пахучей струи [233]. Примерно таким же образом зигзаги, по-видимому, вписываются в струю и в природе [232, 235, 236], но вдали от источника повороты могут совершаться внутри струи, а не у ее границ [235]. При потере феромонной струи насекомое делает постоянно расширяющиеся броски под углом около 90° к направлению ветра [237]. При четко выраженной струе аттрактанта оптимальным для достижения источника запаха является быстрый полет, а при извилистой струе — медленный. Средняя скорость у отдельных особей сильно варьирует [238].

Способность самцов бабочек прилетать к самкам с большого расстояния издавна поражала людей, предлагались разные объяснения ее [229]. И сейчас нет общепринятого мнения о способе ориентации насекомых на запах. Однако, хотя многие детали еще действительно неясны, уже четко вырисовался основной механизм, который используется насекомыми для следования к источнику феромона — анемотаксис [4].

Единогo стимула, руководствуясь которым насекомое могло бы отыскать источник феромона на сколько-нибудь значительном расстоянии, очевидно не существует. Насекомое использует два стимула — запах и ветер.

Запах — ненаправленный стимул. Насекомое может лишь определить, есть запах или нет и какова его интенсивность. На основе опытов в туннельном ольфактометре высказывалось мнение, что полет по пахучему следу может происходить в неподвижном воздухе [239], однако оно оспаривается [4, 237]. Насекомое без дополнительной информации не может, очевидно, выбрать правильное направление вдоль пахучей струи (к источнику, а не от него). Изменение концентрации феромона вдоль оси струи не может быть использовано, так как концентрация очень неравномерна в отдельных точках пространства [240] и изменяется вдоль оси очень медленно. На расстоянии 1820 м от источника изменение концентрации феромона непарного шелкопряда *Porthetria dispar* по расчету составляет только 0,013% на 1 м вдоль струи [241]. Такое изменение шелкопряда, конечно, не может обнаружить. Несостоятельными оказались и некоторые другие предположения [4, 233].

Ветер — направленный стимул, и насекомые используют это его свойство для выбора направления движения. В струе феромона они двигаются всегда против ветра. Феромон сам по себе не направляет движение, а только "включает" механизм движения против ветра — анемотаксис. Если насекомое находится на субстрате, сведения о направлении ветра дают механорецепторы на его теле, воспринимающие ветер [4]. Когда насекомое летит, оно не может получать информацию о ветре таким образом и ориентируется относительно ветра с помощью зрения по видимому перемещению поверхности внизу под насекомым [4, 237]. Если не заметен бокового сноса относительно продольной оси тела, то насекомое движется прямо против ветра, в случае появления такого сноса оно делает поворот вправо или влево до исчезновения сноса. При отсутствии видимости поверхности (например, в темноте) анемотаксис в полете невозможен [242].

Однако, хотя имеются сообщения, как будто подтверждающие такую модель анемотаксиса (насекомые в туннельных ольфактометрах при подаче воздуха, равномерно насыщенного феромоном, летят почти прямо против ветра [233, 234]), такой "рафинированный" анемотаксис, по нашему мнению, редок, если только вообще встречается. Как описано выше, полет ориентирующихся на запах насекомых в основном происходит под некоторым углом к ветру с поочередной сменой направлений вправо—влево от ветра. Этот зигзагообразный полет, очевидно, один из важнейших запрограммированных элементов поведения при ориентации на запах, он отмечен у разных насекомых [2, 233] и характерен, вероятно, для всех насекомых. В принципе он является, как показывают наблюдения за полетом насекомых [243], вообще элементом ориентации с помощью ветра, и используется, очевидно, и в отсутствие запахов. Чтобы держать курс против ветра, надо знать направление ветра. Полет прямо против ветра не дает такой информации (а вдруг ветер стих). Направление ветра обнаруживается только тогда, когда насекомое летит под углом к ветру. Поэтому с информационной точки зрения предпочтительно дви-

жение под некоторым углом к ветру, достаточным, чтобы был заметен боковой снос. Повороты при полете на запах, очевидно, в большинстве случаев вызываются непосредственно уменьшением феромонной стимуляции при выходе насекомого за границу пахучей струи или при подходе к ее границе [4, 233]. Поскольку зигзаги могут совершаться и внутри феромонного следа [235], их, могут вызывать и другие причины. Однако обнаружение градиента концентрации насекомыми и руководство им [235] по указанным выше соображениям кажется маловероятным.

Относительно возможного механизма выбора направления поворота сделан целый ряд предположений [2, 233]. При описанном выше "лобовом" анемотаксисе действительно возникает вопрос выбора. Однако при обычном полете под некоторым углом к ветру для возврата в пахучую струю насекомому необходимо просто изменить направление по отношению к ветру на противоположное. Поэтому зигзагообразное движение — прекрасный механизм для прослеживания положения феромонной струи в пространстве. Ветер показывает лишь общее направление движения, а местонахождение источника феромона насекомое может проследить, двигаясь переменными галсами против ветра.

Недавно в опытах с листовертной *Adoxophyes orapa* обнаружено [244], что зигзагообразное движение не является ответом на потерю феромонной струи и происходит и в равномерном потоке воздуха, насыщенного феромоном. Для постоянного движения против ветра, по этим данным, требуется попеременное ослабление и усиление феромонной стимуляции. В принципе зигзагообразное движение в потоке воздуха, однородно насыщенном феромоном (неестественная ситуация), и необходимость колебания интенсивности феромонной стимуляции не представляются неожиданными. Рецепторы феромонов дают "пачку" импульсов только в начале стимуляции, а при постоянном действии стимула они "умолкают" (фазическая реакция) [245]. Это в стимуляционном плане должно быть аналогичным потере феромонного следа. С изложенной выше точки зрения на зигзагообразное движение насекомых (как обязательный элемент ориентационного поведения на запах), результаты этих опытов тоже не кажутся противоречащими механизму ориентации с помощью ветра. Скорее требуют проверки данные о прямолинейном движении в равномерном потоке запаха, так как в ольфактометрах небольших размеров непрямолинейность по отношению к потоку могла остаться незамеченной.

В целом анемотаксис как основа движения к источнику запаха не вызывает сомнений, хотя, возможно, могут встречаться разные модификации этого механизма, и действие его может быть неодинаковым в разных условиях и у разных насекомых. Все это требует дальнейших исследований.

Анемотаксис действует в широком диапазоне концентраций феромона — от пороговой до такой, которая бывает возле насекомого, выделяющего феромон [236], и доводит насекомое до самой цели. Кроме анемотаксиса, в отдельных случаях приближению к половому партнеру со значительного расстояния содействует отмеченная у некоторых насекомых способность ориентироваться в присутствии феромона с помощью зрения на вертикальные предметы. Так, самцы непарного шелкопряда *Porthetria dispar* в отсутствие феромона летают ненаправленно, а при стимуляции феромоном направляются визуально к деревьям и другим вертикальным предметам [246]. Стволы деревьев, особенно толстые, являются у шелкопряда обычным местонахождением самок. Этот способ ориентации, как и анемотаксис, относится к классу ольфакторно обусловленных ответов на неольфакторные стимулы [4].

Прилетевшее издали насекомое садится или в непосредственной бли-

зости, или на некотором расстоянии от полового партнера. Сигналом к посадке может быть увеличение концентрации феромона сверх определенной [242], возможно также действие вторичных компонентов феромонов [247, 248]. При посадке на небольшом расстоянии от цели полета насекомое подползает к источнику феромона, ориентируясь чаще всего с помощью того же универсального анемотаксиса.

Вблизи от источника феромона у бабочек обычна вибрация крыльями с вращением. Если такая реакция не могла помочь в обнаружении полового партнера на большом расстоянии от него, то сейчас это возможно. Брачный танец тутового шелкопряда *Bombyx mori* (кружение с трепетанием крыльями) помогает отысканию самки на конечном этапе приближения самца к ней [249]. Феромон как единственный стимул может служить ориентиром только на небольшом расстоянии от источника (несколько сантиметров в неподвижном воздухе), когда существует градиент концентрации. В этом случае насекомое проявляет направленный ответ на запах — положительный хемотаксис. Насекомое различает разницу в концентрации пахучего вещества у одной и другой антенны, поворачивает в сторону наибольшей концентрации и достигает источника запаха (тропотаксис). В другом случае насекомое при движении поворачивает свое тело то в одну, то в другую сторону и, сравнивая концентрацию запаха тут и там, также направляется в сторону большей концентрации (клинотаксис). Так ориентироваться может только ползущее насекомое, а летящее не может [4]. Хемотаксис, очевидно, не может рассматриваться как основной способ ориентации на феромон, тем более со сколько-нибудь значительного расстояния.

На небольшом расстоянии может также происходить аналогичная описанной выше обусловленная феромоном ориентация на зрительные стимулы, исходящие от выделяющего феромон насекомого. Это отмечено у ряда насекомых, например у яблонной плодожорки *Laspeyresia pomonella* [250] и хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* [242].

Показано, что насекомые могут двигаться и по нанесенному половым феромоном следу на субстрате [251].

Стимуляция полового партнера к спариванию и спаривание. После приближения к половому партнеру насекомое начинает ухаживание — ряд действий вблизи партнера, направленных на подавление у него форм поведения, несовместимых со спариванием (бегство, хищничество и т.п.), и, наоборот, стимуляцию тех, которые необходимы для успеха спаривания [109]. Эти действия представляют ориентированные перемещения возле партнера с целью занятия определенного положения относительно него и ориентированные по отношению к нему, же движения частей тела — антенн, конца брюшка с феромонными железами и половыми органами и т.д. Ухаживание завершается попытками спаривания или спариванием. Набор действий обычно стереотипен, при сбое на каком-либо элементе действия могут повторяться по нескольку раз. Ухаживание и спаривание у разных насекомых очень разнообразны и в целом недостаточно изучены. Основные элементы поведения самцов бабочек у источника полового феромона (самки), легко поддающиеся регистрации, следующие: вибрация крыльями, изгибание брюшка, разведение класперов и попытка копуляции. Вибрация крыльев может, по-видимому, выполнять несколько ролей. Она может помогать ориентации по отношению к источнику феромона (см. выше), действовать как механический раздражитель (толчки воздуха) по отношению к самке и способствовать подаче к ней обонятельных стимулов от самца. Последние две функции вибрации крыльев отмечены у восточной плодожорки *Grapholitha molesta*. Самец плодожорки,

повернувшись головой от самки, выставляет пахучие органы и класперы на конце брюшка и вибрирует крыльями, создавая поток воздуха, направленный к самке [252].

Если прежде половых партнеров связывала только тонкая струйка феромона, то при их контакте возможен взаимный обмен разнообразными химическими, визуальными и другими сигналами (рис. 8). В связи с этим возникает большая неопределенность в том, каким стимулом вызывается та или иная форма поведения насекомого. У разных насекомых одно и то же поведение может вызываться разными стимулами. У одного и того же насекомого также, по-видимому, возможна иногда замена одних стимулов другими, возникновение реакции на комбинации стимулов и т.п. Для выяснения роли феромона в стимуляции того или иного поведения в этой обстановке требуются специальные исследования. Для регистрации поведения используют фото- и киносъемку, а особенно видеозапись [250, 252, 253]. Показательный анализ выявляет быстропротекающие элементы поведения.

Роль феромонов и других стимулов в возбуждении всех этих форм поведения изучена недостаточно. У некоторых видов перечисленные реакции могут проявляться в ответ на действие одного феромона. Так, самцы совки *Trichoplusia ni* могут совершать копуляционные движения брюшком точно по отношению к пятну феромона на фильтровальной бумаге [254]. Другой крайний случай — листовертка *Zeiraphera diniana*. Все указанные формы поведения демонстрируются самцами этого вида без присутствия феромона. Достаточно, чтобы в соответствующее время суток понизилась температура и освещенность [255]. У листовертки *Adoxophyes orapa* для стимулирования попыток копуляции необходима покрытая чешуйками объемная модель определенных размеров, на которой находится точечный источник феромона. Визуальные стимулы у этого вида, по-видимому, менее существенны [256].

У ряда насекомых на близком расстоянии от источника феромона зрительные стимулы имеют большее или меньшее значение. Хотя у совки *Trichoplusia ni* копуляционные движения могут вызываться одним феромоном, частота попыток копуляции существенно увеличивается, если у источника феромона находится мертвая высушенная самка или ее модель из бумаги. Частота попыток копуляции самцов с моделью значительно выше, чем с источником феромона, расположенным в 2 см от модели [257]. Зрение наряду с феромоном существенно для ближней ориентации или важно для возбуждения других ответов также у яблонной плодоярки *Laspeyresia pomonella* [250], восточной плодоярки *Grapholitha molesta* [252], американской белой бабочки *Hyphantria cunea* [258], осенней жигалки *Musca autumnalis* [259], побеговьюна *Rhyacionia buoliana* [260] и других насекомых.

У некоторых бабочек попытки копуляции самцов вызывает контакт с чешуйками, покрывающими тело самки. Это явление обнаружено, кроме *Adoxophyes orapa*, у картофельной моли *Phthorimaea operculella* [261], волнянки *Orgyia leucostigma* [262] и других насекомых. Недостаточно ясно, химические или физические свойства чешуек вызывают реакцию самцов, но скорее всего физические [263].

Выбор ключевых ответов. Ключевой ответ (реакция) — это поведенческий ответ насекомого, выбранный для регистрации в биотесте. Конечно, желательно, чтобы ответ насекомого был характерным и легко заметным. Для испытания привлекательности веществ целесообразно выбрать адекватный поведенческий ответ — движение против ветра, несущего запахи. Если это невозможно, приходится выбирать в качестве ключевых ответов другие.

В качестве ключевых часто выбирают ответы из группы активационных. Например, положительным ответом в биотесте с самцами огневки *Chrysoteuchia topiaria* считали движение антенн, ползание и вибрацию крыльями [264], в биотесте с самцами огневки *Amyelois transitella* — также ползание и вибрацию крыльями [265], в работе с шелкопрядом *Malacosoma disstria* — вибрацию крыльями [163], и т.д. Однако активационные ответы в целом недостаточно специфичны. Активация предшествует, например, не только движению к источнику запаха, но и от него, и может быть вызвана действием многих веществ, особенно в больших концентрациях.

Во многих биотестах положительным ответом считают попытки копуляции — легко регистрируемый ответ из наблюдаемых при контакте половых партнеров. Но ответы из этой группы, как было показано выше, могут требовать дополнительной стимуляции или происходить даже без действия феромона. Они также могут быть вызваны неспецифическими химическими раздражителями. Например, в лабораторном биотесте целый ряд веществ вызывал у самцов яблонной плодожорки *Laspeyresia pomonella* вибрацию крыльями и попытки копуляции, но в природе они не были привлекательны [266]. Вещества, идентифицированные в качестве феромонов ряда совок с использованием лабораторного биотеста, основанного на половом возбуждении и попытках копуляции [267–269], в поле не привлекали этих совок [270].

Следует иметь в виду, что при количественном биотестировании феромонов выбор разных ключевых ответов может в значительной степени смещать оценки. Как показано в опытах с листоверкой *Eriphyas postvittana*, кривые интенсивность стимула — поведенческий ответ при использовании в качестве ключевых ответов поднятия антенн, двигательной активности, ориентации и копулятивных движений значительно смещены. Первая ступень в цепи поведенческих ответов требует наименьшей концентрации феромона, а последующие — все возрастающей [271]. Подобное явление обычно для насекомых [2]. Для точных измерений нужно учитывать какой-либо один ответ, а не группу их, как часто делают.

Не так давно считалось, что биотест может быть построен на одном (любом) из ответов, и нет нужды стремиться пронаблюдать всю последовательность поведенческих ответов [272]. Однако в связи с выявлением многокомпонентности феромонов такой подход теперь в целом неприемлем [273]. Отдельные компоненты феромонов могут вызывать, по-видимому, разные поведенческие ответы. В работах с феромоном восточной плодожорки *Grapholitha molesta* обнаружено, что некоторые компоненты могут быть важны для привлечения, а другие — представлять "посадочные" или другие сигналы [247, 248]. Недавно, правда, показано, что особая роль отдельных компонентов была преувеличена из-за того, что в опытах использовали не полную смесь феромона, а комбинации отдельных компонентов [274]. Но принципиальная возможность такого действия компонентов остается. Все они действовать всегда как одно целое не могут, хотя бы потому, что количество их неодинаково.

Поведение самок, отвечающих на феромоны самцов, изучено мало. До сближения с половым партнером оно, очевидно, будет сходным с поведением самцов. Выбор форм поведения для регистрации в тестах, если нет возможности наблюдать ориентационное поведение, требует специальных исследований. В качестве ключевого ответа самок мухи-пестрокрылки *Dacus tryoni* на феромон самцов было выбрано опробывание яйцекладом субстрата вблизи источника феромона [275].

