

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

مهرداد تبریزیان^۱، کاظم محمدپور^{۲*}، حسین فرازمنند^۳ و امیر چراغی^۴

- ۱- استادیار بخش تحقیقات آفت کتس‌ها، 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 پذیرش: ۹۶/۰۳/۰۸

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۹/۱۷

چکیده

ساقه‌خوار *Sesamia cretica* Lederer خسارت عمده‌ای به محصول ذرت و نیشکر وارد می‌سازد. در آزمایشگاه سنتز فرمون مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، فرمون *S. cretica* سنتز و فرموله شد. کارایی فرمون سنتز شده داخلی با سه نوع فرمون وارداتی از شرکت‌های راسل، اکونکس و سیلوندرون در مزارع در سال ۱۳۹۳ آزمایش و مقایسه شد. همچنین جلب‌کنندگی فرمون 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 میلی گرم به ترتیب با میانگین شکار 0.91 ± 0.5 و 0.85 ± 0.27 (خطای معیار \pm میانگین) شب‌پره دارای بیشترین جلب‌کنندگی و تیمارهای فرمون‌های شرکت‌های راسل، اکونکس و سیلوندرون بدون شکار و فاقد قدرت جلب‌کنندگی بودند. آنالیز فرمولاسیون فرمون‌های وارداتی، نشان‌دهنده وجود فقط دو مولکول Z9-تترادسنول و Z9-تترادسنیل استات در ساختار فرمولاسیون آن‌ها بود. فرمون‌های وارداتی فاقد مولکول سوم، Z11-هگزادسنول، در فرمولاسیون خود بودند و به همین دلیل در آزمایش‌های صحرائی قادر به شکار شب‌پره آفت نبودند. تیمارهای تله قیفی با دوز یک و دو میلی گرم فرمون سنتز شده در مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور به ترتیب با میانگین شکار 0.80 ± 0.22 و 0.80 ± 0.11 شب‌پره دارای بیشترین شکار و تله دلتا با دوز یک و دو میلی گرم به ترتیب با میانگین شکار 0.00 ± 0.00 و 0.25 ± 0.07 شب‌پره دارای کمترین شکار بودند. بنابراین استفاده از فرمون سنتز شده داخلی و همچنین استفاده از تله قیفی برای جلب شب‌پره *S. cretica* توصیه می‌شود.

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

مقدمه

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 به ترتیب ۲/۲۰ و ۶۸/۳۵ 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

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.

نیشکر استان خوزستان در تابستان ۱۳۹۳ جمع آوری و به آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور منتقل شد. نمونه‌های جمع آوری شده در آزمایشگاه تحت شرایط دمایی 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 دو گونه‌ی *S. nonaghioides* Lef. و *S. cretica* Lederer. در مراحل زیستی شفیرگی و حشرات بالغ به ترتیب بر اساس بررسی‌های مرفولوژیک و بررسی ژنتیالیا 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 به مدت ۱۵ دقیقه رفتار فراخوانی داشتند، جهت استخراج فرومون مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج فرومون توسط روش ریزاستخراج مواد فرار با فاز جامد^۱ و تجزیه شیمیایی مواد استخراج شده به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی^۲ انجام شد. فیبر مورد استفاده برای استخراج ساخت شرکت ساپلکو^۳ و از جنس پلی‌دی‌متیل سیلوکران^۴ و به قطر هفت میکرومتر بود. جذب مواد فرار حشره با دو روش انجام شد. در روش اول فیبر در نزدیکی شب‌پره ماده به مدت ۱۰ ساعت در لوله آزمایش قرار گرفت. در روش دوم مواد غدد به وسیله فشار آرام فیبر بر روی شکم حشره بیرون کشیده شد. بقیه سطح فیبر به آرامی بر روی پوست غده به مدت پنج دقیقه مالش داده شد. آنالیز گاز کروماتوگراف با کمک دستگاه ساخت شرکت واترز^۵ مجهز به تزریق اسپلیتلس^۶ با دکتور اف‌آی‌دی^۷ در دمای ۲۴۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. ستون مورد استفاده دی‌بی-۵^۸ به طول ۲۵ متر و ضخامت ۰/۳۲ میلی‌متر

