

استخراج و شناسایی فرمون جمعیت های مختلف شب پره کرم گلوگاه انار، *Ectomyelois ceratoniae*

فهیمة ورشو^۱، بابک حیدری عزیزاده^{۲*}، حسین فرازمنند^۳، علی اولیایی ترشپازی^۴ و محمد سیرجانی^۵

۱. گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علم و فرهنگ، کاشمر، ایران. ۲. بخش تحقیقات آفت کش ها، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. ۳. بخش تحقیقات حشره شناسی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. ۴. موسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر، گروه گیاه پزشکی و گیاهان دارویی، کاشمر، ایران. ۵. مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کاشمر، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۱۳

چکیده

کرم گلوگاه انار، *Ectomyelois ceratoniae* Zeller، مهم ترین آفت باغ های انار در ایران و سایر کشورهای تولید کننده این میوه است که سالانه خسارت زیادی به محصول انار وارد میکند. این آفت قلمرو خود را به قاره های جدید جهان توسعه داده است و آفت اصلی خرما در ایالات متحده محسوب می گردد. ولی این آفت در ایران تاکنون از روی خرما گزارش نشده ولی مهم ترین و اقتصادی ترین آفت انار است. با توجه به عدم کارایی مبارزه شیمیایی و سایر روش های مبارزه، استفاده از روش های بیولوژیک از جمله فرمون ها می تواند مفید می باشد. فرمون های حشرات به ویژه فرمون های جنسی از دیدگاه ردیابی جمعیت حشرات، تخمین زمان ظهور حشرات کامل، آگاهی از تراکم نسبی جمعیت آفات و کاربرد آن ها در کنترل آفات جایگاه ویژه ای دارند. فرمون های جنسی می توانند برای کنترل این آفت به صورت غیرمستقیم (پیش آگاهی) و یا به صورت مستقیم (اختلال در جفت گیری و جلب کردن و کشتن) به کار گرفته شوند، در همین راستا شناسایی اجزاء فرمون حشره در بهبود روش مبارزه رفتاری موثر می باشد. در این تحقیق فرمون جنسی در جمعیت های بومی *E. Ceratoniae* از مناطق مختلف استان های خراسان و سمنان شناسایی گردید. روش شناسایی شامل استخراج فرمون بوسیله روش ریز استخراج با فاز جامد (SPME) بود و شناسایی ترکیبات استخراج شده با دستگاه گاز کروماتوگرافی - طیف سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. در نمونه تزریق شده به دستگاه، ترکیب اصلی فرمون، (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal، با جرم ۲۰۶ و ترکیب دوم، (Z,E)-9,11-tetradecadienal، با جرم ۲۰۸ و ترکیب سوم، (Z)-9-(Z)-tetradecenal (9)-(Z)-tetradecenal، با جرم ۲۱۰ به وسیله سیستم استخراج به وسیله فیبر SPME مشخص شد.

واژه های کلیدی: شب پره کرم گلوگاه انار، فرمون، ریز استخراج با فاز جامد، SPME

مقدمه

پروانه‌ی کرم گلوگاه انار، *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep: Pyralidae) یک آفت جهانی میوه و خشکبار، شامل خرنوب، بادام و خرما است. این آفت قلمرو خود را به قاره‌های مختلف توسعه داده است و آفت اصلی خرما در ایالات متحده محسوب می‌گردد (Warner, 1988). در ایران این آفت تاکنون از روی خرما گزارش نشده ولی مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین آفت انار است. این حشره در آفریقای شمالی در باغات خرما و در تونس در روی محصول انار سه یا چهار نسل دارد به طوری که در بهار روی انار یا میوه‌های دیگر و در شهریور روی خرما فعالیت می‌کند و در واقع یکی از مخرب‌ترین آفات خرما در این مناطق است (Gothilf, 1984). با توجه به عدم کارایی مبارزه شیمیایی علیه این آفت، استفاده از روش‌های بیولوژیک و مبارزه رفتاری از جمله کاربرد فرمون‌ها می‌تواند مفید باشد. ایجاد مدیریت صحیح آفت، نیاز به اطلاعات کامل در ارتباط با بیولوژی و نوسانات جمعیت و نیز عوامل کنترل‌کننده جمعیت این حشره دارد. از فرمون‌های جنسی جهت کنترل این آفت به صورت غیرمستقیم برای ردیابی (Monitoring) و یا به صورت مستقیم برای اختلال در جفت‌گیری (Mating disruption) و جلب و شکار (Attract & Kill) می‌توان استفاده نمود (Howse, 1998). فرمون جنسی کرم گلوگاه انار که توسط حشرات ماده تولید می‌گردد، توسط بیکر و همکاران (Baker, et al., 1991) شناسایی شد. فرمون شناسایی شده از غدد فرمونی پروانه‌های ماده مربوط به جمعیت مستقر در خرماهای آلوده واقع در دره Coachella کالیفرنیا جمع‌آوری شده بود که به وسیله تکنیک‌های گوناگون از جمله کروماتوگرافی گازی-الکتروانتنوگرافی، آنالیز مس کروماتوگرافی جرمی^۱، شناسایی گردید. اجزاء

فرمون جنسی شناسایی شده شامل سه ترکیب (Z,E) -9,11,13-tetradecatrienyl و ترکیب فرعی آن (Z,E) -9,11-tetradecadienyl و (Z) -9-tetradecenyl به ترتیب با نسبت ۱۰:۱:۱ بود. ترکیب اصلی (Z,E) -9,11,13-tetradecatrienyl به تنهایی قدرت جلب حشرات نر را دارد اما افزودن هر یک از دو ترکیب جزئی و یا حتی یکی از آن‌ها به تنهایی به ترکیب اصلی فرمون موجب بهبود پاسخ پرواز حشرات نر بر خلاف جریان باد شد. زاگاتی و همکاران (Zagatti et al., 1998) فرمون جنسی را از غدد فرمون پروانه‌های ماده (*Lepidoptera: Elachistidae Stenoma*) استخراج و پس از خالص‌سازی ساختار شیمیایی آن‌ها را بوسیله الکتروانتنوگرافی-طیف سنج جرمی شناسایی نمود که این ترکیبات شامل: (Z,E) -9,11,13-tetradecadienyl، (Z,E) -9,11-tetradecadienyl، (Z,E) -9,11-tetradecatrienyl، (Z,E) -9,11,13-tetradecatrienyl acetate، acetate بود.

