سنتز فرومون جنسی ساقه خوار نیشکر *Sesamia cretica* و بررسی کارایی ترکیب سنتتیک آن در شرایط مزرعه‌ای

مهرداد تبریزیان[۱]، کاظم محمدپور[۲]*، حسین فرازمند[۳] و امیر چراغی[۴]

۱- استادیار بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران،ایران

۲- ***نویسنده مسوول:** استادیار بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران (mohammadpour_k@yahoo.com)

۳- دانشیار بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۴- کارشناس حشره‌شناسی و کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۹/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۳/۰۸

چکیده

ساقه‌خوار *Sesamia cretica* Lederer. خسارت عمده‌ای به محصول ذرت و نیشکر وارد می‌سازد. در آزمایشگاه سنتز فرومون مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، فرومون *S. cretica* سنتز و فرموله شد. کارایی فرومون سنتز شده داخلی با سه نوع فرومون وارداتی از شرکت‌های راسل، اکونکس و سیلوندرسون در مزارع در سال ۱۳۹۳آزمایش و مقایسه شد. همچنین جلب‌کنندگی فرومون سنتز شده داخلی در دو نوع تله قیفی و دلتا بررسی شد. نتایج نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. تیمارهای دوز نیم، یک و دو میلی‌گرم به‌ترتیب با میانگین شکار ۰/۹۱±۵، ۰/۴۵±۲/۷۵ و ۰/۸۵±۳/۷۵ (خطای معیار ± میانگین) شب‌پره دارای بیشترین جلب‌کنندگی و تیمارهای فرومون‌های شرکت‌های راسل، اکونکس و سیلوندرسون بدون شکار و فاقد قدرت جلب‌کنندگی بودند. آنالیز فرمولاسیون فرومون‌های وارداتی، نشان‌دهنده وجود فقط دو مولکول Z9-تترادسنول و Z9-تترادسنیل استات در ساختار فرمولاسیون آن‌ها بود. فرومون‌های وارداتی فاقد مولکول سوم، Z11-هگزادسنول، در فرمولاسیون خود بودند و به همین دلیل در آزمایش‌های صحرایی قادر به شکار شب‌پره آفت نبودند. تیمارهای تله قیفی با دوز یک و دو میلی‌گرم فرومون سنتز شده در مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور به‌ترتیب با میانگین شکار ۲/۶۸±۱۲/۲۵ و ۲/۸۰±۱۱/۲۵ شب‌پره دارای بیشترین شکار و تله دلتا با دوز یک و دو میلی‌گرم به‌ترتیب با میانگین شکار ۰/۰۰±۰/۰۰ و ۰/۲۵±۰/۲۵ شب‌پره دارای کمترین شکار بودند. بنابراین استفاده از فرومون سنتز شده داخلی و همچنین استفاده از تله قیفی برای جلب شب‌پره *S. cretica* توصیه می‌شود.

کلید واژه‌ها: تله، ساقه خوار نیشکر، سنتز، فرومون

مقدمه

در اکثر مناطق زیر کشت ذرت و نیشکر ایران، ساقه‌خواران *Sesamia* spp. در کاهش محصول نقش عمده‌ای دارند. ساقه‌خواران جنس *Sesamia* دارای گونه‌های مختلفی می‌باشند، ولی خسارت عمده مربوط به گونه‌های *S. cretica* Lederer. و *S. nonagrioides* Lefebvre. می‌باشد. در بررسی به عمل آمده در مزارع نیشکر کشت و صنعت‌های امام خمینی (ره) و امیر کبیر در سال زراعی ۷۷-۱۳۷۶ مشخص شد که به‌ترتیب ۲۰/۲ و ۳۵/۶۸ درصد از ساقه‌های نیشکر در اثر این ساقه‌خواران خسارت دیده بودند (Ranjbar Aghdam and kamali, 2000). کنترل ساقه‌خواران نیشکر به دلیل نفوذ لارو به درون ساقه

مشکل می‌باشد. کنترل شیمیایی می‌بایستی در زمانی که تخم‌ها و یا لاروها روی گیاه میزبان قرار دارند و قبل از نفوذ لاروها به داخل ساقه انجام پذیرد. فرومون‌های سنتتیک ابزار مناسبی در مبارزه تلفیقی با آفات به شمار می‌آیند. در حال حاضر به دلیل مشاهده خسارت روزافزون این آفات، توجه خاصی به استفاده از روش‌های جایگزین مبارزه شیمیایی جهت کنترل ساقه‌خواران مذکور شده است. یکی از روش‌های مورد توجه استفاده از فرومون‌های مصنوعی می‌باشد (Carde and Minks, 1996). از فرومون‌های سنتتیک می‌توان به‌صورت طعمه در تله‌ها برای رصد فعالیت پرواز شب‌پره‌ها، تعیین زمان مبارزه شیمیایی و یا زمان مناسب رهاسازی عوامل مفید استفاده کرد. استفاده از فرومون‌ها در تله‌های پیش‌آگاهی می‌تواند کمک بزرگی جهت سم‌پاشی به موقع و کنترل ساقه‌خواران نیشکر باشد.

دو ملکول Z9-ترادسنیل استات و Z9-ترادسنول به‌ترتیب با نسبت ۷۵:۲۵ به‌عنوان جلب‌کننده برای *S. cretica* گزارش شدند (Arsura et al., 1977). این مخلوط در نقاط مختلف مورد آزمایش قرار گرفته، ولی شکار مناسبی نداشته است. در سال ۲۰۰۸ مولکول سوم Z11- هگزادسنول (۱۰ درصد) گزارش شد که با اضافه نمودن به دو مولکول قبلی Z9-ترادسنیل استات (۱۰درصد) و Z9-ترادسنول (۸۰ درصد) عملکرد بهتری را داشت (Avand Faghih and Freerot, 2008). در حال حاضر استفاده از فرومون این آفت در داخل کشور، معطوف به تهیه از منابع خارج می باشد. به دلیل این که فرمولاسیون‌های مختلف فرومون‌های تولید شده شب‌پره *S. cretica* توسط شرکت‌های خارجی دارای عملکرد متناقض می‌باشد، لذا ضروری بود بررسی در زمینه سنتز و کارایی فرومون این حشره در داخل کشورصورت پذیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره

ابتدا حشرات و شفیره‌های ساقه‌خواران نیشکر از مزارع نیشکر استان خوزستان در تابستان ۱۳۹۳ جمع‌آوری و به آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور منتقل شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده در آزمایشگاه تحت شرایط دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی روی ساقه‌های ذرت و نیشکر طبق روش Ranjbar Aghdam (1998) نگهداری شدند. تفکیک دوگونه‌ی *S. nonaghrioides* Lef. و *S. cretica* Lederer. در مراحل زیستی شفیرگی و حشرات بالغ به‌ترتیب بر اساس بررسی‌های مرفولوژیک و بررسی ژنیتالیا انجام شد.

