Archive of SID

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۴، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۵

سنتز و بررسی کارایی فرومون جنسی مگس میوه زیتون *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae)

بابک حیدری علیزاده✉ و علی اکبر کیهانیان
عضو هیئت علمی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
(تاریخ دریافت: اردیبهشت ۱۳۹۵؛ تاریخ پذیرش: دی ۱۳۹۵)

چکیده

مگس میوه زیتون *Bactrocera oleae* (Rossi) از آفات مهم زیتون است و هم اکنون حسب شرایط آب و هوایی خسارت قابل توجهی به محصول زیتون وارد می نماید. در این تحقیق، فرومون جنسی مگس میوه زیتون (Olean) به نام شیمیایی 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane طی چندین مرحله شیمیایی با موفقیت درموسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور سنتز شد. این ترکیب حلقوی ابتدا از واکنش شیمیایی بین الکل محافظت شده ۳-بوتین-۱-ال و گاما-والرولاکتون به دست آمد و سپس محصول با احیای کاتالیستی هیدروژنه شده و بعد از قرار گرفتن تحت شرایط اسیدی به Olean تبدیل گردید. قدرت جلب کنندگی فرومون سنتز شده مگس میوه زیتون، *B. oleae* ، با دزهای ۱، ۲، ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در مقایسه با فرومون خارجی ساخت شرکت اگریسنس در یک باغ زیتون به مساحت ۳ هکتار در منطقه کلج (طارم سفلی- قزوین) در سال ۱۳۸۹ ارزیابی شد. تله های چسبی زرد رنگ در قسمت میانی و سمت جنوبی درخت ها و به فاصله حداقل ۱۰۰ متری از هم دیگر نصب شد. تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که در طی دو هفته اول میزان جلب مگس میوه زیتون به تله های حاوی فرومون با دزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم با نمونه خارجی اختلاف معنی داری ندارد ولی از هفته سوم به بعد میزان جلب مگس در مقایسه با نمونه خارجی کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: مگس میوه زیتون، فرومون جنسی، سنتز، *Olean*، *Bactrocera oleae*

Synthesis and filed evaluation of sex pheromone of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae)

B. HEIDARY ALIZADEH[1]✉ and A. A. KEYHANIAN
1- Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Abstract

The olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin), is an important pest that based on climate condition is caused considerable damages on olive. In recent research, 1, 7-Dioxaspiro[5.5]undecane (olean) as sex pheromone of the olive fruit fly was synthesized successfully through several chemical steps in Iranian Research Institute of Plant Protection. In the first step, this cyclic compound was prepared from the reaction of 3-butyn-1-ol and δ-valerolactone, followed by catalytic hydrogenation and finally treating with an acidic condition afforded to Olean. The attractiveness of the synthetic pheromone of *B. oleae* was tested at doses of 1, 2, 5, 50 and 100 mg in comparison with Agrisence pheromone in an olive orchard (3 ha) at Kalaj region (Tharom Sofla, Ghazvin) in 2010. The yellow sticky traps were placed individually at the middle and southern parts of trees with distance 100 m of other. The analysis of variance showed that attraction of *B. oleae* to the synthetic pheromone at 50 and 100 mg dose had not significantly difference with Agrisence pheromone during the first two weeks. But, from the third week, the attraction of the synthetic samples was decreased sharply in comparison with Agrisence sample.

Key words: *Bactrocera oleae*, olean, olive fruit fly, sex pheromone, synthesis.

✉ **Corresponding author: alizadehbh18@gmail.com**

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مگس میوه زیتون (Olive fruit fly)، *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae)، یکی از مهم‌ترین آفات زیتون در دنیا است (Economopoulos, 2002). لاروهای این آفت از گوشت میوه زیتون تغذیه کرده و موجب ریزش میوه ها قبل از برداشت شده و در نتیجه کیفیت روغن استحصالی را نیز نامرغوب می کنند (White and Elson-Harris, 1992). خسارت سالیانه مگس میوه زیتون در صورت عدم مبارزه در مصر و یوگسلاوی ۳۰ درصد و در سوریه ۲۵ درصد تخمین زده شده است (Katsoyannus, 1992). در یونان نیز مگس زیتون مهم ترین آفت زیتون محسوب می شود و بیش از ۲۰ تا ۳۰ درصد کل محصول زیتون را از بین می‌برد (Dimou *et al*., 2003). در صورت عدم کنترل، میزان کاهش محصول زیتون ممکن است تا ۸۰٪ درصد در واریته‌های روغنی و تا ۱۰۰٪ در واریته‌های خوراکی برسد (Broumas *et al*., 2002) . بر اساس بر آورد صورت گرفته میزان خسارت این آفت برابر با پنج درصد کل محصول تولیدی در جهان می باشد که معادل رقمی در حدود ۸۰۰ میلیون دلار در هر سال است (Nardi *et al*., 2005). مگس میوه زیتون در ایران از آفات قرنطینه‌ای بود که در سال‌های اخیر وارد کشور شده و اولین بار در اواخر مرداد سال ۱۳۸۳ از باغ‌های زیتون کشور منطقه رودبار گزارش شد (Jafari and Rezaee, 2004).