در آزمایش‌های تونل باد، شاخک‌های حشرات نر به یک مخلوط از دو ترکیب (Z,E) -9,11,13-tetradecatrienyl، (Z,E) -9,11-tetradecadienyl پاسخ داد و این دو مولکول آلدئیدی حشرات نر را به طور موثری جلب نمودند. این آلدئید یکی از اجزاء مهم فرمون جنسی حشره *S. cecropia* است که ساختاری مشابه با فرمون کرم گلوگاه انار دارد و تنها اختلاف باند دوگانه آن در کربن-۱۱ است (Zagatti et al., 1998).

در تحقیقات صورت گرفته بر روی فرمون اصلی کرم گلوگاه انار در ایران، زنجیره هیدروکربنی آلدئیدی (Z,E) -9,11,13-tetradecatrienyl با سه باند دوگانه کاندجوگیت از الکل (dec-3-yn-1-ol) ساخته شد و آزمایش‌های مزرعه‌ای نشان داد استفاده از این ترکیب در لورها در باغات انار استان یزد قابلیت جذب حشره

^۱GS/MS-EAG (electroantennography)

سمنابر روی گیاه میزبان انار با استفاده از روش ریز استخراج بر روی فاز جامد استخراج و شناسایی شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

انارهای آلوده به لارو و شفیره کرم‌گلوگاهانار از باغات انار مناطق مختلف خراسان و منطقه ایوانکی واقع در گرمسار از تاریخ ۹۱/۴/۱ الی ۹۱/۸/۳۰ و ۹۲/۴/۱ الی ۹۲/۶/۳۰ جمع‌آوری و به آزمایشگاه موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور منتقل شدند. شرایط نگهداری انارهای آلوده تا زمان تفریح شفیره‌ها به حشرات کامل در دمای اتاق ۲۵-۲۸ درجه سانتیگراد بود.

استخراج و شناسایی ترکیبات فرار اختصاصی شب-پره‌های ماده کرم گلوگاه انار به وسیله دستگاه ریز استخراج با فاز جامد SPME:

سرنگ SPME با فیبری از جنس سیلیکا/PDMS (CAR)، به ضخامت ۸۵ میکرومتر و قابلیت ارتجاعی ساخت شرکت SUPELCO آمریکا بود. در ابتدا پس از اتصال فیبر به نگهدارنده دستگاه SPME، طبق دستور برنامه‌ی دمایی ارائه شده در کاتالوگ آماده-سازی شد. برای آماده‌سازی فیبر دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد و ستون دستگاه گازکروماتوگراف DB-5 (غیر قطبی) و سرعت جریان گاز حامل (He₂) ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه بود. فیبر از طریق سوزن دستگاه SPME به داخل انژکتور گازکروماتوگرافی وارد گردید و به مدت نیم ساعت با برنامه‌ی دمایی مذکور آماده شد. پس از آماده‌سازی فیبر، به منظور استخراج مواد فرار فرمونی، فیبر از طریق سوراخ درپوش، درون لوله آزمایشگاهی به قطر ۲ سانتی متر که حاوی ۳ عدد حشره ماده کرم گلوگاه انار بود وارد شد. با پایین آوردن پیستون سوزن فیبر برای جذب مواد فرار آزاد گردید. فیبر به مدت ۳-۴ روز به همان حالت رها شد و سپس فیبر حاوی ترکیبات فرار جذب شده برای آنالیز به دستگاه گاز کروماتوگراف- طیف سنج جرمی

بالغ را دارد (Alizadeh, 2009). نتایج آزمایش اختلال در جفت‌گیری نشان داده است که شکار تله‌های حاوی فرومون سنتتیک به سرعت کاهش می‌یابد که علت آن می‌تواند ناپایداری ساختمان شیمیایی جزء اصلی فرومون یا (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal است (AvandFaghih, 2005). استفاده از ترکیبات پایدارتر و مشابه فرومون اصلی کرم گلوگاه انار-(Z,E)-7,9,11-dodecatrienylformate در آزمایش‌های رفتارشناسی و فعالیت الکتروفیزیولوژیکی در تونل باد بررسی شده است و نتایج نشان داد که شکل فرمیت آن دارای اثر بیولوژیکی یکسان با عصاره طبیعی غدد جنسی است و مشخصاً از ترکیب آلدهیدی سنتتیک تکی و یا همراه با دو جزء دیگر فرومون جنسی فعال‌تر می‌باشد (Todd et al., 1992; Howes, 1988).