Концентрация феромона и ответы. Как указано выше, пороги поведен-

ческих ответов ниже электрофизиологических. Насекомые способны реагировать поведенчески на концентрации феромонов порядка 10^3 (*Bombyx mori* [124]) — $1340 \cdot 10^3$ молекул/см³ (*Plodia interpunctella*, 23°C [10]). В литературе много данных относительно количеств феромонов на источнике, вызывающих поведенческую реакцию. Например, у 50% самцов яблонной плодовой гусеницы *Laspeyresia pomonella* реакция возникает от $8,79 \cdot 10^{-7}$ мкг феромона [127], такая же реакция вызывается у *Plodia interpunctella* $4 \cdot 10^{-8}$ мкг ($4 \cdot 10^{-5}$ самко-эквивалента) [276]. Зависимость ответов от интенсивности стимула логарифмическая как в лабораторных, так и в полевых тестах [10, 127, 197, 242, 277]. Как и электрофизиологические ответы, поведенческие ответы нарастают от порога, а затем переходят в плато, как, например у непарного шелкопряда *Porthetria dispar* [278], или уменьшаются, как у листовёртки *Choristoneura rosaceana* [61]. Диапазон нарастания поведенческих ответов составляет несколько порядков. У яблонной плодовой гусеницы *Laspeyresia pomonella* он достигает пяти порядков [127], примерно такой же он и у огневки *Plodia interpunctella* [10]. Однако у многих насекомых диапазон ответов может быть, по-видимому, довольно узким, как, например, у совки *Agrotis ipsilon* [24]. При увеличении скорости испарения эта совка перестает попадать в ловушку, а отлавливается другая — *Cucullia intermedia*. Различия в скорости выделения могут быть одним из средств межвидовой изоляции [61, 112]. Это особенно очевидно и реально при многокомпонентных феромонных системах. Различия в количественном отношении компонентов обеспечивают полное обособление видов [112].

В первые годы изучения феромонов мечтой было создание сверхмощной приманки, но эта мечта оказалась нереальной. Как правило, с увеличением интенсивности выделения феромона удается превзойти привлекательность одного живого насекомого только в единицы, редко в десятки раз [279–281] и, вероятно, в основном за счет непрерывности действия. При превышении определенной скорости испарения с источника концентрация, которая бывает возле выделяющего феромон насекомого, создается на некотором расстоянии от него, и, поскольку концентрация — один из главных факторов, определяющих тип ответа, “включается” следующий по иерархии тип ответа, хотя до приманки еще далеко. Таким образом, есть не только нижний порог для каждого ответа, но и верхний. Это хорошо продемонстрировано в опытах с восточной плодовой гусеницей *Grapholitha molesta* в природе [236]. Достижение верхнего порога концентрации, вызывающего полет самки против ветра, приводит при увеличении скорости выделения феромона к окончанию полета на все большем расстоянии от источника феромона. В связи со всем изложенным выше очевидна необходимость тестирования не какой-либо одной дозы феромона, а логарифмического ряда доз, иначе можно прийти к неправильным выводам об активности вещества.

Привыкание к запаху в поведенческих тестах. Прогрессирующее уменьшение чувствительности к повторным стимулам, наблюдаемое в поведенческих испытаниях, называют привыканием. Привыкание может быть результатом аккумуляции, адаптации на уровне рецепторов и изменений в ЦНС. Последние могут происходить даже при очень низкой концентрации стимула, когда аккумуляция и адаптация не происходят. В этом случае сенсорный вход остается неизменным, но он оценивается мозгом по-другому [124].

В отличие от адаптации даже при низких концентрациях стимула привыкание относительно надолго снижает уровень ответов. Этот период по результатам работ с чешуекрылыми составляет после экспозиции к нано-

граммовым количеством феромонов минуты и десятки минут [282, 283], иногда больше часа [284]. У кожееда *Trogoderma inclusum* после короткой экспозиции к феромону самцы полностью не отвечают на него в течение многих часов [285]. Степень подавления ответов увеличивается с возрастанием концентрации феромона и с увеличением экспозиции [284, 286]. У *T. inclusum* не найдено зависимости степени подавления от длительности экспозиции [285]. Многократная экспозиция с перерывами, как показано в некоторых опытах [282], уменьшает ответы в большей степени, чем непрерывная экспозиция такой же продолжительности, как полагают, из-за большего количества поступающей в ЦНС информации, ведущей к привыканию.

Привыкание может быть полезным для насекомых в условиях относительно высокой плотности популяции вида, когда имеется много источников феромона: насекомые отвечают только на относительно мощные источники и избегают ненужных трат энергии [284]. Явление привыкания и его механизм изучены недостаточно, и сведения порой противоречивы, например о действии непрерывной и прерывистой экспозиции [244, 283, 287].

При биотестировании следует избегать привыкания подопытных насекомых. Воздух помещения, где содержатся насекомые и проводятся опыты, не должен быть загрязнен феромоном. Следует тщательно следить, чтобы не загрязнялась аппаратура, в которой проводятся биотесты. Учетный отрезок времени, в который наблюдают реакцию насекомых на феромон, не должен быть излишне большим и, наконец, следует рассматривать возможность повторного использования насекомых с учетом привыкания.

Поведенческое тестирование в ольфактометрах в лаборатории

В поведенческих биотестах в лаборатории используют практически все типы реакций, демонстрируемые насекомыми на феромоны. Для наблюдения реакций насекомых применяют различного рода ольфактометры. Ольфактометры трудно классифицировать однозначно, возможен целый ряд делений по разным признакам: типу (типам) наблюдаемых реакций, способу подачи раздражителя, количеству разных одновременно испытываемых раздражителей и т.д. Рассмотрим основные типы ольфактометров и тестов в порядке увеличения их возможностей для обнаружения привлекающих свойств веществ.

Ольфактометры с неподвижным воздухом. Наиболее простые тесты проводятся без особого оборудования. Палочку (пипетку, бумажку с феромоном и т.д.) подносят к отдельному насекомому или к их группе в садке, банке и т.п. Этот тест был, по-видимому, одним из первых в ряду поведенческих биотестов, однако в разных вариантах используется до сих пор. Такого рода тесты описаны для долгоносика *Cylos formicarius elegantulus* [288], кожеедов *Trogoderma granarium* [289], *Dermestes maculatus* [290], совки *Spodoptera frugiperda* [291], гелехииды *Brachmia macroscopa* [292] и многих других насекомых. Насекомые в подобном тесте могут быть иногда и закреплены. Например, бабочек непарного шелкопряда *Porthetria dispar* закрепляли, прикладывая их сложенные вместе крылья к металлической поверхности и помещая сверху небольшой магнит [293].

В тестах такого рода можно в сжатом виде продемонстрировать всю последовательность поведенческих ответов на феромон: активацию, ориентацию — вплоть до попыток спаривания (закрапление, конечно, ограничивает ответы). В качестве ключевого ответа регистрируют какую-либо

одну реакцию, например копуляционные движения, или целый ряд ответов, например активационных.

К этому типу тестов близки тесты, в которых испытываемое вещество подается в садок с насекомыми в виде паров в воздухе, как, например, в тестах с шелкопрядом *Malacosoma disstria*, где пары вводились в банку с помощью пипетки Пастера [163]. В этом случае также может последовать целая серия ответов. Поскольку точечного источника феромона в этом случае нет, не может происходить привлечение, но в зависимости от особенностей вида возможны даже попытки копуляции, например по отношению к другим самцам. Описанные тесты очень просты и возможны с самыми разными насекомыми, важно лишь, чтобы насекомые не проявляли регистрируемые ответы в сильной степени и без феромона, как, например, самцы листоверки *Zeiraphera diniana* [255]. В тестах, по-видимому, лучше использовать по одному насекомому или небольшое число их (до пяти), так как они могут активировать друг друга при движении и трудно учитывать одновременно реакцию многих насекомых.

Другую категорию тестов представляют тесты на арене, которой может служить, в частности, чашка Петри. На арене, обычно застилаемой бумагой, помещают испытываемое вещество или вещества (например, на бумажном испарителе) и подопытных насекомых и наблюдают реакцию последних. Она проявляется в приближении к испытываемому образцу, агрегации около него и других действиях. Таким образом обычно тестируют феромоны ползающих насекомых или мелких летающих. В частности, в чашках Петри на других подобных аренах тестировали феромоны агрегации клопов *Oncopeltus fasciatus* и *Lygaeus kalmii* [294], *Cimex lectularius* [295], половой феромон щитовки *Pseudaulascaspis pentagona* [296] и половой феромон малого мужного хрущака *Tribolium confusum* [297]. В последнем случае в дне арены были вырезаны отверстия, куда вставляли трубки с испытываемыми веществами, сверху отверстия были закрыты тонкой тканью.

Несколько видоизмененный тест на арене использовали для тестирования феромонов агрегации короедов [298, 299]. В этом случае на краю арены устанавливали источник света, луч от которого проходил через арену до места выпуска жуков. Жуки, привлекаемые светом, двигались по арене, пересекая места, где под бумагой в чашках находились испытываемые вещества. Изменение направления движения жуков над испытываемыми веществами или задержка считались ответом.

Возможен еще один вариант теста на арене — если создать лахучие потоки воздуха, перпендикулярные арене, например сквозь мелкие отверстия в арене [300].

Для описанных выше биотестов характерно, что феромон вводится в неподвижный воздух. Вокруг точечного источника создается градиент запаха, границы зоны распространения запаха трудно определимы и постепенно расширяются. Такая ситуация возможна только в закрытых помещениях, на распространение запаха могут влиять конвекционные потоки воздуха и даже движение крыльев насекомых. Из ориентационных ответов в тестах с точечным источником может наблюдаться хемотаксис, при подаче паров условия благоприятны для наблюдения кинезов. При использовании на арене безградиентных стимулов-потоков на границах таких потоков возможен хемотаксис, а внутри — хемокинезы и различные другие ответы в зависимости от концентрации феромонов. У ползающих насекомых анемотаксис исключен. Недостатками использования точечного источника феромона в неподвижном воздухе являются неопределенность времени поступления раздражителя к подопытным насекомым и зависи-

мость результатов от общей активности насекомых, особенно в аренных тестах [273]. При малой их активности немногие "наткнутся" на "активную" область арены, где находится испытываемое вещество, а при большой активности мало насекомых задержится в этой области. Ни один из этих тестов не может продемонстрировать основную реакцию, используемую насекомыми для обнаружения источников феромонов в природе, — анемотаксис.

Ольфактометры с движущимся воздухом. Более совершенны ольфактометры с движущимся воздухом. Использование движущегося воздуха дает ряд технических преимуществ, так как позволяет лучше контролировать состав и концентрацию стимула, а также экспозицию к стимулу [273]. При помещении испарителя феромона в поток воздуха в воздухе тотчас создается движущаяся зона, содержащая все компоненты в количествах, пропорциональных их выделению испарителем. Эта зона запаха имеет достаточно четко очерченный фронт, и все подопытные насекомые практически одновременно получают стимуляцию запахом. Так же четко прекращается стимуляция при удалении источника запаха. В потоке воздуха не проявляется вредное действие явлений адсорбции и десорбции веществ на стенках используемых аппаратов. Необходимо, однако, учитывать, что в движущемся воздухе интенсивность стимуляции запахом возрастает с увеличением скорости воздуха. В этом случае интенсивность стимуляции, кроме концентрации вещества в воздухе (или количества на источнике), надо определять дополнительно скоростью воздуха.

Для тестирования феромонов применяется много разновидностей ольфактометров с движущимся воздухом. В простейших из них в садок с насекомыми (чаще сосуд той или иной формы) входит трубка, по которой поступает воздух с парами феромона [301, 302]. Сюда может быть отнесена также одна из модификаций тестов феромонов короедов, где жуки движутся по арене к источнику света, но встречают направленную поперек движения струю воздуха, несущую исследуемый запах [303].

Довольно большое распространение, особенно при испытаниях феромонов чешуекрылых, получили конструкции, похожие или происходящие от описанной Г. Шори с соавторами [304—306] (рис. 9). Основа этого ольфактометра — расположенный вертикально стеклянный сосуд, закрываемый герметично. В сосуд помещают насекомых, снизу через все сечения сосуда поступает воздух, а сверху он удаляется. Обычно используют наборы таких ольфактометров до 12 штук, укрепленных на диске по кругу на штативе, диск можно вращать, пододвигая очередной ольфактометр для опыта. Если через отверстие в нижней подводящей трубке ввести источник феромона, феромон с током воздуха будет проходить через сосуд с насекомыми. Достоинство этой конструкции в ее герметичности, благодаря чему подопытные насекомые защищены от возможности действия загрязненного феромоном воздуха лаборатории, а также в том, что благодаря набору ольфактометров можно быстро провести серию опытов в достаточном числе повторов.

Как вариант этой конструкции, переходный к следующему типу ольфактометров, можно рассматривать ольфактометры для побеговьюна *Rhyacionia buoliana* и огневки *Diorystria amatella* [260, 307]. Устройство одного из них таково [307]: цилиндрические садки с сетчатым дном и верхом, в которых находятся бабочки, вставляются в горизонтальном положении в отверстия в боковой стенке ящика. Все стенки ящика изнутри черные, кроме находящейся против садков. Эта стенка белая и слегка подсвечивается лампой, вставленной в отверстие в стенке посреди садков. К ящику подсоединена вытяжная труба. При затемнении помещения бабоч-

ки сосредотачиваются на сетчатой стенке садка, обращенной внутрь ящика. При поднесении к наружной сетке садка источника феромона бабочки направляются к нему, вибрируя крыльями.

В ольфактометрах с движущимся воздухом, описанных выше, может проявляться целый комплекс реакций насекомых — от активации до попыток копуляции, причем дифференцировать одну реакцию от другой трудно. В тех ольфактометрах, где раздражитель подается из трубки (струя в неподвижном воздухе), могут, по-видимому, проявляться в комплексе анемотаксис и хемотаксис (насекомые устремляются к отверстию трубки). Ольфактометры, в которых запах поступает снизу через все сечение садка, в принципе удобны для демонстрации "в чистом виде" хемокинезов [273], если их использовать для тестов с ползающими по горизонтальному полу садка насекомыми. Однако эти ольфактометры, как указывалось выше, часто применяют для тестирования феромонов бабочек. Бабочки в период половой активности обычно поднимаются в верхнюю часть садка, а при подаче привлекающего их стимула опускаются на сетчатый пол, сквозь который поступает запах. Причиной этого, как и в горизонтально расположенных садках, является, очевидно, анемотаксис. Чтобы облегчить наблюдение ориентационного движения, иногда удлиняют отсек для насекомых [271]. Однако в целом в ольфактометрах этого типа выделить определенно анемотаксис из других ответов, например хемокинезов, бывает не всегда легко из-за малого размера садка. Поэтому в ольфактометрах такого типа в качестве ключевых реакций чаще регистрируют реакции активации (например, вибрация крыльями).

Дальнейшим развитием ольфактометров с движущимся воздухом является конструкция, в которой тест-насекомых помещают в длинную горизонтальную прозрачную трубку, и через нее продувают воздух. Вставляя в поток воздуха на входе трубки испаритель феромона, наблюдают сосредоточение до этого более или менее равномерно распределенных по трубке насекомых у конца трубки с источником феромона. Обычно используют наборы таких трубок, позволяющие, как и в выше описанном ольфактометре, быстро получить материал для статистической обработки. Ольфактометр такого типа предложен Л. Соуэром с соавторами [308], работавшим с зерновой молью *Sitotroga cerealella* (рис. 10). С тех пор аналогичные устройства использовались при биотестировании феромонов разных насекомых, например огневки *Amyelois transitella* [309], совки *Mamestra configurata* [310], комарика-сциариды *Bradysia impatiens* [311]. В этих ольфактометрах можно наблюдать также целую последовательность ответов, которая возможна у того или иного насекомого при стимуляции феромоном. Однако важное достоинство этого типа — возможность четкой регистрации приближения насекомых к источнику феромона против ветра (анемотаксиса). Мелкие насекомые могут даже реагировать в полете, для полета более крупных в трубках обычно недостаточно места.

Среди ольфактометров описанных выше типов с движущимся воздухом сейчас преобладают конструкции, рассчитанные на испытание одного вещества. Ольфактометры, где насекомым предоставляется возможность выбирать между двумя или большим числом раздражителей, теперь используются редко. В качестве примера альтернативных ольфактометров можно указать Т-образную конструкцию, применявшуюся для испытаний феромона хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* [301], и У-образный ольфактометр, в котором исследовали реакцию мучнистого червеца *Plano-soccus citri* [312] и мухи *Musca autumnalis* [259]. Иногда в конце ольфактометра, откуда поступает воздух с феромоном, устанавливают воронку (обычно из сетки) и привлеченные насекомые не могут уйти (например, [313]).

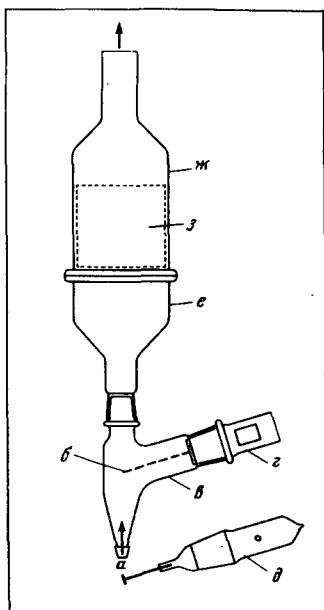
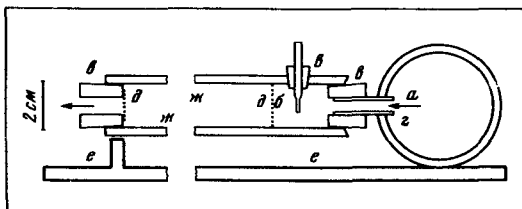


Рис. 9. Одна из ячеек ольфактометра, предложенного Шори и соавторами [305]

а — вход воздуха; б — смешивательная камера; в — боковой отстойник; з — пробка; д — пробка с испарителем феромона; е — нижнее отделение (расширитель); ж — испытательная камера; з — садок из проволочной сетки

Рис. 10. Одна из ячеек ольфактометра, предложенного Соуэром и соавторами [308]

а — труба, через которую подается воздух; б — испаритель феромона; в — пробки; з — стеклянная трубка; д — медная сетка; е — подставка; ж — труба из оргстекла (испытательная камера)



Наиболее совершенны с точки зрения возможностей наблюдать анемотаксис "в чистом виде" так называемые туннельные ольфактометры ("ветровые туннели"). В них можно регистрировать так же хорошо все остальные реакции насекомых на феромон.