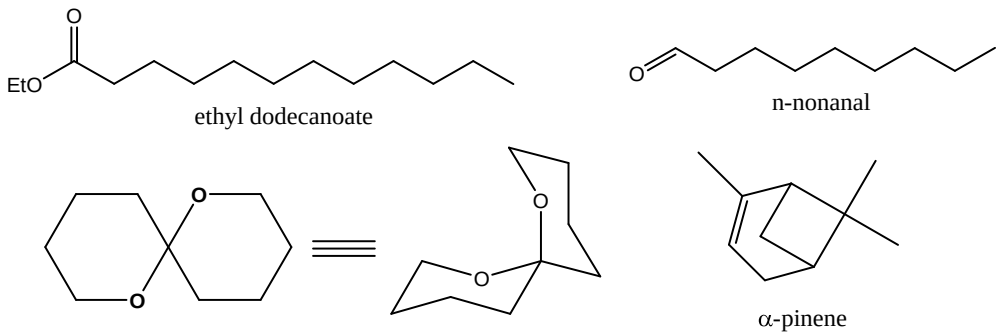
به دلیل اینکه تخم ریزی مگس زیتون در داخل میوه بوده و رشد و تغذیه لارو آفت درون آن صورت می‌گیرد استفاده از آفت کش‌های شیمیایی نه تنها امکان پذیر نیست بلکه باعث جذب مقدار زیادی سم و آلودگی روغن در میوه می‌گردد. این مشکلات باعث شده است که کنترل آفت به سختی امکان پذیر باشد. لذا یکی از بهترین روش‌های مبارزه با این آفت، شکار انبوه حشرات بالغ، اختلال در جفتگیری و در صورت نیاز پیش آگاهی از طغیان آفت جهت طعمه پاشی می‌باشد. در این رابطه Haniotakis *et al*. (1991) بیان داشت که در باغات زیتون ایزوله یا در باغاتی که جمعیت مگس زیتون پایین می‌باشد، تنها استفاده از تله‌های جلب کننده و کشنده کافی به نظر می‌رسند ولی در مناطقی که جمعیت این آفت بالا می‌باشد جهت حصول نتیجه مناسب و پایین نگه داشتن جمعیت مگس میوه زیتون و کاهش آلودگی میوه علاوه بر این وسایل نیازمند یک بار استعمال طعمه پاشی با سموم حشره کش خواهیم بود. برای جلب حشرات بالغ، جلب کننده‌های غذایی، بینایی و جنسی به کار می‌روند که گاهی به تنهایی و گاهی در ترکیب با سایر جلب کننده‌ها در انواع تله‌ها استفاده می‌شوند (Katsoyannos, 1992). اهمیت ترکیبات بویایی جلب کننده جنسی درباره مگس زیتون در آزمایشگاه و مزرعه توسط Haniotakis (1974) بررسی شد. اکثر حشرات نر در خانواده مگس‌های میوه تولید فرومون جنسی می‌کنند که سبب جلب حشرات ماده هم گونه می‌شود، اما در مورد *B. oleae* حشره ماده برای جلب حشرات نر فرومون تولید می‌کند (Haniotakis, 1977). در مرحله بلوغ جنسی مگس، ترکیبات روغنی زرد رنگ و با بوی مشخص، توسط سلول‌های ترشحی راست روده هر دو جنس تولید می‌شود که نقش جلب کنندگی دارند (Economopoulos *et al*., 1971). شروع ترشح فرومون توسط ماده‌ها از روز سوم بعد از ظهور است و تولیدآن در مگس‌های ماده باکره به صورت دوره‌ای انجام می‌گیرد که طول هر دوره ده روز است و در هر دوره یک اوج دو تا سه روزه دیده می‌شود. مگس‌های نر قادرند از سه روز پس از ظهور، به این فرومون پاسخ دهند اما معمولاً این پاسخ از روز هفتم تا یازدهم اتفاق می‌افتد. مقدار زیادی ترکیب اسپیروکتال توسط نرها نیز تولید شده و در آزمایش‌های مزرعه‌ای مورد استفاده قرار گرفته است ولی پاسخ ماده‌ها به آن کم بوده است. فرومون رها شده از نرها بیشتر برای جلب حشرات نر و ماده به غذا استفاده می‌شود (Mazomenos and Pomonis, 1983). ماده‌های بالغ همچنین چندین فرومون ترکیب جنسی ترشح می‌کنند که نرهای بالغ را جلب می‌کند (Haniotakis, 1977). ماده جزء اصلی این فرومون با نام اسپیروکتال (1,7-dioxaspiro(5,5)undecane) مشخص و

www.SID.ir

Archive of SID

ساخته شده است (Baker *et al*., 1980). ولی ترکیب کامل آن، شامل سه جزء دیگر (pinene, n-nonanal & ethyl dodecanoate) جداسازی و شناسایی شده (شکل-۱) که نسبت به ترکیب اسپیروکتال تنها، دارای توانایی جلب کنندگی بیشتری می‌باشد (Mazomenos and Haniotakis, 1985). ترکیب مخلوط اسپیرو کتال طی چندین مرحله با استفاده از دو واکنش تراکمی با باز قوی ایتیم دی ایزو پروپیل آمین از ماده قطبی D-manitol بصورت استرو شیمی سنتز شد که از آن برای شناسایی فرمون اسپیروکتال الکلی در حشرات نر گونه‌های *B. oleae*، *B. distinct* و *B. cacuminatus* استفاده گردید (Fletcher *et al*., 1992). در سنتز دیگر ترکیب اسپیرو کتال از ماده اولیه والرولاکتون همراه با واکنش تراکمی و آزاد کردن دی اکسید کربن در طی سه مرحله سنتتیک بصورت مخلوط راسمیک بدست آمد (Baker, 1980).

روش‌های مختلفی برای استفاده فرومون در کنترل مگس میوه زیتون وجود دارد. این روش شامل استفاده از یک مخلوط جلب کننده که آمونیوم بیکربنات، فرومون جنسی، محرک های غذایی، صفحات زرد رنگ و ماده حشره‌کش است (Montiel bueno and Jones, 2002). بنا براین با توجه به اهمیت فرومون و ساخت آن در داخل کشور، فرومون مگس میوه زیتون درموسسه تحقیقات گیاه پزشکی سنتز شد و کارایی آن با نمونه فرمون خارجی شرکت اگریسنس در باغات زیتون ازریابی عملی گردید و نتایج آن در این مقاله آورده شده است.