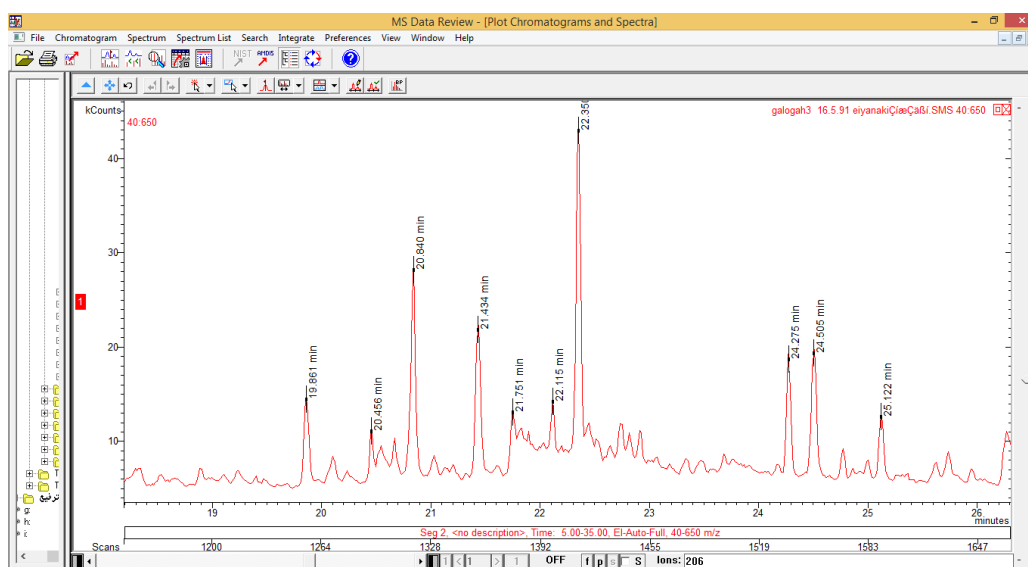
به طور معمول، روش استخراج فرمونشامل استخراج با حلال و روش‌های ریزاستخراج با فاز جامد Solid Phase Micro Extraction یا SPME است (Pawliszyn, 1997). روش دوم دارای مزایایی است از جمله می‌توان به سریع، ساده، تکرارپذیر و ارزان بودن، بازیابی کمی ترکیب مورد نظر بدون از دست دادن یا تخریب آن‌ها با حجم کم نمونه، ضایعات کم، حداقل استفاده از حلال و در نهایت عدم نیاز به تغلیظ کردن اشاره نمود. مناسب‌ترین جاذب فرومون‌ها در روش ریزاستخراج با فاز جامد، فیبرهای پوشش داده شده با یک پلیمر و ترکیبات سیلیکاژل می‌باشد که عبارتند از Polydimethyl siloxane (PDMS) و Polydimethyl siloxane/ divinylbenzene (PDMS-DVB) (Frerot et al., 1997; Howes, 1988).

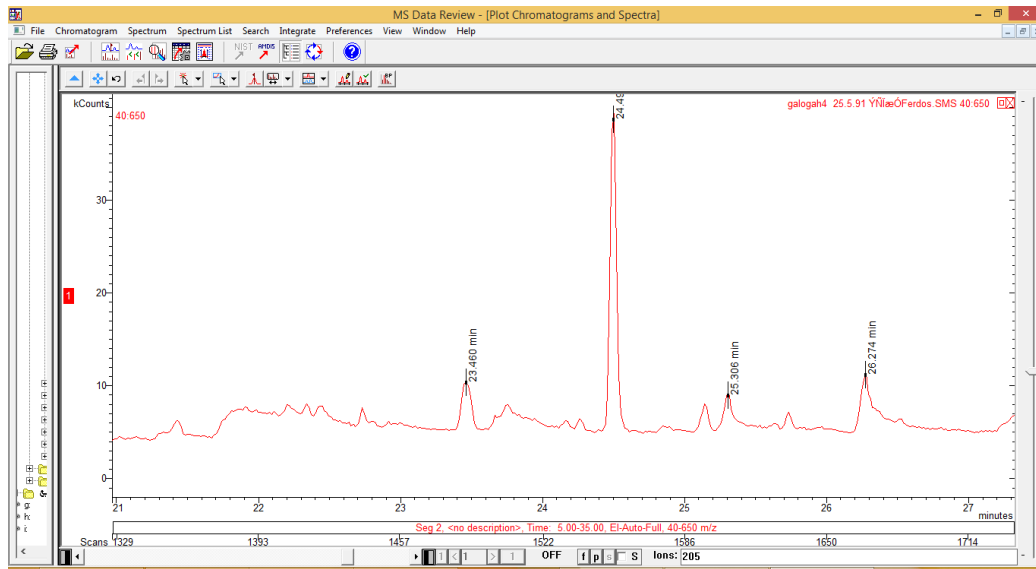
در این تحقیق ترکیبات اختصاصی حشرات ماده جمعیت پروانه کرم گلوگاه انار در دو منطقه جغرافیایی مختلف شامل خراسان رضوی (فردوس- بردسکن) و

نتایج

آنالیز طیف‌های حاصل از استخراج با فیبر SPME همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود طیف‌های بدست آمده از استخراج در ناحیه 24.5، 24.19 و 22.43 دقیقه وجود سه پیک را مشخص کرد. این ۳ پیک به ترتیب شامل ملکول‌های (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal و (Z)-9-tetradecenal بود. براساس مقایسه شکست‌های یونی این سه ترکیب با شکست‌های یونی فرومون استتیک کرم گلوگاه انار و نیز منابع قبلی (Baker *et al.*, 1991)، مشخص شد ساختار شیمیایی این سه پیک متعلق به اجزای تشکیل دهنده فرومون کرم گلوگاه انار است.

