

شناسایی فرمون شب پره کرم گلوگاه انار با استفاده از روش *SPME* در ایران

فهیمة ورشوی^۱، بابک حیدری علیزاده^۲، حسین فرازمند^{۲*}، علی اولیائی ترشیزی^۳، محمدسیرجانی^۴

۱- دانش آموخته دانشگاه علم و فرهنگ، واحد کاشمر

۲- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

۳- عضو هیات علمی دانشگاه علم و فرهنگ، واحد کاشمر

۴- عضو هیات علمی ایستگاه تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کاشمر

چکیده:

کرم گلوگاه انار، *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep: Pyralidae)، مهمترین آفت باغهای انار در ایران و سایر کشورهای تولید کننده این میوه است. با توجه به سابقه طولانی خسارت کرم گلوگاه انار روی درختان انار در کشور، تحقیقات راهبردی جهت مدیریت پایدار این حشره ضروری می باشد. ایجاد یک مدیریت صحیح آفت، نیاز به اطلاعات کامل در ارتباط با بیولوژی و نوسانات جمعیت آن و نیز عوامل کنترل کننده جمعیت دارد. آزمایشات باغی در ایران مشخص کرده است که استفاده از فرمون جنسی سنتتیک کرم گلوگاه انار (شبه فرمون)، که در خارج از کشور، شاسایی و سنتز شده است در باغات انار ایران، به منظور کنترل آفت، کاربرد ندارد. در این تحقیق ترکیب اصلی این فرمون *(Z, E)-9, 11-Tetradecadienal* و سایر ترکیبات شناسایی شده در جمعیت های بومی *Ectomyelois ceratoniae* Zeller از مناطق مختلف استان های خراسان ردیابی گردید. روش شناسایی شامل استخراج فرمون بوسیله *SPME* و تزریق ترکیبات جدا شده و به دستگاه *GC/mass* است. در نمونه تزریق شده به دستگاه ترکیب فرمون اصلی در زمان بازداری ۲۴/۵ (*(Z, E)-9, 11, 13-tetradecatrienal*) و ۸/۷۶ (*(Z, E)-9, 11-tetradecadienal*) دقیقه فرمون اصلی کرم گلوگاه بدست آمد.

واژه گان کلیدی: شبپره کرم گلوگاه انار، فرمون، استخراج با فاز جامد

* نویسنده مسئول، رایانامه: paper@farazmand.ir

(1991) سه عدد از اجزاء فرمون جنسی کرم گلوگاه انار را از غدد فرومون جنسی حشرات ماده بوسیله انواع تکنیکهای گوناگون جداسازی و شناسایی کردند و از جمله این تکنیکها کروماتوگرافی گازی دوگانه-الکتروآنتنوگرافی، آنالیز مس کروماتوگرافی اسپکتروسکوپی، میکروآوزونولیسس، *wind-tunnel bioassays* و مطالعات مزرعه ای هستند. ترکیب (ترانس) ۱۱، (سیس) ۹، ۱۳-تترادکاتری انال *(Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal* بعنوان اجزاء اصلی فرومون جنسی تشخیص داده شد.

جعفری و همکاران (۱۳۸۱) استفاده از تله های حاوی فرومون طبیعی کرم گلوگاه انار را یکی از روشهای مناسب برای مطالعه دینامیسم جمعیت این آفت اعلام کردند. همچنین این تله ها با شکار حشره نر، نسبت جنسی را بر هم زده و با ایجاد اختلال در روند جفت یابی و جفت گیری، موجب کاهش جمعیت و خسارت آفت می گردند.

مطالعات انجام شده در ایران نشان داد که بطور کلی شبه فرومون های سنتتیک تجاری کرم گلوگاه انار از کارایی بالایی برخوردار نبوده و در مناطق جغرافیایی مختلف، نتایج متفاوتی دارد و در هیچ منطقه انارخیز کشور از لحاظ کارایی قابل مقایسه با فرومون های طبیعی نبوده و لذا قابل توصیه نمی باشد (فرازمند، ۱۳۹۰) با توجه به عدم کارایی مناسب فرومون های سنتتیک موجود، در صورت نیاز به ردیابی و مطالعه نوسانات جمعیت، پیشنهاد می شود از فرومون جنسی طبیعی کرم گلوگاه انار (تله حاوی حشره ماده زنده) استفاده شود (فرازمند و مشیری، ۱۳۹۱).