شکل ۱- ترکیبات فرار جدا شده از مگس میوه زیتون

Fig.1. The volatile compounds extracted of olive fruit fly

روش بررسی

نمودارهای پروتون NMR در مقیاس ۵۰۰ مگاهرتز تعیین گردید، همه نمونه‌ها در کلروفرم اندازه‌گیری شد و جابجایی شیمیایی[۱] در واحد پی پی ام[۲] ناحیه پائین[۳] از تترامتیل سیلان محاسبه شد. داده‌ها بر اساس تعداد هیدروژن، چندگانگی[٤] و ضریب کوپلینگ بیان می‌گردد. واحد IR بر اساس معکوس سانتی‌متر می‌باشد. دستگاه GC با مارک Varian CP-3800 و طیف سنج جرمی با مارک Varian Saturn 2200 (ion trap) بودند. برای آنالیز نمونه‌ها از برنامه حرارتی انژکتور ۲۵۰ درجه سلسیوس، برنامه دمایی ستون ابتدا ۲ دقیقه در ۸۰ درجه سلسیوس و سپس ۱۰ درجه سلسیوس در دقیقه تا رسیدن به ۲۳۰ درجه سلسیوس و ۳ دقیقه در ۲۳۰ درجه سلسیوس، و ستون مورد استفاده در GC غیر قطبی (DB-5) و سرعت جریان گاز حامل هلیوم ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. میزان تزریق نمونه ۱ میکرولیتر و میزان انرژی شکست ۷۰ev بود و مدت زمان اجرای این برنامه ۲۰ دقیقه بود و فیبر تا زمان اتمام برنامه در انژکتور قرار می‌گرفت و پس از آن کروماتوگرام

۱-chemical shifts
۲-ppm
۳-downfield
٤-multiplicity

www.SID.ir

Archive of SID

حاصل مشاهده می‌گردید (Tu *et al*., 2000).

انژکتور از نوع Spillet/Spilletless و فاز متحرک گاز حامل هلیوم بود. نوع ستونی که به کار برده شد DB-5 غیر قطبی با مارک Varian، به طول ۳۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر بود. مواد شیمیایی از شرکت مرک و آلدریچ با درجه سنتتیک خریداری شد. آزمایش‌ها در موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور بخش تحقیقات آفت کش‌ها و آزمایشگاه سنتز و فرمولاسیون طی چندین مرحله انجام شد. فرومون تولید خارجی از شرکت اگریسنس با دز ۵۰ میلیگرم.

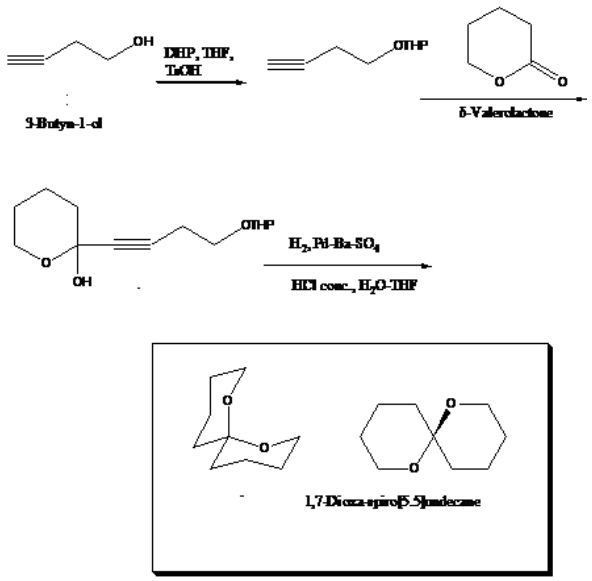
سنتز فرومون مگس میوه زیتون شامل مراحل زیر است:

۱- 2-But-3-ynyloxy-tetrahydro-pyran: به محلول دی‌هیدرو پیران (۸/٤ گرم، ۰/۱ مول) در تتراهیدرو فوران (۱۰۰ میلی‌لیتر) مقدار (۵ گرم، ۰/۰۷ مول) ۳-بوتین-۱-اول و پارا-تولئون سولفونیک اسید (مقدار کاتالیتیکی) اضافه شد و مخلوط واکنش برای ۲٤ ساعت بهم زده شد. پس از اتمام واکنش که بوسیله TLC مشخص می‌شود. با محلول اشباع کربنات پتاسیم، محلول اشباع نمک آنرا شسته و در آخر با سولفات منیزیم خشک گردید. محصول خالص ۲ به مقدار ۹/۹ گرم و بازده واکنش ۹۰ درصد پس از تقطیر بدست آمد (۷۸ درجه سلسیوس در ۲۰ تور فشار اتمسفر).

۲- -[5-(Tetrahydro-pyran-2-yloxy)-pent-1-ynyl]-tetrahydro-pyran-2-ol: به این الکل حمایت شده مقدار ۳/۰۸ گرم (۰/۰۲ مول) در تتراهیدرو فوران (۲۵ میلی‌لیتر) در دمای منهای ۷۸ درجه سلسیوس به آهستگی بوتیل لیتیم نرمال (۱/٦ میلی‌لیتر در هگزان، ۰/۰۲ مول) اضافه گردید. محلول واکنش برای مدت نیم ساعت بهم زده شد و سپس به مخلوط فوق محلول والرولاکتون (۲/۰۰ گرم، ۰/۰۲ مول) در تتراهیدروفوران (۲۵ میلی‌لیتر) اضافه شد. مخلوط واکنش به تدریج به دمای محیط رسانده شد و سپس به آن آب اضافه گردید. فاز آلی جدا شد و فاز آبی سه مرتبه با اتر استخراج شد. مخلوط فازهای آلی با محلول اشباع آمونیوم کلراید شستشو داده شد و بوسیله سولفات سدیم خشک گردید. پس از تبخیرحلال واکنش مخلوط خام با ستون کروماتوگرافی خالص شده و مقدار۳/۸ گرم ترکیب کاپلیگ شده با بازده واکنش ۷۵ درصد بدست آمد.