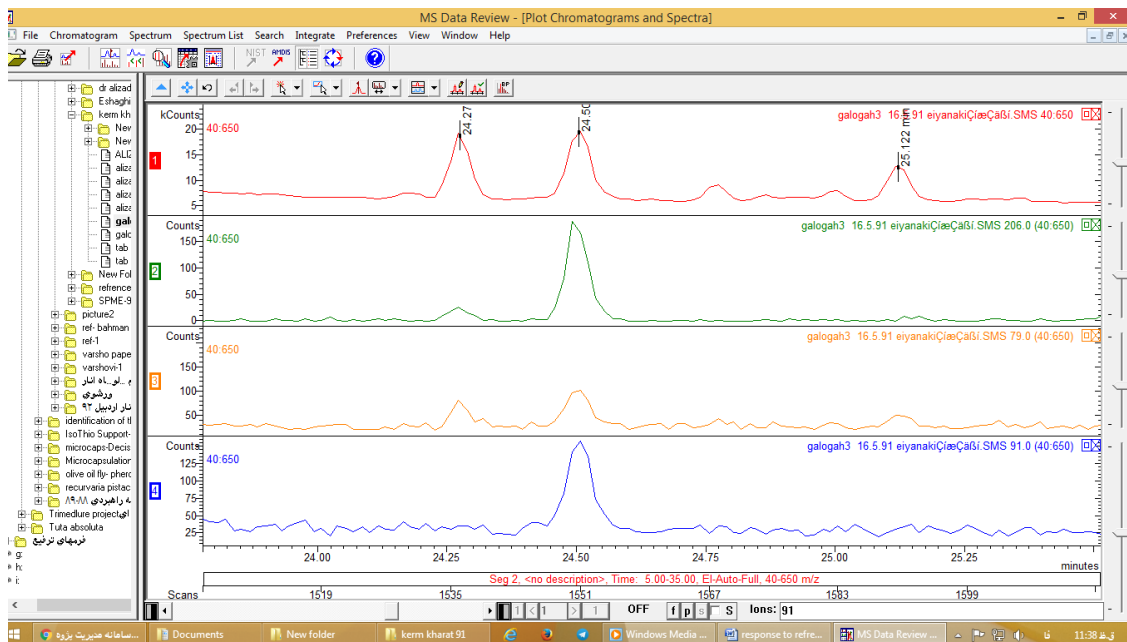
GC/MS تزریق شد. دستگاه گاز کروماتوگراف از نوع Varian CP-3800 و دستگاه طیف سنج جرمی Mass Spillet Saturn 2200 با Spilletless و دارای دو فاز ثابت (ستون) و متحرک (گاز حامل هلیوم) بود و نوع ستونی DB-5 غیر قطبی، طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر بود. برنامه دمایی انژکتور دستگاه و آشکارساز ۲۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه بود که به ترتیب ۲ دقیقه در ۸۰ درجه سانتی‌گراد و سپس دما به میزان ۱۰ درجه‌ی سانتی‌گراد افزایش به ازای هر دقیقه تا رسیدن به دمای ۲۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد تنظیم شد (Todd *et al.*, 1992).

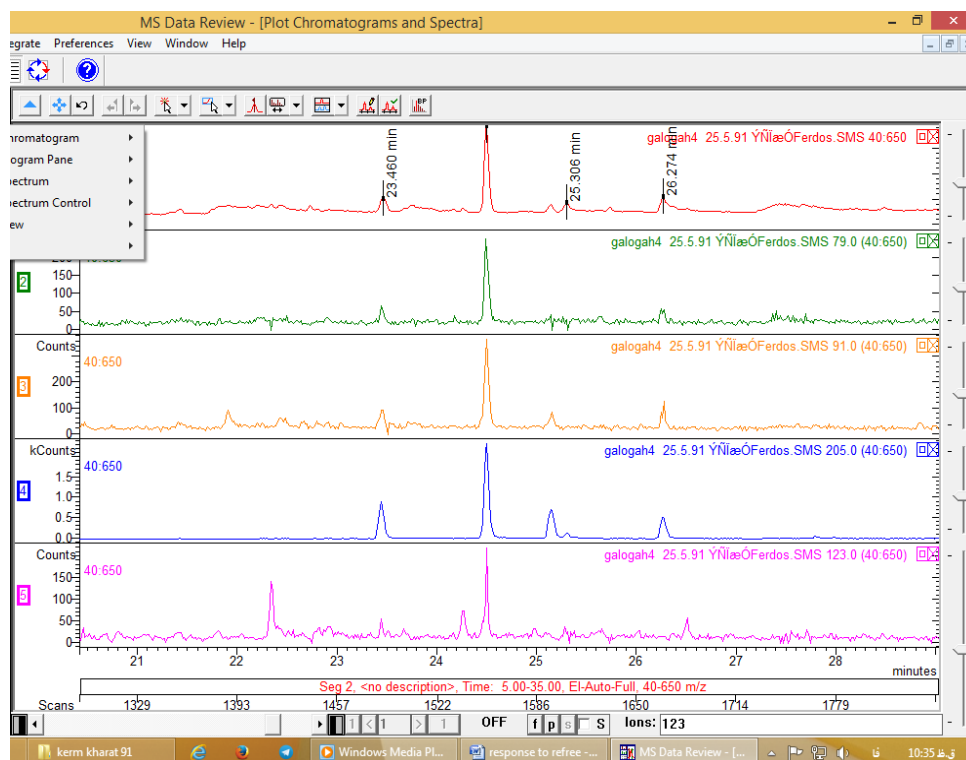




شکل ۱- طیف‌های GC/MS حاصل از تزریق مواد فرار استخراج شده از کرم گلوگاه انار مربوط به منطقه خراسان رضوی (بالا)، منطقه ایوانکی- گرمسار (پایین).

Fig 1. GC/MS spectra of the carob moth sex pheromone from Khorasan Razaviregion (up), Eyvanekay region- Garmsar (down).





شکل ۲- استخراج شکست ۳ یون ۷۹، ۹۱ و ۲۰۵ مهم ترکیب اصلی فرمون کرم گلوگاه انار در طیف‌های GC/MS حاصل از تزیق مواد فرار استخراج شده از کرم گلوگاه انار مربوط به منطقه خراسان رضوی (بالا)، منطقه ایوانکی-گرمسار (پایین).

Fig 1. GC/MS spectra of three ions of 79, 91, and 205 from major component of Carob moth sex pheromone from Khorasan Razaviregion (up), Eyvanekay region-Garmsar (down).

