

A RIBISZKESZITKÁR FŐ SZEXFEROMON-KOMPONENSÉNEK SZINTÉZISE ÉS SZABADFÖLDI VIZSGÁLATA

Újváry István¹, Szócs Gábor¹, Tóth Miklós¹ és Szarukán István²

¹MTA Növényvédelmi Kutatóintézet, 1525 Budapest, Pf. 102

²Agrártudományi Egyetem, Növényvédelmi Tanszék, 4001 Debrecen, Pf. 58

A ribiszkeszitkár, *Synanthedon tipuliformis* (Lepidoptera, Sesiidae) nőtényei által termelt szexferomon fő komponense a (2E,13Z)-2,13-oktadekadien-1-il acetát (E,Z-2,13-ODDA). A két kettőskötést tartalmazó vegyület feltételezett bioszintézisének kulcsintermedijere a (Z)-11-hexadecénsav, amely egyébként más lepkéfajok feromonkomponensének gyakori prekursora is. Az E,Z-2,13-ODDA feltételezett bioszintézisének mintájára egy új, ún. biomimetikus módszert dolgoztunk ki a célvegyület grammos tételű laboratóriumi előállítására. Eljárásunk egy gyakori feromonkomponensből, a (Z)-11-hexadecén-1-olból kiindulva, négy egyszerű szintetikus lépésben szolgáltatja a kívánt terméket, amely >93%-ban tartalmazza az attraktivitáért felelős (2E,13Z) izomert. Szabadföldi vizsgálati eredményeink szerint az ilyen összetételű hatóanyag és a korábbi kísérletekben szinergista hatásúnak talált (3E,13Z)-3,13-oktadekadien-1-il acetát kétkomponensű elegye kiválóan alkalmas a ribiszkeszitkár rajzásának megfigyelésére.

A ribiszkeszitkár (*Synanthedon tipuliformis*) (Lepidoptera: Sesiidae) a ribiszkeültetvények rovarkártevője Európában elterjedt őshonos lepkéfaj, de megtalálható Észak-Amerikában, Ausztráliában és Új-Zéland környékén is. A hernyó a Magyarországon nagyüzemi és házikerti körülmények közt egyaránt termelt és fontos exportcikknek számító ribiszkében okoz komoly veszteségeket. Egy nemzedékű faj. Az áttelelt hernyókból kifejlődő lepkék az időjárás-tól függően általában a termésérés, illetve szüret időszakában rajzanak. A kártevő ellen a hagyományos mechanikai és kémiai eljárásokkal nehéz védekezni, ugyanis a hernyó a vesszők belsejében él, így a kijuttatott rovarölőszerez nem elérhető, az imágó elleni permetezésnek pedig a szüret szab korlátot. Ezért a szintetikus szexferomonnak nemcsak a rajzás előrejelzésében van fontos jelentősége, hanem egy esetleges közvetlen, légtérletítéses védekezésben is.

A ribiszkeszitkár szexferomonja

A szitkárók (Sesiidae) családjába tartozó lepkéfajok eddig azonosított jellegzetes fero-

monkomponensei oktadekadienolok, illetve azok acetátjai (Arn és mtsai. 1992). A 18-szénatomos feromonkomponensek a kettőskötések helyében és konfigurációjában (E vagy Z) különböznek. A feromonelegy komponenseinek eltérő aránya egy fontos tényező a fajok reprodukív izolációjában. Kitüntetett szerepe van az egyes geometriai izomereknek. Így például az Amerikában és Ázsiában honos barackkártevő, a *Synanthedon pictipes* Grote & Robinson és a rokon faj *S. exitiosa* Say fő feromonkomponensei a 3-4. szénatomok közötti kettőskötés konfigurációjában térnek el egymástól. Az előbbi feromonja (3E,13Z)-3,13-oktadekadienil acetát (E,Z-3,13-ODDA), az utóbbié pedig (3Z,13Z)-3,13-oktadekadienil acetát (Z,Z-3,13-ODDA) (Tumlinson és mtsai. 1974). Oktadekadienol-származékok különböző (izomer) arányú elegyének szabadföldi attraktivitását több szitkár-faj esetén vizsgálták részletesen (Barry és mtsai. 1978, Voerman és mtsai. 1978, Voerman és mtsai. 1984, Szócs és mtsai. 1989).