اطلاعات پروتون NMR به شرح زیر می‌باشد که نشان از تشکیل ماده می‌دهد.

nmr ($CDCl_3$) δ: 1.54-1.84 (12 H, m), 2.48 (2H, t of d, J = 7.0 Hz, 2.5 Hz CH2CC), 3.3-4.15 (6H, m, CH2O), 4.64 (1H, bs, OCHO)



شکل ۲- مراحل ساخت 1,7-dioxaspiro[5.5]undecane

Fig.2. Synthetic processes of 1,7-dioxaspiro[5.5] undecane

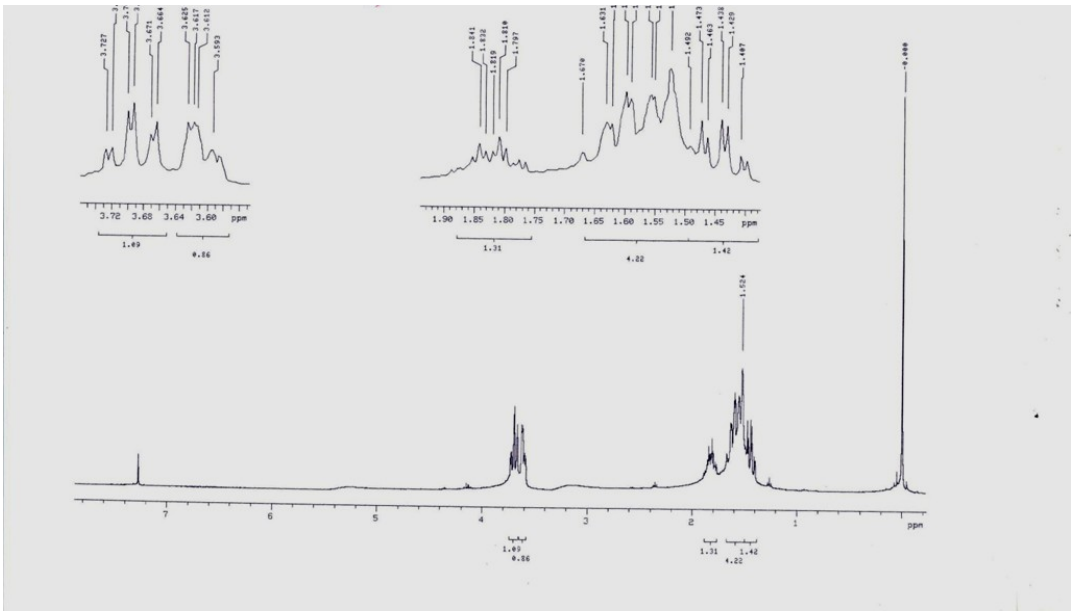
۳- 1,7-dioxaspiro[5.5]undecane: از این محصول مقدار ۳/۸ گرم (۰/۰۱۵ مول) در متانل خشک (۵۰ میلی‌لیتر) تحت شرایط گاز هیدروژن و همراه با Pd/C (مقدار کاتالیستی) به مدت ۲ ساعت بهم زده شد. پس از اتمام واکنش مخلوط سوسپانسیون بوسیله کاغذ صافی فیلتر گردید. پس از تبخیر حلال ماده روغنی بدست آمد که به آن تتراهیدروفوران (٦۰ میلی‌لیتر) و چند قطره اسید کلریدریک اضافه گردید و مخلوط واکنش برای ۲ ساعت در دمای ٤۵ درجه سلسیوس بهم زده شد. مخلوط را در تحت فشارکم قرار داده شد تا حلال آن جدا گردد و سپس سه مرتبه با دی‌اتیل اتر مواد آلی

www.SID.ir

Archive of SID

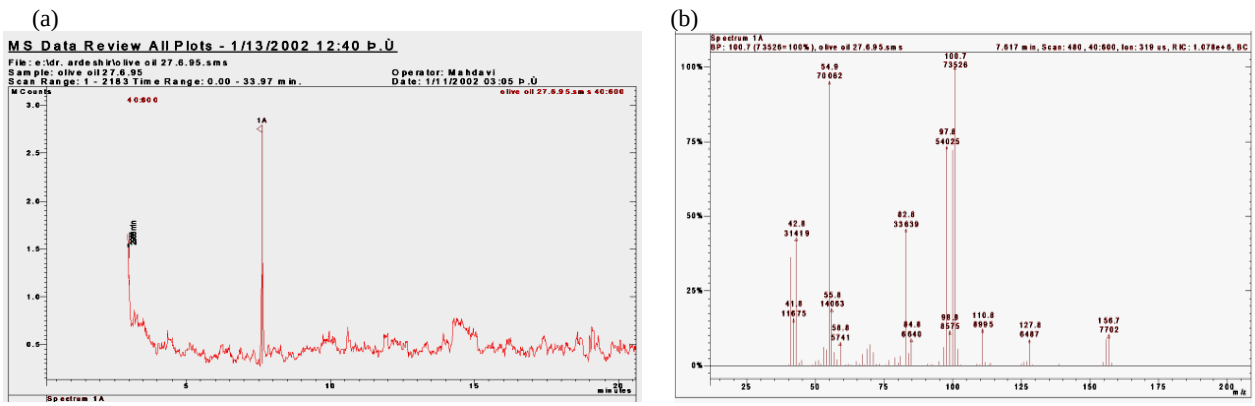
استخراج شدند. فازهای آلی با یکدیگر مخلوط شد و پس از خشک شدن با سولفات منیزیم صاف شد. پس از تبخیر حلال ماده روغنی بدست آمده همراه با مقدار کاتالیستی پارا تولئون سولفونیک اسید در داخل بنزن (۲۰۰ میلی‌لیتر) منتقل شد و بالن واکنش بوسیله ترپ Dean-Stark مجهز گردید. محلول واکنش برای مدت ۱۲ ساعت رفلاکس گردید. پس از اتمام واکنش مخلوط با محلول اشباع کربنات پتاسیم، محلول اشباع نمک شسته و در آخر با سولفات منیزیم آنرا خشک شد. پس از تبخیرحلال واکنش مخلوط خام با ستون کروماتوگرافی حاوی سیلیکاژل (۲۰ سانتی‌متر طول و ۱/۵ سانتی‌متر قطر) و فاز حامل هگزان: اتیل استات (۵:۱) خالص شده (Tu *et al.*, 2000) و ماده 1,7-dioxaspiro[5.5]undecane به مقدار۱/٦ گرم و بازده واکنش ۷۰ درصد بدست آمد(شکل-۳ و ۴).