همچنین آنالیز طیف جرمی مربوط به فرمون ترکیب ساخته شده بوسیله بیگر و همکاران (Baker *et al.*, 1991) نیز با نمونه استخراج شده با فیبر SPME یکسان بود. زمان بازداری بین نمونه سنتتیک قبلی با نمونه استخراج شده با SPME در تحقیق اخیر متفاوت بود که می‌تواند مربوط به اختلاف در تنظیمات دستگاه و یا مربوط به نوع آنالیز باشد.

(Z,E)-9,11,13- Tridecatrienal: MS m/z : 206 (M^+), 135, 121, 108, 107, 94, 93, 91, 79, 77, 67, 41.

جستجوی سه جرم ۷۹، ۹۱، ۱۲۳ و ۲۰۵ بوسیله نرم افزار mass مشخص کرد که ترکیب در دقیقه ۲۴/۵ دارای تمامی این سه جرم است (شکل ۲- بنابرین

شناسایی ترکیب اصلی فرمون 9,11,13-(Z,E)- tetradecatrienal با جرم ۲۰۶

همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود ترکیب اصلی فرمون کرم گلوگاه انار 9,11,13-(Z,E)- Tradecatrienal با جرم مولکولی ۲۰۶ در دقیقه 24.5 بدست آمد. جهت مقایسه شکست جرمی و شناسایی فرمون مورد نظر، ترکیب سنتتیک فرمون اصلی کرم گلوگاه انار 9,11,13-Tradecatrienal (Z,E) که در آزمایشگاه بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها سنتز شده بود، مورد استفاده قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۳، دیده می‌شود، فرمون سنتتیک دارای طیف جرمی به صورت شکست‌های زیر بود که با پیک مولکول اصلی فرمون 9,11,13- Tradecatrienal (Z,E) استخراج شده یکسان است (شکل ۳).

MS m/z : 206 (M^+), 178, 135, 121, 107, 94, 93, 91, 79, 77, 67, 41

24.19 min (ions): 57, 67 (base peak), 81, 95, 110, 121, 136, 161, 189, 209

طیف مولکول آلدهیدی با یک باند دوگانه 9-(Z)-tridecenal در دقیقه 22.43 در شکل ۴ به وضوح دیده می‌شود که شکست جرمی این مولکول به صورت زیر می‌باشد:

22.43 min (ions): 41, 55, 70, 81, 96, 192, 210

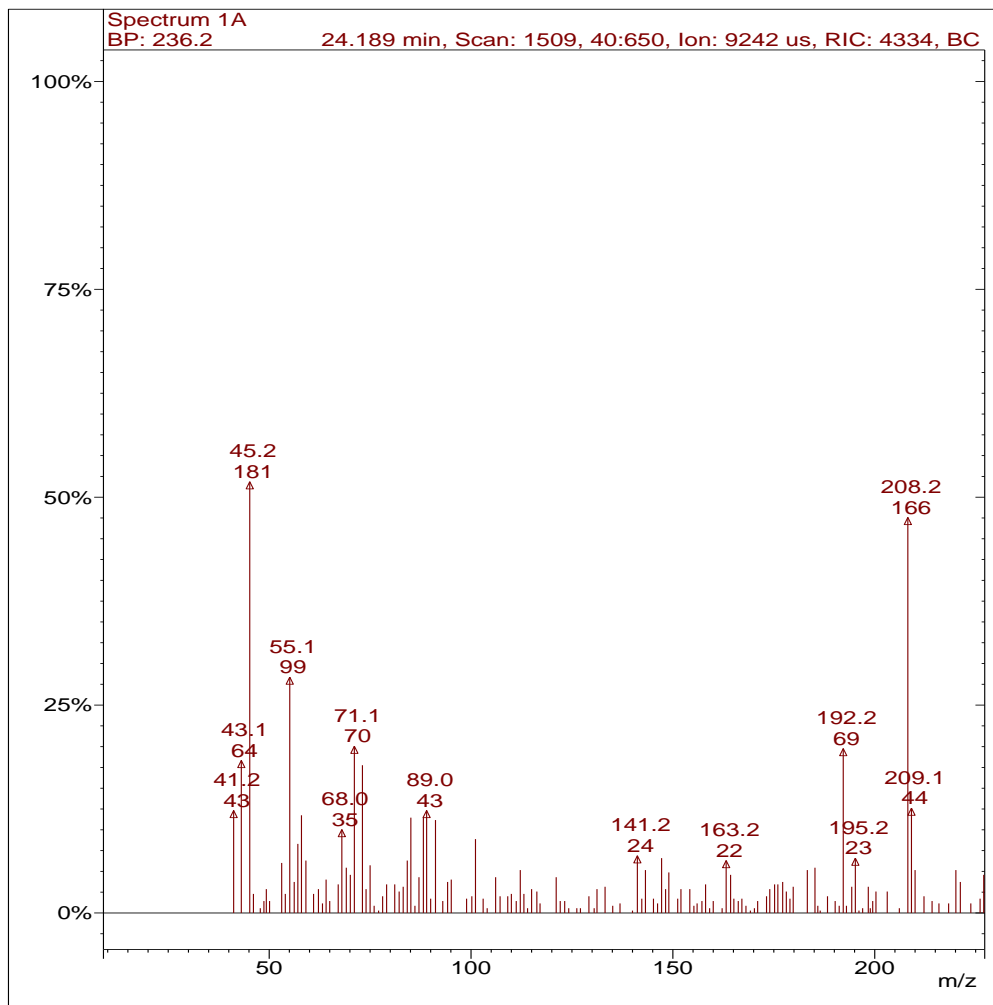
در این طیف پیک اصلی با جرم ۵۵ مشخص‌کننده این مولکول است و سایر جرم‌های مشخص‌کننده از قبیل ۹۵، ۶۷، ۸۱ و ۱۹۲ نیز در شکست‌های این مولکول 9-(Z)-tridecenal دیده می‌شود و با جرم‌های منبع و کتابخانه دستگاه مطابقت دارد (Baker et al., 1991).