استخراج فرومون و مقایسه آن با نمونه خارجی

حشرات نر و ماده‌ی ظاهر شده، به‌طور جداگانه در ظروف پلاستیکی به قطر ۱۵ و عمق ۱۰ سانتی‌متر با رطوبت نسبی ۸۰ درصد نگهداری شدند. غدد شب‌پره‌های ماده‌ای که به‌مدت ۱۵ دقیقه رفتار فراخوانی داشتند، جهت استخراج فرومون مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج فرومون توسط روش ریزاستخراج مواد فرار با فاز جامد[1] و تجزیه شیمیایی مواد استخراج شده به‌وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی[2] انجام شد. فیبر مورد استفاده برای استخراج ساخت شرکت ساپلکو[3] و از جنس پلی‌دی‌متیل سیلوکزان[4] و به قطر هفت میکرومتر بود. جذب مواد فرار حشره با دو روش انجام شد. در روش اول فیبر در نزدیکی شب‌پره ماده به‌مدت ۱۰ ساعت در لوله آزمایش قرار گرفت. در روش دوم مواد غدد به‌وسیله فشار آرام فیبر بر روی شکم حشره بیرون کشیده شد. بقیه سطح فیبر به آرامی برروی پوست غده به‌مدت پنج دقیقه مالش داده شد. آنالیز گاز کروماتوگراف با کمک دستگاه ساخت شرکت واترز[5] مجهز به تزریق اسپلیتلس[6] با دتکتور اف‌آی‌دی[7] در دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. ستون مورد استفاده دی‌بی-۵[8] به طول ۲۵ متر و ضخامت ۰/۳۲ میلی‌متر

1- Solid phase microextraction (SPME)
2- GC-MS
3- Supelco
4- Polydimethyl siloxane
5- Waters
6- Splitless
7- FID Detector
8- DB-5

بود. شناسایی مواد متشکله کروماتوگرام به‌وسیله دستگاه گازکروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی انجام شد.

همچنین به‌منظور آنالیز فرومون خارجی، یک عدد کپسول فرومون شرکت راسل در ظرف شیشه‌ای درب‌دار قرار داده شد. سوزن دستگاه ریزاستخراج از سوراخی که در درپوش شیشه‌ها ایجاد شده بود، وارد ظرف شیشه‌ای محتوی فرومون شد. سپس درب شیشه بسته شد و داخل آون در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت پنج ساعت قرار داده شد. بعد از این مدت، سوزن دستگاه ریزاستخراج به دستگاه گازکروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی تزریق شد.

سنتز فرومون

ترکیب شیمیایی فرومون شب‌پره کرم ساقه خوار نیشکر *S. cretica* به‌صورت مخلوطی از سه ملکول Z9-ترادسنول (۸۰ درصد)، Z9-ترادسنیل استات (۱۰ درصد) و Z11-هگزادسنول (۱۰ درصد) می‌باشد (Avand Faghih and Frerot, 2008). در آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی، سه ملکول تشکیل‌دهنده فرومون سنتز شد. در تمام مراحل انجام واکنش، ابتدا محصول با کمک حلال، استخراج شد. سپس حلال با آب مورد شستشو قرار گرفته و با استفاده از سولفات سدیم[1] خشک گردید. درنهایت با استفاده از تقطیر خلاء محصول خالص شد. خلوص ماده به‌دست آمده به‌وسیله کروماتوگرافی لایه نازک[2] بر روی ورقه‌های آلومینیومی آماده که بر روی سیلیکاژل قرار داده شده بود، مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت (Tabrizian et al., 2000). آنالیز با دستگاه گاز کروماتوگراف ساخت شرکت طیف گستر، دتکتور اف‌آی‌دی و ستون دی‌بی-۵ به طول ۵۰ متر و دمای ستون ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد (دمای تزریق و دمای دتکتور ۲۲۰ سانتی‌گراد بدون برنامه حرارتی) انجام شد. مراحل سنتز به شرح زیر می‌باشد (شکل ۱):

سنتز ملکول (Z)-۹-ترادسنول: سنتز این ماده در طی پنج مرحله واکنش شیمیایی طبق شکل ۱ انجام شد که محصول هر واکنش با حروف نشان داده شده است.