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 به صورت 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-تترادسنیل استات و Z9-تترادسنول به ترتیب 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-تترادسنیل استات (۱۰ درصد) و Z9-تترادسنول (۸۰ درصد) عملکرد بهتری را داشت (Avand Faghieh and Freerot, 2008). در حال حاضر استفاده از فرومون این آفت در داخل کشور، معطوف به تهیه از منابع خارج می‌باشد. 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 کشور صورت پذیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره

ابتدا حشرات و شفیره‌های ساقه‌خواران نیشکر از مزارع

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

چکیده مراحل انجام واکنش به شرح ذیل می‌باشد:

۱- سنتز ۸-برومواکتان-۱-ال^۳ (ترکیب A): بدین منظور ترکیب ۱۸ اکتاندیول^۴ به میزان (۱۰۲ گرم، ۰/۷ مول) و اسید برمیک ۴۷ درصد (۹۱ میلی‌لیتر، ۰/۹ مول) و حلال بنزن خشک (۳۰۰ میلی‌لیتر) در دمای جوش بنزن به مدت ۱۲ ساعت طبق واکنش‌های معمول هالوژن‌دار کردن، انجام شد. ماده ناخالص به دست آمده در فشار کم تقطیر و تا ۹۷ درصد خالص شد.

۲- سنتز ۲-(۸-برومواکتیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران^۵ (ترکیب B): جهت جلوگیری از واکنش‌های بعدی، گروه الکلی (OH) به وسیله ۲،۳ دی‌هیدروپیران^۶ (۶۰ گرم، ۰/۷۱۱ مول) و ۵ قطره اسید کلریدریک ۳۷ درصد در یک بالن دو دهانه ریخته و به مدت 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 خلأ در ۸ میلی‌متر جیوه انجام گردید. ماده B به میزان (۱۴۷ گرم، ۰/۵۰ مول) تشکیل شد.

۳- سنتز ۲-(تترادک-۹-ینیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران^۷ (ترکیب C): ابتدا با اضافه نمودن تدریجی فلز لیتیم به میزان (۶/۹۴ گرم، 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^۸ به میزان (۳/۳۱ گرم، ۰/۴۰ مول) به وسیله قیف اضافه کننده به همراه ۵۰ میلی‌لیتر تتراهیدروفوران خشک به تدریج و ضمن به هم زدن به وسیله به هم زدن مکانیکی به ظرف واکنش اضافه گردید. ادامه واکنش به مدت چهار ساعت دیگر در محلول آمونیاک انجام شد. در پایان استخراج با استفاده از دی‌اتیل اتر و شستشو با محلول آمونیوم کلراید، آب و تقطیر در خلأ انجام شد. ماده C به میزان (۹/۲ گرم، ۰/۳۱ مول) تشکیل شد.

بود. شناسایی مواد متشکله کروماتوگرام به وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی انجام شد.

همچنین به منظور 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 آن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج ساعت قرار داده شد. بعد از این مدت، سوزن دستگاه ریزاستخراج به دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی تزریق شد.

سنتز فرومون

ترکیب شیمیایی فرومون شب‌پره کرم ساقه خوار نیشکر *S. cretica*، به صورت مخلوطی از سه ملکول Z9-تترادسنول (۸۰ درصد)، Z9-تترادسنیل استات (۱۰ درصد) و Z11-هگزادسنول (۱۰ درصد) می‌باشد (Avand Faghhi 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^۱ خشک گردید. در نهایت با استفاده از تقطیر خلأ محصول خالص شد. خلوص ماده به دست آمده به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک^۲ 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-تترادسنول: سنتز این ماده در

طی پنج مرحله واکنش شیمیایی طبق شکل ۱ انجام شد که محصول هر واکنش با حروف نشان داده شده است.