ترکیب اصلی فرمون بوسیله سیستم با فاز جامد SPME استخراج و شناسایی شد.

شناسایی مولکول‌های جزئی 9,11-(Z,E)-teradecadienal و 9-(Z)-tridecenal

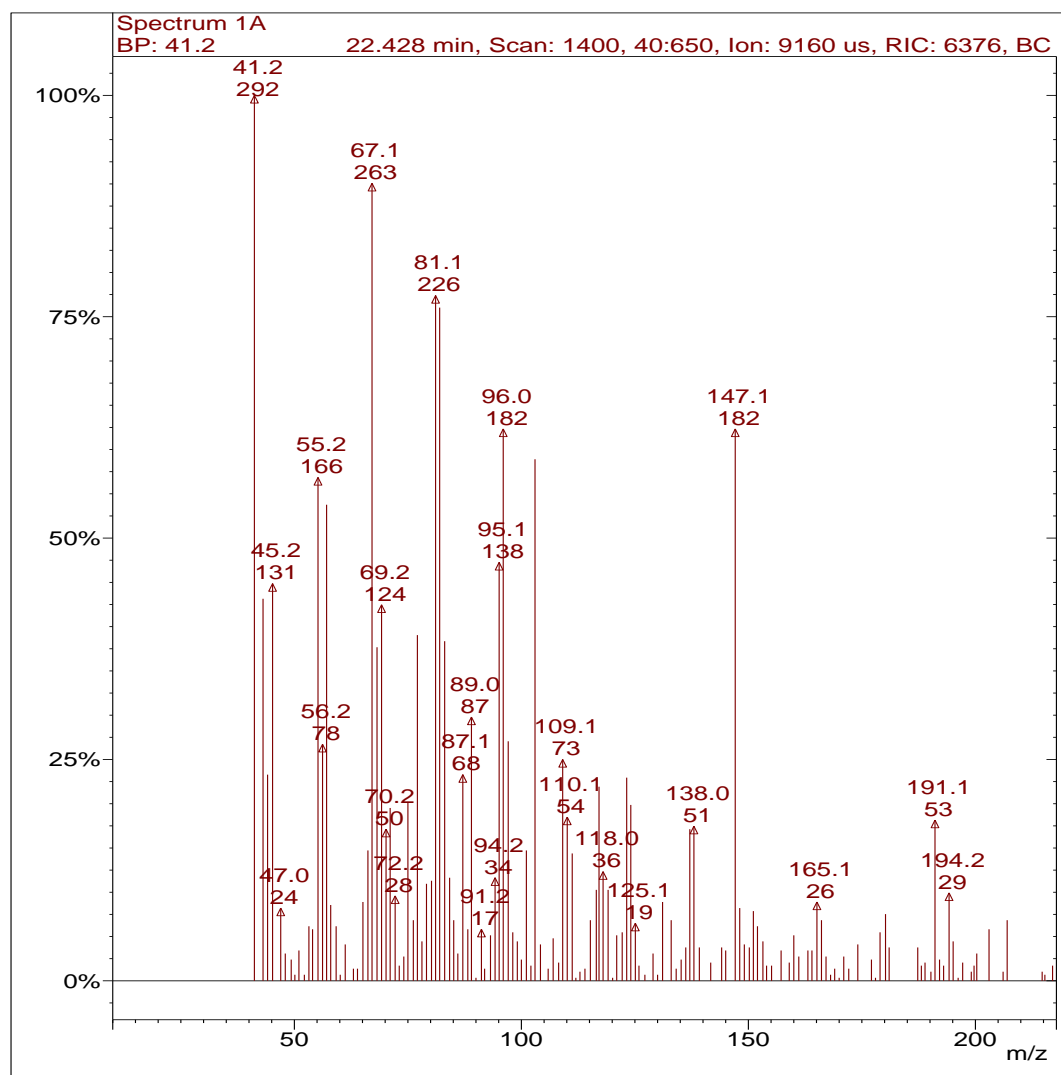
همان‌طور که در طیف زیر در شکل ۱ (سمت راست) دیده می‌شود. مولکول 9,11-(Z,E)-

teradecadienal در دقیقه 24.19 با شکست جرمی زیر قابل شناسایی است. این مولکول آلدهیدی با پیک اصلی ۶۷ و جرم ۲۰۸ و همچنین دو جرم ۸۱ و ۹۵ که به وضوح دیده می‌شود شناسایی شد. شکست پیک اصلی ۶۷ مشخص‌کننده این مولکول 9,11-(Z,E)- teradecadienal است که به وسیله بیکر و همکاران (Baker et al., 1991) نیز گزارش شده است:



شکل ۴-طیف شکست یونی (Z,E)-9,11-tetradecedienal

Fig 4. Extracted ion of (Z,E)-9,11-tetradecedienal.



شکل ۵- شکست یونی (Z)-9-tetradecenal.

Fig5. Extracted ion of (Z)-9-tetradecenal.

tetradecatrienal و دو ملکول فرعی (Z,E)-9,11-

tetradecadienal و (Z)-9-tetradecenal بود.