Voerman és mtsai (1984) szitkárók szintetikus attraktánsjelöltjeinek tesztelése során azt találták, hogy a (2E,13Z)-2,13-oktadekadien-1-il acetát (E,Z-2,13-ODDA) vonzza a ribisz-

keszítőkár hímjeit. Szócs és mtsai. (1985) ezzel egyidőben azonosították a faj nőtényei által termelt feromonelegy aktív főkomponensét, az E,Z-2,13-ODDA-t, amely mellett kis mennyiségben megtalálható volt még egy önmagában nem attraktív rokon vegyület, az egy kettőskötést tartalmazó (Z)-13-oktadecenil acetát (Z-13-ODDA). Az E,Z-2,13-ODDA-t más szitkárrok feromonelegyében is kimutatták (Schwarz és mtsai. 1983, Snow és mtsai. 1987).

Egy európai országokra kiterjedő széles körű kísérletsorozat a közelmúltban megállapította, hogy az E,Z-2,13-ODDA és egy, a nőtény feromonváladékában ki nem mutatható izomer (E,Z-3,13-ODDA) 100:3 arányú elegyének vonzóképesége jelentősen felülmúlja a természetes feromont egymagában tartalmazó csalétkes csapda vonzóképesességét (Szócs és mtsai. 1990a, Szócs és Tóth 1990). Említésre méltó, hogy egy további izomer, a Z,Z-3,13-ODDA az E,Z-2,13-ODDA-hoz adva már néhány százalékban is jelentősen gátolja a csalógató hatást (Szócs és mtsai. 1990a).

Az E,Z-2,13-ODDA széles körű gyakorlati alkalmazásával kapcsolatos vizsgálataink szükségessé tették, hogy egy egyszerű szintézist dolgozzunk ki a vegyület előállítására. Módszerünk az E,Z-2,13-ODDA feltételezett bioszintézisén alapuló, ún. biomimetikus szintézis.

A ribizszeszitkár feromonjának feltételezett bioszintézise

A lepkék szexferomonjai általában egyenes szénláncú, 10–20 szénatomos, egy vagy több kettős kötést tartalmazó alifás alkoholok, acetátok és aldehidek (Arn és mtsai. 1992). A feromon gyakran többkomponensű elegy, melynek alkotói szerkezetileg hasonló, izomer vegyületek. Az elmúlt másfél évtizedben izotópos (általában deutériummal) jelölt anyagok felhasználásával végzett kísérletek eredményeképpen ismertté vált több lepkefaj fő szexferomon-komponensének a feromonmirigyben végbemenő bioszintézise (Roelofs és Bjostad 1984, Bjostad és mtsai. 1987). A feromonkomponens(ek) bioszintézisét egy multifunkcionális zsírsav szintetáz enzimkomplex végzi a magasabbrendű szervezetek zsírsav-bioszintéziséhez hasonló módon (Elődi 1989). Általában a fő prekursor a 16 C-atomos telített palmitinsav, amelyből egy ún.

$\Delta 11$ -deszaturáz enzimmel katalizált hidrogénelvonással a 11. szénatomon telítetlen kötés alakul ki meghatározott Z/E izomerarányban. Az így kapott (Z)-11-hexadecénsavból β -oxidációs lebontási folyamatban képződik a kisebb szénatomszámú feromonok lépésenként két-két szénatommal rövidített lánc (pl. (Z)-9-tetradecenil acetát és (Z)-7-dodecenil acetát, amelyek Noctuidae fajok gyakori feromonkomponensei). E biokémiai folyamatokat, valamint a feromon kiválasztását környezeti tényezők és neurohormonok szabályozzák ma még pontosan nem ismert módon (Raina 1993, Fónagy 1993).

