تحقیقات آفات گیاهی
۱۰(۳): ۴۹-۶۰ -۱۳۹۹

علمی پژوهشی

ارزیابی کارایی مزرعه‌ای نانوکپسول فرومون جنسی کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae)

امیرحسین دانای طوس[۱]، شهریار جعفری[۱*]، بابک حیدری علیزاده[۲] و حسین فرازمند[۲]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران، ۲- موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۳۰)

چکیده

کرم گلوگاه انار مهم‌ترین آفت انار در برخی کشورها از جمله ایران است. استفاده از فرومون جنسی از روش‌های پایش و کنترل این آفت است. جزء اصلی فرومون شب‌پره گلوگاه انار، (*Z, E*)-9,11,13-Tetradecatrienal، ناپایدار بوده و جلب‌کنندگی شبه فرومون آن، (*Z, E*)-7,9,11-Dodecatrienyl format، نیز کمتر از فرومون جنسی است. فناوری نانو می‌تواند نقش مهمی در افزایش کارایی فرومون‌ها از طریق رهاسازی تدریجی داشته باشد. در این تحقیق با هدف افزایش پایداری فرومون جنسی این حشره در شرایط باغ، ضمن تهیه نانوکپسول حاوی جزء اصلی فرومون جنسی آفت، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل بر پایه بلوک-های کاملاً تصادفی با دو فاکتور نوع جلب‌کننده (شامل نانوکپسول حاوی فرومون جنسی و پخش‌کننده تجاری شبه فرومون) و زمان تعویض جلب‌کننده (شامل یک، دو، چهار و هشت هفته) انجام شد. بر اساس نتایج فرمولاسیون نانوکپسول حاوی فرومون جنسی کارایی بهتری نسبت به شبه فرومون داشت. میانگین تعداد نرهای جلب شده به نانوکپسول حاوی فرومون جنسی در زمان‌های تعویض آن شامل یک، دو، چهار و هشت هفته به ترتیب ۱/۹۳، ۱/۷۴، ۱/۵۱ و ۰/۶ حشره در روز بود؛ اما میانگین تعداد افراد نر جلب شده به شبه فرومون در زمان‌های مذکور به‌ترتیب ۱/۱۷، ۰/۸۹، ۰/۵۶ و ۰/۱۴ حشره در روز بود. همچنین، نانوکپسول فرومون تا ۴۹ روز و پخش‌کننده شبه فرومون تا ۲۱ روز قابلیت جلب حشرات را داشتند. با توجه به نتایج این تحقیق نانوکپسول فرومون جنسی این آفت برای پایش و کنترل این آفت توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: شب‌پره کرم گلوگاه انار، فرمولاسیون جدید فرومون، انار، کارایی پخش‌کننده فرومون

*نویسنده مسئول: Shahriar.jafari@gmail.com; Jafari.s@lu.ac.ir

مقدمه

کرم گلوگاه انار، (Lepidoptera: Pyralidae) *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller)، یک آفت خطرناک چندین‌خوار با پراکنش جهانی است که محصولات مختلف را قبل و پس از برداشت مورد حمله قرار می‌دهد. این آفت در ایالات‌متحدهٔ آمریکا روی خرما (Nay *et al*., 2006; Vetter *et al*., 2006)، در استرالیا روی بادام (Madge, 2014) و در کشورهای خاورمیانه از جمله ایران به طور عمده روی انار (Shakeri and Sadatakhavi, 2004; Mamay *et al*., 2016) خسارت‌های فراوانی ایجاد می‌کند. بر اساس گزارش‌ها در خاورمیانه این آفت ۳۰ تا ۸۰ درصد خسارت به محصول انار وارد می‌کند (Shakeri, 2004; Sobhani *et al*., 2015; Mamay *et al*., 2016). این آفت در ایران نیز مهم‌ترین آفت انار بوده و از عوامل اصلی کاهش کمی و کیفی این محصول می‌باشد (Mozaffarian *et al*., 2008; Hashemi Fesharaki, 2011). از آنجا که محل تخم‌گذاری این شب‌پره درون تاج میوه انار بوده و فعالیت لاروهای آفت نیز درون میوهٔ انار است، استفاده از سموم آفت‌کش شیمیایی برای کنترل این آفت روش مؤثری نیست و به طور معمول توسط باغداران نیز انجام نمی‌شود (Shakeri, 2004)؛ بنابراین به طور معمول روش‌های کنترل غیر شیمیایی از جمله پاشیدن کائولین (Farazmand *et al*., 2011)، پوشش تاج انار (Rafeie *et al*., 2011)، تلفیق حذف پرچم و پاشیدن کائولین (Mazhab *et al*., 2014)، استفاده از زنبور پارازیتوئید *Trichogramma embryophagum* (Rezaei-Azqandi *et al*., 2015) و جمع‌آوری بقایای انار در باغ‌ها برای کنترل این آفت استفاده می‌شوند که با وجود کاهش نسبی تراکم جمعیت، هیچ‌کدام نتوانستند به‌طور مطلوب شدت خسارت آفت را کاهش دهند. کاربرد روش‌های کنترل مستلزم اطلاع از وجود مرحله حساس زندگی آفت در باغ‌ها است که به طور معمول با استفاده از فرومون‌های جنسی انجام می‌شود. علاوه بر این، فرومون‌های جنسی برای کنترل مستقیم آفات به روش اخلال در جفت‌گیری پروانه‌ها نیز استفاده می‌شوند (Tamhankar *et al*., 2000; Il'ichev *et al*., 2003; Cichón *et al*., 2004). از مزایای استفاده از فرومون‌ها در کنترل خسارت آفات محصولات با ارزش اقتصادی بالا، کنترل پایدار، عدم آلودگی محیط‌زیست و حفظ جمعیت دشمنان طبیعی است (Witzgal *et al*., 2010).