Описан и использован целый ряд туннельных ольфактометров [10, 40, 239, 242, 287, 314—316]. Внешний вид двух из них дан на рис. 11. Основная часть ольфактометра — круглого или квадратного сечения труба длиной до нескольких метров (чаще около 2,5 м) и сечением до 1 м². Стенки (все или часть) прозрачны для обеспечения внутри нужной освещенности и возможности наблюдений. В одном из ольфактометров круглого сечения стенки из прозрачной пленки без каркаса, в расправленном виде их поддерживает подаваемый воздух [234]. Концы трубы обычно закрыты сеткой, иногда выходная часть может быть и незакрытой, [316]. С одного конца в трубу с помощью вентилятора подается воздух, с другой стороны он удаляется. Для создания равномерного потока воздуха после подающего вентилятора устанавливаются струедробящие устройства, например ряд мелкоячеистых сеток и т.п.

Если испытываемая приманка помещается вблизи сетки, сквозь которую поступает воздух, то создаются условия, сходные с теми, в которых насекомые отвечают на феромон в природе. В этом случае в воздухе образуется тонкая, постепенно расширяющаяся пахучая струйка. В туннеле длиной 2,4 м первоначальный диаметр ее около 2 см, через 1 м — 10 см, а в конце туннеля — около 14 см [287]. Для наблюдения и определения положения струи вместо источника феромона помещают образующие дым вещества (например, HCl и NH₄), а также используют другие способы [287]. Садок с насекомыми устанавливают точно в струе возле конца трубы, противоположного тому, где находится испытываемая приманка. Количество выпускаемых одновременно насекомых зависит от целей

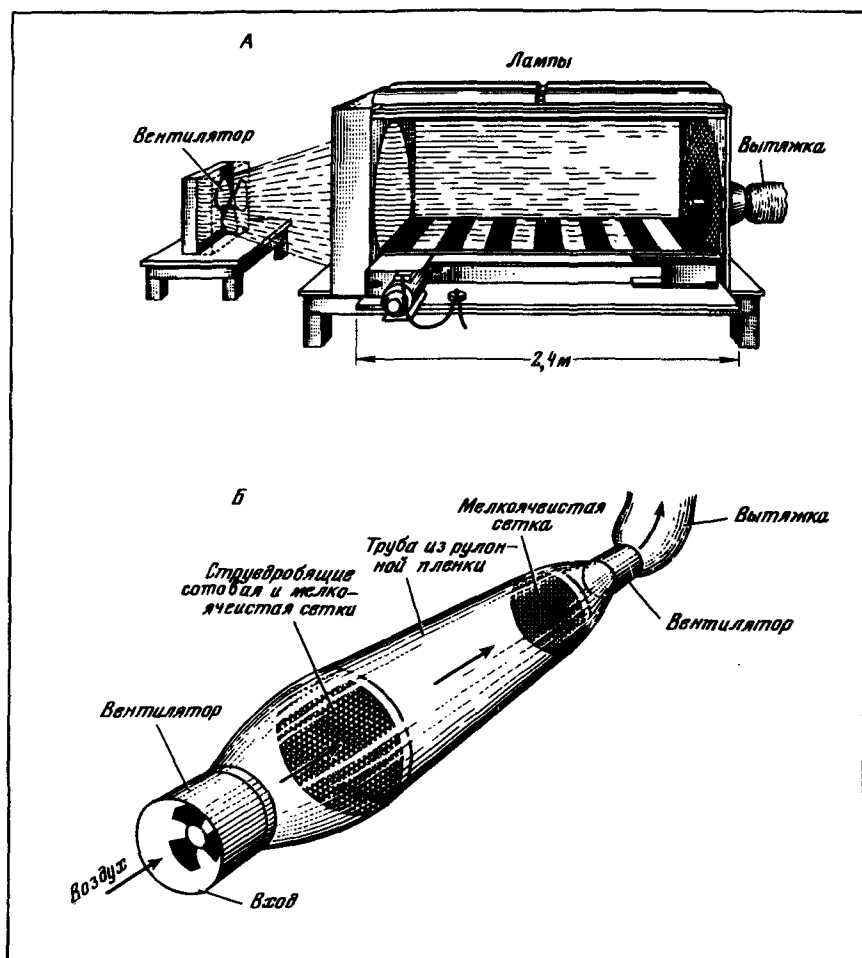


Рис. 11. Общий вид туннельных ольфактометров

А — с бесконечной движущейся лентой для управления полетом насекомых [287];
 Б — со стенками из пленки [234]

опыта, при детальном изучении поведения выпускают по одному насекомому. В одной из конструкций по длине трубы были установлены заслонки, в трубу выпускали по несколько десятков бабочек и после необходимой экспозиции, опустив заслонки, определяли распределение бабочек по длине трубы [40].

Поскольку анемотаксис в полете опирается на зрительное восприятие перемещения поверхности под насекомым, можно управлять полетом насекомого. Для этого достаточно поместить внизу туннеля движущуюся вдоль него (в сторону движения воздуха) с помощью электродвигателя бесконечную ленту с поперечными полосами [237]. Меняя скорость движения ленты, можно заставить насекомых увеличивать или уменьшать скорость полета или лететь на одном месте.

С помощью туннельного ольфактометра можно не только зарегистрировать, что насекомое, например, анемотаксически направляется к источнику феромона, но и в деталях изучать анемотаксис и другие ответы насекомого. В частности, у листовертки *Argyrotaenia velutinana* при изучении ее ответов на феромон регистрировали 19 видов поведенческих ответов (при неподвижной ленте) [287]. С использованием движущейся ленты возможности расширяются, особенно важный показатель, который можно получить в этом случае — продолжительность полета к источнику. В целом ветровые туннели такого рода — ценный многоцелевой инструмент для исследования феромонов [287].

Если поместить источник феромона сразу после подающего вентилятора, то в туннеле можно получить воздух, равномерно насыщенный феромоном. Создающаяся ситуация неестественна, но, как полагают [273], удобна для наблюдения некоторых ответов “в чистом виде”, например анемотаксиса.

Другие конструкции и особенности ольфактометров и тестов. Разработаны и некоторые другие конструкции ольфактометров. Для изучения реакции короедов на запахи предложены устройства, в которых закрепленные за переднеспинку жуки могут летать по кругу в горизонтальной плоскости. С помощью электронных устройств регистрируются параметры полета: скорость, продолжительность или ориентация по отношению к источнику запаха, частота взмахов крыльями и т.п. [317, 318]. В ольфактометре для короеда *Dendroctonus pseudotsugae* имитируется подползание самца к ходу самки, он оборудован для регистрации звуков — записи осциллограмм звуков, которые неодинаковы в ответ на аттрактант и антиаттрактант [319].

В лабораторных биотестах иногда применяют метод ловушек, обычный в поле (см. следующий раздел). Такой подход пригоден для изучения аттрактивности феромонов некоторых мелких насекомых, например мелких чешуекрылых, червецов и щитовок. В помещении, где содержится или куда выпускают насекомое, устанавливают ловушки того или иного типа, как в опытах с зерновой молью *Sitotroga cerealella* [320]. Однако чаще, чтобы избежать искажения результатов из-за влияния разных трудно учитываемых факторов, например неравномерности освещения, ловушки располагают, как в опытах с червецом Комстока *Pseudococcus comstocki*, на медленно вращающемся стенде [321].

В некоторых биотестах используют модели самок разного рода, обрабатывая их феромонами, например парафиновый блок в биотестах на хруще *Costelytra zealandica* [322] или комнатных мух в тестах на мужежигалке *Stomoxys calcitrans* [323].

Анемотаксис ползающих насекомых исследуют с помощью специальных установок, где закрепленное насекомое находится в потоке воздуха на вершине вращающейся сферы, причем каждое движение насекомого автоматически регистрируется. Такая установка использовалась, например, в опытах с тараканами [324]. Этот метод изучения анемотаксиса считают одним из наиболее “элегантных” [273]. Для летающих насекомых подобную установку создать технически сложно.

Для изучения влияния климатических факторов на феромонную связь ольфактометры могут быть снабжены установками для кондиционирования воздуха [325]. Когда воздух берут из помещения, для очистки от возможной загрязненности пахучими веществами его пропускают через поглотители, например слой активированного угля [315].

Ольфактометры снабжают измерительными устройствами для измерения параметров воздуха, особенно для определения скорости воздушного

потока, в туннельных ольфактометрах необходим также измеритель скорости движения бесконечной ленты.

Условия тестирования. Выше перечислены факторы, влияющие на продуцирование феромонов насекомыми. Примерно тот же набор факторов обуславливает возможность ответов на феромоны, поэтому не будем останавливаться на этом повторно. Организации биологического тестирования должно предшествовать изучение действия по крайней мере основных из этих факторов на поведение насекомых при осуществлении феромонной связи. Самые необходимые для организации биотестов данные (о формах поведения, их возрастной и суточной динамике и т.п.) можно получить при наблюдениях за насекомыми в садках при условиях, близких к естественным. Эти данные затем могут быть уточнены с помощью самих биотестов.

В лабораторных условиях при возможности регулирования светового режима можно установить такой суточный цикл активности насекомых, который удобен для исследователя. Иногда тест-насекомых содержат в необычном для них режиме, например постоянно на свету, а перед опытом помещают в темноту [177]. Что касается освещенности, то обычно важен не только опраделенный ее общий уровень. Необходимо добиваться равномерности освещения, чтобы, например, увеличенная освещенность какой-либо части ольфактометра или помещения не была причиной привлечения насекомых. Свет может доминировать как источник привлечения над феромоном [326]. Важно также направление, откуда падает свет. В туннельном ольфактометре ориентация невозможна, если его освещать снизу [242], это в определенной мере касается и других ольфактометров.

Результаты тестов могут иногда искажаться по причинам, которые бывает трудно найти. При работе аппаратуры, например электродвигателей, могут возникать ультразвуки. Как показано в опытах с непарным шелкопрядом *Porthetria dispar*, они нарушают ответы самцов на феромон [327].

Определив оптимальные условия тестирования, надо строго соблюдать их, а если это невозможно, регистрировать отклонения от них. Чем более стандартны условия, тем меньше разброс данных.

Способы оценки результатов биотестов. В тестах, где используют в каждом опыте несколько насекомых, определяют за учетный отрезок времени количество насекомых, проявляющих ключевую реакцию или группу реакций. Если учитываемые реакции наблюдаются и спонтанно, без действия феромонов, то определяют фоновую активность за такой же промежуток времени перед опытом. Иногда определяют активность за два или большее число последовательных отрезков времени, усредняя затем эти результаты [305, 308]. Продолжительность учетного отрезка зависит от вида насекомого и способа тестирования. В ольфактометрах с движущимся воздухом в тестах с чешуекрылыми это время, как правило, не более минуты, а обычно меньше [284, 305, 308]. В аренных ольфактометрах с неподвижным воздухом продолжительность тестов с жуками может измеряться десятками минут с многократной регистрацией ответов [297]. При недостатке насекомых можно получить неплохие результаты, если учитывать у каждого насекомого отдельно разные ответы, оценивая каждый ответ числом баллов, пропорциональным биологическому "весу" ответа [328]. Результаты опытов в ольфактометрах оцениваются как процент ответов R по формулам, аналогичным следующей:

$$R = \frac{r - r_0}{N - r_0} \cdot 100 \quad [305].$$

Здесь g — число насекомых, давших ключевой ответ; g_0 — число насекомых, проявивших ответ спонтанно (фоновая активность) и N — общее число насекомых в опыте.

В трубчатых ольфактометрах Соуэра учитывают или число насекомых, собравшихся в конце трубы, где находится приманка, или распределение их по секциям, на которые размечается труба [284, 308]. В туннельных ольфактометрах, кроме показателей, упомянутых ранее, могут учитываться длительность разных элементов поведения, число повторов тех или иных действий, скорость движения и т.п.

Поведение — явление статистическое, и при самой лучшей организации тестов неизбежен разброс результатов. Например, при снятии зависимости доза — ответ у зерновой моли *Sitotroga cerealella* в ольфактометре Соуэра коэффициент вариации ответов был около 20% [284]. Это необходимо учитывать при планировании тестов.

Общая оценка методов ольфактометрии. Как видно из обзора ольфактометров и методов тестирования, для биотестирования феромонов с точки зрения обнаружения их аттрактивности наиболее пригодны ольфактометры типа туннельного. С их помощью можно недвусмысленно оценить способность феромона возбуждать анемотаксис в полете, а также вызывать другие ответы. В известной степени это можно сделать и в трубчатых ольфактометрах, однако в них большинство насекомых приближается к источнику запаха не в полете, а по субстрату, но эти два способа передвижения далеко не равноценны. Большинство других ольфактометров и биотестов дают менее определенные результаты. В ольфактометрах одновременно наблюдается целый ряд реакций в разных соотношениях, которые обычно невозможно оценить. Такие тесты только показывают, что вещество вызывает те или иные виды ответов насекомых, но будет ли вещество привлекательно в природе, на основе этих тестов с уверенностью сказать нельзя. В целом большинство тестов и методов может быть отнесено к категории недискриминирующих (между разными видами ответов) [273]. К дискриминирующим, основным требованием которых является представление пахучего стимула в форме, которая возбуждала бы только один вид ответов или давала бы возможность измерять разные ответы отдельно [273], могут быть отнесены немногие тесты (например, тесты в туннельном ольфактометре с потоком воздуха, равномерно насыщенного феромоном, для оценки анемотаксиса). Предполагают [273], что для организации дискриминирующих тестов более удобно представлять насекомым не пространственные, а временные изменения запаховой стимуляции. Например, ортокинез, клинокинез, а также вызванные запахом анемотаксис и визуальная ориентация к объектам могут быть возбуждены, если воздух будет протекать горизонтально или вертикально через арену и содержать запах, сила которого будет изменяться во времени.

Несмотря на недостатки простых биотестов, они, очевидно, будут всегда использоваться благодаря их простоте. Необходимо только четко представлять их ограничения и контролировать полученные с их помощью результаты при необходимости более адекватными с точки зрения поставленной задачи тестами.

Поведенческое тестирование в ловушках в природе

Испытания в ловушках в природе — метод, с помощью которого проверяются все другие методы тестирования и выносится заключительная оценка об аттрактивности вещества. Насекомые реагируют издали на выставленные приманки, если они, конечно, удовлетворяют их требова-

ниям, таким же образом, как и на естественные источники феромонов. Все те многочисленные проблемы, которые приходится решать в лабораторных поведенческих тестах, чтобы заставить насекомое действовать естественным образом, здесь решаются сами собой. Необходимо только учесть насекомых, подлетающих к приманке, что обычно делается с помощью автоматически действующих ловушек. В литературе описаны, а также запатентованы многие сотни разных ловушек и их модификаций. Рассмотрим основные типы ловушек, классифицируя их по способу действия.

Клеевые ловушки. Ловушки этого типа применяются сейчас наиболее массово. В принципе любая поверхность, если ее смазать невысыхающим клеем, становится ловушкой. Прилетевшие насекомые удерживаются клеем. Смазанный клеем прямоугольник или круг из листового материала — простейшая клеевая ловушка. Вертикально подвешенный кусок фанеры 30 × 30 см служил для отлова огневки *Zeadiatrea grandiosella* [329], на подобную ловушку отлавливали шелкопрядов *Porthetria dispar* и *P. monacha* [197]. В середине листа обычно проделывают отверстие для приманок. На горизонтальный круг диаметром 60 см, смазанный сверху клеем, хорошо ловить совка *Diparopsis castanea* [330]. Смазанные клеем лист бумаги или проволочная сетка, прикрепленные к стволу дерева, могут эффективно отлавливать непарного шелкопряда *P. dispar* [331]. Для увеличения ловчей поверхности и обеспечения всенаправленности соединяют накрест два вертикальных листа, получая крыловидную ловушку. Смазанная клеем, она пригодна для отлова разных насекомых. С помощью такой ловушки отлавливали, например, листовертку *Archips semiferanus* [332], стеклянницу *Sanninoidea exitiosa* [333] и хлопкового долгоносика *Anthonomus grandis* [334].

Короедов отлавливают на смазанные клеем ловушки из проволочной сетки в виде цилиндров (имитация стволов), внутри них могут быть отрубки стволов, заселенные жуками, или синтетические приманки [335]. Предложено и испытано также много других, часто замысловатых клеевых ловушек (см., например [331, 334, 336–339]).

Развитие конструкций клеевых ловушек в целом шло в направлении от открытых ловушек, подобных рассмотренным выше, к "закрытым", т.е. имеющим над клеевой поверхностью какую-либо "крышу". Простейшая ловушка такого типа — два диска друг над другом, она испытана для отлова восточной *Grapholitha molesta* [339] и сливовой *G. funebrana* [337] плодоярков, совки *Trichoplusia ni* [340]. В качестве простейшей закрытой ловушки издавна использовали также разные имеющиеся в продаже картонные, металлические и пластиковые банки, стаканчики и т.п., вырезая у них частично или полностью днище. Такие ловушки применяли для отлова многих насекомых, например яблонной *Lespeyresia pomonella* и сливовой *Grapholitha funebrana* плодоярков [337, 338, 341]. Подобная ловушка (ловушка Джонсона) длительное время использовалась для отлова непарного шелкопряда *Porthetria dispar* в США [331].