3- 8-bromooctan-1-ol

4- 1,8-Octandiol

5- 2-(8-bromooctyloxy)-tetrahydro-2H-pyran

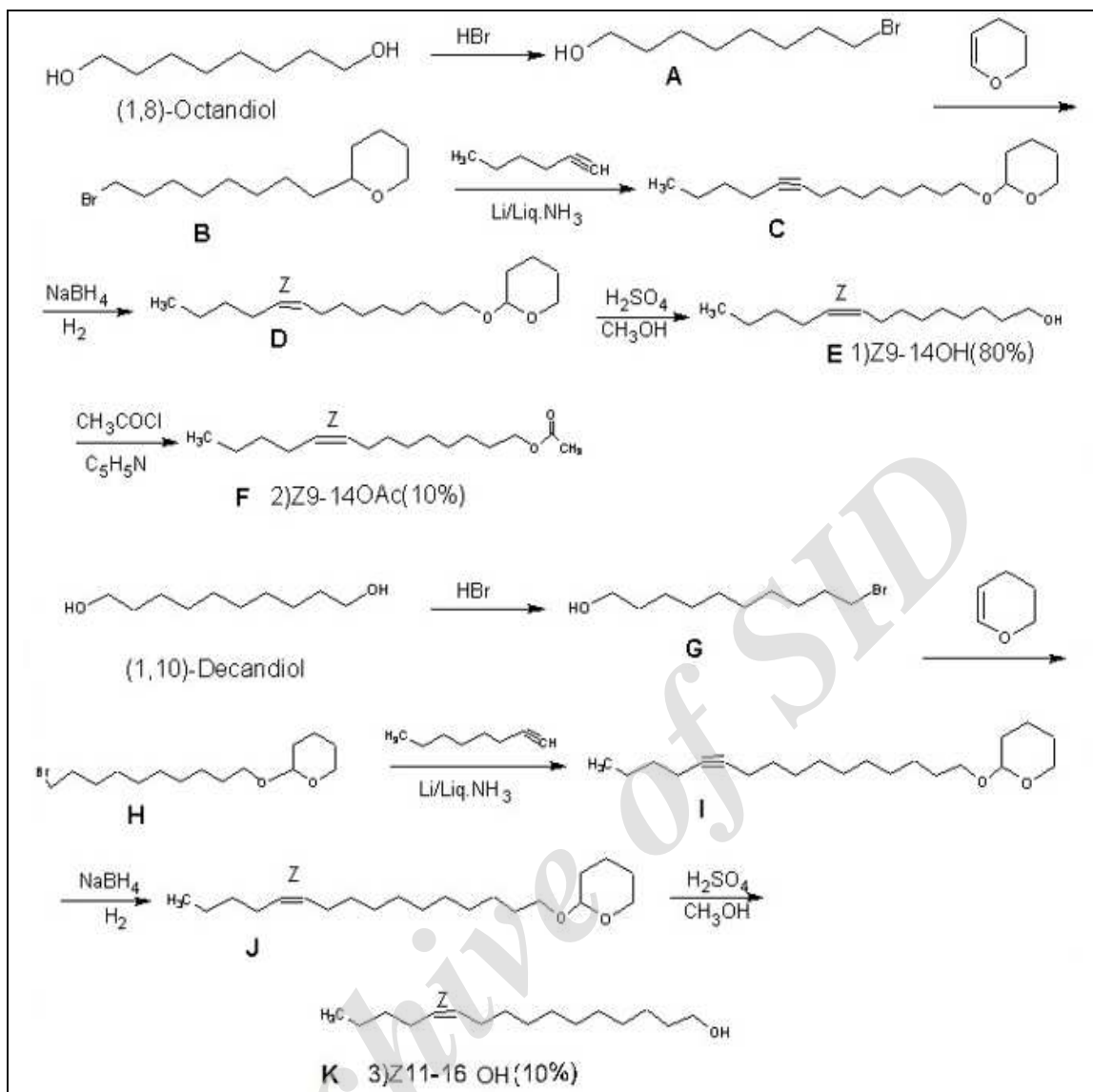
6- 2,3-dihdropyran

7- 2-(Tetradec-11-ynyloxy)-tetrahydro-2H-pyran I

8- 1-Hexyne

1- Na₂SO₄

2- Thin layer chromatography

شکل ۱- مراحل سنتز فرمون جنسی شب پره *S. cretica*Fig 1. The synthesis levels of sex pheromone of *S. cretica*