جزء اصلی ترکیب فرومون جنسی شب‌پرهٔ مادهٔ کرم گلوگاه انار (*Z, E*)-9,11,13-Tetredecatrienal و ترکیبات فرعی آن (*Z, E*)-9,11-Tetradecadienal و (*Z*)-9-Tetradecenal می‌باشند که در صورت همراه بودن با ترکیب اصلی واکنش رفتاری نرها را بهبود می‌بخشند (Noorbakhsh *et al*., 2017; Varshovi *et al*., 2018)؛ اما بر اساس بررسی‌های انجام‌شده، استفاده از این ترکیبات نتایج قابل قبولی در شکار حشرات نر کرم گلوگاه به‌وسیله تله‌های فرومونی نداشته است، چون جزء اصلی فرومون حشرهٔ ماده در شرایط صحرایی ناپایدار است (Baker *et al*., 1991). همچنین، شبه فرومون پیشنهادشده با ساختار شیمیایی (*Z, E*)-7,9,11-Dodecatrienyl format بر اساس بررسی‌های انجام‌شده کارایی لازم را نداشته است (Avand-Faghih *et al*., 2012; Dhouibi *et al*., 2016). ترکیبات تشکیل‌دهنده فرومون سنتتیک، کیفیت پخش‌کنندهٔ فرومون، مکان نصب تله، زمان بازدید از تله و زمان تعویض پخش‌کنندهٔ فرومون در کارایی تله‌های فرومونی مؤثر است (Abbes and Chermiti, 2011).

بررسی‌ها روی فناوری نانو برای استفاده در کشاورزی در دههٔ گذشته افزایش‌یافته است (Auffan *et al*., 2009). تهیه پخش‌کننده فرومون‌ها در مقیاس نانو می‌تواند باعث جلوگیری از تجزیه زودهنگام آن‌ها در اثر عوامل محیطی و سبب پایداری بیشتر آن‌ها شود. علاوه بر این، کپسوله‌کردن فرومون‌ها می‌تواند افزایش کارایی فرمولاسیون را به علت رهایش کنترل‌شده آن‌ها به همراه داشته باشد. فرمولاسیون‌های مختلف نانو شامل انواع نانوکپسول‌ها، نانواسفرها، میسل‌ها، نانوژل‌ها، لیپوزم‌ها، نانوقفس‌های غیر آلی و غیره هستند (Nuruzzaman *et al*., 2016). اندازه معمولی ذرات نانوکپسول برای کاربردهای مختلف بین ۱۰ تا ۱۰۰۰ نانومتر است (Nagavarma *et al*., 2012). برای

رهایش پایدار فرومون‌ها در مدت‌زمان طولانی از نانوژل‌ها با جرم مولکولی کم استفاده شده است (Bhagat *et al.*, 2013). اگرچه پژوهش‌های زیادی در خصوص بررسی کارایی فرومون جنسی پروانه کرم گلوگاه انار انجام‌شده است، ولی اطلاعاتی در خصوص کارایی نانوکپسول حاوی فرومون جنسی این حشره وجود ندارد.