مواد و روش ها:

از خرداد ماه از مناطق مختلف انارکاری مناطق مختلف خراسان (خراسان رضوی، خراسان شمالی و خراسان جنوبی)، میوه های آلوده و یا شفیقه های آفت جمع آوری و به تهران انتقال داده شد. انارهای آلوده در آزمایشگاه بطور مرتب بازدید و شفیقه های تشکیل شده جمع آوری گردید. پس از خروج حشرات کامل، حشرات ماده بوسیله بینوکلر از حشرات نر جدا گردید. تعداد ۵ حشره ماده دو روزه را (که جفتگیری نکرده اند) در داخل لوله آزمایشگاهی قرارداده و با گذاشتن فیبر بر روی آن برای ۱۲ ساعت (۸ ساعت تاریکی اطاق پرورش را شامل می شود)، ترشحات غدد جنسی حشره ماده و نر بوسیله فیبر *SPME* جمع آوری شد. تزریق مواد جذب شده از حشرات ماده به *SPME* به دستگاه *GC/mass* و مقایسه کروماتوگرامهای بدست آمده با منابع انجام گردیده و مولکولهای اختصاصی افراد ماده شناسایی شد.

نتایج و بحث:

طیف بدست آمده از استخراج با فیبر *SPME* از مناطق مختلف خراسان (شکل-۱) نشان میدهد پیک شاخصی در ناحیه ۲۴/۵ دقیقه و ۸/۷۶ دقیقه وجود دارد که نشان دهنده وجود دو ترکیب فرمون کرم گلوگاه می باشد و شکستهای جرمی آن شامل اعداد زیر با شکستهای فرمون اصلی کرم گلوگاه انار یکسان است.

24.5 min (ions): 276.2, 261.2, 232.2, 217.3, 205.3 (base peak), 189.2, 177.2, 133.2, 91.3, 79.0, 55.3

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

اعدادی که زیر آن خط کشیده شده است با اعداد گزارش شده در مقالات بیکر (۳) یکسان است.

MS Data Review Active Chromatogram and Spectrum Plots - 6/26/2013 02:14 E.U

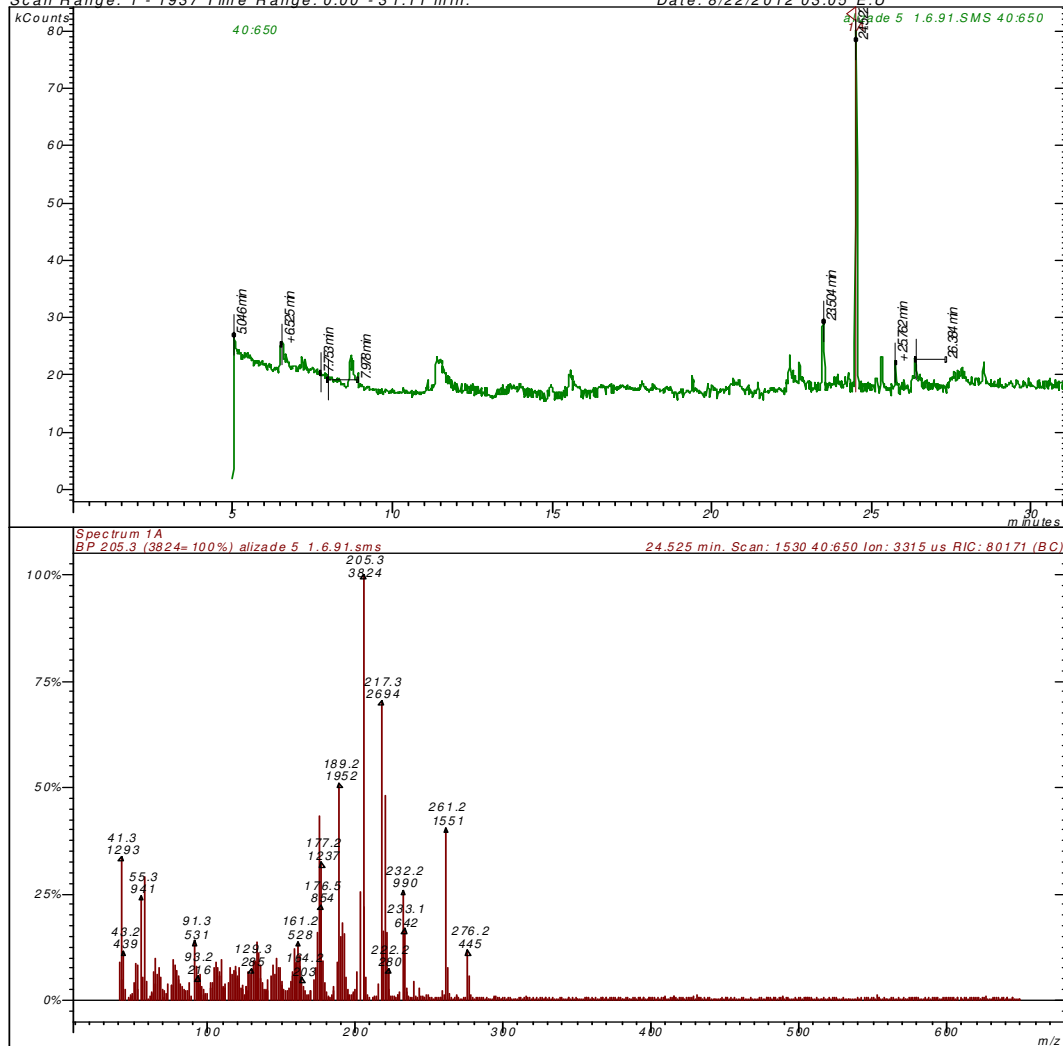
File: ...ification of crob sex phremone\kerm kharat 91\alizade 5 1.6.91.sms