IR: 1164, 1076, 1046 and 996 cm-1; 1H nmr (CDCl3) δ: 1.60 (12 H, m), 3.3-4.0 (4H, m, CH_2O); ms m/e: 156 (M+), (139), (111), 101), (101), (55).



شکل ۳- طیف NMR فرمون مگس میوه زیتون 1,7-dioxaspiro[5.5]undecane

Fig.3. NMR spectra of the olive oil pheromone 1,7-dioxaspiro[5.5]undecane



شکل ٤- کروماتوگرام GC/mass فرمون مگس میوه زیتون (b)1,7-dioxaspiro[5.5]undecane(a); یونیزاسیون الکترونی مولکول ۱۵٦ مگس میوه زیتون

Fig. 4. GC/mass chromatogram of sex olive fruit fly (a); EI mass spectra of the olive fruit fly (b)

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی کارایی فرومون سنتز شده مگس میوه زیتون در باغ زیتون: به منظور بررسی کارایی ماده سنتز شده فرومون مگس میوه زیتون و مقایسه آن با نمونه خارجی در طبیعت، آزمایشی طی سال ۱۳۸۹ در باغ های زیتون منطقه طارم سفلی (روستای کلج باغ‌های زیتون حاج آقا بخشی و رضائی) جمعاً به مساحت ۳ هکتار با استفاده از تله‌های چسبی زرد رنگ به ابعادcm ۲۵×۲۰ مورد بررسی قرار گرفت. در باغ مورد نظر درختان ۲۰ سال به بالا و رقم زرد روغنی و فاصله درختان از هم دیگر m ۸×۸ بودند. محل نصب تله ها از هر چهار طرف ۵۰ متر از یکدیگر و بلوک‌های آزمایشی حدوداً ۱۰۰ متر از یکدیگر فاصله داشتند و درختان مورد مطالعه دارای شرایط باغبانی و مدیریتی یکسانی بودند. این آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۷ تیمار در ۴ تکرار اجرا شد که تیمارها عبارت بودند از: A- فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز یک میلی گرم، B-فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز ۲ میلی گرم، C- فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز ۵ میلی‌گرم، D- فرومون تولید خارجی از جنس سپتوم (شرکت اگریسنس، دز ۵۰ میلی‌گرم) همراه با تله چسبی زرد، E- فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز ۵۰ میلی گرم، F- فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز ۱۰۰ میلی گرم، G- تله چسبی زرد رنگ بدون فرومون. تله‌ها در قسمت میانی و سمت جنوبی درختان، در ارتفاع ۲/۵ متری از سطح زمین نصب شدند. آمار برداری از میزان شکار مگس هفتگی انجام می‌شد. فرومون بکاررفته برای تمام طول آزمایش ثابت باقی ماند و فقط چسب تله زرد در هر بار بررسی به دلیل تراکم شکار و باقیمانده بقایای بدن حشرات شکار شده یا نفوذ گرد و خاک تعویض می‌گردید. داده‌های حاصله به کمک نرم افزار SAS 9.1 مورد تجزیه تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین درصد جلب هر تیمار محاسبه و با آزمون دانکن مقایسه شدند (جهت نرمال سازی، از داده های مربوط به شکار حشرات، لگاریتم گرفته شد).

نتیجه و بحث

سنتز فرومون مگس میوه زیتون: با هدف دستیابی به دانش فنی ساخت فرومون جلب کننده جنسی مگس زیتون با ساختار شیمیائی 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane (olean) سنتز آن در طی چندین مرحله شیمیایی با موفقیت دراین پروژه تحقیقاتی انجام شد (شکل-۲). سنتز این اسپیرو دو حلقه ای، ابتدا با تشکیل یک استال بوسیله واکنش تراکمی شیمیایی بین الکل محافظت شده ۳-بوتین-۱-ال و گاما-والرولاکتون آغاز شد. سپس با احیای کاتالیستی این استال هیدروژنه شده و بعد از قرار گرفتن تحت شرایط اسیدی ضعیف پاراتولوئون سولفونیک به olean تبدیل گردید. در همین ارتباط فرومون اسپیروکتال (1,7-dioxaspiro(5,5)undecane) طی چندین مرحله متفاوت توسط محقیقن دیگر سنتز شد که در آزمایش‌های صحرایی این ترکیب توانایی جلب شکار حشره نر را داشت (Mazomenos and Haniotakis, 1981; 1985). در روش سنتز ما از تتراهیدرو فوران برای محافظت از عامل الکلی استفاده شد که محافظ مناسبی بود و در سایر روش‌ها از عامل‌های دیگر نیز استفاده شده است از جمله عامل محافظ بنزیلی. استفاده از تترا هیدرو پیران تحت شرایط واکنش مناسب‌تر است زیرا علاوه بر بالا بردن راندمان واکنش در حین واکنش از گروه الکی جدا نمی‌گردد و همچنین جداکردن آن از زنجیره آلکیلی براحتی صورت می‌گیرد اما جدا کردن عامل بنزیلی نیاز به استفاده از پالادیم دارد که می‌تواند به باند سه گانه آلکینی را به آلکان احیاء نماید (Baker *et al*., 1980) . Tu *et al*. (2000) نیز ترکیبات مشابه اسپیروکتال با استفاده از واکنش آلکیل کردن یدو بوتان با باز لیتیم دی ایزوپروپیل آمین و هیدرولیزکردن کامفونیک اسید (CSA) با راندمان مناسب سنتز کردند. مرحله کلیدی در این روش استفاده از کتو هیدرازین است که می‌تواند حد واسط مناسبی برای تولید مشتقات مختلف 1,7-Dioxaspiro(5,5)undecane باشد. همچنین استفاده از یک حد واسط dienone برای اپوکسید کردن باندهای انتهایی اولفینی و حمله نوکلئوفیلی برای تشکیل حلقه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