در این تحقیق با هدف افزایش دوام فرومون جنسی کرم گلوگاه انار، ضمن سنتز جزء اصلی فرومون و نانوکپسول کردن آن، آزمایشی در شرایط باغ به منظور ارزیابی کارایی نانوکپسول حاوی فرومون جنسی این آفت و زمان تعویض آن در مقایسه با پخش‌کننده تجاری شبه فرومون آن انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه فرمولاسیون نانوکپسول فرومون جنسی کرم گلوگاه انار

برای تهیهٔ نانوکپسول فرومون جنسی، ژلاتین (G-2500) از شرکت سیگما آلدریچ و آکاسیا از شرکت کارلو اربا اسپانیا خریداری شد. محلول اسید هیدروکلریک و توئین ۸۰ نیز از شرکت مرک تهیه شدند. تمام محلول‌های آبی با آب مقطر تهیه شدند. تمام مواد شیمیایی مورد استفاده بدون خالص‌سازی مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیهٔ نانوکپسول از روش سادهٔ کواسرویشن استفاده شد. به این صورت که برای مهیاکردن نانوکپسول فرومون جنسی کرم گلوگاه انار ۰/۱۱۲ گرم ژلاتین در ۷۵ میلی‌لیتر آب حل‌شده و محلول ۱/۵ درصد ژلاتین تهیه شد. این سیستم به مدت نیم ساعت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد. ۷۵ میلی‌گرم از توئین ۸۰ و ۱۰ میلی‌گرم از جز اصلی فرومون سنتتیک، (*Z*,*E*)-9,11,13-Tetradecatrienal، در محلول فوق حل شد. سپس ۷۵ میلی‌لیتر از محلول آکاسیا (۰/۱۱۲ گرم) ۱/۵ درصد به محلول اضافه شده و به مدت یک ساعت با دستگاه اولتراسونیک ۲۵۰ وات با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به هم زده شد. pH محلول توسط هیدروکلریک اسید (HCL) رقیق‌شده به ۴/۳۵ رسانده شد و به مدت یک ساعت در دمای ۵۰ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. سپس برای سفت شدن عوامل نانوکپسول از فرمالدهید ۳۷ درصد در دمای ۴۰ درجه سلسیوس استفاده شد. مواد حاصله چندین بار در آب مقطر شستشو داده شدند و در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس نانوکپسول‌های تهیه‌شده در خلأ درون آون در دمای ۸۰ درجهٔ سلسیوس قرار داده شدند و کیک خشک‌شده نانوکپسول به‌دست آمد.

بررسی مورفولوژی سطح نانو امولسیون و اندازه نانوکپسول‌ها

برای مشاهده سطح، مورفولوژی و اندازه نانوکپسول‌ها از میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) (200 KV Schottky field emitter HR) استفاده شد.

تعیین کارایی و دوام فرمولاسیون نانوکپسول در شرایط باغ

برای انجام این پژوهش یک باغ انار در روستای صبور، اطراف شهرستان خرم‌آباد، استان لرستان با مختصات جغرافیایی طول "۲۴ '۱۵ °۴۸، عرض "۴۵ '۲۴ °۳۳ و ارتفاع ۱۲۷۲ از سطح دریا انتخاب شد. آزمایش‌ها از اواخر اردیبهشت‌ماه شروع و تا اواخر تیرماه سال ۱۳۹۹ به مدت دو ماه ادامه داشتند. آزمایش‌ها در قالب طرح فاکتوریل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور نوع جلب‌کننده شامل نانوکپسول پلیمری حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم فرمولاسیون ۲/۵ درصد از جزء اصلی فرومون و شبه فرومون تجاری این آفت حاوی یک میلی‌گرم شبه فرومون ساخت شرکت راسل انگلستان در پخش‌کننده از جنس Rubber Septa و همچنین، فاکتور زمان تعویض جلب‌کننده شامل چهار زمان یک، دو، چهار و هشت هفته در سه تکرار (بلوک) انجام شدند. تله‌های مورد استفاده از نوع دلتای سفیدرنگ بودند. همه تله‌ها در ارتفاع ۱/۵ متری در جهت جنوب درخت نصب شدند. فاصلهٔ بین تیمارها و فاصلهٔ بین تکرارها حداقل ۵۰ متر بود. بازدید از تله‌ها به فواصل ثابت هفت روز انجام شد. جمع‌آوری شب‌پره‌های نر شکار شده از سطح چسبنده به‌وسیله پنس انجام شد و تعداد حشرات نر شکار شده شمارش و یادداشت شدند، همچنین سطح چسبنده تله‌ها به فواصل زمانی دو هفته تعویض شد.