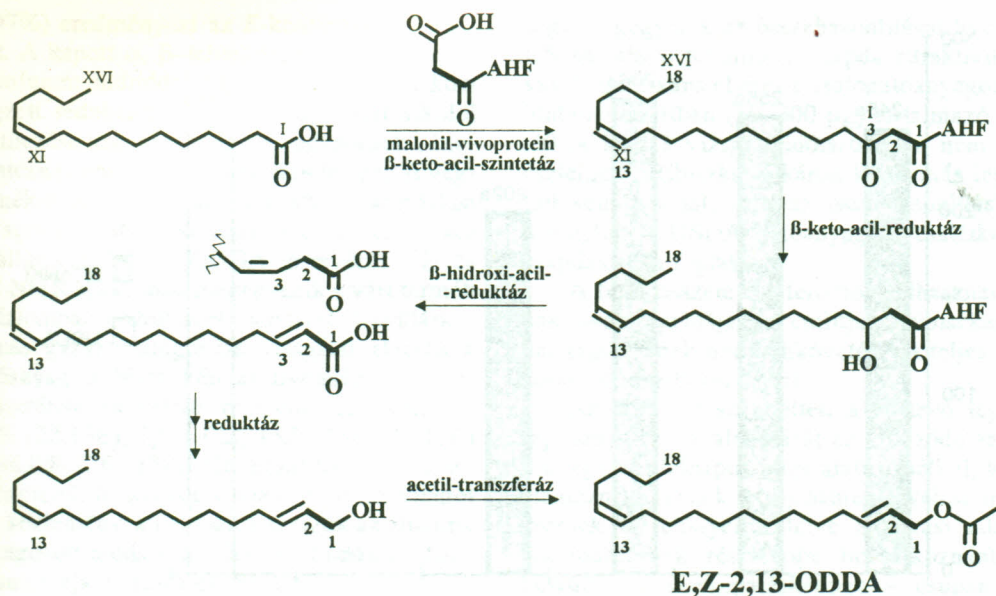
A szitkárrok jellegzetes szerkezetű, 18-szénatomos feromonjainak bioszintézisére még nincsenek kísérleti adataink, de a más lepkefajoknál megismert (Z)-11-hexadecénsav prekursor metabolizmusa, valamint a zsírsavak lánchosszabbításának általános lépései alapján felvázolható az E,Z-2,13-ODDA feltételezett képződése (Roelofs és Bjostad, 1984) (1. ábra).

A 18 szénatomos lánc a (Z)-11-hexadecénsav és az acilhordozó fehérjéhez (AHF) horgonyzott malonil-származék aktivált metilén-csoportjának kondenzációjával alakul ki. A β -ketocsoport redukív eltávolítása és a megfelelő kettőskötés kialakítása – ugyancsak a zsírsav-bioszintézis útját követve – négyféle izomer terméket eredményezhet. Az adott fajra jellemző a kettős kötés helye (a 2,3-, illetve a 3,4-szénatomok közt) és a Z/Z'E ill. Z/Z'E izomerek aránya. A szintézis zárólépéseiként a telítetlen savból az acetát funkciócsoport speciális redukáz és acetiltranszferáz enzimek hatására képződik.