1- Na_2SO_4
2- Thin layer chromatography

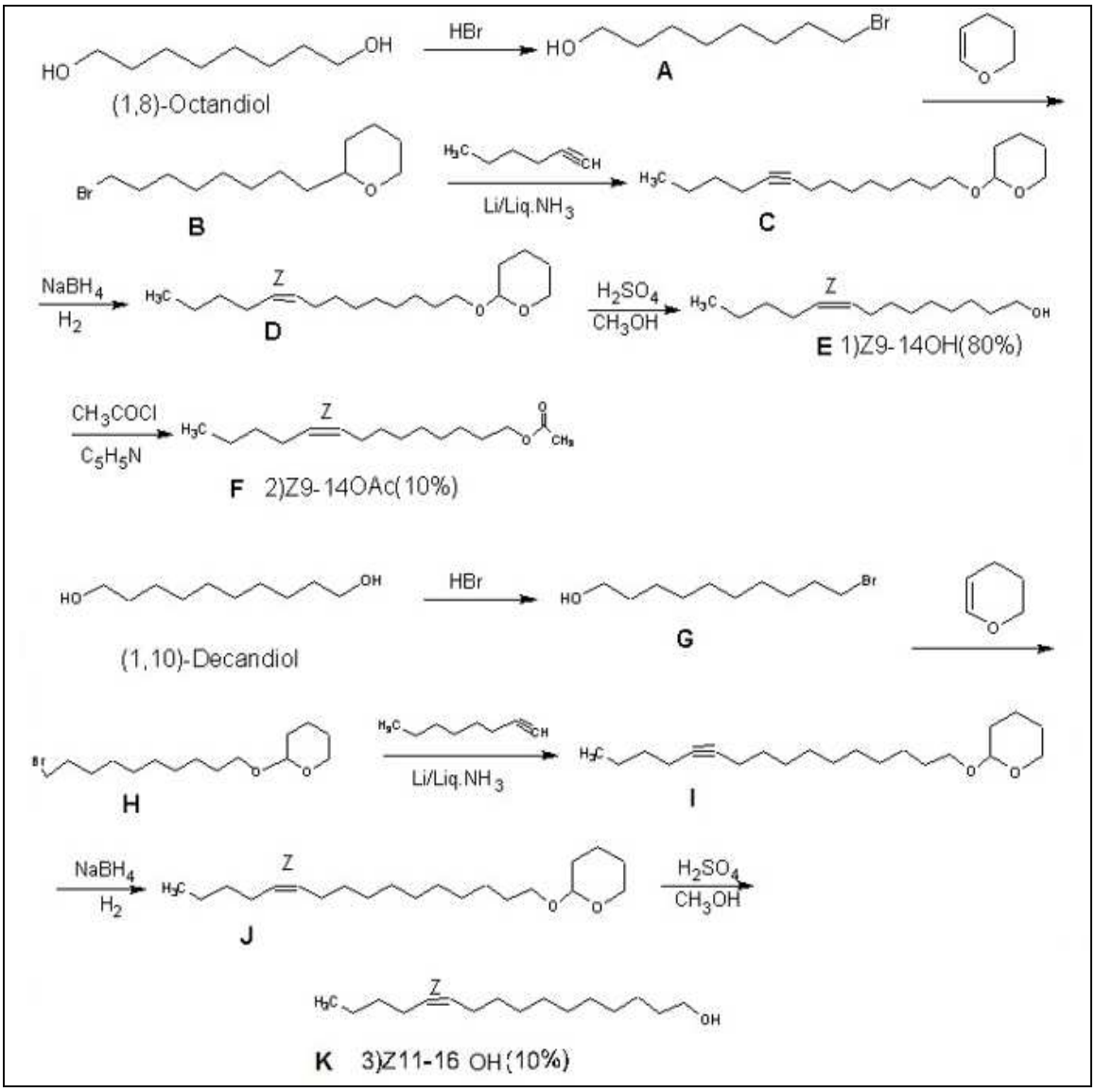
چکیده مراحل انجام واکنش به شرح ذیل می‌باشد:

۱- سنتز ۸-بروموکتان-۱-ال[3] (ترکیب A): بدین منظور ترکیب ۱،۸ اکتاندیول[4] به میزان (۱۰۲گرم، ۰/۷ مول) و اسید برمیک ۴۷ درصد (۹۱ میلی‌لیتر، ۰/۹ مول) و حلال بنزن خشک (۳۰۰ میلی‌لیتر) در دمای جوش بنزن به‌مدت ۱۲ ساعت طبق واکنش‌های معمول هالوژن‌دار کردن، انجام شد. ماده ناخالص به‌دست آمده در فشار کم تقطیر و تا ۹۷ درصد خالص شد.

۲- سنتز ۲-(۸-بروموکتیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران[5] (ترکیب B): جهت جلوگیری از واکنش‌های بعدی، گروه الکلی (OH) به‌وسیله ۲،۳ دی‌هیدروپیران[6] (۶۰ گرم، ۰/۷۱۱ مول) و ۵ قطره اسید کلریدریک ۳۷ درصد در یک بالن دو دهانه ریخته و به‌مدت سه ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. در انتها به‌وسیله محلول سدیم بی‌کربنات محصول شسته و سپس با سولفات سدیم خشک شد و تقطیر در خلاء در ۸ میلی‌متر جیوه انجام گردید. ماده B به میزان (۱۴۷ گرم، ۰/۵۰ مول) تشکیل شد.

۳- سنتز ۲-(ترادک-۹-ینیلوکسی)- تتراهیدرو-2H-پیران[7] (ترکیب C): ابتدا با اضافه نمودن تدریجی فلز لیتیم به میزان (۶/۹۴گرم، یک مول) به ۵۰۰ میلی‌لیتر آمونیاک مایع ضمن به هم زدن مکانیکی، لیتیم آماید در داخل محلول آمونیاک تشکیل شد. بعد از تشکیل لیتیم آماید، ۱-هگزین[8] به میزان (۳/۳۱گرم، ۰/۰۴۰ مول) به‌وسیله قیف اضافه‌کننده به همراه ۵۰ میلی‌لیتر تتراهیدروفوران خشک به تدریج و ضمن به هم‌زدن به‌وسیله به هم‌زن مکانیکی به ظرف واکنش اضافه گردید. ادامه واکنش به‌مدت چهار ساعت دیگر در محلول آمونیاک انجام شد. در پایان استخراج با استفاده از دی‌اتیل‌اتر و شستشو با محلول آمونیوم کلراید، آب و تقطیر در خلاء انجام شد. ماده C به میزان (۹/۲گرم، ۰/۰۳۱ مول) تشکیل شد.

3- 8-bromooctan-1-ol
4- 1,8-Octandiol
5- 2-(8-bromooctyloxy)-tetrahydro-2H-pyran
6- 2,3-dihydropyran
7- 2-(Tetradec-11-ynyloxy)-tetrahydro-2H-pyran I
8- 1-Hexyne



شکل ۱- مراحل سنتز فرومون جنسی شب‌پره *S. cretica*

Fig 1. The synthesis levels of sex pheromone of *S. cretica*

۴- سنتز Z9-۲-(تترادسنیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران[1] (ترکیب D): در این واکنش پیوند استیلینی ماده C (۹/۲ گرم، ۰/۰۳۱ مول) با کمک کاتالیست سدیم بورو هیدراید (۰/۲۸۵ گرم، ۰/۰۰۷۵ مول)، اتیلین دی آمین (۱/۳۴۵ گرم، ۰/۰۲۲۵ مول) و نیکل استات تتراهیدرات (۱/۸۵۰ گرم، ۰/۰۰۷۵ مول) در مقدار (۷۰۱ میلی‌لیتر،۰/۰۳۱مول) گاز هیدروژن در دمای اطاق به پیوند اتیلنی سیس تبدیل شد. محصول واکنش به‌وسیله اتر استخراج و مقدار ۹ گرم جمع‌آوری شد. پیشرفت واکنش مرتباً به‌وسیله گازکروماتوگراف کنترل گردید. خلوص ماده ۸۶ درصد تعیین شد.