اسپیروکتالی نیز روش مناسبی است. در سنتز ما موفقیت در واکنش حمایت الکلی منجر به امکان تهیه آنیون باند استیلنی در محیط بازی قوی بوتیل لیتیم می‌شود و این عامل استیلنی به عنوان یک منبع تشکیل آنیون برای اتصال به مولکول حلقوی والرولاکتون استفاده شد. دقت در انجام این واکنش بسیار مهم است زیرا مخلوط سنتز در دمای منهای ۷۸ درجه سلسیوس است و افزایش دما ترکیبات را سریعاً تجزیه و خراب می‌کند. بنابراین مخلوط واکنش بتدریج به دمای محیط رسانده شد و پس از استخراج با آب، اتر محلول اشباع آمونیوم کلراید وخشک کردن با ستون کروماتوگرافی خالص شد ترکیب کاپلیگ شده با بازده واکنش ۷۵ درصد بدست آمد. واکنش‌های زیادی تحت شرایط بازی قوی برای ایجاد واکنش تراکمی انجام شده است از جمله Barner (1983) و Williams برای تهیه یک ماکرو ملکول میلبه مایسین[۵] از متیل لیتیم به عنوان باز استفاده کردند. در آزمایشات سایر محققین همی استال[۶] مشابه با فرمون مگس میوه زیتون 1,7-Dioxaspiro(5,5)undecane را به صورت مخلوطی از فرم حلقه‌ای و باز در طی واکنش تراکمی با لاکتون تولید کردند و آنرا برای تشکیل اسپیروکتال با استفاده از کاتالیست لیندر[۷] انجام دادند و در روش ما از پالادیم سولفات بصورت کاتالیستی همراه با هیدروژناسیون توسط گاز هیدروژن با راندمان مناسب استفاده شد (Baker *et al.*, 1986). ساختار شیمیایی 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane سنتز شده در این تحقیق به صورت مخلوط دو ایزومر (-)-R و(+)-S بود و در همین زمینه Haniotakis *et al.* (1986) نمونه خالص شده اسپیرو کتال را سنتز نمود و نشان داد حشرات ماده به ترکیب (+)-S و حشرات نر به ترکیب (-)-R جلب می شوند و نتیجه گیری کرد بطور کلی نرها جلب بیشتری تسبت به ماده‌ها به ترکیب مخلوط olean از خود نشان می‌دهد. در تحقیق دیگر اختلافات ساختار شیمیایی مولکول 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane بین حشرات ماده *B. oleae* و نرهای دو گونه *B. cacuminatus* و *B. distincta* بوسیله روش انتخابی استروشیمیایی و گاز کروماتوگرافی با ستون کایرال مورد شناسایی قرار گرفت. فرم راسمیک یا مخلوط مولکول 1,7-Dioxaspiro(5,5)undecane در هر سه گونه شناسایی شد. در *B. oleae* فرم (2R)- and (3R)- غالب است ولی در گونه‌های *B. cacuminatus* و *B. distinct* فرم 3S,6R مولکول 1,7-Dioxaspiro(5,5)undecane شناسایی شد (Fletcher *et al.*, 1992). همچنین سه ترکیب آلفا پینن[۸]، نونانول نرمال و (1,7-Dioxaspiro(5,5)undecane) olean به عنوان ترکیب‌های جلب کننده شناسایی کردند و درآزمایش‌های مزرعه‌ای مشخص شد ترکیب اولئون بیشتر از دو ترکیب دیگر کارایی دارد. شناسایی ترکیبات حد واسط و ماده نهایی بوسیله IR، mass و پروتون NMR صورت گرفت. داده‌های طیف IR، NMR و mass نشان می‌دهدکه ماده 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane تشکیل شده دارای شکست جرمی ۱۵۶، ۱۳۹، ۱۱۱، ۱۰۱ و ۵۵ یکسان با نمونه خارجی استاندارد داده‌ای mass مشخص است (شکل-۴). در طیف NMR ۱۲ پروتون متیلنی ($-CH_2-$) در ناحیه ۱/۶ ppm مشخص است و ۴ پروتون مربوط به کربن متصل به اکسیژن (CH_2O-) دیده می‌شود و مولکول سنتز شده 1,7-Dioxaspiro(5,5)undecane چون بصورت مخلوط راسمیک (3R)- and (2R)- است طیف پروتون آن پیچیده و تعیین ضریب کوپلینگ مشکل می‌باشد (شکل-۳) (Delonhchamps *et al.*, 1981).

بررسی کارایی فرومون سنتز شده در باغ زیتون: با توجه به این که جمعیت نسل دوم مگس در شهریور ماه پائین بود و کارایی تله ها در فرومون خارجی و داخلی چندان رضایت بخش نبود. بر همین اساس مجدداً تله‌ها در هفته سوم مهر ماه یعنی در تاریخ ۸۹/۷/۱۹ نصب گردید و بلافاصله

۱-milbemycin
۲-hemiacetal
۳-inder

٤-α-pinene

www.SID.ir

Archive of SID

شمارش تله‌ها یک هفته بعد صورت گرفت. آمار کل شکار جلب مگس در تله‌های فرومونی نشان داد که میزان جلب کنندگی در دزهای ۵۰ و ۱۰۰ در مقابل فرومون خارجی ساخت شرکت اگریسنس برابر می‌باشد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارهای مختلف از نظر درصد شکار مگس میوه زیتون (F= ۸۸/۰۸ P= ۰/۰۰۰۱، df=۵و۴)، در سطح احتمال ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی داری دارند.