مرتباً به وسیله گاز کروماتوگراف 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 میلی لیتر متانول و پنج میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ و ماده D را به همراه به هم زدن مخلوط و به تدریج دما به ۶۰ درجه سانتی گراد رسانده شد. تکمیل واکنش به وسیله کروماتوگرافی لایه

۴- سنتز Z9-۲-(تترادسنیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران^۱ (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 میلی لیتر، ۰/۰۳۱ مول) گاز هیدروژن در دمای اطاق به پیوند اتیلینی سیس تبدیل شد. محصول واکنش به وسیله اتر استخراج و مقدار ۹ گرم جمع آوری شد. پیشرفت واکنش

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

دی‌هیدروپیران^۴ (۶۰ گرم، ۰/۷۱۱ مول) و پنج قطره اسید کلریدریک ۳۷ درصد در یک بالن دو دهانه ریخته و به مدت 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 (۱۶۱ گرم، ۰/۵۰۰ مول) تشکیل شد.

۳- سنتز ۲- (هگزادک-۱۱-ینیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران^۵ (ترکیب I): ابتدا با اضافه نمودن تدریجی فلز لیتیم به میزان (۶/۹۴ گرم، 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- هگزين^۶ به میزان (۳/۳۱ گرم، ۰/۰۴۰ مول) به وسیله قیف اضافه کننده به همراه ۵۰ میلی‌لیتر تتراهیدروفوران خشک به تدریج و ضمن به هم زدن به وسیله بهم‌زن مکانیکی به ظرف واکنش اضافه گردید. ادامه واکنش به مدت چهار ساعت دیگر در محلول آمونیاک انجام شد. در پایان استخراج با استفاده از دی‌اتیل اتر 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- (هگزادسیلوکسی)-تتراهیدرو-2H-پیران^۷ (ترکیب J): در این واکنش پیوند استیلنی (۱۰ گرم، ۰/۰۳۱ مول) با کمک کاتالیست سدیم بورو هیدراید (۲/۸۵ گرم، ۰/۰۷۵ مول)، اتیلین دی‌آمین (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 به وسیله اتر استخراج و مقدار ۹/۲ گرم جمع‌آوری شد. پیشرفت واکنش مرتباً به وسیله گاز کروماتوگراف کنترل گردید. خلوص ماده ۸۵ درصد تعیین شد.

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 به وسیله روتاری تبخیر و مواد باقی‌مانده تقطیر خلاء شد. ملکول (Z)-۹-تترادسنول به میزان (۴/۲۴ گرم، ۰/۰۲۰ مول) تشکیل شد که شکست ملکولی به دست 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 دو گرم (۰/۰۲۵ مول) و ۴/۲۴ گرم ترکیب (Z)-۹-تترادسنول در ۱۰۰ میلی‌لیتر 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 به دست 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 به دست 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^۱ (ترکیب G): برای این منظور واکنش ترکیب ۱،۱۰-دکاندیول^۲ به میزان (۱۲۲ گرم، ۰/۷ مول) و اسید برمیک ۴۷ درصد (۹۱ میلی‌لیتر، ۰/۹ مول) و حلال بنزن خشک (۳۵۰ میلی‌لیتر) در دمای جوش بنزن به مدت 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^۳ (ترکیب H): گروه الکی (OH) به وسیله ۲،۳