۵- سنتز ملکول (Z)-۹-تترادسنول (ترکیب E): در این مرحله، دی هیدروپیران که جهت پروتکت عامل OH واکنش داده شده بود را با استفاده از متانول و اسید سولفوریک دوباره به حالت قبل یعنی عامل OH برگردانده شد. برای این منظور مقدار ۵۲۳ میلی‌لیتر متانول و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ماده D را به همراه به هم‌زدن مخلوط و به تدریج دما به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. تکمیل واکنش به‌وسیله کروماتوگرافی لایه

1- Z9-2-(Tetradecenyloxy)-tetrahydro-2H-pyran

نازک کنترل شد. در خاتمه، واکنش را خنک و با اضافه کردن پودر سدیم بی‌کربنات خنثی و بعد از خنثی شدن اسید (PH خنثی)، متانول را به‌وسیله روتاری تبخیر و مواد باقی‌مانده تقطیر خلاء شد. ملکول (Z)-۹-تترادسنول به میزان (۴/۲۴گرم، ۰/۰۲۰ مول) تشکیل شد که شکست ملکولی به‌دست آمده به شرح زیر می‌باشد:

[m/z=194 (M^+-18) 95, 81: 100%, 69, 55, 41]

سنتز ملکول (Z)-۹-تترادسنیل استات (ترکیب F): استیل کردن واکنش به کمک استیل کلراید دو گرم (۰/۰۲۵ مول)، پیریدین دوگرم (۰/۰۲۵ مول) و ۴/۲۴ گرم ترکیب (Z)-۹-تترادسنول در ۱۰۰ میلی لیتر حلال بنزن انجام شد که طی آن گروه الکل (OH) به گروه استیل (OAc) تبدیل گردید. عملیات خنثی‌سازی و شستشو همانند مراحل قبل انجام و تقطیر خلا (96-103 °c/1mmHg) با تشکیل چهار گرم محصول نهایی به‌دست آمد. در این مرحله نیز کروماتوگرافی ستون با کمک سیلیکاژل و حلال‌های اتر و هگزان نرمال جهت خالص‌سازی کامل محصول انجام شد که شکست ملکولی به‌دست آمده به شرح زیر می‌باشد:

[m/z= 43, 55, 67, 81: 100%, 95, 194 (M^+-60)]

سنتز (Z)-۱۱-هگزادسنول: سنتز این ترکیب در طی پنج مرحله واکنش شیمیایی طبق شکل ۱ انجام شد که محصول هر واکنش با حروف نشان داده شده است:

۱- سنتز ۱۰-برومودکان-۱-ال[1] (ترکیب G): برای این منظور واکنش ترکیب ۱،۱۰ دکاندیول[2] به میزان (۱۲۲ گرم، ۰/۷ مول) و اسید برمیک ۴۷درصد (۹۱ میلی‌لیتر، ۰/۹ مول) و حلال بنزن خشک (۳۵۰ میلی‌لیتر) در دمای جوش بنزن به‌مدت ۱۲ ساعت انجام شد. ماده ناخالص به دست آمده در فشار کم تقطیر و تا ۹۸ درصد خالص شد.

۲- سنتز ۲-(۱۰-برومودکایلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران[3] (ترکیب H): گروه الکلی (OH) به‌وسیله ۲،۳ دی‌هیدروپیران[4] (۶۰گرم، ۰/۷۱۱ مول) و پنج قطره اسید کلریدریک ۳۷ درصد در یک بالن دو دهانه ریخته و به‌مدت سه ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. در انتها به وسیله محلول سدیم بی‌کربنات محصول شسته و سپس با سولفات سدیم خشک شد و تقطیر در خلاء در هشت میلی‌متر جیوه انجام گردید. ترکیب B به میزان (۱۶۱گرم، ۰/۵۰۰ مول) تشکیل شد.

۳-سنتز ۲-(هگزادک-۱۱-ینیلوکسی)- تتراهیدرو-2H-پیران[5] (ترکیب I): ابتدا با اضافه نمودن تدریجی فلز لیتیم به میزان (۶/۹۴گرم، یک مول) به ۵۰۰ میلی‌لیتر آمونیاک مایع ضمن به هم زدن مکانیکی، لیتیم آماید در داخل محلول آمونیاک تشکیل شد. بعد از تشکیل لیتیم آماید، ۱- هگزین[6] به میزان (۳/۳۱گرم، ۰/۰۴۰ مول) به‌وسیله قیف اضافه‌کننده به همراه ۵۰ میلی‌لیتر تتراهیدروفوران خشک به تدریج و ضمن به هم زدن به‌وسیله بهم‌زن مکانیکی به ظرف واکنش اضافه گردید. ادامه واکنش به‌مدت چهار ساعت دیگر در محلول آمونیاک انجام شد. در پایان استخراج با استفاده از دی‌اتیل‌اتر و شستشو با محلول آمونیوم کلراید، آب و تقطیر در خلاء انجام شد. ماده C به میزان (۱۰ گرم، ۰/۰۳۱ مول) تشکیل شد.

۴- سنتز Z11-۲-(هگزادسنیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران[7] (ترکیب J): در این واکنش پیوند استیلنی (۱۰ گرم، ۰/۰۳۱ مول) با کمک کاتالیست سدیم بورو هیدراید (۰/۲۸۵ گرم، ۰/۰۰۷۵ مول)، اتیلین دی آمین (۱/۳۴۵ گرم، ۰/۰۲۲۵ مول) و نیکل استات تتراهیدرات (۱/۸۵۰ گرم، ۰/۰۰۷۵ مول) در مقدار (۷۰۱ میلی‌لیتر، ۰/۰۳۱ مول) گاز هیدروژن در دمای اطاق به پیوند اتیلنی سیس تبدیل شد. محصول واکنش به‌وسیله اتر استخراج و مقدار ۹/۲ گرم جمع‌آوری شد. پیشرفت واکنش مرتباً به وسیله گاز کروماتوگراف کنترل گردید. خلوص ماده ۸۵ درصد تعیین شد.