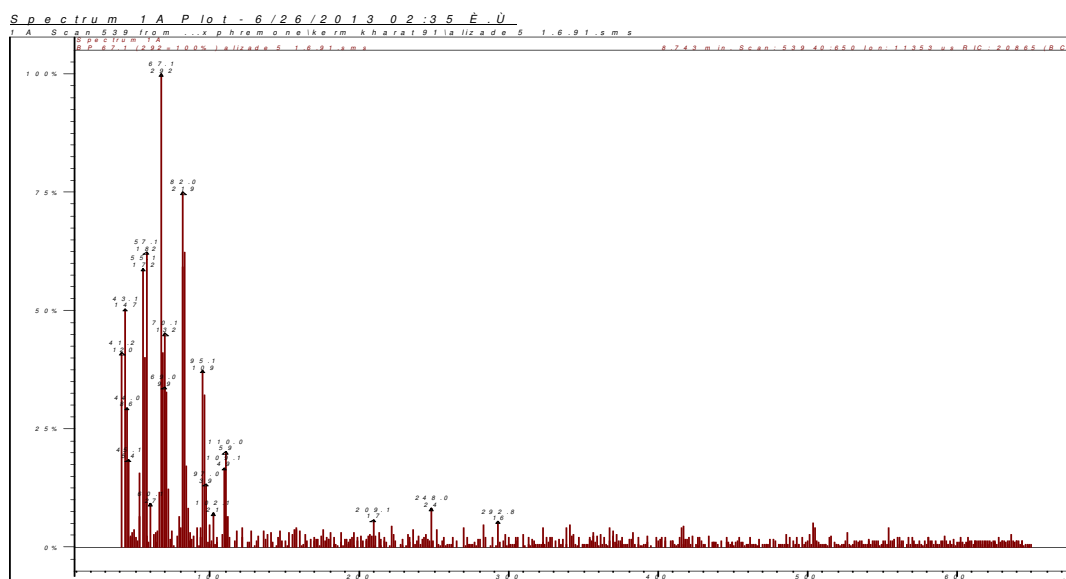
Sample: alizade 5 1.6.91

Scan Range: 1 - 1937 Time Range: 0.00 - 31.11 min.

Operator:

Date: 8/22/2012 03:05 E.U





(شکل ۱: شکست جرمی پیک ۲۴/۵ و ۸/۷۶ دقیقه ترکیبات فرار جذب شده به SPME)

نتیجه گیری کلی:

ترکیب فرومون جنسی پروانه کرم گلوگاه انار در سال ۱۹۹۱ شناسایی شد و مشخص گردید که ترکیب اصلی آن (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal و ترکیبات فرعی آن که در صورت همراه بودن با ترکیب اصلی واکنش رفتاری و پرواز نرها را بهبود می بخشد (Z,E)-9,11-tetradecadienal و (Z)-9-tetradecenal می باشد (Baker et.al., 1991).