مقایسه میانگین کل شکار در تیمارهای مختلف نشان داد که جلب و شکار مگس میوه زیتون در تیمار فرومون خارجی همراه با تله چسبی زرد، به همراه تیمار فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز های۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به ترتیب با میانگین‌های ۷۴/۷۹۵ ± ۱۵۴/۵، ۶۱/۲۰ ± ۱۴۷ و ۳۸/۸۶ ± ۱۲۷/۲۵ در یک سطح آماری (a) قرار می‌گیرند و بیشترین جلب را داشتند. پس از آن تیمارهای فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز ۲ میلی‌گرم، تله چسبی زرد بدون فرومون و فرومون تولید داخل همراه با تله چسبی زرد با دز ۵ میلی گرم به ترتیب با میانگین شکار ۱/۴۷۱ ± ۳/۱۲۵، ۱/۸۳ ± ۳ و ۱/۸۳ ± ۲ در سطح دوم (b) قرار گرفتند (جدول ۱). آزمایش‌های تله گذاری صحرایی با ترکیب سنتز شده در باغ‌های زیتون نشان داد ترکیب سنتز شده در مقایسه با نمونه وارداتی کارایی مطلوبی در جلب و شکار آفت دارد، ولی طول مدت دوام پخش کننده‌های کپسولی تولید داخل در مقابل کپسول تولید خارجی کم است. به طوری که در طی دو هفته اول میزان جلب تله‌های حاوی فرومون تولید داخل با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ با نمونه خارجی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ نداشت و بیشترین شکار را مربوط به این دو تیمار بود (جدول ۱).

از هفته‌های سوم به بعد میزان جلب مگس میوه زیتون به فرومون تولید داخل در مقایسه با نمونه خارجی اختلاف معنی داری داشت و پس از این مدت اثر جلب فرومون کاهش یافت ولی نمونه خارجی تا ۴۵ روز و نمونه داخلی تا ۱۸ روز در دوز ۱۰۰ میلی گرم دوام داشت (شکل ۵). در این نمودار فقط دزهای ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم فرومون سنتز شده تولید داخل با نمونه خارجی و شاهد مقایسه شده است.

جدول ۱- متوسط شکار(± خطای معیار) مگس میوه زیتون در تیمارهای مختلف

Table 1. Means of captures (± SE) olive fruit fly in different treatments

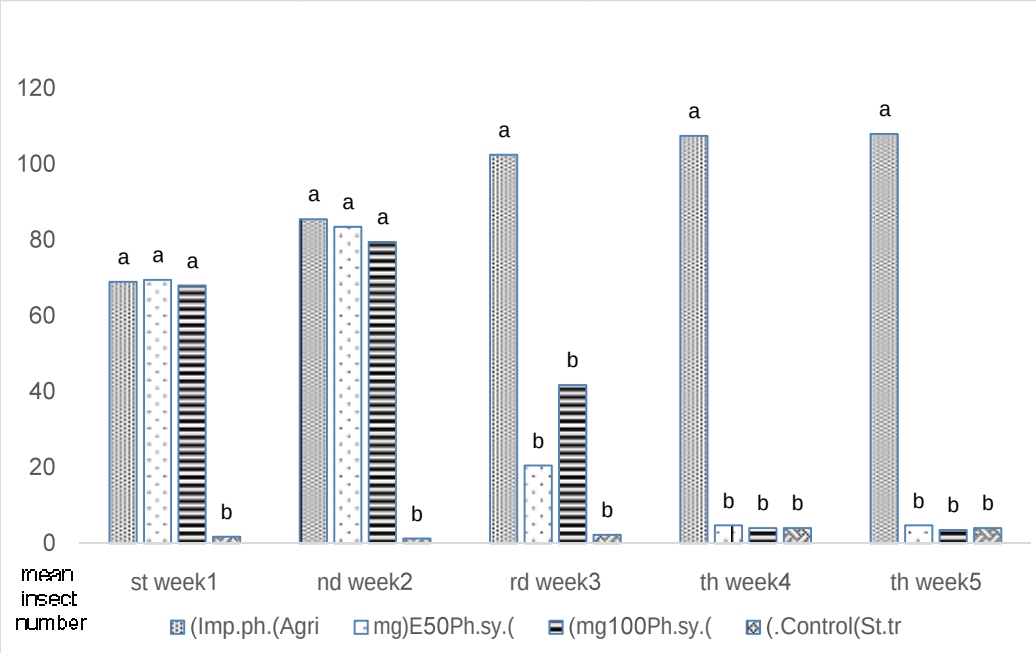
Treatments	Mean±SE (per 16 days)
Pheromone synthesized(1mg)	2±1.83 (b)
Pheromone synthesized(2mg)	3.25±1.71 (b)
Pheromone synthesized(5mg)	2.5±1.29 (b)
Pheromone synthesized(50mg)	147±61.20 (a)
Pheromone synthesized(100mg)	127.25±38.86 (a)
Imported pheromone(Agrisense)	154.5±74.95 (a)
Control(sticky trap)	3±1.83 (b)

C.V.=33.45

فرمولاسیون فرمون خارجی دارای مواد نگهدارنده است که باعث افزایش دوام مولکول اصلی فرومون می‌شود. در سپتوم‌های حاوی فرومون داخلی هیچ ترکیب نگه دارنده استفاده نشد و ماده 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane به صورت خالص در داخل پخش کننده‌ها قرار گرفتند. تحقیقاتی که در مورد افزایش دوام فرومون صورت گرفته، نشان داده است که استفاده از مواد نگهدارنده کمک شایانی به افزایش دوام اسپیروکتال دارد. در تحقیقات انجام شده به‌وسیله Haniotakis, 2003 ترکیب 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane (olean) با دو روش مختلف سنتز شد که این ترکیبات حشرات نر را برای مدت چهار ماه شکار کردند. این افزایش دوام جلب فرمون به علت کاهش سرعت تبخیر ماده فعال که با افزودن مواد نگهدارنده و استفاده از لورهای با در پوش مناسب بدست آمد. برای فرمون سنتز شده تولید داخل میزان شکار در طی مدت دو هفته با نمونه خارجی قابل رقابت است ولی به دلیل نداشتن مواد همراه دوام آن کمتر از نمونه های خارجی است. بنابراین استفاده از مواد نگهدارنده و کپسول مناسب برای افزایش دوام فرومون ساخت داخل ضروری می‌باشد و در همین راستا تحقیقات لازم جهت تهیه فرمولاسیون با دوام بیشتر در حال اجرا است.

www.SID.ir

Archive of SID



1stweek=First week, 2nd week=Second week, 3rdweek=Third week, 4thweek=Fourth week 5thweek=Fifth week

شکل ۵- مقایسه میزان شکار مگس میوه زیتون در تیمار های مختلف

Fig.5. Comparison of olive fruit fly captured in different treatments

References

JAFARI, Y. and V. REZAEI, 2004. First report of olive fruit fly in Iran. Bulletin of Entomolgical Society of Iran, 22: 1p. (In Persian).