1- 10-bromodecan-1-ol
2- 1,10-Decandiol
3- 2-(10-bromodecayloxy)-tetrahydro-2H-pyran
4- 2,3-dihydropyran
5- 2-(Hexadec-11-ynyloxy)-tetrahydro-2H-pyran I
6- 1-Hexyne
7- Z11-2(Hexadecenyloxy)-tetrahydro-2H-pyran

۵- سنتز مولکول (Z)-۱۱-هگزادسنول (ترکیب K): در این مرحله، دی هیدروپیران که جهت پروتکت عامل OH واکنش داده شده بود را با استفاده از متانول و اسید سولفوریک دوباره به حالت قبل یعنی عامل OH برگردانده شد. برای این منظور مقدار ۵۲۳ میلی‌لیتر متانول و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ترکیب J را به همراه به هم‌زدن مخلوط و به تدریج دما را به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. تکمیل واکنش به‌وسیله کروماتوگرافی لایه نازک کنترل شد. در خاتمه، واکنش را خنک و با اضافه کردن پودر سدیم بی‌کربنات خنثی و بعد از خنثی شدن اسید (PH خنثی)، متانول را به‌وسیله روتاری تبخیر و مواد باقی‌مانده تقطیر خلاء شد. مولکول (Z)-۱۱-هگزادسنول به میزان (۴/۲۴گرم، ۰/۰۲۰ مول) تشکیل شد که شکست ملکولی به‌دست آمده به شرح زیر می‌باشد:

[m/z= 222 (M-18), 95, 81: 100%, 55, 41]

بعد از تکمیل واکنش‌های شیمیایی و به‌دست آوردن محصول خالص،ترکیب فرومون شامل سه مولکول Z9-تترادسنول، Z9-تترادسنیل استات و Z11-هگزادسنول را به‌ترتیب با نسبت۸۰:۱۰:۱۰ مخلوط شد. محصول نهایی جهت ماندگاری در داخل پخش‌کننده‌های لاستیکی (تهیه شده از شرکت داخلی آریا) و در اتمسفر نیتروژن پلمب گردید و تا زمان آزمایش مزرعه‌ای در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بررسی کارایی فرومون سنتز شده داخلی

به‌منظور بررسی کارایی فرومون سنتز شده در شکار شب‌پره کرم ساقه خوار نیشکر، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با شش تیمار شامل سه دز نیم ، یک و دو میلی‌گرم فرومون سنتز شده تولید داخل و سه فرومون تولید خارج با دز یک میلی‌گرم شامل فرومون شرکت راسل (انگلیس)، شرکت اکونکس (اسپانیا) و شرکت سیلوندرسون (کانادا) در چهار تکرار از تاریخ ۹۳/۵/۲۸ لغایت ۹۳/۶/۱۹ در در یک مزرعه ۲۵ هکتاری نیشکر رقم Cp69-1062 متعلق به مؤسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا پخش‌کننده‌های لاستیکی[1] از شرکت آریا تهیه شد. سپس ترکیب فرومون سنتز شده داخلی در سه دوز مذکور در پخش‌کننده‌های لاستیکی تزریق شد. از تله دلتا (ساخت شرکت داخلی ایمن زیست‌بان پارسیان) استفاده شد. تله‌ها در ارتفاع ۱/۵ متری سطح زمین نصب شد. فاصله بین تیمارها ۳۰ متر و فاصله بین بلوک‌ها ۱۰۰ متر بود. بازدید تله‌ها در فواصل زمانی یک هفته‌ای انجام شد. تصادفی نمودن تله‌ها و تعویض فرومون‌ها هر دو هفته انجام شد. به‌منظور تصادفی نمودن تله‌ها، با استفاده از جدول اعداد تصادفی ابتدا ترتیب نصب تله‌ها در هر بلوک مشخص و سپس عمل نصب تله‌ها انجام شد. پس از گذشت ۲ هفته مجددا به همین روش، ترتیب تله‌ها مشخص و عمل نصب انجام شد. البته درهر نوبت محل‌های نصب ثابت بودو فقط جابجایی تله‌ها بر اساس ترتیب مشخص شده انجام شد.

تعیین نوع تله مناسب

برای تعیین تله مناسب جهت شکار شب‌پره *S.cretica*، آزمایشی با دو نوع تله دلتا و قیفی (ساخت شرکت داخلی ایمن زیست‌بان پارسیان) حاوی پخش‌کننده‌های فرومون سنتز شده داخلی با دوزهای یک میلی‌گرم و دو میلی‌گرم در چهار تکرار از تاریخ ۹۵/۷/۲۶ لغایت ۹۵/۸/۳۰ در مزارع مؤسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان انجام شد. مراحل انجام و نصب تله‌ها همانند آزمایش بررسی کارایی فرومون سنتز شده داخلی بود.

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل آماری تعداد حشرات شکار شده پس از تبدیل Log(x) با استفاده از نرم‌افزار (SAS; ver 9.3) و تجزیه واریانس با PROC GLM انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

شناسایی مواد فرار منتشر شده از غده جنسی *S. cretica* و مقایسه آن با فرومون خارجی

شکل دو کروماتوگرام حاصل از تزریق مواد فرار

1- Rubber septa

استخراج شده از شب‌پره ماده *S. cretica* به دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود دستگاه پیک‌های زیادی را تشخیص داده است اما جهت تأیید هر مولکول، بایستی مولکول مورد نظر سنتز و به دستگاه تزریق شود. اگر زمان بازداری و شکست جرمی دو مولکول یکسان باشد می‌توان با قاطعیت آن مولکول را شناسایی نمود. از آنجایی که در منابع فقط سه مولکول به‌عنوان فرومون گونه *S. cretica* معرفی شده است (Avand-Faghih and Frerot, 2008)، فقط نسبت به حضور و شناسایی این سه مولکول اقدام شد. سه مولکول Z9-تترادسنیل استات، Z11- هگزادسنول و Z9-تترادسنول با توجه به زمان بازداری و شکست جرمی به‌ترتیب در دقایق ۱۴/۸۱۲، ۱۵/۴۴۰ و ۱۸/۴۴۷ مشاهده شد که تأییدکننده وجود هر سه مولکول در مواد فرار شب‌پره ماده *S. cretica* پرورش یافته، بود. همچنین کروماتوگرام حاصل از تزریق فرومون وارداتی شرکت راسل نشان داد که فرومون‌های خارجی فاقد مولکول Z11- هگزادسنول بود (شکل‌های ۲ و ۳).