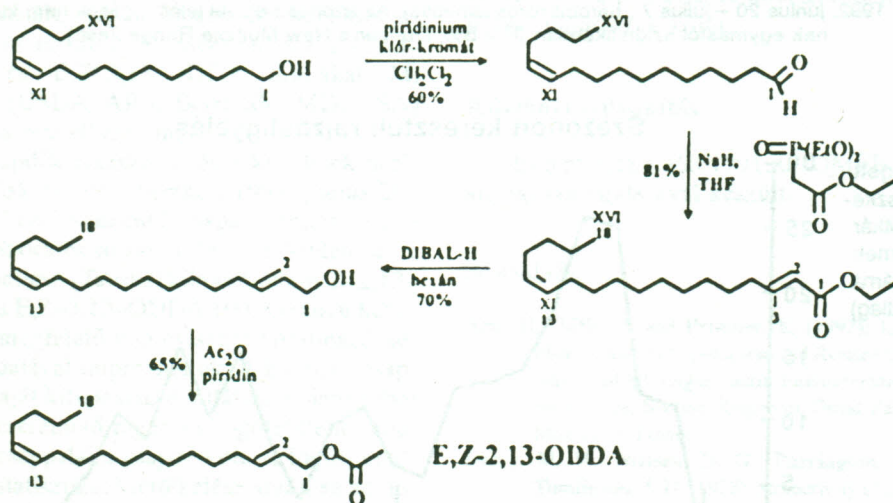
A ribizszeszitkár feromonjának előállítása

A ribizszeszitkár megfelelő izomertisztaságú fő feromonkomponense előállításának eddig ismert módszerei az adott sztereokémiájú kettőskötéseket több bonyolult lépésben és nehezen kezelhető reagensek felhasználásával alakítják ki (Schwarz és mtsai. 1983, Voerman és mtsai. 1984, Ramiaandrasoa és Descosins 1989, Hoskovec és mtsai. 1990, Sharma és mtsai. 1990).

Korábbi eredményeikre támaszkodva és az előzőekben részletezett bioszintézis mintájára az E,Z-2,13-ODDA egy új szintézisét dolgoztuk ki (2. ábra). Eljárásunk kiindulóanyaga a



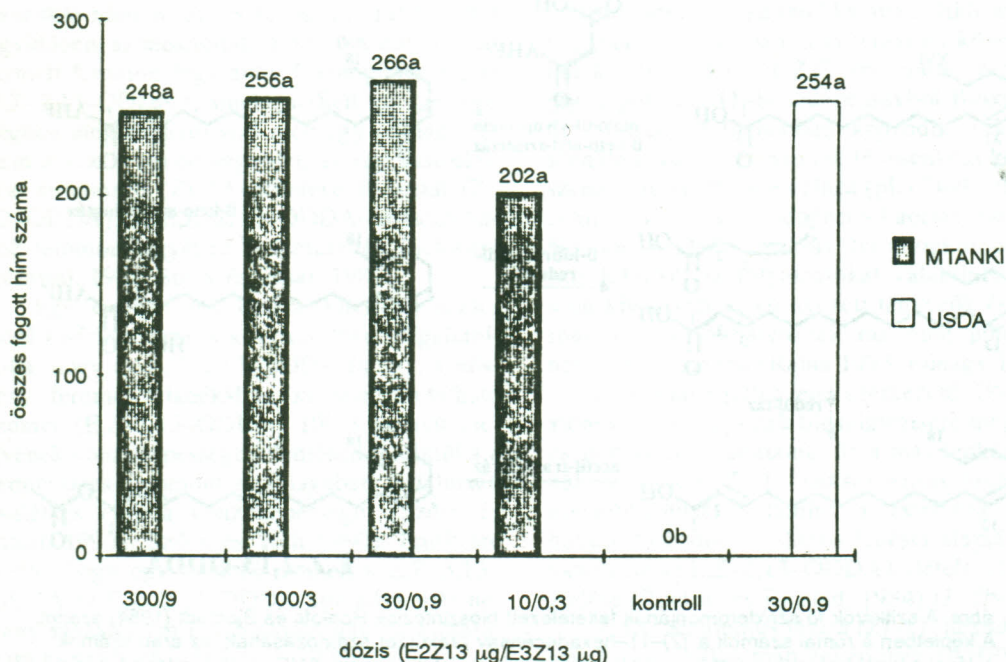
1. ábra. A szitkárók fő szexferomonjának feltételezett bioszintézise Roelofs és Bjostadt (1984) szerint. A képletben a római számok a (Z)-11-hexadecénsav prekursor számozásának, az arab számok a lánchosszabbítással kapott termékek számozásának felelnek meg. AHF = acil-hidrozo fehérje