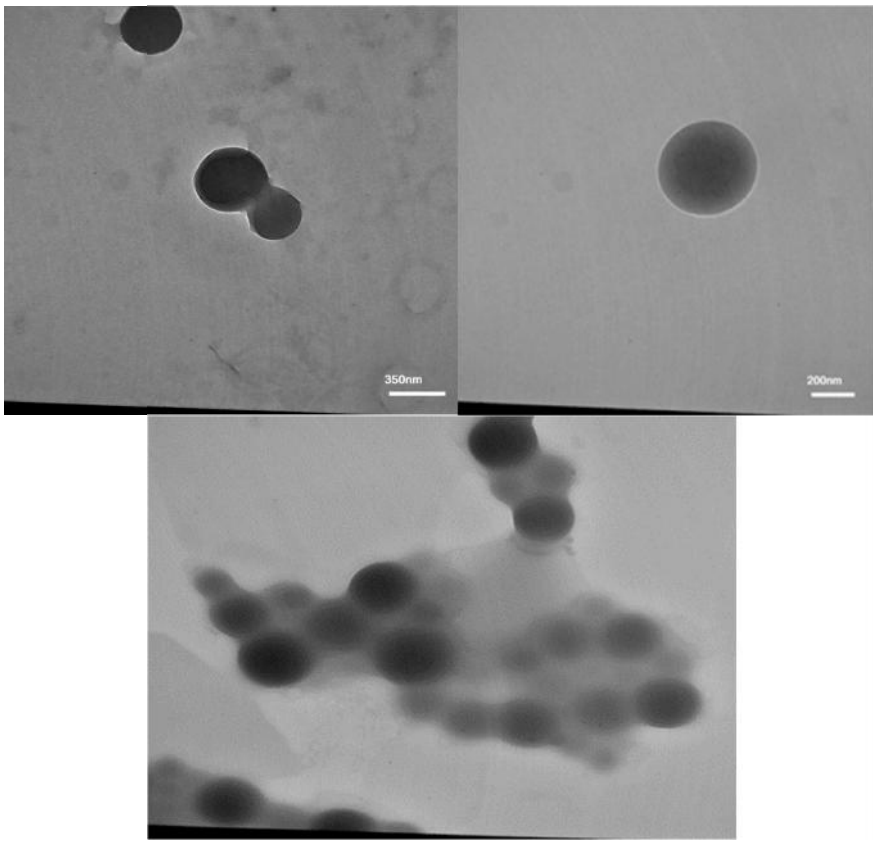
تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۸/۱ انجام شد. اختلاف بین تیمارها با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه (One Way Anova) انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن، تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح یک درصد گروه‌بندی شدند. همچنین، ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Graphpad Prism نسخه ۸ انجام شد.

نتایج

مورفولوژی سطح نانوکپسول با میکروسکوپ الکترونی

تصاویر میکروسکوپ الکترونی (TEM) نشان داد که میانگین اندازهٔ نانوکپسول‌های حاوی فرومون جنسی سنتتیک کرم گلوگاه انار ۳۰۰ تا ۳۵۰ نانومتر بود (شکل ۱). همان‌طور که در تصاویر میکروسکوپ الکترونی در شکل یک نشان داده‌شده است، نانوکپسول‌های تهیه‌شده به‌صورت ذرات کروی بودند. سطح خارجی نانوذرات به‌نسبت صاف و ساختار هسته و دیواره نانوکپسول مشخص بود.

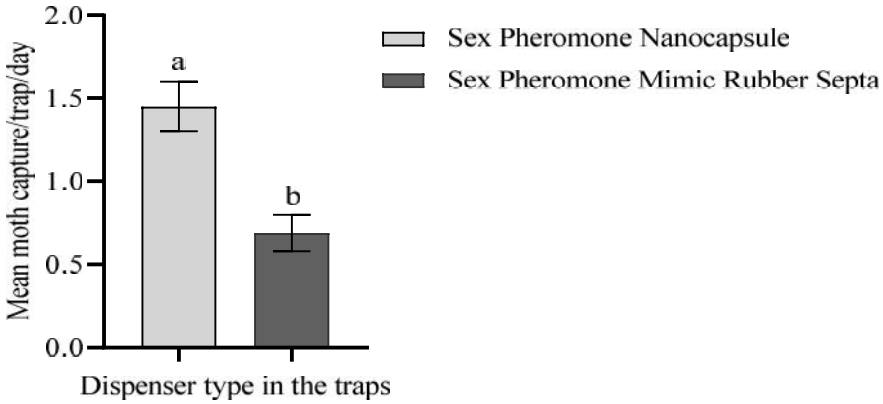


شکل ۱- تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری از نانوکپسول‌های حاوی فرومون جنسی کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae*