پیک های متعددی از استخراج ترکیبات فرار از پروانه- های ماده کرم گلوگاه انار با سوزن SPME بدست آمد. یک پیک مشخص در دقیقه 24.5 مربوط به جزء اصلی فرمون کرم گلوگاه انار (Z,E)-9,11,13- tetradecatrienal است. شکست یونی این پیک جرم- های ۲۰۶، ۹۴، ۷۹ و ۶۷ را نشان داد که با یون های نمونه استاندارد سنتز شده در بخش تحقیقات آفت- کش ها و داده های گزارش شده بیکر و همکاران

بحث

نتایج شناسایی فرمون شب پره کرم گلوگاه انار در جمعیت های مختلف در دو استان خراسان رضوی فردوس (شهرستان بردسکن) و سمنان (شهرستان گرمسار) منجر به تشخیص سه مولکول آلدئیدی شد که با نتایج گزارش شده توسط بیکر و همکاران (Baker et al., 1991) مطابقت داشت. اجزاء شناسایی شده ترکیب فرمون جنسی پروانه کرم گلوگاه انار شامل یک ملکول اصلی به نام (Z,E)-9,11,13-

مالیدن فیبر سوزن SPME به سطح غدد فرمون استخراج و با دستگاه GC/MS شناسایی کرد و ثابت شد این تکنیک را در استخراج و شناسایی فرومون حشرات بسیار موثر دانست. بوردو و همکاران (Bordereau et al., 2002) فرومون جنسی موریانه ماده *Cornitermes bequaerti* به وسیله SPME از غدد فرومون استخراج و جدا کرد و مولکول $(Z,6Z,8E)$ -dodecatrien-1-ol را با GC/MS شناسایی کرد. در این روش فیبر $65 \mu\text{m}$ -Supelco روی *Polydimethylsiloxane/Divinylbenzene* بر روی غدد ۲۵ حشره ماده بی‌حس شده مالیده شد و نمونه سریعاً به دستگاه GC/MS تزریق شد و جهت شناسایی این مولکول الکل از شکست یونی استفاده شد و همچنین ترکیبات غیراشباع در بندهای ۲-۴ شکمی را با ترکیبات بندهای ۸-۱۰ شکمی مقایسه کرد و مولکول $(3Z,6Z,8E)$ -dodecatrien-1-ol را در این اختلاف مشخص گردید. فرومون جنسی *Gnathotrichus* hepten-2-ol در سوسک‌های نر *materiaris* (Col., Scolytidae) به وسیله استفاده از کتابخانه دستگاه (NIST standard reference database) مقایسه یون‌های ۴۱، ۵۵، ۶۷، ۹۵، ۱۱۰ و ۱۲۸ با اطلاعات استاندارد دستگاه توانست به شناسایی الکل مورد نظر کمک کند (Flechtmann and Berisford, 2003). در تحقیقات صورت گرفته در ایران، گلدانساز (Goldansaz, 2008) در آزمایشی با استفاده از شبه فرومون سنتتیک و فرومون طبیعی (ماده‌های باکره) نتیجه‌گیری کرد که فرومون طبیعی به طور معنی‌داری بیشتر از شبه فرومون مصنوعی نرها را جلب و شکار می‌نماید. همچنین مقایسه فرومون جنسی طبیعی و شبه فرومون جنسی سنتتیک در منطقه یزد نشان داد که میزان شکار تله‌های حاوی فرومون جنسی سنتتیک بسیار پایین‌تر از فرومون جنسی طبیعی می‌باشد.

(Baker et al., 1991) یکسان بود. همچنین با استفاده از اطلاعات کتابخانه دستگاه GC/MS نیز سه یون ۷۹، ۹۱ و ۲۰۶ در این پیک ردیابی و مشخص شد دو مولکول جزیی دیگر نیز شامل مولکول (Z,E) -9,11-teradecadienal در دقیقه 22.43 و مولکول (Z) -9-teradecenal در دقیقه 24.19 شناسایی شد. بیکر و همکاران (Baker et al., 1991) سه جزء فرمون کرم گلوگاه انار شامل (Z,E) -9,11,13-tetradecatriena، (Z,E) -9,11-tetradecadienal و (Z) -9-teradecenal را از حشرات ماده بوسیله استخراج با حلال جداسازی و به نسبت ۱:۱۰:۱ مشخص و شناسایی کرد که این نسبت‌ها در تحقیق بدست آمده از نمونه‌های ایران 10 (210): 0.9 (208): 1.1 (206) براساس سطح زیر پیک نمودار طیف‌ها بدست آمد.

ترکیبات فرومون جنسی کرم گلوگاه انار در سه جمعیت جغرافیایی در ایران توسط ضیاء‌الدینی در سال ۱۳۸۸ جداسازی و با دستگاه GC-MS-EAD شناسایی گردیدند. نتایج حاصل، شناسایی چهار ترکیب فعال درون عصاره‌های استخراجی از غدد فرومونی افراد ماده کرم گلوگاه انار شامل (Z) -9-teradecenal، (Z,E) -9,11-tetradecadienal، (Z,E) -9,11,13-tetradecatrienal و با نسبت ۲:۵:۷۲:۲۱ بود.

در تحقیقات مشابه، از غدد فرومون پروانه‌های ماده‌ها *Stenoma cecropia* دو ترکیب (Z) -9,11,13- (Z) -9,11,13-tetradecadienyl، (Z) -9,11,13- (Z) -9,11,13-tetradecatrienal و با دستگاه GC/MS همراه با الکتروآنتنوگرافی شناسایی شد و در این سیستم شاخک‌های حشرات نر به این ترکیبات پاسخ داد (Zagattiet al., 1998). همچنین در تحقیقات دیگر که توسط فروت (Ferrot, 1997) انجام شده سه ترکیب حشره ماده *Sesamia nonagriodes* شامل فرم سیس ۱۱-هگزادسنول و استات آن 16:Ac بوسیله

استخراج فرمون با (Solid Phase Micro Extraction) SPME می تواند روش مناسبی برای شناسایی فرمون های حشرات جمعیت های بومی کشور باشد از جمله ترکیبات آلدهیدی (Z,E)-9,11,13-tetradecadienal، tetradecatrienal و (Z)-9-tetradecenal باشد. این روش استخراج سریع، ساده، تکرارپذیر و ارزان بوده، بازیابی کمی ترکیب مورد نظر را بدون از دست دادن یا تخریب آنها ممکن سازد، با حجم کم نمونه انجام پذیرد می باشد.