2. ábra. A ribizkesszitkár fő szexferomon-komponensének előállítása. A sémán a nyilak mellett az egyes kémiai reagenseket és a reakciók kitermelését tüntettük fel

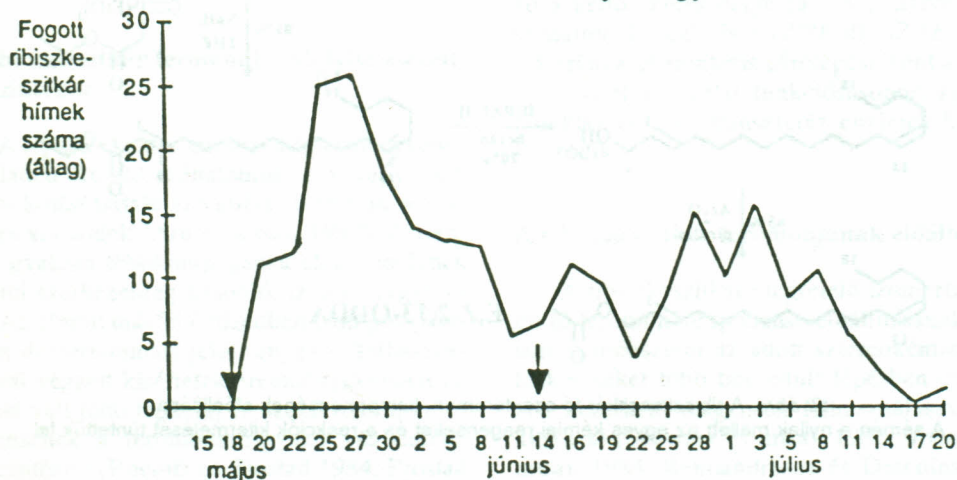
bagolylepkék gyakori feromonkomponense, a 16-szénatomos (Z)-11-hexadecén-1-ol. Ez a vegyület az egyik kettős kötést a megfelelő térállásban tartalmazza és természetes eredetű anyagokból könnyen előállítható (Újváry 1984) vagy kereskedelmi forrásból beszerezhető.

Első lépésben az alkohol funkciós csoportot piridinium-klórkromáttal a lánchosszabbításra alkalmas aldehiddé oxidáltuk („aktiváltuk”). A lánc két szénatommal történő hosszabbítására az ún. Wittig-Horner reakciót használtuk, amely közismerten kiváló izomerarányban



3. ábra. Ribizszeszítkár feromonos csapdázása pirosribizkésben (Sóskút, 1992. június 20 – július 7.; háromszoros ismétlés). Az azonos betűvel jelölt fogások nem különböznek egymástól szignifikánsan ($P < 5\%$; Duncan's New Multiple Range Test.)

Szezonon keresztüli rajzástfigyelés



4. ábra. Ribizszeszítkár rajzásmenetének nyomonkövetése szexcsapdával (Debrecen-Józsa, 1988; két párhuzamosan üzemeltetett csapda 30 µg E,Z-2,13-ODDA és 0,9 µg E,Z-3,13-ODDA elegyével csalétkezve.)