Figure 1. Transmission electron microscopy images of nanocapsules containing *Ectomyelois ceratoniae* sex pheromone

کارایی و دوام فرمولاسیون نانوکپسول در شرایط باغ

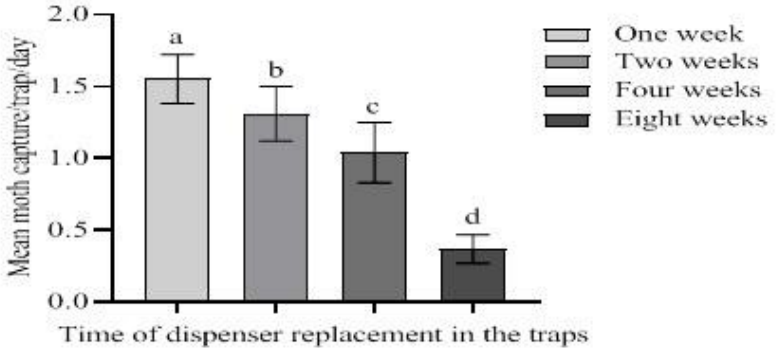
نتایج حاصل از تجزیه واریانس میانگین شکار روزانه نرها نشان داد که بین تیمارها ($F_{9, 14}$=353.2, P<0.001)، فاکتور اول (نوع جلب‌کننده) ($F_{1, 14}$=1316.77, P<0.001)، فاکتور دوم (زمان تعویض جلب‌کننده‌ها) ($F_{3, 14}$=593.21, P<0.001) و اثرات متقابل آن‌ها ($F_{3, 14}$=25.99, P<0.001) اختلاف معنی‌دار وجود داشت؛ اما اختلاف اثرات بلوک معنی‌دار نبود ($F_{2, 14}$=2.22, P=0.1457).مقایسه کارایی فاکتور اول (نوع جلب‌کننده) نشان داد که میانگین شکار روزانه حشرات نر کرم گلوگاه انار به‌وسیله فرمولاسیون نانوکپسول فرومون جنسی با میانگین ۱/۴۵ ۰±۰/۱۵ به‌طور معنی‌دار بیشتر از میانگین روزانه حشرات نر کرم گلوگاه انار شکار شده توسط پخش‌کننده تجاری شبه فرومون با میانگین ۰/۶۹ ±۰/۱۱ بود (شکل ۲).



شکل ۲- میانگین (± خطای معیار) شکار روزانه پروانه کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* توسط تیمارهای نانوکپسول حاوی فرومون جنسی و شبه فرومون تجاری (حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد است)

Figure 2. The mean (± standard error) of *Ectomyelois ceratoniae* daily capture by nanocapsules containing sex pheromone and commercial dispenser of pheromone mimic. (Different letters indicate significant difference, Tukey, P<0.01)

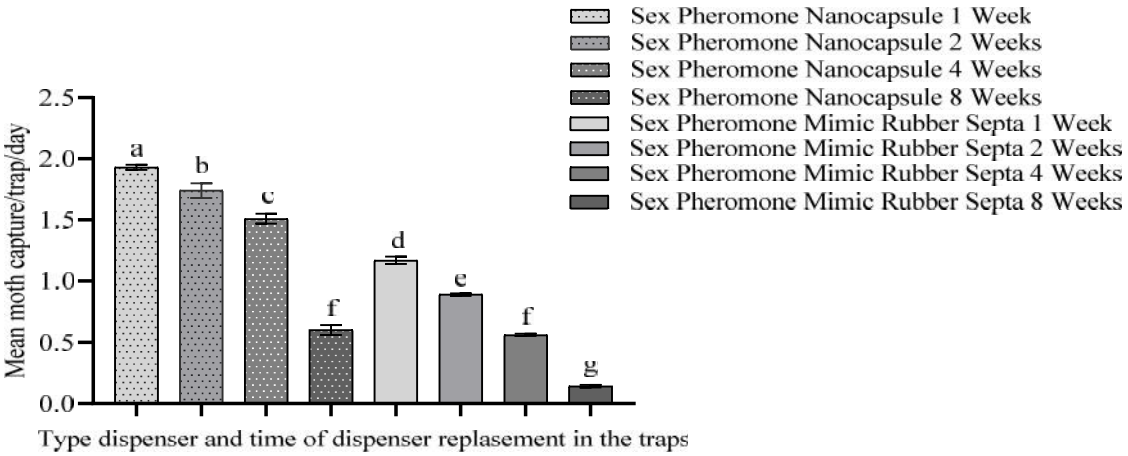
همچنین، گروه‌بندی فاکتور دوم (زمان تعویض جلب-کننده‌ها) نیز نشان داد که میانگین شکار روزانه حشرات نر کرم گلوگاه انار در زمان تعویض یک هفته با میانگین ۰/۱۷± ۱/۵۵ بیشتر از زمان دو هفته با میانگین ۰/۱۹± ۱/۳۱ بود. همچنین، میانگین شکار روزانه حشرات نر در زمان تعویض هر دو هفته بهتر از هر چهار هفته با میانگین ۰/۲۱± ۱/۰۴ و میانگین زمان تعویض هر چهار هفته نیز بهتر از هر هشت هفته با میانگین ۰/۱± ۰/۳۷ بود (شکل ۳).