4- 2,3-dihydropyran

5- 2-(Hexadec-11-ynyloxy)-tetrahydro-2H-pyran I

6- 1-Hexyne

7- Z11-2(Hexadecenyloxy)-tetrahydro-2H-pyran

1- 10-bromodecan-1-ol

2- 1,10-Decandiol

3- 2-(10-bromodecayloxy)-tetrahydro-2H-pyran

ارزیابی قرار گرفت. ابتدا پخش کننده‌های لاستیکی^۱ از شرکت آریا تهیه شد. سپس ترکیب فرمون سنتز شده داخلی در سه دوز مذکور در پخش کننده‌های 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 فرمون‌ها 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 مجدداً به همین روش، ترتیب تله‌ها مشخص و عمل نصب انجام شد. البته در هر نوبت محل‌های نصب ثابت بود و 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 پخش کننده‌های فرمون 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 فرمون 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 فرمون خارجی

شکل دو کروماتوگرام حاصل از تزریق مواد فرار

۵- سنتز مولکول (Z)-۱۱-هگزادسنول (ترکیب K): در این مرحله، دی‌هیدروپیران 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 هم زدن مخلوط و به تدریج دما را به ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد. تکمیل واکنش به وسیله کروماتوگرافی لایه نازک کنترل شد. در خاتمه، واکنش را خشک و با اضافه کردن پودر سدیم بی‌کربنات خنثی و بعد از خنثی شدن اسید (PH خنثی)، متانول را به وسیله روتاری تبخیر و مواد باقی‌مانده تقطیر خلاء شد. مولکول (Z)-۱۱-هگزادسنول به میزان (۴/۲۴ گرم، ۰/۲۰ مول) تشکیل شد که شکست ملکولی به دست آمده به شرح زیر می‌باشد:

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

بعد از تکمیل واکنش‌های شیمیایی و به دست آوردن محصول خالص، ترکیب فرمون شامل سه مولکول Z9-ترادسنول، Z9-ترادسنیل استات و Z11-هگزادسنول را به ترتیب با نسبت ۱۰:۱۰:۸۰ مخلوط شد. محصول نهایی جهت ماندگاری در داخل پخش کننده‌های 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 فرمون سنتز شده داخلی

به‌منظور بررسی کارایی فرمون 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 فرمون سنتز شده تولید داخل و سه فرمون تولید خارج با دز یک میلی‌گرم شامل فرمون 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

سنتز شده در آزمایشگاه مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی بود، در حالی که فرمون‌های وارداتی صرفاً حاوی دو ملکول Z9-تترادسنیل استات و Z9-تترادسنول بودند. فرمون‌های تهیه شده از شرکت‌های خارجی فاقد مولکول سوم، Z11-هگزادسنول در کپسول لاستیکی بودند. بررسی‌های قبلی نیز نشان داده است که فرمون‌های حاوی سه مولکول در مقایسه با پخش‌کننده‌های حاوی دو مولکول فرمون (فاقد مولکول Z11-هگزادسنول و یا فاقد مولکول Z9-تترادسنیل استات) به‌طور معنی‌داری پروانه‌های نر *S. cretica* را بیشتر شکار کردند (Avand-Faghhi and Frerot, 2008). بنابراین روش اخیر سنتز آزمایشگاهی سه مولکول تشکیل‌دهنده فرمون *S. cretica* می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. همچنین با توجه به این که دوزهای مختلف فرمون 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 فرمون 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 ($F=9/66$; $df=3, 3$; $P<0/01$). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تله‌های قیفی حاوی دوزهای یک و دو میلی‌گرم فرمون‌های سنتز شده‌ی داخلی با میانگین شکار بیشتر (به ترتیب $12/25 \pm 2/68$ و $11/25 \pm 2/80$) در گروه a و تله‌های دلتا حاوی دوزهای یک و دو میلی‌گرم فرمون‌های سنتز شده داخلی با شکار کمتر (به ترتیب $0/00 \pm 0/00$ و $0/25 \pm 0/25$) در گروه 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