Сейчас широко применяются во всем мире выпускаемые промышленностью картонные ловушки Ферокон 1С, Ферокон 2 (фирма Зоекон, США) и треугольные (дельта) ловушки (рис. 12). Ловушки Ферокон 1 [337, 339] состоят из днища (покрыто сверху клеем) и крыши одинаковой формы, соединяемых с помощью проволоки, которая служит одновременно и для подвешивания ловушки. В разобранном виде днище и крыша — сложенные вдвое плоские куски картона, перед сборкой их выгибают корытообразно. Ловушка Ферокон 2 [337, 339] в нерабочем положении плоско сложена, перед вывешиванием расправляется, приобретая форму

четырёхгранника. Треугольная ловушка собирается из плоского куска картона [342—344]. Для изготовления картонных ловушек применяют влаго- и маслоустойчивый картон. Клей на промышленные образцы ловушек наносится в процессе производства.

Из других закрытых ловушек следует отметить шатровую ловушку, которая хорошо отлавливает разных насекомых — от плодовых до совок [345, 346]. К углам жесткого квадратного дна ловушки прикреплены углами и натянута над ним с помощью центральной проволочной стойки и распорной вставки крыша из квадратного куска пленки несколько больших размеров, чем дно. Описаны и некоторые другие варианты закрытых клеевых ловушек, например двухкамерная треугольная [347] и ловушка из двух согнутых пополам листов картона, соединенных углами так, что линии сгиба перпендикулярны [348].

В закрытых ловушках клеевая поверхность в определенной степени защищена от попадания дождя и сора, а улов — от расклеивания птицами.

Важнейшим компонентом клеевых ловушек является клей. Он должен длительное время оставаться липким, не бояться влаги, быть удобным для нанесения, не стекать с поверхностей, на которые нанесен, и т.д. Он также должен быть нейтральным по отношению к насекомым (не отпугивать и не привлекать их). Некоторые сорта клея могут привлекать посторонних насекомых, например мух [349], что ведет к преждевременной потере уловистости из-за загрязнения клея. При загрязнении клей счищают и заменяют. В ряде ловушек, например Ферокон 1, заменяется новым днице, смазанное клеем. При массовых отловах для нанесения клея в ловушки, для отмывки ловушек от клея и сбора насекомых применяют специальные устройства [46, 350, 351].

Жидкостные ловушки. В жидкостных ловушках приманку подвешивают над поверхностью жидкости (вода с детергентами, масла и т.п.), налитой в разной формы сосуды. Для защиты от дождя над сосудом устанавливается крыша. Привлеченные приманкой насекомые тонут в жидкости, для удобства извлечения их в сосуд вставляют сетчатый вкладыш. Такие ловушки применяли для отлова многих насекомых, например совок *Diparopsis castanea* [330] и *Spodoptera littoralis* [352], гороховой плодовой жорки *Cydia nigricana* [353] и хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* [104].

Электроубивающие ловушки. Система параллельных электродов (проволока, стержни), расположенных вкруговую или иным образом, к которым подведено электрическое напряжение в несколько киловольт, вместе с расположенным внизу сборником насекомых (например, воронкой) составляют ловушку такого типа. Прикоснувшись к электродам, насекомые тут же погибают от электрического разряда и падают в сборник. Такие ловушки эффективно отлавливают самых разных насекомых, в частности совок, бражников [354] и стеклянниц [333, 355].

Ловушки с воронкой на входе. Наиболее простая ловушка такого типа — горизонтально расположенная труба с воронками с обоих концов (рис. 12). Воронки обычно изготавливаются из сетки. Привлекаемые феромоном насекомые через отверстие в воронке попадают внутрь и не могут выйти. Такие ловушки используются для отлова разных насекомых, которые способны входить в воронку, в частности совок и огневков [356, 357]. Важный параметр таких ловушек — диаметр входного отверстия воронки: оптимум, полученный в опытах на совках и огневке *Loxostege chortalis*, составляет примерно двукратную ширину груди бабочки. До определенных пределов улов возрастал пропорционально сечению потока воздуха через ловушку. Ловушка с одной воронкой, поворачивающаяся на оси

по ветру, ловила столько же бабочек, что и с двумя воронками, сориентированная таким же образом [357]. Ловушки этого типа могут иметь большее число входов, например четыре, направленные в разные стороны [358].

В последнее время, особенно для отлова совок, получают все большее распространение ловушки, представляющие вертикально расположенные основанием вниз крупного размера (диаметр основания около 50 см) воронки из проволочной сетки [359—361] (рис. 12). Они являются развитием (в сторону упрощения) более сложной ловушки, в которой были четыре горизонтальные входные воронки и над ними большая вертикальная, помещенные в вертикальный металлический цилиндр, закрытый сверху сеткой [340]. В последующем входные воронки были заменены двумя соединенными накрест пластинами органического стекла и сетка вверху оргстеклом [362], а затем была оставлена одна вертикальная воронка, на которой был установлен сверху сборник насекомых [359]. В некоторых вариантах сохранялась крестовина из оргстекла [360]. Затем в эту ловушку была добавлена внизу вторая (внутренняя) воронка с большим отверстием (порядка 25 см), что значительно увеличило уловистость [361]. Приманка помещается по оси воронки на несколько сантиметров выше основания. Привлеченное приманкой насекомое залетает снизу под воронку, убедившись в "обмане", оно пытается улететь, взмывает вверх (очевидно, ориентируясь на свет неба) и, направляемое воронкой, попадает в сборник. Внутренняя воронка не позволяет уйти бабочкам, если они не попали в сборник с первой попытки. Ловушка сравнительно проста по конструкции и дешева, устойчива к непогоде — переносит ветер до 80 км/ч [361].

Предложен еще один вариант такой ловушки в виде наклонной четырехгранной пирамиды с одной боковой стенкой из сетки. Благодаря крылу, ловушка всегда ориентируется, поворачиваясь на оси, сетчатой гранью к ветру [363]. Однако эта ловушка сложнее описанной выше и разрушалась уже при ветре около 40 км/ч [361].

К вороночным ловушкам вертикального типа относятся некоторые ловушки для хлопкового долгоносика *Anthonomus grandis* (ловушки Легета). Воронки в этих ловушках небольшие и насажены на перевернутые сосуды из пластика типа цветочного горшка. Привлеченные долгоносики садятся на выкрашенный яркой желтой краской сосуд и заползают под воронку и далее в прозрачный пластиковый сборник на ее вершине [334, 364].

В вертикальных вороночных ловушках одним из действующих на поведение насекомого факторов является свет. Иногда этот фактор используют и в горизонтальных вороночных ловушках. В боковых гранях картонной треугольной ловушки с воронкообразными входами для непарного шелкопряда *Porthetria dispar* делают вырезы, закрывая их прозрачной пленкой. Свет, проникающий через эти "окна", отвлекает бабочек от сравнительно небольших отверстий в воронках [343, 365].

Инсектицидные ловушки. Иногда в ловушки, подобные описанным выше треугольным с воронками для шелкопряда, помещают инсектицид с фумигантными свойствами, в частности дихлорфос в полимерной композиции, обеспечивающей его длительное выделение. Пары инсектицида быстро убивают бабочек, не давая им возможности уйти, благодаря чему улов дополнительно увеличивается [343, 365].

Для отлова короедов обрабатывают бревна или стоящие деревья, на которые помещают приманку, контактными инсектицидами. Жуков собирают в подставленные снизу воронки, на натянутые полотнища синтетической пленки и т.п. [366, 367].

Для отлова хлопковой моли *Pectinophora gossypiella* оказалась более эффективной, чем жидкостная ловушка, сухая ловушка, представляющая пластиковый контейнер без дна диаметром 16 см, к которому прикреплен полиэтиленовый мешок длиной 60 см. Контейнер и мешок после предварительного увлажнения посыпаны инсектицидом — дустом диазинона [104]. Подобная ловушка хорошо ловит и совку *Spodoptera littoralis* [368]. Вариант ловушки (контейнер с воронкой, посыпанной тальком, в верхней части контейнера, и с инсектицидом внутри) эффективно отлавливал совок *Earias insulana*, *Heliothis armigera* и *S. littoralis* [369].

Разные ловушки и другие устройства. Совку *Spodoptera litura* хорошо отлавливала ловушка с "дверцами" [370]. На входах в коробку из пластика легкие перфорированные дверцы, отклоняющиеся внутрь снизу вверх и удерживаемые в закрытом состоянии под действием их веса. Дверцы немного коротковаты и снизу под ними щели. Привлеченный феромоном samec просовывает голову в щель и, открывая дверцу, попадает внутрь.

Для отлова короедов и других жуков применяют ловушки типа "окно". Привлеченный запахом жук на ходу ударяется в прозрачное и по-видимому, незаметное для него препятствие — лист стекла, оргстекла и т.п., и падает в сборник внизу [367, 371]. Препятствие часто делают в виде перпендикулярно пересекающихся поверхностей. Иногда используют и непрозрачные материалы, жуки падают в сборник при неудачной посадке или соскальзывают при ползании [372, 373]. Ловушками для короедов служат также пластиковые цилиндры, иногда гофрированные, с многочисленными отверстиями, через которые могут проникать внутрь короеды, но не проходят их хищники. Попавшие внутрь трубы жуки соскальзывают вниз в приемник [374, 375].

Предложен ряд ловушек, в которых возможен автоматический учет улова за определенные промежутки времени. В одной из них над диском, смазанным клеем, вращается защитный диск с отверстием, над которым укреплена приманка [376], в другой мимо отверстия перемещается лента, смазанная клеем [377], в третьей на круглом горизонтальном столе размещены по кругу ловушки типа Ферокон 1С, а на оси в центре насажена планка с приманкой на конце. Через заданный промежуток времени приманка перемещается в новую ловушку [378]. Описаны и другие подобные конструкции [379]. Привод ловушек обычно осуществляется под действием груза, подвешенного через блок, перевод из одного фиксированного положения в другое — спусковым устройством с соленоидом, управляемым реле времени.

Чтобы учесть насекомых, подлетающих к приманке, не обязательно их отлавливать. Разработано ультразвуковое устройство для обнаружения и подсчета насекомых, подлетающих к феромонной приманке (содар). Оно показало свою эффективность в наблюдениях за совкой *Heliothis virescens* [380]. В будущем устройства, подобные описанному, в сочетании с радиотелеметрией могут служить для дистанционного надзора за насекомыми.

Для подвешивания ловушек в лесу в краях деревьев предложено использовать арбалет, страла которого может переносить через ветви рыболовную леску. С помощью лески можно поднять ловушку [381].

Общая оценка феромонных ловушек. Очевидно, что ловушка сможет отлавливать насекомых только тогда, когда ее конструкция в той или иной степени соответствует формам поведения, проявляемым насекомыми при подходе к феромонной приманке. На ориентацию подлетающего к ловушке насекомого может влиять то, каким образом конструкция рассеивает струю феромона от приманки, какую форму имеет струя и

насколько эта форма отвечает поисковому поведению насекомого. Например, отмечено, что узкая струя из треугольной ловушки более эффективна в привлечении плодовой мушки *Cydia nigricana*, чем широкая, размытая [382]. На некотором расстоянии от ловушки насекомое может воспринимать ловушку с помощью зрения, в этом случае форма и особенно окраска ловушки могут влиять на улов. Так, улов японского жука *Popillia japonica* в ловушки с самками зависел от цвета ловушек: в желтые ловушки попадало почти в 2 раза больше жуков, чем в синие [373, 383]. Листовертка *Argyrotaenia velutinana* лучше отлавливалась в черные ловушки по сравнению с белыми [81], стеклянницы *Synanthedon pictipes* и *S. exitiosa* также предпочитают темные цвета [384]. Конструкция ловушки может влиять на концентрацию феромона внутри ловушки, и насекомое может не залезать в закрытую ловушку, как это отмечено у яблонной плодовой мушки, из-за слишком высокой концентрации феромона [385]. На уловистость ловушек могут влиять особенности полета насекомого, поведение при посадке после подлета, способность так или иначе отвечать на различные раздражители в состоянии полового возбуждения и т.п. Одни насекомые летают быстро, делают резкие броски из стороны в сторону, полет других более медленный и плавный. Некоторые насекомые пытаются подлететь к самому источнику феромона, другие при наличии подходящей поверхности садятся и приближаются к нему по субстрату. Самцы ряда насекомых, как, например, совок, стремясь к источнику феромона, способны преодолевать различные препятствия — "открывать" дверцы, пролезать в небольшие отверстия в вороночных ловушках. Но другие насекомые преодолевают подобные препятствия с трудом, что продемонстрировано в опытах с шелкопрядом *Porthetria dispar*, который гораздо лучше отлавливается открытыми клейевыми ловушками [331]. По-разному на разные виды насекомых влияет наличие крыши — улов совки *Trichoplusia ni* сильно увеличивается в ловушке с крышей [340], а улов совки *Diparopsis castaneana* также резко падает [330]. В таких ловушках, как клейевые или электрорубающие, улов зависит от площади действующей поверхности ловушки. Например, улов листовертки *Cydia nigricana* в клейевых ловушках возрастал при увеличении площади клея с 45 см² до 180 см², а затем до 720 см² не изменялся [386], улов совки *Spodoptera frugiperda* в клейевые и электрорубающие ловушки возрастал пропорционально их поверхности [387]. На улов может влиять направленность ловушек. Многие из них в той или иной степени направлены, например у двувороночных горизонтальных ловушек входные отверстия имеются только с двух противоположных сторон. Уловы яблонной плодовой мушки *Laspeyresia pomonella* в ловушки Ферокон 1С, расположенные параллельно преобладающему в вечерние часы направлению ветра, были в 4 раза больше, чем в такие же ловушки, расположенные перпендикулярно ветру [388]. Между тем в эту ловушку яблонная плодовая мушка может попадать со всех сторон, только сбоку щель между днищем и крышей несколько уже.

Степень соответствия ловушки требованиям человека может быть описана рядом параметров. Одним из них является эффективность или уловистость. Абсолютная эффективность определяется долей отлова от всех привлеченных приманкой насекомых, относительная — определяется в сравнении с другими ловушками. Ловушки никогда не отлавливают всех приблизившихся к ним насекомых, а только единицы — десятки процентов их, как это обнаружено, например, в наблюдениях за непарным шелкопрядом *Porthetria dispar* [331]. Ловушки Лерета отлавливали около 50% привлеченных особей хлопкового долгоносика *Anthonomus grandis* [389]. Относительная эффективность разных ловушек сильно

различается. Данных такого рода в литературе очень много, но останавливаться на них нет смысла, так как не существует "лучшей" ловушки „вообще“, а могут быть оптимальные ловушки для отдельных видов. Насекомые разных видов по-разному реагируют на одинаковые ловушки. Конструкция ловушек (прямоугольная коробка, цилиндр, призма, Феротрап 1, Сектар 1) и их размеры (высота, ширина, длина, поперечное сечение, площадь клеевой поверхности) не оказывали большого влияния на улов восточной плодоярки *Grapholitha molesta* [25]. Но улов листовок *Platynota idaeusalis* и *Argyrotaenia velutinana* в ловушку Феротрап был в три—пять раз больше, чем в Сектар [390]. В принципе наиболее эффективными для многих видов могут быть при соответствующей конструкции электроубивающие и клеевые ловушки.

Возможность применения ловушки для отлова насекомых разных видов — это уже другая характеристика ловушки, специфичность. Наименее специфичны клеевые (особенно открытые варианты) и электроубивающие ловушки. Они отлавливают всех насекомых, которые к ним прикаснутся, здесь зависимость от поведения насекомых минимальна — достаточно, чтобы они приблизились вплотную к поверхности ловушек. В связи с этим такие ловушки могут применяться для отлова самых разных насекомых, и это подтверждает практика использования ловушек. Эти ловушки наиболее пригодны в начальный момент работы, когда поведение насекомого недостаточно изучено или привлекающее вещество еще не совсем отработано и не обладает полной эффективностью. С другой стороны, неспецифичность имеет и отрицательную сторону. Например, насекомые могут попадать в клеевые ловушки в значительном количестве даже при отсутствии приманки для них из-за активности, не связанной с привлечением на феромон [332, 391]. В связи с этим встает задача отделить привлеченных насекомых от попавших случайно. Если посторонние виды близки к привлекаемым приманкой морфологически, то необходима идентификация каждой пойманной особи, что бывает трудоемко, особенно когда насекомые испачканы клеем. Клеевые ловушки, кроме насекомых, нередко отлавливают птиц и летучих мышей [372].

Стабильность уловистости во времени — еще один важный параметр ловушки. Клеевые ловушки относятся к наименее стабильным из-за ухудшения действия клея со временем. Качество липкой поверхности ухудшается, как это показано в опытах с яблонной плодояркой *Laspeygesia rotundella*, из-за загрязнения ее чешуйками и другими частями бабочек, пылью, а особенно из-за удаления части клея вместе с бабочками [79, 392]. Даже обработка почвы (например, культивация), при которой поднимается пыль, может ухудшить уловистость ловушек. Уловистость клеевых ловушек может быть нестабильна во времени и по другой причине — из-за ограниченной емкости ловушек. На клеевой поверхности может поместиться определенное количество насекомых, и отлов каждого снижает возможность отлова последующих. Из-за этого в опытах с хлопковой молью *Pectinophora gossypiella* уловы в масляные ловушки верно отражали численность вредителя при разной его численности, а в клеевые — только при низкой. При отлове более 50 бабочек уловистость клеевых ловушек снижалась [393]. Свой вклад в нестабильность могут вносить, по-видимому, и такие свойства ловушки, как направленность, подверженность действию осадков и т.п. Например, уловистость направленных ловушек может изменяться с переменной направления ветра, клеевые ловушки могут при попадании на клей дождевой воды некоторое время отлавливать насекомых значительно хуже. Неклеевые ловушки в целом гораздо стабильнее клеевых.