روش شناسایی و استخراج فرومون بوسیله SPME میتواند روش مناسبی برای شناسایی فرومون های جمعیت های بومی کشور باشد. بررسی آنالیز طیف های بدست آمده ترکیبات فرار حشره ماده دو جزء اصلی ترکیبات فرومون را در زمان بازداری ۲۴/۵ (Z,E)-9,11,13-tetradecatrienal و ۸/۷۶ (Z,E)-9,11-tetradecadienal دقیقه نشان میدهد که شکست پیک های این دو طیف تقریباً با شکستهای منابع گزارش شده یکسان میباشد (Zagatti et al., 1996).

گلدان ساز (۱۳۸۷) در آزمایشی با استفاده از شبه فرومون سنتتیک و فرومون طبیعی (ماده های باکره) نتیجه گیری کرد که فرومون طبیعی به طور معنی داری بیشتر از شبه فرومون مصنوعی نرها را جلب و شکار می نماید. همچنین مقایسه فرومون جنسی طبیعی و شبه فرومون جنسی سنتتیک در منطقه یزد نشان داد که در طول مدت ۷۷ روز تله گذاری، میزان شکار تله های حاوی فرومون جنسی طبیعی و جنسی سنتتیک به ترتیب ۵۵۳ و ۲۰۱ شب پره نر بود و این نتایج حاکی از کارایی پایین شبه فرومون سنتتیک در قیاس با فرومون جنسی طبیعی می باشد (فرازمند، ۱۳۸۹).

لذا مطالعات انجام شده حاکی از پایین بودن کارایی فرومون های سنتتیک موجود و عدم سازگاری آنها با شرایط جغرافیایی کشور بوده و از طرفی کارایی اندک آنها نیز در مناطق مختلف جغرافیایی، متفاوت بوده است. از این رو شناسایی و استخراج جمعیت های فرومون کرم گلوگاه انار در مناطق مختلف میتواند پاسخ عدم جلب حشرات نر یک منطقه جغرافیایی به حشرات ماده مناطق دیگر را مشخص کند. همچنین شناخت بیشتر رفتارهای جنسی حشره بومی کرم گلوگاه انار در مناطق مختلف ایران میتواند رهگشایی در کنترل غیرشیمیایی این آفت مهم کشور باشد. با دستیابی به فرایند روش شناسایی سریع فرومون کرم گلوگاه انار، امکان شناسایی و مقایسه فرومون جمعیت های مختلف این شب پره در کشور فراهم گردید.

منابع:

۱- بهزادی شهر بابکی، حبیب. ۱۳۶۷. پراکندگی و تنوع ارقام انار در ایران. نشر آموزش کشاورزی. ۲۶۶ صفحه.

- ۲- جعفری ندوشن، علی. ۱۳۸۲. بررسی امکان استفاده از فرومون جنسی طبیعی در تعیین اوج پرواز و کاهش خسارت پروانه کرم گلوگاه انار. گزارش نهایی. مرکز تحقیقات کشاورزی یزد. ۴۰ صفحه.
- ۳- جعفری ندوشن، علی،، سادات اخوی، سید رضا و عبداللهی، عباس. ۱۳۸۱. بررسی امکان استفاده از فرومون طبیعی در تعیین اوج پرواز کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratonia*. پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. جلد اول. دانشگاه رازی. کرمانشاه.
- ۴- زمردی، عظیم. ۱۳۷۰. بهداشت گیاهان زراعی. انتشارات مولف تهران.
- ۵- شاکری منصور. ۱۳۷۱. اولین گزارش از حمله ی *Specterobates ceratoniae* به انجیر در ایران. نشریه افات و بیماریهای گیاهی. جلد ۶۰. شماره ۲ و ۱. صفحه ۹۳
- ۶- فرازمند، ح. ۱۳۹۰. مقایسه میزان شکار تله‌های فرومونی جنسی سنتتیک کرم گلوگاه انار، گزارش نهایی پروژه تحقیقاتی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، تهران، ۳۴ صفحه.
- ۷- فرازمند، ح. و مشیری، ا. ۱۳۹۱. کارائی فرومون سنتتیک کرم گلوگاه انار در باغ های انار، خلاصه مقالات بیستمین کنگره گیاه پزشکی ایران، شیراز، شهریور ۱۳۹۱، صفحه ۸۰۱.
- ۸- فرازمند، حسین. ۱۳۸۹. مطالعه نوسانات جمعیت کرم گلوگاه انار، *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep.: Pyralidae) و عوامل زنده و غیرزنده کنترل کننده جمعیت آن روی انار و انجیر. گزارش پژوهشی سالیانه. مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، ۱۱ صفحه.
- ۹- گلدان ساز، ح. و پور جواد، ن. ۱۳۸۷. بررسی امکان کاربرد فرومون جنسی سنتتیک کرم گلوگاه انار در شرایط طبیعی. هجدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران-همدان. صفحه ۲۱۱.
- ۱۰- ملکی میلانی، حسن. ۱۳۷۰. فرومون‌های حشرات. برج، ام سی. و هینس، کی اف. (ترجمه). چاپ اول. انتشارات پیش‌تاز علم تبریز.