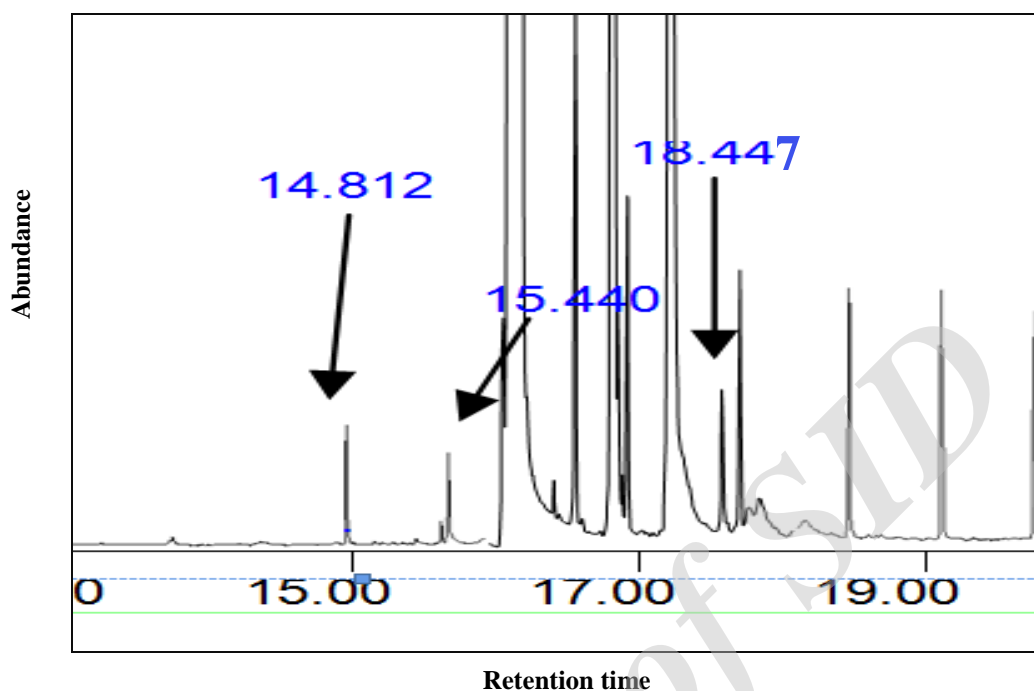
استخراج شده از شب‌پره ماده *S. cretica* به دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود دستگاه پیک‌های زیادی را تشخیص داده است اما جهت تأیید هر مولکول، بایستی مولکول مورد نظر سنتز و به دستگاه تزریق شود. اگر زمان بازداری و شکست جرمی دو مولکول یکسان باشد می‌توان با قطعیت آن مولکول را شناسایی نمود. از آنجایی که در منابع فقط سه مولکول به‌عنوان فرمون گونه *S. cretica* معرفی شده است (Avand-Faghhi 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 به ترتیب 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 فرمون وارداتی شرکت راسل نشان داد که فرمون‌های خارجی فاقد مولکول Z11-هگزادسنول بود (شکل‌های ۲ و ۳).