Важно и такое свойство ловушек, как удобство в работе. Клеевые

ловушки по этому показателю не относятся к самым лучшим. Требуя существенных затрат времени извлечение насекомых из клея, особенно если их нужно сберечь для определения, а также уход за клеевой поверхностью с целью сохранения ее липкости. При этом очень трудно не испачкаться клеем. Клеевые ловушки сложно использовать повторно. Однако клеевые картонные ловушки являются пока самыми распространенными, так как все их отрицательные качества перевешивают простота конструкции и дешевизна.

Конструкция ловушки — результат компромисса между разноречивыми требованиями к ее свойствам. Для достижения оптимума в этом компромиссе необходимы специальные исследования ловушек и на их основе — отработка конструкции. Однако до сих пор таких исследований очень мало, преобладает чисто эмпирический подход.

Выбор места установки ловушек. Для каждого вида насекомого должны быть определены оптимальная высота ловушки над землей и ее положение относительно растений, а также оптимальное расположение на местности.

Высота ловушки и положение относительно растений зависят от того, где у данного вида имеет место феромонная связь, где наиболее часто сидят самки в призывной позе, выделяя феромон, и где летают самцы в их поисках. В литературе много данных о высоте над землей, на которой улов в ловушки максимален. Например, на полях арахиса ловушки на высоте 1,2 м над землей ловили существенно больше самцов совки *Spodoptera frugiperda*, чем на высоте 0,7 и 0,5 м [387]. Улов моли *Plutella xylostella* на высоте 0,3 м составил 151 особь, а на высоте 0,9 и 1,5 м — восемь и одну особь соответственно [281].

Самки многих бабочек, развивающихся на травянистой растительности, выделяя феромон, сидят в верхней части растений, поэтому самцы летают над самой растительностью, здесь же следует устанавливать ловушки. Высота расположения ловушек должна определяться, как правило, не относительно земли, а относительно растений. Это продемонстрировано в опытах с яблонной плодовой галкой *Laspeyresia pomonella*, в которых улов был наибольшим в верхней части крон деревьев [394]. При вывешивании ловушек на деревьях на улов может влиять также положение относительно сторон света и относительно ствола (снаружи или внутри кроны) [388, 394].

Высота лёта насекомых может зависеть от сезона и скорости ветра. Во время весеннего лёта долгоносик *Anthonomus grandis* отлавливался в наибольшем числе на меньшей высоте, чем во время осенней миграции [395]. При ветре более 2 м/с наибольшие уловы плодовой галки *Cydia nigricana* были у земли, а при меньшей скорости ветра — над стеблестоем [396]. Это также надо учитывать при установке ловушек или интерпретации уловов.

У некоторых насекомых самцы в поисках полового партнера, по-видимому, сначала ориентируются на кормовое растение, а уже на близком расстоянии разыскивают самку по выделяемому ею феромону [397]. Обнаружение кормового растения может осуществляться как с помощью обоняния, так и с помощью зрения. Выше было указано на существование обусловленного запахом феромона привлечения к некоторым зрительным ориентирам. Такая ориентация может происходить и без действия феромона. Это ведет к необходимости изучения влияния на улов положения ловушки относительно разных предметов на местности, особенно кормовых и других растений.

Многие насекомые в имагинальной фазе слобны к тем или иным миграциям, к образованию скоплений под воздействием разных факторов

среды. Поэтому насекомые распределяются по площади неравномерно, и улов ловушек зависит от их размещения. Так, ловушки, расположенные на 25 м в глубь поля, ловили существенно больше самцов совки *Spodoptera frugiperda*, чем ловушки на краю поля или внутри поля на расстоянии 50 м от его края [387]. В лесу в некоторых участках может, по-видимому, создаваться такое движение воздушных потоков, которое в определенных условиях неблагоприятно для феромонной связи [240]. Как миграции насекомых, так и влияние состояния атмосферы на феромонные связи пока изучены недостаточно. Поэтому единственной рекомендацией в большинстве случаев может быть наскопкo, возможно единообразное по отношению ко всем особенностям местности размещение ловушек.

Построение полевых тестов с использованием ловушек. Использование всех данных о воздействии тех или иных факторов на улов может повысить достоверность тестов в ловушках. Однако, несмотря на все принимаемые меры, всегда остается значительная неопределенность в отношении численности и особенностей размещения насекомых в месте проведения опыта. Влияние этой неопределенности тем больше, чем больше число сравниваемых вариантов, так как для размещения ловушек требуется большая территория.

Для сравнения различных приманок наиболее часто ловушки устанавливают на расстоянии 10–20 м друг от друга. Это позволяет снизить влияние неоднородности численности, в то же время при таком расположении обслуживание ловушек требует меньше времени. Однако такое размещение вызывает возражения по той причине, что ловушки при малом расстоянии конкурируют между собой за насекомых [398]. Если ловушки располагаются в линию или группами, то ловушки в середине отлавливают меньше насекомых [399, 400]. В этих условиях могут быть получены другие цифры, чем без конкуренции, как это показано в опытах с хлопковым долгоносиком *Anthonomus grandis*, где сравнивали разную высоту ловушек над землей, их цвет, конструкцию и разные приманки [401]. В условиях конкуренции наблюдается тенденция к преувеличению различий между испытываемыми вариантами [398].

Расстояние, на котором отмечается конкуренция, и ее сила зависят от того, что сравнивается, от вида насекомого, его численности, направления ветра по отношению к ловушкам и т.п. [399, 400–402]. У плодовой мушки *Cydia nigricana* конкуренция отмечалась на расстоянии 200 м при расположении линии ловушек вдоль направления ветра и 100 мкг аттрактанта в приманке [399]. В опытах с яблонной плодовой мушкой *Laspeyresia pomonella* установлено влияние ловушек друг на друга при площади на одну ловушку 7 га (минимум 5–6 га) [392].

В определенной степени преодолеть влияние одного и другого неблагоприятных факторов помогает правильное построение эксперимента. Используются в зависимости от конкретных условий и возможностей экспериментаторов различные схемы экспериментов: полная рендомизация, рендомизированные блоки, парные сравнения, латинский квадрат и т.п. [398, 402, 403]. При полной рендомизации для получения удовлетворительных результатов необходимо большое число повторностей [398]. Парные тесты также требуют большого числа ловушек, хотя и дают хорошие результаты [402]. Наиболее распространено построение с использованием рендомизированных блоков, в этом случае проще выбрать более или менее выравненные условия для размещения сравнительно небольшого числа ловушек одного блока. Как можно более частая повторная рендомизация (например, ежедневная) способствует преодолению неоднородности условий внутри блока, а также взаимодействия вариантов [398]. В некоторых

опытах, например со стеклянными, при использовании неингибирующих друг друга соединений подобное построение давало хорошие результаты даже при размещении блока из четырех ловушек на одном дереве [402]. Коэффициент вариации между повторностями (27%) оказался равным такому же при построении опыта по схеме латинского квадрата. Однако иногда использование рандомизированных блоков неэффективно из-за силового взаимодействия испытываемых веществ [403].

Организация эксперимента в форме обычного латинского квадрата более сложна и трудоемка (необходима большая однородная территория и много времени для обслуживания ловушек). Поэтому латинский квадрат в опытах с ловушками применяется редко. Недавно предложена до сих пор не применявшаяся в работе с ловушками схема использования латинского квадрата, которая оказалась пригодной для разных экспериментов [403]. Суть ее в том, что выбирают необходимое для испытаний вариантов число мест (например, для пяти приманок пять мест), выставляют там по ловушке с приманкой и меняют в них приманки через определенное время (например, через сутки) также пять раз (случаи). Столбцами латинского квадрата являются места, а строками — случаи. Это позволяет исключить оба основных источника варьирования — влияние местоположения ловушки и влияние особенностей случая (например, погоды). Это построение опыта позволяет решить проблемы, связанные с неравномерностью распространения насекомых и взаимным влиянием ловушек.

Во многих ловушках в опыте может не быть улова, в то время как в других он может быть значительным. Уловы менее десяти или нулевые указывают на желательность преобразования полученных данных перед вариационным анализом, например по формуле $\sqrt{(x + 0,5)}$, для устранения зависимости дисперсии от средней [398].

Обзор применения поведенческих биотестов

Поведенческие тесты в лаборатории или чаще в природе позволяют обнаружить у насекомых феромоны. Они используются также при изучении феромонов как средства коммуникации.

В принципе одними поведенческими тестами можно обойтись при выделении и идентификации феромонов. Однако целесообразнее использовать их в комбинации с ЗАГ-методом. ЗАГ-методом выявляют все компоненты, доступные для этого метода. После идентификации их синтезируют и проверяют на эффективность в поведенческих тестах в лаборатории и в поле в сравнении с живым источником феромона. При недостаточной аттрактивности синтетической приманки очевидна необходимость поиска дополнительных компонентов, не выявленных методом ЗАГ. Поведенческие методы тестирования наряду с тестированием на уровне отдельных рецепторов являются ключом к таким веществам, которые либо содержатся в феромоне в очень малом количестве и поэтому не могут вызвать ЗАГ, либо действуют на ЗАГ-неактивные рецепторы и также не дают ЗАГ. При выделении и идентификации феромонов чаще всего используют тесты в ольфактометрах, в которых можно обойтись небольшими количествами веществ.

Подходы при использовании ЗАГ- и поведенческих тестов для выделения и идентификации феромонов весьма различны. Причины различия подходов в том, что отдельные компоненты феромонов могут быть поведенчески неактивными, и для вызова реакции часто необходим весь "букет", выделяемый феромонной железой. Из-за этого приходится тестировать не только, как при ЗАГ-методе, каждую фракцию, но и комбинации фракций,

причем ни одну фракцию нельзя отбросить без тестирования в комбинации с другими. На необходимость такого тестирования комбинаций фракций указывали на основе опыта идентификации трехкомпонентного феромона кородея *Ips confusus* [404]. Поведенческие тесты позволяют найти все активные на внутривидовом уровне компоненты феромонов. Однако они трудоемки, более сложны и требуют значительного количества насекомых как для получения экстрактов, так и для самих тестов. Примером работы с использованием разных методов биотестирования, в том числе лабораторных поведенческих тестов, тестов в ловушках в полевых садах и ЗАГ-метода — является выделение и идентификация минорных компонентов четырехкомпонентного феромона листовертки *Adoxophyes* sp. [177].

Иногда стараются идентифицировать все компоненты, содержащиеся в железе или выделяемые ею, а не только активные при биоиспытании. В этом случае перед поведенческим тестированием встает задача — определить функциональное назначение идентифицированных веществ. При таком подходе роль некоторых веществ может быть установлена тестированием на ряде родственных симпатрических видов.

При изучении биологической роли и эффективности идентифицированных компонентов желез, а также веществ, обнаруженных при регистрации ЗАГ-спектров, необходим тот же подход, что и при выделении компонентов, — тестирование не только отдельных веществ, но и их смесей.

Испытание рядов синтетических веществ и их комбинаций в ловушках в природе широко используется как метод поиска аттрактантов насекомых [405, 406]. Полученные при этом данные, как и ЗАГ-спектры, создают опорную сеть для дальнейшего систематического изучения феромонов. После каждой идентификации обычно вместе с феромонами в ловушках в природе испытывают наборы веществ, родственных феромонам. Это позволяет обнаружить ингибиторы или синергисты феромонов.

При всей изощренности химического анализа наиболее объективный контроль качества синтетического феромона может быть обеспечен поведенческим биотестом. Только поведенческий биотест может сказать, есть ли необходимость очищать феромон от тех или иных примесей, которые образуются при синтезе. Поведенческое тестирование незаменимо при разработке приманок (подбор испарителя, количества и соотношения компонентов и т.п.). Выпускаемые препараты феромонов должны проверяться с помощью поведенческих биотестов. С помощью поведенческих биотестов оценивается также пригодность тех или иных конструкций ловушек. Разнообразные исследования при разработке способов применения феромонов также опираются на методы поведенческого тестирования. Возможны и другие применения биотестов. Предложено, например, отбирать высокожизнеспособных самцов тутового шелкопряда *Bombyx mori* по чувствительности к бомбиколу. Потомство самцов, "сильно" отвечающих на феромон, более жизнеспособно [407].

ЛИТЕРАТУРА

1. Shorey H.H. — In: Pheromones. Amsterdam; London: North Holland publ. company, 1974, p. 62—80.
2. Shorey H.H. — Ann. Rev. Entomol., 1973, vol. 18, p. 349—380.
3. Wood D.L., Silverstein R.M., Radin J.O. — Science, 1967, vol. 156, p. 105.
4. Kennedy J.S. — In: Chemical control of insect behavior — theory and application/ Ed. H.H.Shorey, J.J.McKelvey, jun. N.Y.: Wiley Interscience, 1977, p. 67—91.
5. Schneider D.Z. — Verh. Physiol., 1957, Bd. 40, H. 1, S. 8—41.
6. Moorhouse J.E., Yeadon R., Bee-

- vor P.S. et al. — Nature, 1969, vol. 223, N 5211, p. 1174—1175.
7. *Roelofs W.L.* — In: Crop protection agents — their biological evaluation / Ed. N.R.McFarlane. L.: Acad. press, 1977, p. 147—165.
 8. *Kaissler K.E., Priesner E.* — Naturwissenschaften, 1970, Bd. 57, H. 1, S. 23—28.
 9. *Sower L.L., Gaston L.K., Shorey H.H.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1971, vol. 64, p. 1448—1456.
 10. *Mankin R.W., Vick K.W., Meyer M.S.* et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 5, p. 919—928.
 11. *Richerson J., Cameron E.* — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 3, p. 478—481.
 12. *Sower L.L., Shorey H.H., Gaston L.K.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 4, p. 954—957.
 13. *Bjostad L.B., Gaston L.K., Shorey H.H.* — J. Insect Physiol., 1980, vol. 26, N 7, p. 493—498.
 14. *Sower L.L., Fish J.C.* — Environ. Entomol., 1975, vol. 4, N 1, p. 168—169.
 15. *Baker T.C., Cardé R.T., Miller J.R.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 4, p. 749—758.
 16. *Flint H.M., Butler L., McDonough L.M.* et al. — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 1, p. 57—61.
 17. *Marks R.J.* — Bull. Entomol. Res., 1975, vol. 66, N 2, p. 219—300.
 18. *Smith R.G., Daterman G.E., Davies G.D., jun.* et al., — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 4, p. 661—668.
 19. *Maitten J.C., McDonough L.M., Moffit H.R.* et al., — Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 1, p. 199—202.
 20. *Shorey H.H., Gaston L.K., Jefferson R.N.* — In: Advances in pest control research. N.Y.: John Wiley and Sons, 1968, vol. 8/Ed. R.L.Metcalf, p. 57—126.
 21. *Bjostad L.B., Gaston L.K., Noble L.L.* et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 4, p. 727—734.
 22. *Roelofs W., Cardé R.T., Benz G.* et al. — Experientia, 1971, Bd. 27, H. 12, S. 1438—1439.
 23. *Taschenberg E., Cardé R., Hill A.* et al. — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 1, p. 192—194.
 24. *Hill A.S., Rings R.W., Swier S.R.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 3, p. 439—458.
 25. *Rothschild G.H.L., Minks A.K.* — Entomol. exp. et appl., 1977, vol. 22, N 2, p. 171—182.
 26. *Hill A., Cardé R., Comeau A.* et al. — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 2, p. 249—252.
 27. *Gaston L.K., Shorey H.H., Saario C.A.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1971, vol. 64, N 2, p. 381—384.
 28. *Fitzgerald T.D., Clair A.D.St., Daterman G.E.* et al. — Environ. Entomol., 1973, vol. 2, N 4, p. 607—610.
 29. *Beroza M., Bierl B.A., Tardif J.G.R.* et al. — J. Econ. Entomol., 1971, vol. 4, N 6, p. 1499—1508.
 30. *Кейсер Л.С., Менчер Э.М.* — В кн.: Новые методы в защите растений. Кишинев: Штиинца, 1978, ч. 1; с. 15—20.
 31. *Butler L.I., McDonough L.M.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 5, p. 825—827.
 32. *Beroza M., Paszak E.C., DeVilbiss D.* et al. — Environ. Entomol., 1975, vol. 4, N 5, p. 712—714.
 33. *Bierl-Leonhardt B.A., DeVilbiss E.D., Plimmer J.R.* — J. Econ. Entomol., 1979, vol. 72, N 3, p. 319—322.
 34. *Cross J.H., Tumlinson J.H., Heath R.E.* et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 4, p. 759—770.
 35. *Ma M., Hummel H.E., Burkholder W.E.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 3, p. 597—607.
 36. *Browne L.E., Wood D.L., Bedard W.D.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 3, p. 397—414.
 37. *Levinson H.Z., Buchelos C.Th.* — Ztschr. angew. Entomol., 1981, Bd. 92, H. 3, S. 233—251.
 38. *Meyer M.S.* — J. Insect Physiol., 1973, vol. 19, N 6, p. 1191—1198.
 39. *Kuhr R.J., Comeau A., Roelofs W.L.* — Environ. Entomol., 1972, vol. 1, N 5, p. 625—627.
 40. *Mayer M.S.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 6, p. 1191—1196.
 41. *Миуор А.В., Васильева В.С.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1979, № 4, с. 157—168.
 42. *Shorey H.H., Gaston L.K.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1965, vol. 58, N 5, p. 604—608.
 43. *Sternlicht M., Goldenberg S., Nesbitt B.F.* et al. — Phytoparasitica, 1978, vol. 6, N 3, p. 101—113.
 44. *Tatsuki S., Kurihara M., Uchiyumi K.* et al. — Appl. Entomol. and Zool., 1979, vol. 14, N 1, p. 95—100.
 45. *Borden J.H., Oehlschlager A.C., Slesor K.N.* et al. — Can. Entomol., 1980, vol. 112, N 1, p. 107—109.
 46. *Browne L.E.* — J. Chem. Ecol., 1978, vol. 4, N 3, p. 261—277.
 47. *Rudinsky J.A., Furniss M.M., Kline L.N.* et al. — Can. Entomol., 1972, vol. 104, N 6, p. 815—822.
 48. *Kaee R.S., Shorey H.H., Gaston L.K.* et al. — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 1, p. 87—89.
 49. *Grant G.G., Frech D.* — Can. Entomol., 1980, vol. 112, N 2, p. 221—223.
 50. *Shorey H.H., Gaston L.K., Saario C.A.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1967, vol. 60, N 6, p. 1541—1545.