سپاسگزاری

از آقای مهندس تاجبخش کارشناس بخش آفت کش ها به جهت انجام آزمایش های GC/MS قدردانی می گردد.

همچنین کاربرد شبه فرمون سنتتیک شرکت راسل جهت بررسی نوسانات جمعیت کرم گلوگاه انار در ۶ استان کشور نشان داد که میزان شکار فرمون در مناطق مختلف، متفاوت می باشد. میزان شکار این فرمون سنتتیک در مناطق یزد، ساوه، شیراز، کاشمر (خراسان رضوی)، اصفهان و قم به ترتیب ۲/۵۹، ۱/۶۵، ۰/۵۸، ۰/۲۹، ۰/۰۲ و صفر شب پره نر به ازاء هر تله در روز بوده است و نتایج حاکی از اختلاف شدید کارایی شبه فرمون سنتتیک در مناطق مختلف کشور می باشد و علت آن نیز احتمالاً به جهت متفاوت بودن جمعیت های کرم گلوگاه انار می باشد Farazmand, (2012).

References:

- Alizadeh, H. B. 2009. Investigation of the synthesis (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal as Carob Sex Pheromone and study on persistence in Laboratory condition. Research Report, Iranian research Institute of Plant Protection. pp17 [In Persian].
- Avand -Faghih, A. 2005. Investigation of synthetic Carob Moth. Iranian research Institute of Plant Protection. pp17. [In Persian].
- Baker, T. C., Francke, W., Millar, J. G., Lofstedt, C., Hansson, B., Du, J. W., Phelan, P. L., Vetter, R. S., Youngman, R. and Todd, J. L. 1991. Identification and bioassay of sex pheromone components of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller). Journal of Chemical Ecology. (17): 1973-1988.
- Bordereau, C., Canello, E. M., Semon, E., Courrent A. and Quenedey, B. 2002. Sex pheromone identified after Solid Phase Microextraction from tergal glands of female alates in *Cornitermes bequaerti* (Isoptera, Nasutitermitinae). Insectessociaux. (49): 209 – 215.
- Farazmand, H. and Moshiri, A. 2012. The Study of Synthetic carob Moth Pheromone in Pomegranate Garden. 20th Plant Pathology Congress, Shiraz, 20012. 801p.
- Ferrot, B., Malosse, C. and Cain. A. H. 1997. Solid-phase microextraction (SPME): A new tool in pheromone identification in Lepidoptera. Journal of High Resolution chromatography and chromatography. (20): 340-342.
- Flechtmann, C. A. H. and Beirisford, C. W. 2003. Identification of sulcatol, a potential pheromone of the ambrosiabeetle *Gnathotrichus materiarius* (Col., Scolytidae). Journal of Applied Entomology. (127): 189-194.
- Gothilf, S. 1969. The biology of carob moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller. In Israel. II. Effect of food, temperature and humidity on development. Israel Journal of entomology. (4): 107-116.
- Howse, P. E. 1998. Practical application of pheromones and other semiochemicals. In: Insect pheromones and their use in pest management, Howse, P. E., Stevens, I.D.R and Jones, O. T. (eds.), Chapman and Hall, London, UK. 1-130
- Pawlisyn, J. 1997. Solid Phase Microextraction: Theory and Practice, Wiley, New York, USA
- Todd, J. L., Millar, J. G., Vetter, R. S., Baker, T. C. 1992. Behavioral and

- electrophysiological activity of (Z,E)-7,9,11-dodecatrienyl formate, a mimic of the major sex pheromone component of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, Journal of Chemical Ecology.(18): 2331-2352.
- Zagatti, P., Lucas, P., Genty, P., Arango, S., Malosse, C. and Tellier, F. 1996.** Sex pheromone of *Stenoma cecropia* Meyrick (Lepidoptera: Elachistidae). Journal of Chemical Ecology. (22): 1103-1121.
- Ziaaddini, M., Goldansaz, S. H. 2008.** The investigation the cross attractant male to female in three carob moth populations. 18th Iranian Plant Protection congress Hamedan.pp212. [In Persian].

Extraction and Identification of the Sex Pheromone of Different Populations of Carob Moth, *Ectomyelois ceratoniae*

Varsho, F.¹, Heidari Alizadeh, B.^{2*}, Farazmand, H.³, Oliali Torshiaz, A.⁴ and Sirjani, M.⁵

1. Plant Protection Department, University of Science and Culture, Kashmar Branch, Iran. 2. Pesticides Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organisation (AREEO), Tehran, Iran. 3. Entomology Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organisation (AREEO), Tehran, Iran. 4. Plant Protection and medicinal Plant Department. Institute of Jihad Daneshgahi for Higher Education, Kashmar Branch, Iran. 5. Plant Protection Research Department, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Khorasan Razavi Province, Kashmar, Iran

Received: Mar, 18, 2018

Accepted: Nov, 4, 2018

Abstract

Carob moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller is an important pest of pomegranate in Iran and expanded its range into many parts of the world. It is an important pest in the United States on date, in Iran, it is not founded on date, but it is a key pest of pomegrates. Due to the inefficiency of chemical and other control methods for preventing carob moth's damages on pomegranate, it is essential to use biological methods such as the use of pheromones for monitoring or attractant kill. For this reason, identification of sex pheromone and its components of carob moth is essential for biological control of this pest, and in this project the major sex pheromone (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal and others components of *E. ceratoniae* in different parts of north Khorasan and Semnan provinces were identified. The method was extraction of pheromone by SPME and identification by GC/mass. Compounds, with masses 206 (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal), 208 ((Z,E)-9,11-tetradecadienal) and 210 (9-(Z)-tetradecenal) were obtained from the injected samples into Varian GC/mass.

Key words: pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae*, pheromone, SPME

*Corresponding author: Babak Heidari Alizadeh, Email:alizadehbh18@gmail.com