بررسی کارایی فرومون سنتز شده داخلی

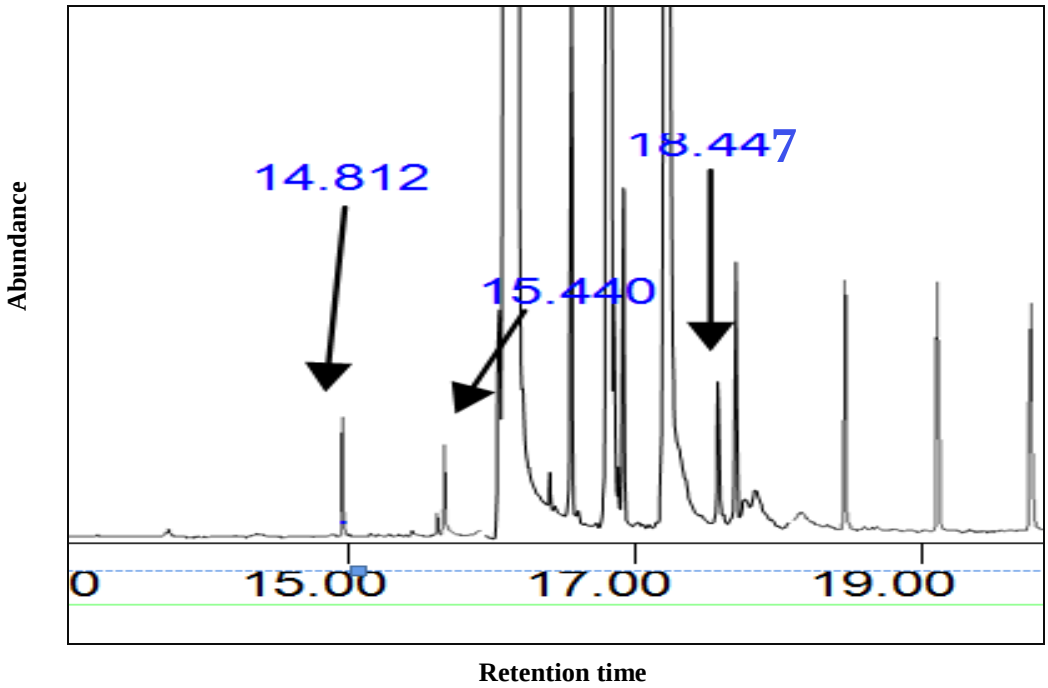
تجزیه واریانس تعداد حشرات شکار شده در آزمایش بررسی کارایی دوزهای مختلف فرومون داخلی و فرومون‌های خارجی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها وجود داشت (F=۵/۹۸; df=۳، ۵; P<۰/۰۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که دوزهای نیم، یک و دو میلی‌گرم فرومون‌های سنتزشده‌ی داخلی با میانگین شکار بیشتر (به‌ترتیب ۴۵±۰/۹۱، ۲/۷۵±۰/۵ و ۳/۷۵±۰/۸۵) در گروه a قرار گرفتند. تله‌های حاوی فرومون‌های خارجی فاقد هر گونه جلب‌کنندگی و شکار بود و درگروه b قرار گرفتند (شکل ۴). بر اساس آنالیز طیف‌سنجی جرمی به‌وسیله دستگاه گازکروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی، دلیل جلب‌کنندگی و شکار فرومون‌های سنتز شده‌ی داخلی نسبت به فرومون‌های وارداتی، وجود سه مولکول Z9-تترادسنیل استات، Z11-هگزادسنول و Z9-تترادسنول در فرمولاسیون فرومون‌های سنتز شده در آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی بود، در حالی‌که فرومون‌های وارداتی صرفا حاوی دو ملکول Z9-تترادسنیل استات و Z9-تترادسنول بودند. فرومون‌های تهیه شده از شرکت‌های خارجی فاقد مولکول سوم، Z11-هگزادسنول در کپسول لاستیکی بودند. بررسی‌های قبلی نیز نشان داده است که فرومون‌های حاوی سه مولکول در مقایسه با پخش‌کننده‌های حاوی دو مولکول فرومون (فاقد مولکول Z11-هگزادسنول و یا فاقد مولکول Z9-تترادسنیل استات) به‌طور معنی‌داری پروانه‌های نر *S. cretica* را بیشتر شکار کردند (Avand-Faghih and Frerot, 2008). بنابراین روش اخیر سنتز آزمایشگاهی سه مولکول تشکیل‌دهنده فرومون *S. cretica* می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. همچنین با توجه به این‌که دوزهای مختلف فرومون استفاده شده در تله‌ها، از نظر جلب و شکار شب‌پره‌های نر *S. cretica* تفاوتی را نشان نداد، می‌توان از دوز نیم میلی‌گرم در فرمولاسیون حامل‌های فرومون استفاده کرد.