51. *Browne L.E., Birch M.C., Wood D.L.* — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 1, p. 183—193.
52. *Coplan M.J., Brooks T.W.* — Pat. 1555554 (England).
53. *Birch M.* — Bull. Entomol. Soc. Amer., 1979, vol. 25, N 1, p. 112—115.
54. *Taschenberg E.F., Roelofs W.L.* — Environ. Entomol., 1977, vol. 6, N 5, p. 761—765.
55. *Schwalbe C.P., Paszek E.C., Webb R.E.* et al. — J. Econ. Entomol., 1979, vol. 72, N 3, p. 322—326.
56. *Brooks T.W., Doane C.C., Staten R.T.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J. Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 375—388.
57. *Iyer P.P., Yates W.E., Akesson N.B.* et al. — Trans. ASAE, 1980, vol. 23, N 4, p. 840—848.
58. *Ashare E., Brooks T.W., Swenson D.W.* — Pap. Meet. Amer. Chem. Soc., Div. Org. Coat. Plast. Chem., 1976, vol. 36, N 1, p. 453—457.
59. *Taschenberg E.F., Roelofs W.L.* — Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 4, p. 688—691.
60. *Hendricks D.E., Hartstack A.W., Shaver T.N.* — J. Chem. Ecol., vol. 3, N 5, p. 497—506.
61. *Klun J.A., Robinson J.F.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 6, p. 1337—1340.
62. *Hardee D.D., McKibben G.H., Gueldner R.C.* et al. — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 1, p. 97—100.
63. *Bull D.L., Coppedge J.R., Ridgway R.L.* et al. — Environ. Entomol., 1973, vol. 2, N 4, p. 829—835.
64. *Wolf W.W., Kishaba A.N., Howland A.F.* et al. — J. Econ. Entomol., 1967, vol. 60, N 6, p. 1182—1184.
65. *Toba H.H., Kishaba A.N., Wolf W.W.* — J. Econ. Entomol., 1969, vol. 62, N 2, p. 517—518.
66. *Goonewardene H.F.* — J. Econ. Entomol., 1970, vol. 63, N 3, p. 663—665.
67. *Hardee D.D., Wilson N.M., Mitchell F.B.* et al. — J. Econ. Entomol., vol. 64, N 6, p. 1454—1456.
68. *McKibben G.H., Hardee D.D., Davich T.B.* et al. — J. Econ. Entomol., 1971, vol. 64, N 1, p. 317—319.
69. *Hardee D.D., Graves T.M., McKibben G.H.* et al. — J. Econ. Entomol., 1974, vol. 67, N 1, p. 44—46.
70. *Sharp J.L., Cross J.H.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 6, p. 818—820.
71. *Верзунова Л.И., Бирюкова Н.Ф., Лебедева В.В.* и др. — В кн.: Феромоны в защите сельскохозяйственных культур: Тез докл. науч.-метод. совещ., 2—5 февраля 1981 г. Тарту, 1981, с. 134—135.
72. *Daterman G.E.* Synthetic sex pheromone for detection survey of European pine shoot moth. — USDA Forest Service Res. Pap., 1974, PNW-180, p. 1—12.
73. *Кейсер Л.С., Менчер Э.М., Рошка Г.К.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1980, № 5, с. 19—24.
74. *Кейсер Л.С., Рошка Г.К., Банул С.Н.* — В кн.: Биологические основы рационального использования животного и растительного мира. Рига, 1978, с. 254.
75. *Кейсер Л.С., Менчер Э.М., Вайнтрауб Ф.П.* и др. — В кн.: Новые методы в защите растений. Кишинев: Штиинца, 1980, ч. 3, с. 22—27.
76. *McKibben G.H., Gueldner R.C., Hedin P.A.* et al. — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 5, p. 1512—1517.
77. *McDonough L.M.* Insect sex pheromones: importance and determination of half-life in evaluating formulations. New York, 1978, USDA, SEA, ARR-W-1- May. 20 p.
78. *Sato Y., Nagano M., Fujiwara H.* et al. — J. Takeda Res. Lab., 1976, vol. 35, N 3/4, p. 227—234.
79. *McNally P.S., Barnes M.M.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 5, p. 538—541.
80. *Tashiro H., Gieselman M.J., Roelofs W.L.* — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 5, p. 931—934.
81. *Glass E.H., Roelofs W.L., Arn H.* et al. — J. Econ. Entomol., 1970, vol. 63, N 2, p. 370—373.
82. *Rothschild G.H.L.* — Bull. Entomol. Res., 1979, vol. 69, N 1, p. 115—127.
83. *Arn H., Dellep B., Baggiolini M.* et al. — Entomol. exp. et appl., 1976, vol. 19, N 2, p. 139—147.
84. *Johnson W.L., McKibben G.H., Rodriguez J.* et al. — J. Econ. Entomol., 1976, vol. 69, N 2, p. 263—265.
85. *Beroza M., Stevens L.J., Bierl B.A.* et al. — Environ. Entomol., 1973, vol. 2, N 6, p. 1051—1057.
86. *Cardé R.T., Trammel K., Roelofs W.L.* — Environ. Entomol., 1975, vol. 4, N 3, p. 448—450.
87. *Campion D.G., McVeigh L.J., Murilis J.* et al. — Bull. Entomol. Res., 1976, vol. 66, N 3, p. 335—344.
88. *Campion D.G.* — Pestic. Sci., 1976, vol. 7, N 6, p. 636—641.
89. *Caro J.H., Bierl B.A., Freeman H.P.* et al. — Environ. Entomol., 1977, vol. 6, N 6, p. 877—881.
90. *Thomas H.A., White J.D., Speers C.F.* et al. — J. Ga Entomol. Soc., 1975, vol. 10, N 3, p. 265—271.
91. *Fujiwara H., Sato Y., Nishi K.* — J. Takeda Res. Lab., 1976, vol. 35, N 3/4, p. 217—226.

92. *Lauren D.R.* — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 5, p. 914–916.
93. *Черничук Л.Л., Вайнтрауб Ф.П., Рошка Г.К.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1981, № 6, с. 25–28.
94. *Campion D.G., Lester R., Nesbitt B.F.* — Pestic. Sci., 1978, vol. 9, N 5, p. 434–441.
95. *Steck W.F., Beiley B.K., Chisholm M.D.* et al. — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 4, p. 732–733.
96. *Wright R.H.* — Nature, 1964, vol. 204, N 4954, p. 121–125.
97. *Вайнтрауб Ф.П., Ретунский В.Н., Кейсер Л.С.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1981, № 6, с. 80–83.
98. *Goto G., Masuoka T., Hiraga K.* — Chem. Lett., 1974, vol. 11, p. 1275–1278.
99. *Bierl B.A., Beroza M., Staten R.T.* et al. — J. Econ. Entomol. 1974, vol. 67, N 2, p. 211–216.
100. *Shani A., Klug J.T.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 5, p. 875–881.
101. *Shani A., Klug J.T.* — Phytoparasitica, 1981, vol. 9, N 1, p. 77–81.
102. *Wolf W.W., Toba H.H., Kishaba A.N.* et al. — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 4, p. 1039–1041.
103. *Solomon J.D., Dix M.E., Doolittle R.E.* — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 1, p. 39–41.
104. *Neumark S., Teich I.* — J. Environ. Sci., 1980, vol. A15, N 4, p. 307.
105. *Bruce W.A., Lum P.T.M.* — J. Ga Entomol. Soc., 1981, vol. 16, N 2, p. 227–231.
106. *Schwalbe C.P., Cameron E.A., Hall D.J.* et al. — Environ. Entomol., 1974, vol. 3, N 4, p. 589–592.
107. *Snow J.W., Raulston J.R., Guilford F.S.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1976, vol. 69, N 4, p. 751–752.
108. *Arn H.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J.Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 365–374.
109. *Миняйло В.А., Ковалев Б.Г.* — В кн.: Энтомология. М., 1973, т. 2. Итоги науки и техники, с. 124.
110. *Bollinger J.F., Shorey H.H., Gaston L.K.* — Environ. Entomol., 1977, vol. 6, N 2, p. 311–314.
111. *Miller J.R., Roelofs W.L.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 3, p. 359–363.
112. *Roelofs W.L., Cardé R.T.* — In: Pheromones/Ed. M.C. Birch. Amsterdam: North Holland publ. co, 1974, p. 96–114.
113. *Tatani Y.* — Japan Pest. Inform., 1980, vol. 37, p. 22–25.
114. *Schneider D.* — Sci. Amer., 1974, vol. 231, N 1, p. 2B–35.
115. *Schneider D.* — Science, 1969, vol. 163, N 3871, p. 1031–1037.
116. *Schneider D.* — Ann. rev. entomol., 1964, vol. 9, p. 103–122.
117. *Kaissling K.E.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J.Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 43–56.
118. *Kaissling K.E.* — In: Biochemistry of sensory functions/Ed. L.Jaenicke. B.: Springer-Verl., 1974, p. 243–273.
119. *O'Connell R.J.* — J. Gen. Physiol., 1975, vol. 65, N 1, p. 179–205.
120. *Yamada M.* — J. Physiol., 1971, vol. 214, N 1, p. 127–143.
121. *Елизаров Ю.А.* — В кн.: Биологически активные вещества в защите растений. М.: Колос, 1979, с. 58–59.
122. *Барыбкина М.Н.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1980, № 5, с. 99–107.
123. *Елизаров Ю.А., Кожина Г.В., Семенова С.А.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1978, № 3, с. 77–84.
124. *Kaissling K.E.* — In: Chemical control of insect behavior — theory and application/Ed. H.H.Shorey, J.J.McKelvey, jun. N.Y.: Wiley Interscience, 1977, p. 45–65.
125. *Boeckh J.* — In: Proc. of the 3rd Int. Symp. on Olfaction and Taste. N.Y.: Rockefeller univ. press, 1969, p. 34–51.
126. *Boeckh J., Kaissling K.E., Schneider D.* — In: Cold Spring Harbor Symp. Quantit. Biol. N.Y., 1965, vol. 30, p. 263–280.
127. *Буда В.Г.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1981, № 6, с. 30–39.
128. *Boeckh J.* — In: Olfaction and Taste. Oxfors; N.Y.: Pergamon press, 1967, vol. 2, p. 721–735.
129. *Mustaparta H.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J.Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 147–158.
130. *Minks A.K., Roelofs W.L., Schuurmans-van Dijk E.* et al. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 8, p. 1659–1665.
131. *Seabrook W.D.* — In: Chemical control of insect behavior — theory and application/Ed. H.H.Shorey, J.J.McKelvey, jun. N.Y.: Wiley Interscience, 1977, p. 15–43.
132. *Henzel R.F.* — N.Z. J. Zool., 1974, vol. 1, N 4, p. 515–522.
133. *Ross R.J., Palaniswamy P., Seabrook W.D.* — Can. Entomol., 1979, vol. 111, N 7, p. 807–816.
134. *Скиркавичюс А.В., Скиркавичене З.Ю.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1980, № 6, с. 93–98.
135. *Скиркавичюс А.В., Скиркавичене З.Ю., Аганаускайте Р.К.* и др. —

- В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1981, № 6, с. 5–15.
136. *Васильева В.С., Минор А.В., Туровская Л.А.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1979, № 4, с. 63–70.
 137. *Adler V.E.* Ann. Entomol. Soc. Amer., 1971, vol. 64, N 1, p. 300–302.
 138. *Kay R.E.* — Amer. J. Physiol., 1971, vol. 220, N 5, p. 1473–1480.
 139. *Payne T.L., Shorey H.H., Gaston L.K.* — J. Insect Physiol., 1970, vol. 16, N 6, p. 1043–1055.
 140. *Cook B.J., Shelton W.D., Staten R.T.* — Southwest J. Entomol., 1978, vol. 3, N 2, p. 141–146.
 141. *Visser J.H.* — Entomol. exp. et appl., 1979, vol. 25, N 1, p. 86–97.
 142. *Миняйло А.К., Миняйло В.А.* — В кн.: Защита растений от вредителей, болезней и сорняков. Новосибирск, 1978, с. 6–10. (Тр. Новосибир. с.-х. ин-та; Т. 116).
 143. *Birch M.C.* — In: Pheromones/Ed. M.C. Birch. Amsterdam: North Holland Publ. Co, 1974, p. 115–134.
 144. *Birch M.C.* — Nature, 1971, vol. 233, N 5314, p. 57–58.
 145. *Aihara Y., Shibuya T.* — J. Insect Physiol., 1977, vol. 23, N 6, p. 779–783.
 146. *Priesner E.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J. Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 57–71.
 147. *Priesner E.* — Ann. zool. Ecol. anim., 1979, vol. 11, N 4, p. 533–546.
 148. *Payne T.L., Dickens J.C.* — J. Insect Physiol., 1976, vol. 22, N 12, p. 1569–1572.
 149. *Payne T.L.* — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 2, p. 233–242.
 150. *Roelofs W.L.* — Ecol. Bull. Stockholm, 1980, vol. 31, p. 41–56.
 151. *Priesner E., Jacobson M., Bestmann H.J.* — Ztschr. Naturforsch. C, 1975, Bd. 30, H. 2, S. 283–293.
 152. *Struble D.L., Buser H.R., Arn H.* et al. — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 3, p. 573–584.
 153. *Schneider D., Lacher V., Kaisling K.E.* — Ztschr. vergl. Physiol., 1964, Bd. 48, H. 4, S. 632–662.
 154. *Schneider D., Kaisling K.E.* — Zool. Jb. Abt. 2, 1957, Bd. 76, H. 1, S. 223–250.
 155. *Birch M.C.* — Ecol. Entomol., 1977, vol. 2, N 1, p. 99–104.
 156. *Light D.M., Birch M.* — J. Insect Physiol., 1979, vol. 25, N 2, p. 161–168.
 157. *Nesbitt B.F., Beevor P.S., Cole R.A.* et al. — Nature. New Biol., 1973, vol. 244, N 137, p. 208–209.
 158. *Palaniswamy P., Saabrook W.D.* — J. Chem. Ecol., 1978, vol. 4, N 6, p. 649–656.
 159. *Van Der Pers J.N.C., Den Otter C.J.* — J. Insect Physiol., 1978, vol. 24, N 4, p. 337–343.
 160. *Den Otter C.J., Schuil H.A., Sander van Oosten A.* — Entomol. exp. et appl., 1978, vol. 24, N 3, p. 570–578.
 161. *Nishino C., Takayanagi H.* — Comp. Biochem. and Physiol. A, 1981, vol. 70, N 2, p. 229–234.
 162. *Payne T.L.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1971, vol. 64, N 1, p. 266–268.
 163. *Chisholm M.D., Underhill E.W., Steck W.* et al. — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 3, p. 278–282.
 164. *Tóth M., Jacob J., Novák L.* — Ztschr. angew. Entomol., 1980, Bd. 90, H. 5, S. 505–510.
 165. *Priesner E., Bogerschütz H., Altenkirch W.* et al. — Ztschr. Naturforsch. C, 1978, Bd. 33, H. 11/12, S. 1000–1002.
 166. *Kochansky J., Tette J., Taschenberg E.F.* et al. — J. Insect Physiol., 1975, vol. 21, N 8, p. 1977–1983.
 167. *Priesner E.* — Ztschr. Naturforsch. C, 1980, Bd. 35, H. 11/12, S. 990–994.
 168. *Underhill E.W., Steck W.F., Chisholm M.D.* — Can. Entomol., 1977, vol. 109, N 10, p. 1335–1340.
 169. *Steck W., Underhill E.W., Chisholm M.D.* et al. — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 6, p. 1126–1128.
 170. *Rudinsky J.A., Ryker L.C.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 1, p. 193–201.
 171. *Steck W., Underhill E.W., Chisholm M.D.* — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 5, p. 603–612.
 172. *Steck W., Underhill E.W., Chisholm M.D.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 5, p. 583–585.
 173. *Hill A.S., Berisford C.W., Brady U.E.* et al. — J. Chem. Ecol., 1981, vol. 7, N 3, p. 517–528.
 174. *Silk P.J., Tan S.H., Wiesner C.J.* et al. — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 5, p. 640–644.
 175. *Struble D.L., Arn H., Buser H.R.* et al. — Ztschr. Naturforsch. C, 1980, Bd. 35, H. 1/2, S. 45–48.
 176. *Tamaki Y., Noguchi H., Sugie H.* et al. — Appl. Entomol. and Zool., 1979, vol. 14, N 1, p. 101–113.
 177. *Tamaki Y.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J. Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 169–180.
 178. *Schneider D., Kafka W.A., Beroza M.* et al. — J. Comp. Physiol., 1977, vol. 113, N 1, p. 1–15.
 179. *Den Otter C.J.* — J. Comp. Physiol., 1977, vol. 121, N 2, p. 205–222.
 180. *Payne T.L., Finn W.E.* — J. Insect Physiol., 1977, vol. 23, N 7, p. 879–881.