Az első nyíl az első két csapda kihelyezésének, a második nyíl ezen csapdák új csapdákkal történő felváltásának időpontját jelzik (Szócs és mtsai. 1990a nyomán)

(>97%) eredményezi az *E*-konfigurációjú olefint. A kapott α , β -telítetlen észter diisobutil-alumínium hidriddel enyhe körülmények közt végzett redukciója, majd az így nyert alkohol acetilezése hagyományos – és ugyancsak a bioszintézisre emlékeztető – módon történt. A végterméket desztillálással tisztítottuk, a kiindulási anyagra számított összkitermelés 22%. Az így előállított *E,Z*-2,13-ODDA infravörös, ^1H és ^{13}C NMR spektruma megegyezik a várt termék irodalomban közölt spektrumaival. Kapillárkromatográfiás vizsgálat alapján a hatóanyag 97%-os kémiai tisztaságú, izomerösszetétele (növekvő retenció idő szerint): 1,5% (2*Z*,13*E*), 1,5% (2*Z*, 13*Z*), 1,0 (2*E*, 13*E*) és 96,0% (2*E*, 13*Z*). (Itt említjük meg, hogy kísérleteink megkezdése után látott napvilágot egy közlemény, amelyben a szerzők az általunk kidolgozott módszerhez hasonló írnak le (Szorcinszkaja és Kovalev 1991.)

Csapdázási kísérletek

A csapdázási kísérleteinkben összehasonlításhoz használt, nagynyomású folyadékkromatográfiásan tisztított, izomermentes *E,Z*-2,13-ODDA és *E,Z*-3,13-ODDA mintákat M. Schwarz (USDA-ARS, Beltsville, MD, USA) bocsátotta rendelkezésünkre.

A csapdák elkészítése és a kísérletek beállítás (Sóskúti pirosribizskés, 1992. június 20–július 7., kezelésként 3 csapda) ismert módon történt (Szócs és mtsai. 1990a). Röviden: az 1 cm-es gumicső (Taurus) kibocsátót a *E,Z*-2,13-ODDA és *E,Z*-3,13-ODDA 100:3 arányú keverékének megfelelő mennyiségét tartalmazó hexános oldatával impregnáltuk. A használt csapdatípus saját kifejlesztésű, átlátszó műanyagból készült, cserélhető ragacsos fogófelülettel ellátott, ún. cseppalakú csapda volt. A fogási eredmények statisztikai kiértékelése során az adatokat log ($x+1$) függvény szerint transzformáltuk és Duncan's New Multiple Range Test segítségével elemeztük.

A kétkomponensű csalogatóanyaggal végzett szabadföldi csapdázás eredményei a 3. ábrán láthatók.

Megállapítható, hogy az általunk 96%-os izomertisztaságban előállított *E,Z*-2,13-ODDA főkomponenst és *E,Z*-3,13-ODDA szinergista adalékot tartalmazó csapdák vonzóképes-

sége megegyezik az összehasonlításhoz használt USDA mintát tartalmazó csapda attraktivitásával. Szignifikáns eltérés a csalogatóanyagot különböző dózisban (10–300 μg) tartalmazó csalétkék közt a vizsgált időtartamban nem volt észlelhető. Ribizskeszitkárón kívül más lepkefajt sem a saját, sem az összehasonlításként üzemeltetett USDA hatóanyaggal csalétkezett csapdák nem fogtak.

A fenti összetételű feromon felhasználásának további példaként említjük a ribizskeszitkár repülésének nyomonkövetését a teljes szezonon keresztül (4. ábra).

Az ábra jól szemlélteti a kártevő lepkék rajzásmenetének alakulását az elhúzódozó rajzás mintegy két hónapos ideje alatt. Anélkül, hogy elemeznénk ennek a rajzásmegfigyelési módszernek az előnyeit, illetve a fogási adatok értelmezésének részleteibe bocsátkoznánk, e helyütt – összefoglalásképpen – csupán azt emeljük ki, hogy a jelen cikkünkben ismertetett szex-attraktáns a gyakorlatban jól alkalmazható a ribizskeszitkár egész szezonon keresztül történő rajzáskövetésére, és tovább bővíti a rendelkezésünkre álló szelektív növényvédelmi előrejelzési módszerek körét.