- 1- Arn, H. Toth, M. and Priesner, E. 1992. List of sex pheromone of lepidoptera and realated attractants. OILB-SROP. Paris.
- 11- Baker, TC., Francke, W., Millar, JG., Lofstedt, C., Hansson, B., Du, JW., Phelan, PL., Vetter, RS., Youngman, R., Todd, JL. 1991. Identification and bioassay of sex pheromone components of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller); *Journal-of-Chemical-Ecology*. 17: 10, 1973-1988.
- 12- Balachowsky, A. S. 1972. *Entomologie Applique e al Agriculture. Tome II, Masson et cie paris*, 634 pp.
- 13- Cofflet, J. and Vick, K. 1979. Isolation and indefication and synthesis of a female sex pheromone of Navel Orangworm *Amyelois transitiella*. *Journal Chemical Ecology*. 5(6):955-966.
- 14- Gothilf, S. 1969. The biology of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* (zell.)in Israel.II.Effect of food,temperature and humidity on development. *Israel J.Ent.*4(1):107-116.
- 2- Haynes, K. F. and Birch, M. C. 1983. The role of other pheromones, allomones and kairomones in the behavioral responses of insects. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. (G. A. Kerkut and Gilbert, L. I. eds.). Pergamon Press. Oxford. 9:225-255.
- 3- Hendry, L. B., Pitek, B., Browne, L. E., Wood, D. L., Byers, J. A., Fish, R. H. and Hicks, A. F. 1980. In vivo conveasion of a labeled host-plant chemical to pheromones of the bark beetle *Ips paraconfusus*. *Nature*.284.
- 4- Howse, P. E., Steven, I. D. R. and Jones, O. T. 1998. *Insect Pheromones and their use in Pest management*. Edit Chapman & Hall.
- 15- Todd, JL., Millar, JG., Vetter, RS., Baker, TC. 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: 12, 2331-2352.
- 16- Zagatti, P., Lucas, P., Genty, P., Arango, S., Malosse, C., Tellier, F. 1996. Sex pheromone of *Stenoma cecropia* Meyrick (Lepidoptera: Elachistidae), *Journal-of-Chemical-Ecology*. 22: 6, 1103-1121.

Detection of pomegranate fruit moth pheromone by SPME method in Iran

Fahimeh Varshovi¹, Babak Heydari-Alizadeh², Hossein Farazmand^{2*}, Ali oliaei-Torshizi³, Mohammad Sirjani⁴

1- Graduate of Science and Culture University, Kashmar Branch, Iran

2- Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

3- Science and Culture University, Kashmar Branch, Iran

4- Agricultural and Natural Resources Research Station of Kashmar, Iran

ABSTRACT

Carob moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep: Pyrallidae) is an important pests of pomegranate trees in Iran and expanding its range into many parts of the world. Because of the long period damages of carob moth on fig and pomegranate, it is essential to accomplish basic research according to a stable control on this pest. A good IPM can be obtained by a complete study on the biology and population diagram. The field test in Iran has shown, using the synthetic characterized pheromone from a broad could not attract male insect. For this reason, in this project try to identify (Z, E)-9, 11-Tetradecadienal and the other components in *Ectomyelois ceratoniae* Zeller in iran population. The method was extraction of pheromone by SPME and identification by GC/mass. Two compounds including (Z, E)-9, 11-Tetradecadienal and (Z,E)-9,11-tetradecadiena characterized from spectra in 24.5 and 8.76 retention time, respectively.

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

*, Corresponding author: paper@farazmand.ir