181. *Roelofs W.L., Comau A.* — J. Insect Physiol., 1971, vol. 17, N 10, p. 1969–1982.
182. *Kaissling K.E., Kasang G., Bestmann H.J.* et al. — Naturwissenschaften, 1978, Bd. 65, H. 7, S. 382–384.
183. *McDonough L.M., Kamm J.A., Bierl-Leonhardt B.A.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 3, p. 565–572.
184. *Sanders C.J.* — Can. Entomol., 1980, vol. 112, N 5, p. 525–527.
185. *Ritter F.J.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J.Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 1–15.
186. *Скиркавичюс А.В.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1979, № 4, с. 147–150.
187. *Voeckh J.* — Ztschr. vergl. Physiol., 1962, Bd. 46, H. 1, S. 212–248.
188. *Priesner E., Bestmann H.J., Vostrowsky O.* et al. — Ztschr. Naturforsch. C, 1977, Bd. 32, H. 11/12, S. 979–991.
189. *Kafke W.A., Neuwirth J.* — Ztschr. Naturforsch. C, 1975, Bd. 30, H. 2, S. 278–282.
190. *Descoins C., Priesner E., Gallois M.* et al. — C. r. Acad. sci., D, 1978, vol. 286, N 1, p. 77–80.
191. *Voeckh J.* — In: Pheromones and defensive secretions in social insects/Ed. C.Noiret et al. Dijon, 1975, p. 155–172.
192. *Kamm J.A., McDonough L.M.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 6, p. 795–797.
193. *Saglio P., Priesner E., Descoins C.* et al. — C. r. Acad. sci. D., 1977, vol. 284, N 20, p. 2007–2010.
194. *Миняйло В.А., Ковалев Б.Г., Конюхов В.П.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1978, № 3, с. 103–106.
195. *Priesner E.* — Ztschr. vergl. Physiol., 1968, Bd. 61, H. 2, S. 263–297.
196. *Gaston L.K., Payne T.L., Takahashi S.* et al. — In: Proc. of the 4th Internat. Symp. on Olfaction and Taste, Seewiesen, Germany, 1971/Ed. D.Schneider. Stuttgart: Wiss. Verl., 1972, p. 167–173.
197. *Schneider D., Lange R., Schwarz F.* et al. — Oecologia, 1974, vol. 14, N 1, p. 19–36.
198. *Kafka W.A.* — Ann. N.Y. Acad. Sci., 1974, vol. 237, p. 115–128.
199. *Shorey H., Gaston L., Kaas R.* — Amer. Chem. Soc. Symp. Ser., 1976, vol. 23, p. 64–74.
200. *Gothilf S., Kehat M., Jacobson M.* et al. — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 1, p. 31–35.
201. *Tumlinson J.H.* — In: Chemical ecology: odour communication in animals/Ed. F.J.Ritter. Amsterdam: Elsevier/North Holland, 1979, p. 301–311.
202. *Struble D.L., Swails G.E.* — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 2, p. 384–386.
203. *Cardé R.T., Roelofs W.L.* — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 2, N 1, p. 143–149.
204. *Schweitzer E.S., Sanes J.R., Hildebrand J.G.* — J. Insect. Physiol., 1976, vol. 22, N 7, p. 955–960.
205. *Скиркавичюс А.В., Скиркавичене З.Ю.* — 8 кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1978, № 3, с. 61–68.
206. *Скиркавичюс А.В., Скиркавичене З.Ю.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1979, № 4, с. 23–43.
207. *Seabrook W.D., Hirai K., Shorey H.H.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 4, p. 587–594.
208. *Adler V.E.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1978, № 3, с. 57–60.
209. *Palaniswamy P., Sivasubramanian P., Seabrook W.D.* — J. Insect Physiol., 1979, vol. 25, N 7, p. 571–574.
210. *Приставако В.П., Чайке В.Н.* — Докл. АН УССР. Б, 1976, № 7, с. 650–653.
211. *Adler V.E.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1975, № 2, с. 43–48.
212. *Wall C., Greenway A.R., Burt P.E.* — Physiol. Entomol., 1976, vol. 1, N 2, p. 151–157.
213. *Levinson H.Z., Levinson A.R., Müller V.* et al. — J. Insect Physiol., 1974, vol. 20, N 10, p. 1231–1248.
214. *Миняйло В.А., Ковалев Б.Г., Бедный В.Д.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1978, № 3, с. 97–101.
215. *Шупелова Т.С.* — В кн.: Термиты. М.: Изд-во МГУ, 1979, с. 91–96. (Сб. ст. Тр. энтомот. сектора; Вып. 9).
216. *Borden J.H.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1968, vol. 61, N 1, p. 10–12.
217. *Angst M.E., Lanier G.N.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 1, p. 131–140.
218. *Nishino C., Takeyanagi H.* — Appl. Entomol. and Zool., 1979, vol. 14, N 3, p. 326–332.
219. *Payne T.L.* — Experientia, 1974, vol. 30, N 3, p. 509–510.
220. *Васильева В.С., Мунор А.В.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1975, № 2, с. 239–244.
221. *Шерман Л.В.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. 1978. Вильнюс, № 3, с. 153–157.
222. *Bjostad L.B., Roelofs W.L.* — Physiol. Entomol., 1980, vol. 5, N 4, p. 309–314.
223. *Ando T., Koshihara T., Yamada H.* et al. — Appl. Entomol. and Zool., 1979, vol. 14, N 3, p. 362–364.
224. *Приставако В.П., Шерман Л.В.* — Зоол. журн., 1976, т. 55, № 1, с. 52–56.

225. *Приставка В.П., Чайка В.Н., Дегтярев Б.Г.* — Докл. АН СССР, 1976, т. 228, № 4, с. 999—1000.
226. *Fletcher B.S.* — In: Chemical control of insect behavior — theory and application/Ed. H.H.Shorey, J.J.McKelvey, jun. N.Y.: Wiley Interscience, 1977, p. 129—148.
227. *Borden J.H.* — In: Chemical control of insect behavior — theory and application/Ed. H.H.Shorey, J.J.McKelvey, jun. N.Y.: Wiley Interscience, 1977, p. 169—200.
228. *Bartell R.J.* — In: Chemical control of insect behavior — theory and application/Ed. H.H.Shorey, J.J.McKelvey, jun. N.Y.: Wiley Interscience, 1977, p. 201—214.
229. *Jacobson M.* Insect sex pheromones. N.Y.; L.: Acad. press, 1972. 382 p.
230. *Wright R.H.* — Can. Entomol., 1958, vol. 90, N 1, p. 81—89.
231. *Hagstrum D.W., Davis L.R., jr.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 5, p. 589—592.
232. *Murlis J., Bettany B.W.* — Nature, 1977, vol. 268, N 5619, p. 433—435.
233. *Farkas S.R., Shorey H.H.* — In: Pheromones/Ed. M.C.Birch. Amsterdam; London: North Holland publ. co., 1974, p. 81—95.
234. *Jones O.T., Lomer R.A., Howse P.E.* — Physiol. Entomol., 1981, vol. 6, N 2, p. 175—181.
235. *Купрессова В.Б., Орлов В.М., Нукельшина М.П. и др.* — В кн.: Хемо-рецепция насекомых. Вильнюс, 1981, № 6, с. 90—96.
236. *Baker T.C., Roelofs W.L.* — Environ. Entomol., 1981, vol. 10, N 2, p. 211—218.
237. *Kennedy J.S., Marsh D.* — Science, 1974, vol. 184, N 4140, p. 999—1001.
238. *Cardé R.T., Hagaman T.E.* — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 3, p. 475—484.
239. *Farkas S.R., Shorey H.H.* — Science, 1972, vol. 178, N 4056, p. 67—68.
240. *Fares Y., Sharpe P.J.H., Magnuson C.E.* — J. Theor. Biol., 1980, vol. B4, N 2, p. 335—359.
241. *Bossert W.H., Wilson E.O.* — J. Theor. Biol., 1963, vol. 5, N 3, p. 443—469.
242. *Farkas S.R., Shorey H.H., Geston L.K.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1974, vol. 67, N 4, p. 633—638.
243. *Brown E.S.* — Proc. Roy. Entomol. Soc. London A, 1970, vol. 45, N 1/3, p. 39—43.
244. *Kennedy J.S., Ludlow A.R., Sanders C.J.* — Nature, 1980, vol. 288, N 5790, p. 475—477.
245. *Priesner E.* — In: Proc. 3rd Intern. Symp. Olfaction and Taste/Ed. C.Pfaffmann. N.Y.: Rockefeller Univ. press, 1969, p. 235—240.
246. *Richerson J.V., Brown E.A., Cameron E.A.* — Can. Entomol., 1976, vol. 108, N 4, p. 439—448.
247. *Cardé R.T., Baker T.C., Roelofs W.L.* — J. Chem. Ecol., 1975, vol. 1, N 4, p. 475—491.
248. *Cardé R.T., Baker T.C., Roelofs W.L.* — Nature, 1975, vol. 253, N 5490, p. 348—349.
249. *Obara Y.* — Appl. Entomol. and Zool., 1979, vol. 14, N 1, p. 130—132.
250. *Castroville P.J., Cardé R.T.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1980, vol. 73, N 1, p. 100—105.
251. *Shorey H.H., Farkas S.R.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 6, p. 1213—1214.
252. *Baker T.C., Cardé R.T.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1979, vol. 72, N 1, p. 173—188.
253. *Colwell A.E., Shorey H.H.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1975, vol. 68, N 1, p. 152—156.
254. *Shorey H.H.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1964, vol. 57, N 3, p. 371—377.
255. *Benz G.* — Experientia, 1973, vol. 29, N 5, p. 553—554.
256. *Shimizu K., Tamaki Y.* — Appl. Entomol. and Zool., 1980, vol. 15, N 2, p. 140—150.
257. *Shorey H.H., Gaston L.K.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1970, vol. 63, N 3, p. 829—832.
258. *Hidaka T.* — Appl. Entomol. and Zool., 1972, vol. 7, N 3, p. 116—132.
259. *Chaudhury M.F.B., Ball H.J., Jones C.M.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 3, p. 607—612.
260. *Determan G.E.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 1, p. 119—123.
261. *Ono T.* — Physiol. Entomol., 1979, vol. 4, N 4, p. 371—376.
262. *Grant G.G.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1981, vol. 74, N 1, p. 100—105.
263. *Ono T.* — Naturwissenschaften, 1977, Bd. 64, H. 3, S. 386.
264. *McDonough L.M., Kamm J.A.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 2, p. 211—219.
265. *Coffelt J.A., Vick K.W., Sower L.L.* et al. — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 4, p. 587—590.
266. *McDonough L.M., George D.A., Butt B.A.* et al. — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 1, p. 108—109.
267. *Brady U.E., Ganyard M.C., jr.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 4, p. 898—899.
268. *Sekul A.A., Sparks A.N.* — J. Econ. Entomol., 1967, vol. 60, N 5, p. 1270—1272.

269. *Jacobson M., Redfern R.E., Jones W.A.* et al. — Science, 1970, vol. 170, N 3957, p. 542–543.
270. *Mitchell E.R., Doolittle E.R.* — J. Econ. Entomol., 1976, vol. 69, N 3, p. 324–326.
271. *Bartell R.J., Shorey H.H.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1969, vol. 62, N 5, p. 1206–1207.
272. *Shorey H.H.* — In: Sex pheromones of Lepidoptera — control of insect behavior by natural products/ Ed. D.L. Wood et al. N.Y.: Acad. press, 1970, p. 249–284.
273. *Kennedy J.S.* — In: Chemical control of insect behavior — theory and application/ Ed. .i.H. Shorey, J.J. McKelvey, jun. N.Y.: Wiley Interscience, 1977, p. 215–229.
274. *Baker T.C., Cardé R.T.* — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 5, p. 956–968.
275. *Giannakakis A., Fletcher B.S.* — Can. Entomol., 1978, vol. 110, N 2, p. 125–129.
276. *Brady U.E., Daley R.C.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1972, vol. 65, N 6, p. 1356–1358.
277. *Traynier R.M.M., Wright R.H.* — Entomol. exp. et appl., 1972, vol. 15, N 4, p. 509–516.
278. *Бедный В.Д., Ковалев Б.Г.* — В кн.: Хеморецепция насекомых. Вильнюс, 1978, № 3, с. 147–151.
279. *Миняйло А.К., Миняйло В.А.* — Пещ. журн., 1975, № 3, с. 16–19.
280. *AliNiAzee M.T.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1976, vol. 69, N 5, p. 820–824.
281. *Chisholm M.D., Underhill E.W., Steck W.F.* — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 3, p. 516–518.
282. *Bartell R.J., Lawrence L.A.* — Physiol. Entomol., 1977, vol. 2, N 1, p. 1–6.
283. *Farkas S.R., Shorey H.H., Gaston L.K.* — Environ. Entomol., 1975, vol. 4, N 5, p. 737–741.
284. *Sower L.L., Long J.S., Wick K.W.* et al. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 5, p. 991–995.
285. *Vick K.W., Drummond P.C., Sower L.L.* et al. — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 3, p. 667–670.
286. *Bartell R.J., Lawrence L.A.* — J. Insect Physiol., 1973, vol. 19, N 4, p. 845–855.
287. *Miller J.R., Roelofs W.L.* — J. Chem. Ecol., 1978, vol. 4, N 2, p. 187–198.
288. *Coffelt J.A., Vick K.W., Sower L.L.* et al. — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 5, p. 756–758.
289. *Adeesan C.* — In: Proc. Symp. Nucl. Techn. Stud. Metabolism Effects and Degrad. Pestic. Tirupati, 1978, p. 381–396.
290. *Abdel-Kader M.M., Barak A.V.* — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 5, p. 805–813.
291. *Sekul A.A., Cox H.C.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1967, vol. 60, N 3, p. 691–693.
292. *Muramoto H., Souda E., Hirano C.* — Jap. J. Appl. Entomol., 1976, vol. 20, N 2, p. 77–80.
293. *Tardif J.G.R., Stevens M.D.* — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 4, p. 1199–1200.
294. *Aller T., Caldwell R.L.* — Physiol. Entomol., 1979, vol. 4, N 4, p. 287–290.
295. *Levinson H.Z., Berlan A.R.* — Experimentia, 1973, vol. 27, N 1, p. 102–103.
296. *Heath R.R., McLaughlin J.R., Tumlison J.H.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 6, p. 941–953.
297. *O'Ceallachain D.P., Ryan M.F.* — J. Insect Physiol., 1977, vol. 23, N 10, p. 1303–1309.
298. *Borden J.H., Brownlee R.G., Silverstein R.M.* — Can. Entomol., 1968, vol. 100, N 6, p. 629–636.
299. *Lanier G.N., Gore W.E., Pearce G.T.* et al. — J. Chem. Ecol., 1977, vol. 3, N 1, p. 1–8.
300. *Wright R.H.* — Can. Entomol., 1966, vol. 98, N 2, p. 282–284.
301. *Guerra A.A.* — J. Econ. Entomol., 1968, vol. 61, N 5, p. 1252–1254.
302. *Struble D.L., Jacobson L.A.* — J. Econ. Entomol., 1970, vol. 63, N 3, p. 841–844.
303. *Borden J.H., Silverstein R.M., Brownlee R.G.* — J. Can. Entomol., 1968, vol. 100, N 6, p. 597–603.
304. *Shorey H.H., Gaston L.K., Fukuto T.R.* — J. Econ. Entomol., 1964, vol. 57, N 2, p. 252–254.
305. *Bartell R.J., Shorey H.H.* — J. Insect Physiol., 1969, vol. 15, N 1, p. 33–40.
306. *Gaston L.K., Shorey H.H.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1964, vol. 57, N 6, p. 779–780.
307. *Hanula J.L., Berisford C.W., DeBarr G.L.* — Environ. Entomol., 1981, vol. 10, N 2, p. 230–232.
308. *Sower L.L., Vick K.W., Long J.S.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1973, vol. 66, N 1, p. 184–187.
309. *Coffelt J.A., Vick K.W., Sonnet P.E.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 6, p. 955–966.
310. *Chisholm M.D., Steck W.F., Arthur A.P.* et al. — Can. Entomol., 1975, vol. 107, N 4, p. 361–366.
311. *Alberts S.A., Kennedy M.K., Cardé R.T.* — Environ. Entomol., 1981, vol. 10, N 1, p. 10–15.
312. *Rotundo G., Tremblay E.* — Boll. Lab. entomol. agr. "F. Silvestri", 1973, vol. 30, p. 217–230.