Köszönetnyilvánítás

Ez a munka a 468/1991. sz. OMFB pályázat anyagi támogatásával készült.

IRODALOM

- Arn, H., Tóth M. and Priesner, E. (1992): List of Sex Pheromones of Lepidoptera and Related Sex Attractants. 2nd ed. Organisation Internationale de Lutte Biologique, Section Régionale Ouest Paléarctique, Montfavet, France.
- Barry, M. W., Nielsen, D. G., Purrington, F. F. and Tumlinson, J. H. (1978): Attractivity of pheromone blends to male peach tree borer, *Synanthedon exitiosa* (Say). Environ. Entomol. 7:1–3.
- Bjostad, L. B., Wolf, W. A. and Roelofs, W. L. (1987): Pheromone biosynthesis in Lepidopterans: desaturation and chain shortening. In: Pheromone Biochemistry (eds.: Prestwich, G. D. – Blomquist, G. J.) pp. 77–120, Academic Press, New York.
- Elődi P. (1989): Biokémia. Akadémia Kiadó, Budapest, 506–513.
- Fónagy A. (1993): A lepkék szexferomon bioszintézisének hormonális szabályozása, a folyamat befolyásolása-

- nak távlati növényvédelmi perspektívái. Növényvédelem 29, (2-3).
- Hoskovec, M., Šaman, D. and Koutek, B. (1990): A convenient synthesis of 2,13- and 3,13-octadecadienyl acetates, sex pheromone components of the *Synanthedon* species. Collect. Czech. Chem. Commun. 55:2270-2281.
- Raina, A. K. (1993): Neuroendocrine control of sex pheromone biosynthesis in Lepidoptera. Annu. Rev. Entomol. 38:329-349.
- Ramiandrasoa, F. and Descoins, C. (1989): A new highly stereospecific synthesis of (E,Z)-2,13-octadecadienyl acetate, a sex pheromone component of some Lepidoptera species. Synth. Commun. 19:2703-2712.
- Roelofs, W. and Bjostad, L. (1984): Biosynthesis of lepidopteran pheromones. Bioorg. Chem. 12:279-298.
- Schwarz, M., Klun, J. A., Leonhardt, B. A. and Johnson, D. T. (1983): (E,Z)-2,13-Octadecadien-1-ol acetate. A new pheromone structure for sesiid moths. Tetrahedron Lett. 24:1007-1010.
- Sharma, M. L., Thapar, S. and Gupta, R. (1990): Synthesis of (2E, 13Z)-2,13-octadecadienyl acetate. Ind. J. Chem 29b:657-658.
- Snow, J. W., Schwarz, M. and Klun, J. A. (1987): The Attraction of the grape root borer, *Vitacea polistiformis* Harris (Lepidoptera: Sesiidae) to (E,Z)-2,13-octadecadienyl acetate and the effects of related isomers on attraction. J. Entomol. Sci. 22:371-374.
- Szorocsinszkaja, A. M. i Kovalev, B. G. (1991): Szintéz acetatov tranz-2, cisz-13- i tranz-3, cisz-13-oktadekadien-1-ola, komponentov polovogo feromona *Synanthedon tipuliformis* (Lepidoptera, Sesiidae). Zs. Org. Khim. 27:722-727.
- Szőcs, G., Miller, L. A. Thomas, W., Vickers, R. A., Rotschild, G. H. L., Schwarz, M. and Tóth, M. (1990): Compounds modifying male responsiveness to main female sex pheromone component of the currant borer, *Synanthedon tipuliformis* Clerk (Lepidoptera: Sesiidae) under field conditions. J. Chem. Ecol. 16:1289-1305.
- Szőcs, G., Schwarz, M., Sziráki, Gy., Tóth, M., Klun, J. A. and Leonhardt, B. A. (1985): Sex pheromone of the female currant borer, *Synanthedon tipuliformis*: Identification and field evaluation. Ent. exp. appl. 39:131-133.
- Szőcs, G. és Tóth, M. (1990): Kétkomponensű szex-attraktáns készítmény kidolgozása ribiszkeszitzkár csapdázására és hatásvizsgálata kilenc európai országban. Növényvédelem 26:219.
- Szőcs, G., Tóth, M. és Szarukán, I. (1990): Ribiszkeszitzkár rajzásának megfigyelése saját fejlesztésű szex-attraktáns csapdával. Studia Univ. Sci. Agric. Debrecensis 255-256.
- Szőcs, G., Tóth, M., Sziráki, Gy. and Schwarz, M. (1989): 2,13- and 3,13-Octadecadienyl compounds composing sex attractants for tineid and sesiid moths (Lepidoptera). Biochem. Syst. Ecol. 17:417-422.
- Tumlinson, J. H., Yonce, C. E., Doolittle, R. E., Heath, R. R., Gentry, C. R. and Mitchell, E. R. (1974): Sex pheromones and reproductive isolation of the lesser peachtree borer and the peachtree borer. Science 185:614-616.
- Újváry, I. (1984): A káposzta-bagolylepke (*Mamestra brassicae* L.) szexferomonjának előállítása. Magy. Kém. Lapja. 39:124-126.
- Voerman, S. (1988): The pheromone bank: A collection of unsaturated compounds indispensable for discovery of sex attractants for Lepidoptera. Agricult. Ecosyst. Environ. 21:31-41.
- Voerman, S., Audemard, H. and Priesner, E. (1983): Sex attractants for clearwing moth: *Synanthedon vespiiformis* and *Chamaeshecia tetrediniformis* (and/or *C. empiformis*). Ent. Exp. Appl. 34:203-205.
- Voerman, S., Minks, A. K., Vanwetswinkel, G. and Tumlinson, J. H. (1978): Attractivity of 3,13-octadecadien-1-ol acetates to the male clearwing moth *Synanthedon myopaeformis* (Borkhausen) (Lepidoptera, Sesiidae). Ent. Exp. Appl. 23:301-304.
- Voerman, S., Persoons, C. J. and Priesner, E. (1984): Sex attractant for currant clearwing moth, *Synanthedon tipuliformis* Clerk (Lepidoptera: Sesiidae). J. Chem. Ecol. 10:1371-1376.