بررسی کارایی فرمون سنتز شده داخلی

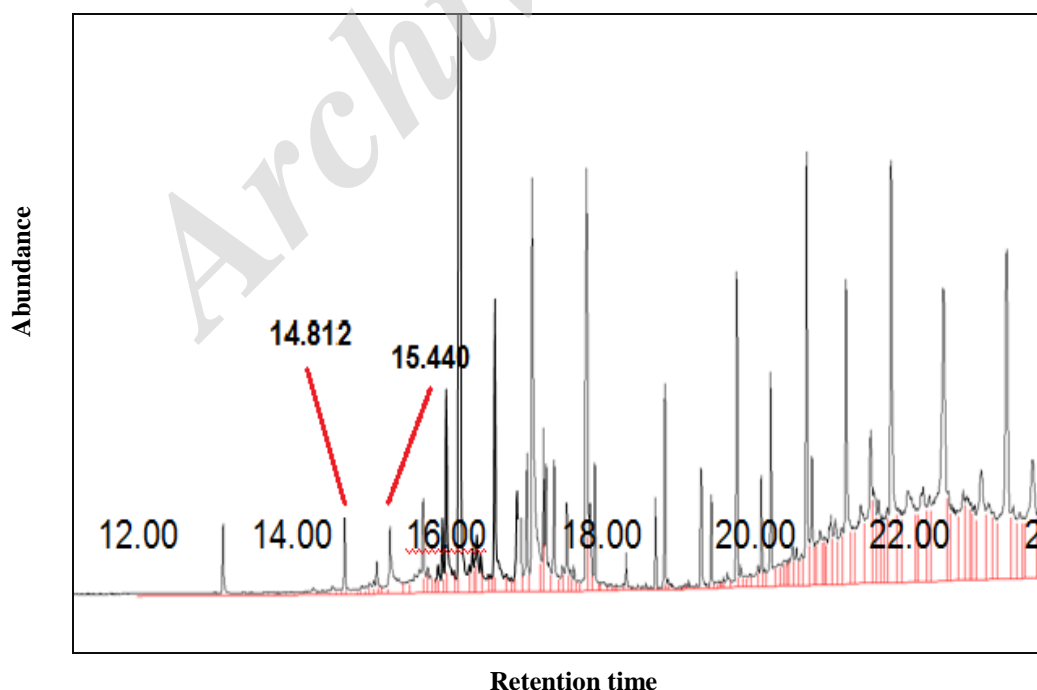
تجزیه واریانس تعداد حشرات شکار شده در آزمایش بررسی کارایی دوزهای مختلف فرمون داخلی و فرمون‌های خارجی نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین تیمارها وجود داشت ($F=5/98$; $df=3, 5$; $P<0/01$). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که دوزهای نیم، یک و دو میلی‌گرم فرمون‌های سنتز شده‌ی داخلی با میانگین شکار بیشتر (به ترتیب $45 \pm 0/91$ ، $2/75 \pm 0/5$ و $3/75 \pm 0/85$) در گروه a قرار گرفتند. تله‌های حاوی فرمون‌های خارجی فاقد هر گونه جلب‌کنندگی و شکار بود و در گروه b قرار گرفتند (شکل ۴). بر اساس آنالیز طیف‌سنجی جرمی به‌وسیله دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف‌سنج جرمی، دلیل جلب‌کنندگی و شکار فرمون‌های سنتز شده‌ی داخلی نسبت به فرمون‌های وارداتی، وجود سه مولکول Z9-تترادسنیل استات، Z11-هگزادسنول و Z9-تترادسنول در فرمولاسیون فرمون‌های

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

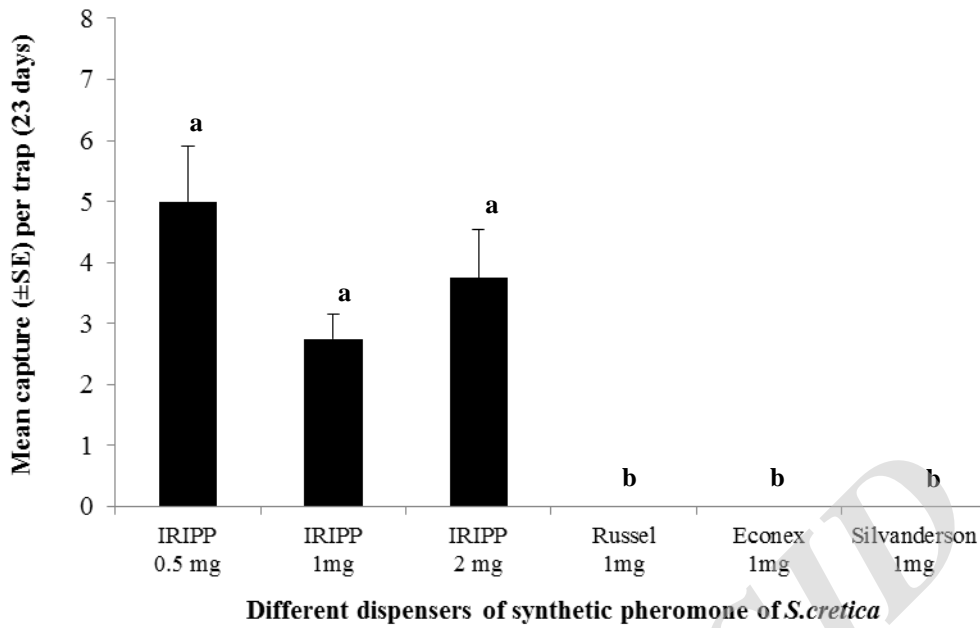
شکار بیشتر شب پره چوبخوار پسته *Kermania Amsl.* *pistaciella* شده است (Zamani et al., 2012).