313. *Katsoyannos B.I., Boller E.F., Remund U.* — Ztschr. angew. Entomol., 1980, Bd. 90, H. 2, S. 105—112.
314. *Hendry L.B., Roman L., Mumma R.O.* — Environ. Entomol., 1973, vol. 2, N 6, p. 1024—1028.
315. *Visser J.H.* — Entomol. exp. et appl., 1976, vol. 20, N 2, p. 275—288.
316. *Linn C.E., Gaston L.K.* — Environ. Entomol., 1981, vol. 10, N 3, p. 379—385.
317. *Hughes P.R., Pitman G.B.* — Cont-ribs B. Thompson Inst. Plant. Res., 1970, vol. 24, N 13, p. 329—336.
318. *Borden J.H., Bennett R.B.* — J. Econ. Entomol., 1969, vol. 62, N 4, p. 782—785.
319. *Rudinsky J.A., Ryker L.C.* — J. Insect Physiol., 1976, vol. 22, N 7, p. 997—1003.
320. *Vick K.W., Su H.C.F., Sower L.L.* et al. — Experientia, 1974, vol. 30, N 1, p. 17—18.
321. *Bierl-Leonhardt B.A., Moreno D.S., Schwarz M.* et al. — Life Sci., 1980, vol. 27, N 5, p. 399—402.
322. *Henzell R.F., Taylor H.J., Lowe M.D.* — N. Z. J. Sci., 1970 vol., 13, N 3, p. 460—467.
323. *Harris R.L., Oehler D.D., Berry I.L.* — Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 5, p. 973—977.
324. *Bell W.J., Kramer E.* — J. Insect Physiol., 1979, vol. 25, N 8, p. 631—640.
325. *Charmillot P.J., Granges J., Stäubli A.* et al. — Rech. agron. Suisse, 1973, vol. 12, N 4, p. 351—362.
326. *Shorey H.H., Gaston L.K.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1965, vol. 58, N 6, p. 833—836.
327. *Baker T.C., Cardé R.T.* — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 1, p. 45—52.
328. *Greenway A.R., Lewis T., Mudd A.* et al. — In: Crop protection agents — their biological evaluation/ Ed. N.R. McFarlane. L.: Acad. press, 1977, p. 167—185.
329. *Davis F.M., Henderson C.A.* — J. Econ. Entomol., 1967, vol. 60, N 1, p. 279—280.
330. *Marks R.J.* — Bull. Entomol. Res., 1978, vol. 68, N 1, p. 31—45.
331. *Mastro V.C., Richerson J.V., Cameron E.A.* — Environ. Entomol., 1977, vol. 6, N 1, p. 128—132.
332. *Hendry L.B., Capello L., Mumma R.O.* — Melsheim. Entomol. Ser., 1974, vol. 16, p. 1—9.
333. *Smith J.S., Yonce C.E., Edwards G.W.* et al. — J. Ga Entomol. Soc., 1972, vol. 7, N 4, p. 229—233.
334. *Leggett J.E., Cross W.H., Mitchell H.C.* et al. — J. Ga Entomol. Soc., 1975, vol. 10, N 1, p. 52—61.
335. *Tilden P.E., Bedard W.D., Wood D.L.* et al. — J. Chem. Ecol., 1979, vol. 5, N 4, p. 519—531.
336. *Batiste W.C., Joos J.* — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 6, p. 1741—1742.
337. *Delley B., Baggiolini M., Charmillot P.J.* et al. — Bull. Soc. entomol. Suisse, 1975, vol. 48, N 1/2, p. 121—131.
338. *Howell J.F.* — J. Econ. Entomol., 1972, vol. 65, N 2, p. 609—611.
339. *Gantry C.R., Baroza M., Blythe J.L.* et al. — J. Econ. Entomol., 1974, vol. 67, N 5, p. 607—609.
340. *Sharma R.K., Shorey H.H., Gaston L.K.* — J. Econ. Entomol., 1971, vol. 64, N 2, p. 361—364.
341. *Charmillot P.J., Baggiolini M., Murbach R.* et al. — Rech. agron. Suisse, 1975, vol. 14, N 1, p. 57—69.
342. *Бедный В.Л., Чеканов М.И., Лиховилов В.Е.* Применение феромоновых ловушек для надзора за непарным шелкопрядом в дубравах Молдавии (временные рекомендации). Кишинев, 1980. 12 с.
343. *Бедный В.Д.* Рекомендации по испытанию феромонных ловушек. Кишинев, 1980. 11 с.
344. *Pralavorio R., Jardak T., Arambourg Y.* et al. — Agronomie, 1981, vol. 1, N 1, p. 115—121.
345. *Гонтеренко М.А.* — В кн.: Новые методы защиты растений. Кишинев: Штиинца, 1978, с. 30—36.
346. *Воротынцева А.Ф., Ковалев Б.Г., Боубэтрин И.Н.* и др. Временные методические указания по испытанию полового аттрактанта капустной совки. Кишинев, 1978. 13 с.
347. *Burghardt G., Knauf W., Bestmann H.J.* et al. — Anz. Schädlingssk., Pflanz. und Umweltschutz, 1980, Bd. 53, H. 4, S. 49—52.
348. *Arsura E., Capizzi A., Piccardi P.* et al. — Experientia, 1977, vol. 33, N 11, p. 1423—1424.
349. *Скиркавичюс А.В., Скиркавичене З.Ю.* — В кн.: Защита растений в республиках Прибалтики и в Белоруссии: Тез. докл. науч.-произв. конф. Дотнува-Академия, 1981 г. Вильнюс, 1981, ч. 3, с. 95—96.
350. *Anciero M.F.* — Bull. Entomol. Soc. Amer., 1979, vol. 25, N 1, p. 119—121.
351. *Green C.L., McCarty F.A., Edson L.J.* et al. — Southwest J. Entomol., 1980, vol. 5, N 1, p. 19—21.
352. *Kehat M., Genizi A., Greenberg S.* — Phytoparasitica, 1975, vol. 3, N 1, p. 3—18.
353. *Lewis T., Wall C., Macaulay E.D.M.* et al. — Ann. Appl. Biol., 1975, vol. 80, N 2, p. 257—274.

354. *Mitchell E.R., Webb J.C., Baumhoyer A.H.* et al. — Environ. Entomol., 1972, vol. 1, N 3, p. 365–368.
355. *Sherp J.L., McLaughlin J.R., Stanley J.M.* et al. — J. Ga Entomol. Soc., 1976, vol. 11, N 3, p. 217–220.
356. *Steck W.F., Chisholm M.D., Bailey B.K.* et al. — Can. Entomol., 1979, vol. 111, N 11, p. 1263–1269.
357. *Steck W., Bailey B.K.* — Environ. Entomol., 1978, vol. 7, N 3, p. 449–455.
358. *Solomon J.D., Morris R.C.* — J. Econ. Entomol., 1966, vol. 59, N 6, p. 1534–1535.
359. *Hartstack A.W., Witz J.A., Buck D.R.* — J. Econ. Entomol., 1979, vol. 72, N 4, p. 519–522.
360. *Tingle F.C., Mitchell E.R.* — J. Econ. Entomol., 1981, vol. 74, N 4, p. 437–440.
361. *Handricks D.E., Perez C.T., Guerra R.J.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 5, p. 483–485.
362. *Kaee R.S., Shorey H.H.* — Environ. Entomol., 1972, vol. 1, N 5, p. 675–677.
363. *Raulston J.R., Sparks A.N., Lingren P.D.* — J. Econ. Entomol., 1980, vol. 73, N 4, p. 586–589.
364. *Dickerson W.A., McKibben G.H., Lloyd E.P.* et al. — J. Econ. Entomol., 1981, vol. 74, N 3, p. 280–282.
365. *Granett J.* — J. Econ. Entomol., 1973, vol. 66, N 2, p. 359–362.
366. *Adlung K.G.* — Allg. Forst-Ztschr., 1979, Bd. 34, H. 14, S. 356.
367. *Klimentz D., Sauerwein P., Dimitri L.* et al. — Allg. Forst-und Jagd-Ztg, 1979, Bd. 150, H. 11/12, S. 238. 242.
368. *Neumark S., Teich I.* — J. Environ. Sci., 1980, vol. A15, N 4, p. 313–321.
369. *Kehat M., Gothilf S., Dunkelblum E.* et al. — Phytoparasitica, 1981, vol. 9, N 2, p. 149–151.
370. *Sato Y., Fujiwara H., Nagano M.* et al. — Appl. Entomol. and Zool., 1978, vol. 13, N 3, p. 185–189.
371. *Klimentz D., Vité J.P.* — Allg. Forst-Ztschr., 1978, Bd. 33, H. 49, S. 1446–1447.
372. *Furniss M.M.* — Environ. Entomol., 1981, vol. 10, N 2, p. 161–163.
373. Attractants for the Japanese beetle. — USDA, ARS. Techn. bull. Wash., 1969, N 1399. 87 p.
374. *Atkinson T.H., Wilkinson R.C.* — Fla Entomol., 1979, vol. 62, N 3, p. 169–175.
375. *Dimitri L.* — Allg. Forst-Ztschr., 1980, Bd. 35, H. 9/10, S. 240.
376. *Roelofs W.L., Tamhanker A.J., Co-meau A.* et al. — Ann. Entomol., Soc. Amer., 1980, vol. 73, N 6, p. 631–634.
377. *Batiste W.C.* — J. Econ. Entomol., 1970, vol. 63, N 3, p. 915–918.
378. *Gentry C.R., Blythe J.L., Yonce C.E.* — Environ. Entomol., 1976, vol. 5, N 6, p. 1062–1064.
379. *Hogmire H.W., Howitt A.J.* — Ann. Entomol. Soc. Amer., 1979, vol. 72, N 1, p. 121–126.
380. *Handricks D.E.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 4, p. 452–457.
381. *Stickland R.E., Billany D.J.* — Quart. J. Forest., 1979, vol. 73, N 4, p. 242–244.
382. *Lewis T., Macaulay E.D.M.* — Ecol. Entomol., 1976, vol. 1, N 3, p. 175–187.
383. *Ladd T.L., Klein M.G., Lawrence K.O.* — J. Econ. Entomol., 1973, vol. 66, N 5, p. 1236–1237.
384. *Childers S.H., Holloway B.L., Pollet D.K.* — J. Econ. Entomol., 1979, vol. 72, N 4, p. 506–518.
385. *Butt B.A., McGovern T.P., Beroza M.* et al. — J. Econ. Entomol., 1974, vol. 67, N 1, p. 37–40.
386. *Mecaulay E.D.M., Lewis T.* — Ecol. Entomol., 1977, vol. 2, N 4, p. 279–284.
387. *Tingle F.C., Mitchell E.R.* — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 6, p. 989–992.
388. *McNally R.S., Barnes M.M.* — Environ. Entomol., 1981, vol. 10, N 1, p. 22–26.
389. *Snodgrass G.L., Johnson W.L., Cross W.H.* — J. Econ. Entomol., 1979, vol. 72, N 3, p. 378–379.
390. *Bode W.M., Asquith D., Tette J.P.* — J. Econ. Entomol., 1973, vol. 66, N 5, p. 1129–1130.
391. *Shepherd R.F.* — Mitt. Schweiz. entomol. Ges., 1979, Bd. 52, H. 2/3, S. 157–168.
392. *Riedl H.* — Can. Entomol., 1980, vol. 112, N 7, p. 655–664.
393. *Huber R.T., Hoffman M.P.* — J. Econ. Entomol., 1979, vol. 72, N 5, p. 695–698.
394. *Riedl H., Hoying S.A., Bernett W.W.* et al. — Environ. Entomol., 1979, vol. 8, N 4, p. 765–769.
395. *Rummel D.R., Jordan L.B., White J.R.* et al. — Environ. Entomol., 1977, vol. 6, N 5, p. 677–678.
396. *Lewis T., Macaulay E.D.M.* — Pestic. Sci., 1976, vol. 7, N 6, p. 634–635.
397. *Labeyrie V., Huignard J.* — Ann. Soc. roy. zool. Belg., 1973, vol. 103, N 1, p. 43–51.
398. *Roelofs W.L., Cardé R.T.* — Ann. rev. entomol., 1977, vol. 22, p. 377–405.
399. *Wall C., Perry J.N.* — Entomol. exp. et appl., 1980, vol. 28, N 3, p. 313–321.

400. *Wall C., Perry J.N.* — Entomol. exp. et appl., 1978, vol. 24, N 2, p. 155–162.
401. *Leggett J.E.* — Environ. Entomol., 1980, vol. 9, N 4, p. 416–419.
402. *Nielson D.G., Purrington F.F.* — J. Chem. Ecol., 1980, vol. 6, N 2, p. 361–369.
403. *Perry J.N., Wall C.* — Greenway A.R. Ecol. Entomol., 1980, vol. 5, N 4, p. 385–396.
404. *Silverstein R.M., Rodin J.O., Wood D.L.* — J. Econ. Entomol., 1967, vol. 60, N 4, p. 944–949.
405. *Roelofs W.L., Coméau A.* — J. Econ. Entomol., 1970, vol. 63, N 3, p. 969–974.
406. *Ando T., Kuroko H., Nakagaki S.* et al. — Agr. and Biol. Chem., 1981, vol. 45, N 2, p. 487–497.
407. *Злотин А.З., Акименко Л.М., Брацлаеский М.Е.* и др. — В кн.: Вопросы общей энтомологии. Л.: Наука, 1981, с. 185–186. (Тр. ВЭО; Т.63).

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Указатель сокращений	6
Выделение и идентификация феромонов чешуекрылых	7
Введение	7
Способы выделения феромонов чешуекрылых	10
Выделение феромона из воздуха над живыми насекомыми	11
Выделение феромона экстракцией различных частей тела насекомого	13
Другие способы выделения феромонов	16
Методы очистки экстрактов феромонов чешуекрылых	17
Предварительные методы очистки экстракта	18
Использование разных методов хроматографии для очистки экстракта	19
Идентификация феромонов чешуекрылых	30
Предварительная реакция на функциональную группу	30
Микроаналитическая техника идентификации	35
Идентификация феромонов чешуекрылых сочетанием газо-жидкостной хроматографии с электроантеннографией (ГЖХ—ЭАГ)	40
Спектральные методы анализа	44
Выделение и идентификация феромонов жесткокрылых	56
Введение	56
Выделение и идентификация феромонов долгоносиков, кожеедов, щелкунов, чернотелок, зерновок и плоскотелок	58
Выделение и идентификация феромонов короедов	64
Приложение. Состав феромонов, установленный к 1982 г. для некоторых видов насекомых	76
Синтез феромонов	85
Введение	85
Алифатические соединения	85
Насыщенные углеводороды	86
Ненасыщенные углеводороды	87
Насыщенные разветвленные спирты и их эфиры	88
Насыщенный эпоксид	91
Ацетаты алифатических моноеновых спиртов	97
Разветвленные моноеновые спирты	102
Сопряженные диеновые спирты и их ацетаты	105
Ацетаты прямоцепочечных метиленразделенных диеновых и триеновых спиртов	114
Алифатические ненасыщенные альдегиды	119
Насыщенные кетоны	120
Ненасыщенные кетоны	127
Алифатические кислоты и эфиры кислот	129
Феромоны терпеноидной структуры	134
Монотерпеновые спирты и их эфиры	134
Эфиры сесквитерпеновых спиртов	139
Циклические терпеновые соединения	145
Гетероциклические соединения	152
Производные фурана и пирана	152
Бициклические соединения	154
Трициклический ацеталь	163

Феромоны со спиро-циклической структурой	166
Циклический кетодиэпоксид	168
Литература	170
Биологическое тестирование феромонов	189
Введение	189
Общие подходы к оценке активности	190
Источники феромонов (испарители)	191
Электрофизиологическое тестирование феромонов—метод электроантенно-грамм	205
Восприятие феромонов и его отражение в электрических сигналах в организме насекомого	205
Техника метода ЭАГ	224
Возможности и ограничения метода ЭАГ и других электрофизиологических методов	227
Поведенческое тестирование	229
Поведенческие ответы на феромоны	229
Поведенческое тестирование в ольфактометрах в лаборатории	238
Поведенческое тестирование в ловушках в природе	246
Обзор применения поведенческих биотестов	255
Литература	256

**Катерина Владимировна Лебедева,
Вечеслав Александрович Миняйло,
Юлия Борисовна Пятнова**

ФЕРОМОНЫ НАСЕКОМЫХ

*Утверждено к печати
Объединенным научным советом
"Научные основы
химизации сельского хозяйства"*

Редактор издательства *Э.А. Вишнякова*
Художник *А.М. Драговой*
Художественный редактор *Н.Н. Власик*
Технические редакторы *Н.А. Торгашова, Г.П. Каренина*
Корректор *С.В. Дельвиг*

Набор осуществлен в издательстве
на наборно—печатающих автоматах

ИБ № 27313

Подписано к печати 07. 02.84. Т — 02329
Формат 60 x 90 1/16. Бумага офсетная № 2
Гарнитура Универс. Печать офсетная
Усп.печ.л. 17,0. Усл.кр.-отт. 17,3. Уч.-изд.л. 24,8
Тираж 1000 экз. Тип. зак. 1112
Цена 3 руб.

Издательство "Наука",
117864 ГСП—7, Москва В—485,
Профсоюзная ул., д. 90

Ордена Трудового Красного Знамени
1-я типография издательства "Наука"
199034, Ленинград 6—34, 9-я линия, 12