تعیین نوع تله مناسب

تجزیه واریانس تعداد حشرات شکار شده در آزمایش بررسی نوع تله مناسب جهت شکار شب‌پره *S. cretica* نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها وجود داشت (F=۹/۶۶; df=۳، ۳; P<۰/۰۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تله‌های قیفی حاوی دوزهای یک و دو میلی‌گرم فرومون‌های سنتز شده‌ی داخلی با میانگین شکار بیشتر (به‌ترتیب ۱۲/۲۵±۲/۶۸ و ۱۱/۲۵±۲/۸۰) درگروه a و تله‌های دلتا حاوی دوزهای یک و دو میلی‌گرم فرومون‌های سنتزشده داخلی با شکار کمتر (به‌ترتیب ۰/۰۰±۰/۰۰ و ۰/۲۵±۰/۲۵) درگروه b قرار گرفتند (شکل ۵). شکار بهتر شب‌پره‌های خانواده Noctuidae در تله قیفی نسبت به تله دلتا قبلاً نیز گزارش شده است. برای مثال میزان شکار کرم قوزه پنبه، *Heliothis armigera* F. در تله قیفی ۴۹ برابر بیشتر از تله دلتا بوده است (Tabrizian et al., 2000). همچنین تله قیفی در مقایسه با تله دلتا به‌طور معنی‌داری سبب

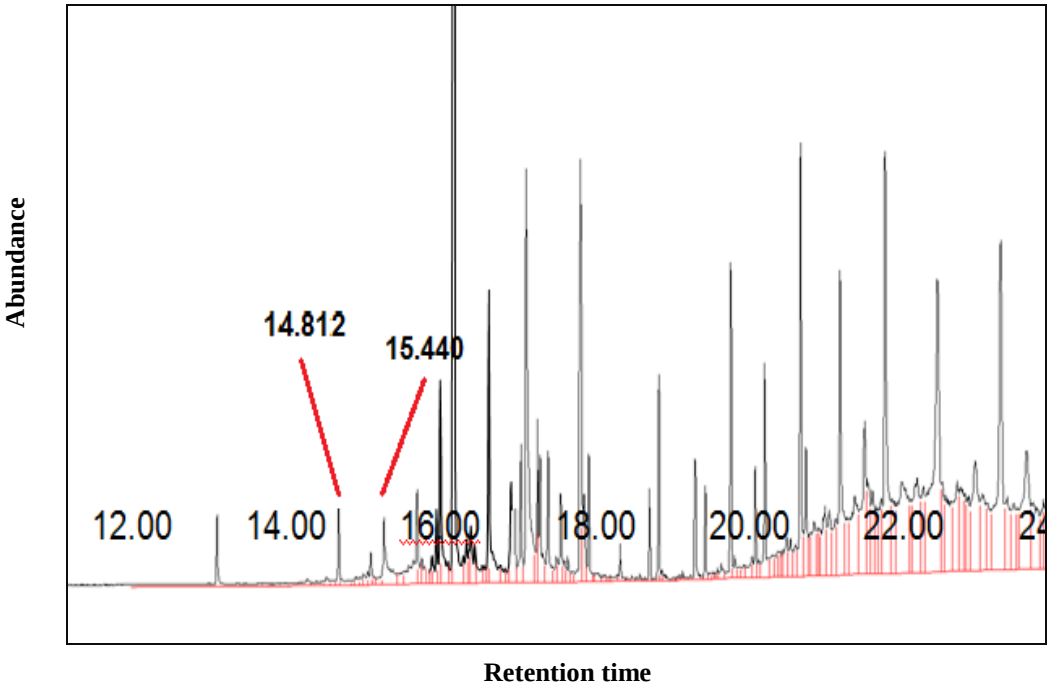
شکار بیشتر شب‌پره چوبخوار پسته *Kermania pistaciella* Amsl. شده است (Zamani et al., 2012).

با توجه به نتایج به‌دست آمده، تله قیفی در جلب و شکار پروانه ساقه‌خوار نیشکر از کارایی بهتری برخوردار بود.



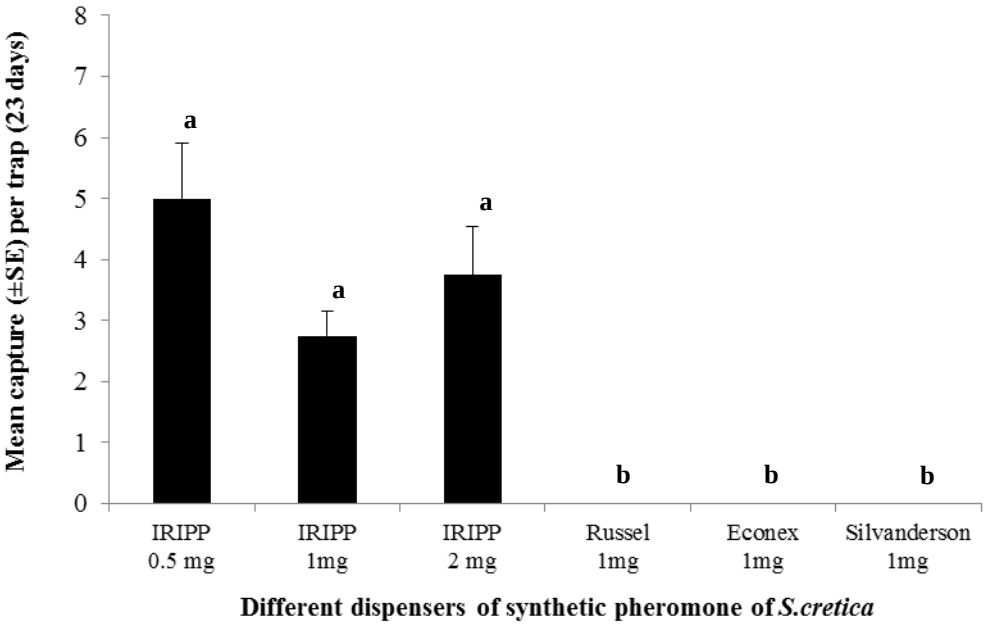
شکل ۲- کروماتوگرام حاصل از تزریق مواد فرار استخراج شده از *S. cretica* به گازکروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی

Figure 2. Chromatogram of the injection of volatiles from *S. cretica* into GC-MS