شکل ۲- کروماتوگرام حاصل از تزریق مواد فرار استخراج شده از *S. cretica* به گاز کروماتوگراف-طیف سنج جرمی
Figure 2. Chromatogram of the injection of volatiles from *S. cretica* into GC-MS

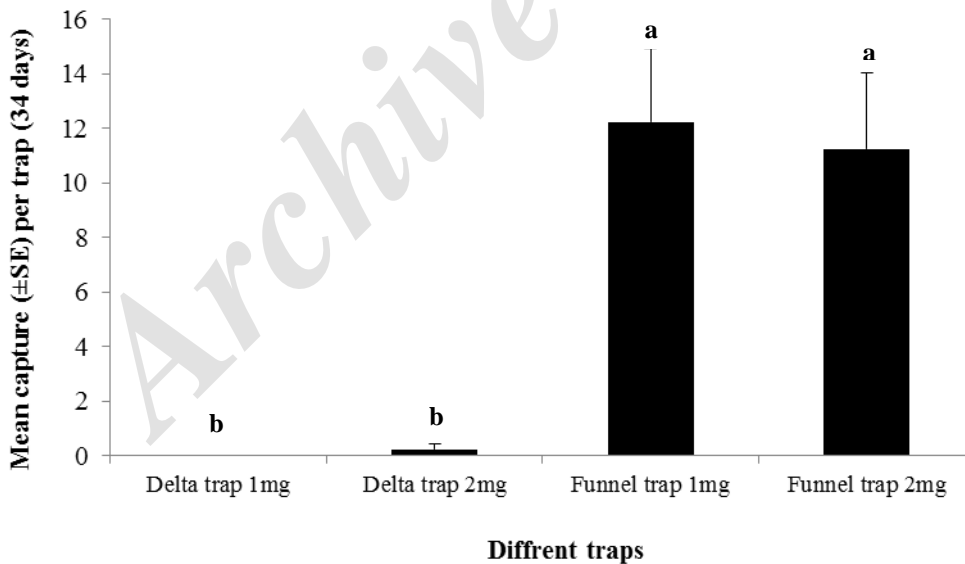


شکل ۳- کروماتوگرام حاصل از تزریق فرمون شرکت خارجی راسل به دستگاه گاز کروماتوگراف-طیف سنج جرمی
Figure 3. Chromatogram of the pheromone injection of Russell company into GC-MS



شکل ۴- میانگین شکار (± خطای معیار) پروانه *S. cretica* به وسیله دوزهای مختلف فرمون سنتز شده داخلی و فرمون 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 ۵- میانگین شکار (± خطای معیار) پروانه *S. cretica* در تله قیفی و دلتا با دوزهای مختلف فرمون سنتز شده داخلی

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

توسعه نیشکر و صنایع جانبی خوزستان انجام شد که به این وسیله از مساعدت مسئولین و همکاران مؤسسات فوق تشکر و قدردانی می‌گردد.

سپاس‌گزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات و پشتیبانی مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و مؤسسه تحقیقات و آموزش

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 Chemical 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 *Sesamia 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. Tabrizian¹, K. Mohammadpour^{2*}, H. Farazmand³ and A. Cheraghi⁴

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 \pm 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 1 and 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