BAKER, R., R. HERBERT, P. E. HOWSE and O. T.JONES, 1980. Identification and synthesis of the major sex pheromone of the olive fly (*Dacus oleae*). Journal Chemical Society, Chemical Communications, 52-53.

BAKER, R., C. J. SWAIN and J. C. HEAD, 1986. The chemistry of spiroacetals. An enantiospecific synthesis of spiroacetal moiety of Milbemycins alpha 7 and alpha 8. Journal Chemical Society, Chemical Communications.874-876.

BROUMAS, T., G. HANIOTAKIS, C. LIAROPOULOS, T. TOMAMZOU and N. RAGOUSSIS, 2002. The efficacy of an improved form of the mass-trapping method, for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Dipt., Tephritidae): pilot-scale feasibility studies. Journal Applied Entomology, 126: 217 – 223.

DELONGCHAMPS, P., D. ROWAND, N. POTHIER, T. SAUVET and K. J. SAUNDERS 1981. 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecane. An excellent system for the study of stereoelectronic effects (anomeric and exo-anomeric effects) in acetals. Canadian Journal Chemistry, 59: 1105-1120.

DIMOU, I., C. KOUTSIKOPOULOS, A. P. ECONOMOPOULOS and J. LYKAKIS, 2003.The distribution of olive fruit fly captures with mcphail traps within an olive orchard. Phytoparasitica, 31: 1-8.

ECONOMOPOULOS, A. P. 2002. The olive fruit fly, *Bactrocera (Dacus) oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae): its importance and control; previous SIT research and pilot testing. Report to International Atomic Energy Agency (IAEA), Vienna, Austria, 44p.

ECONOMOPOULOS, A. P. P., A. GIANNAKAKIS, M. E. TZANAKAKIS and A. V. VOYADIOGLOU, 1971. Reproductive behaviour and physiology of the olive fruit fly. 1. anatomy of the adult rectum and odours emitted by adults. Annals of the Entomological Society of America, 64: 1112-1116.

www.SID.ir

Archive of SID

FLETCHERl T. M., F. M. JACOBS, W. KITCHING, S. A. R. KROHN, G. E. HANIOTAKIS and W. Francke, 1992. Absolute Stereochemistry of the 1,7-Dioxaspiro[5.5]undecanolsin Fruit-fly Species, including the Olive-fly, Journal of Chemical Society, Chemical Communications, 1457-1459.

HANIOTAKIS, G. E. 2003. Olive pest control: present status and prospects. IOBC/WPRS Conf., Integrated Protection of Olive Crops; Chania, Crete, 1-9p.

HANIOTAKIS, G. E., W. FRANCKE, K. MORI, H. REDLICH and V. SCHURIG, 1986. Sex-specific activity of (R)-(-)- and (S)-(+)-1,7-dioxaspiro[5.5]undecane, the major pheromone of *Dacus oleae*. Journal of Chemical Ecology, 12(6): 1559-1568.

HANIOTAKIS, G. E., M. KOZYRAKIS, T. FITSAKIS and A. ANTONIDAKI, 1991. All effective mass trapping method for the control of *Dacus oleae* (Diptera: Tephritidae). Journal of Economic Entomology, 84: 564-569.

HANIOTAKIS, G. E. 1974. Sexual attraction in the olive fruit fly, *Dacus oleae* Gmelin. Environmental Entomology, 3: 82-86.

HANIOTAKIS, G. E. 1977. Male olive fruit fly attraction to virgin females in the field. Annual Zoology Ecollogical Animal, 9: 273-276.

KATSOYANNOS, P. 1992. Olive pests and their control in the Near East. Food and Agriculture Organization Plant Production and Protection Paper. 115. Rome: Food and Agriculture Organization of United Nations. 178 pp.

MAZOMENOS, B. E. and G. E. HANIOTAKIS, 1981. A multi component female sex pheromone of *Dacus oleae* Gmel. Isolation and bioassay. Journal of Chemical Ecology, 7: 437-443.

MAZOMENOS, B. E. and G. E. HANIOTAKIS, 1985. Male olive fruit fly attraction to synthetic sex pheromone components in laboratory and field tests, Journal of Chemical Ecology, 11: 397-405.

MAZOMENOS, B. E. and J. G. POMONIS, 1983. Male olive fruit fly Pheromone: isolation, identification and lab. Bioassays, pp.: 96-103, *in*: R. Cavalloro, (ed.). fruit flies of economic importance. Proceedings of the CEC/IOBC international symposium, Athens, Greece, 16-19 November 1982.

MONTIEL BUENO, A. and O. JONES, 2002. Alternative methods for controlling the olive fly, *Bactrocera oleae*, involving semiochemicals. IOBC wprs Bulletin Vol. 25, pp.: 1-11.

NARDI, F., A. CARAPELLI, R. DALLAI, G. K. RODERICK and F. FRATI, 2005. Population structure and colonization history of olive fruit fly, *Bactrocera olea* (Diptera, Tephritidae). Molecular Ecology 14, 2729-38.

TU, Y. Q., A. HUBENER, H. ZHANG, C. J. MOORE, M. T. FLETCHER, P. HAYES, K. DETTNER, W. FRANCKE, C. S. P. MCERLEAN and W. KITCHING, 2000. Syntheis and stereochemistry of insect derived spiroacetals with branched carbon skeleton. Synthesis, 13:1956-178.

WHITE, I. and M. ELSON-HARRIS, 1992. Fruit flies of economic Significance: their Identification and Bionomics. Oxon, UK: CAB International. 619 pp.

www.SID.ir