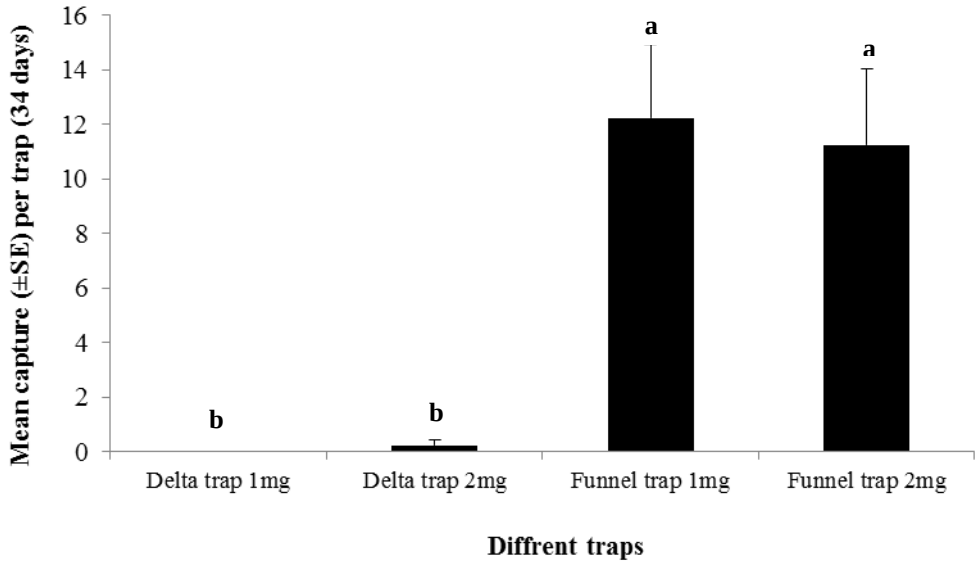
شکل ۳- کروماتوگرام حاصل از تزریق فرومون شرکت خارجی راسل به دستگاه گازکروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی

Figure 3. Chromatogram of the pheromone injection of Russell company into GC-MS



شکل ٤- میانگین شکار (± خطای معیار) پروانه *S.cretica* به‌وسیله دوزهای مختلف فرومون سنتز شده داخلی و فرومون وارداتی شرکت‌های خارجی

Figure 4. Mean capture (±SE) *S.cretica* by different doses of synthetic pheromone in Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP) and foreign companies



شکل ٥- میانگین شکار (± خطای معیار) پروانه *S.cretica* در تله قیفی و دلتا با دوزهای مختلف فرومون سنتز شده داخلی

Figure 5. Mean capture (±SE) *S.cretica* by funnel and delta traps with different doses of synthetic pheromone

سپاس‌گزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات و پشتیبانی مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و مؤسسه تحقیقات و آموزش توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان انجام شد که به این وسیله از مساعدت مسئولین و همکاران مؤسسات فوق تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Arsura, E., Capizzi, A., Piccardi, P., and Spinelli, P. 1977. (*Z*)-9-tetradecen-1-ol and (*Z*)-9-tetradecenyl acetate: A potent attractant system for male *Sesamia cretica* Led. (Lep.: Noctuidae). Experientia, 33(1):1423-1424.

Avand-Faghih, A., and Freerot, B. 2008. Identification of the sex pheromone of Sesamia cretica Lederer. Journal of Chemcal Ecology, 34(1): 103-106.

Carde, R.T., and Minks, A.K. 1996. Insect Pheromone research: New directions. Chapman and Hall Publication, New York.

Ranjbar Aghdam, H. 1998. Investigation on the possibility of rearing of egg parasitoid bee, *Platytelenomus hylas* Nixon (Hym.: Scelionidae), in laboratory conditions for biological control of *Sesamia* spp. .M.Sc. Thesis, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. (In Farsi with English abstract).

Ranjbar Aghdam, H., and Kamali, K. 2000. Rearing S*esamia cretica* and *Sesamia nonagrioides* in laboratory conditions. Journal of Entomological Society of Iran, 22(1): 63-78. (In Farsi with English abstract).

Tabrizian, M., Bayat-Asadi, H., Darvish-Mojni, T., Poorghaz, A., and Haidari, A. 2000. Studying the efficacy of different doses of cotton bollworm synthesized pheromone, *Heliothis armigera* F. in field conditions. Final report of research projet. Iranian Research Institute of Plant Protection. P. 25.

Zamani, Z., Khaje Ali, J., and Sabzalian, M.R. 2012. Effect of trap shape, direction and geographical position of Pheromone trap on monitoring of Pistachio twig borer moth, *Kermania pistaciella* Amsel. in Isfahan. Journal of Plant Pest Research, 2(2): 53-62.

Synthesis and field evaluation of the sex pheromone of stem borer, *Sesamia cretica* Lederer (Lep.: Noctuidae)

M. Tabrizian[1], K. Mohammadpour[2]*, H. Farazmand[3] and A. Cheraghi[4]

1. Assistant Professor, Department of Pesticides Research, Iranian Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Agricultural Entomology Research, Iranian Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran (mohammadpour_K@yahoo.com)
3. Associate Professor, Department of Agricultural Entomology Research, Iranian Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
4. Entomology and Biological Control Technician of Sugarcane Research and Training Institute of Khuzestan, Ahvaz, Iran

Received: 7 December 2016 Accepted: 29 May 2017

Abstract

Stem borer moth, *Sesamia cretica* Lederer, causes major damage on sugarcane. Sex Pheromone of *S. cretica* was synthesized in the chemical laboratory of Iranian Research Institute of Plant Protection. Efficacy of the synthesized pheromone with 3 types imported pheromone of *S. cretica* from Russell, Econex & Silvanderson companies were tested at the fields of Sugar cane Agro-Industrial Company of Ahvaz during 2014. Also, attractiveness of the synthesized pheromone was investigated with funnel and delta traps. The results showed significant differences among treatments ($p<0.01$). The synthetic pheromone with doses of 0.5, 1 and 2 mg had more attractant (5±0.91, 2.75±0.45 and 3.75±0.85 mean±SE, respectively) in comparison with the imported pheromones that had no moth capture. Analysis of the imported pheromones by mass spectroscopy devices indicated these pheromones contain only two molecules including (*Z*)-9-tetradecen-1-ol and (*Z*)-9-tetradecen-1-ylacetate. None of the imported pheromones had third molecule (*Z*)-11-hexadecen-1-ol, and for this reason they had no attraction for *S. cretica* in the field experiments. Funnel traps with doses of 1 and 2 mg had the most trapping (12.25±2.68 and 11.25±2.80, respectively). Delta trap treatments with doses of 1and 2 mg had less capture (0.00±0.00 and 0.25±0.25). Therefore, we can conclude that proper formulation for *S. cretica* sex pheromone with three molecules and a funnel trap is the most suitable shape for trapping *S. cretica*.

Keywords: Trap, Sesamia cretica, Synthesis, Pheromone