SYNTHESIS AND FIELD EVALUATION OF THE MAIN SEX PHEROMONE COMPONENT OF THE CURRANT BORER

István Újváry,¹ Gábor Szőcs,¹ Miklós Tóth¹ and István Szarukán²

¹Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, H-1525 Budapest, P. O. Box 102, Hungary

²Agricultural University, Department of Plant Protection, Debrecen, P. O. Box 58, Hungary

The currant borer, *Synanthedon tipuliformis* (Lepidoptera, Sesiidae) is a serious pest of cultivated currant in Eurasia as well as in New Zealand and Australia. The sex pheromone emitted by the females of this species contains (E, Z)-2,13-octadecadien-1-ol acetate (E,Z-2,13-ODDA) as the main active component (Szőcs et al. 1985).

The proposed biosynthesis of E,Z-2,13-ODDA is based on (Z)-hexadecenoic acid which, after

Field experiments conducted in a currant field near Sós-kút, Hungary, indicated that traps baited with a 100:3 binary mixture of the synthetic E,Z-2,13-ODDA and (E, Z)-3,13-octadecadien-1-ol acetate (E,Z-3, 13-ODDA), an experimentally found synergist (Szöcs et al. 1990), in a dose range of 10–300 µg are useful for species specific detection of the currant borer. Additional experiments conducted near Debrecen, Hungary, with traps baited with 30 µg E,Z-2,13-ODDA and 0,9 µg E,Z-3,13-ODDA showed that this formulation provides a long lasting and reliable tool for monitoring the flight of this insect.