شکل ۳- میانگین (± خطای معیار) شکار روزانه پروانه کرم گلوگاه *Ectomyelois ceratoniae* انار در تله‌ها با زمان‌های مختلف تعویض جلب‌کننده (حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد است)

Figure 3. The mean (± standard error) of *Ectomyelois ceratoniae* daily capture in traps at different times of replacement attractor. (Different letters indicate significant difference, Tukey, $P<0.01$)

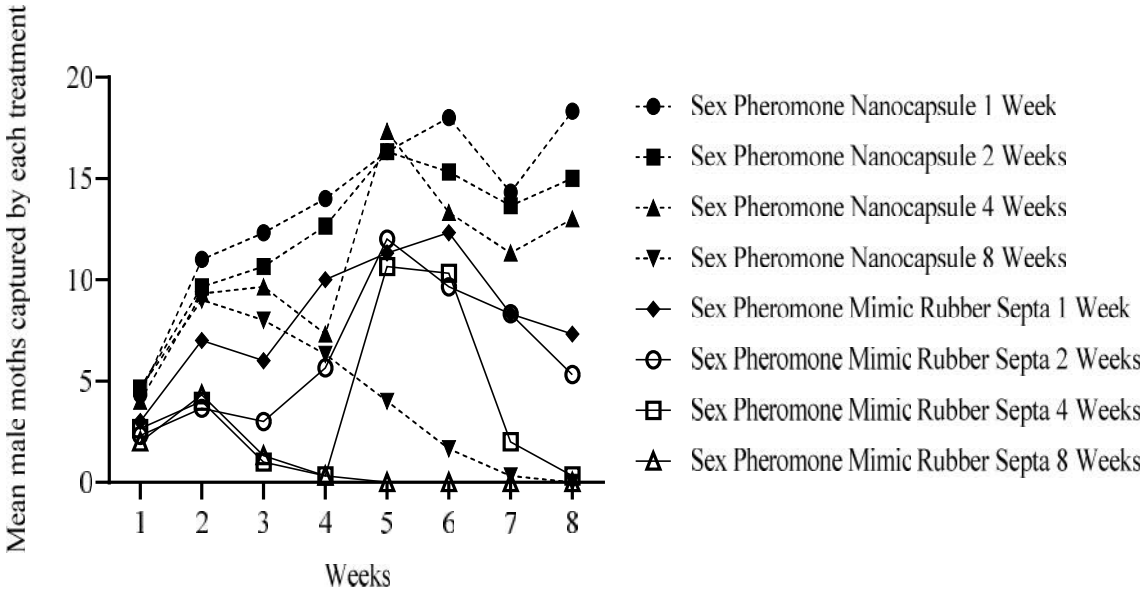
گروه‌بندی اثر متقابل فاکتورهای مورد بررسی نیز نشان داد که میانگین شکار روزانه حشرات نر در دوره‌های زمانی تعویض نانوکپسول شامل هر یک، دو، چهار و هشت هفته به‌ترتیب ۰/۰۲± ۱/۹۳، ۰/۰۶± ۱/۷۴، ۰/۰۴± ۱/۵۱ و ۰/۰۴±۰/۶ بود، اما میانگین شکار روزانه حشرات نر توسط پخش‌کننده تجاری شبه فرومون در زمان‌های تعویض به‌ترتیب ۰/۰۳± ۱/۱۷، ۰/۰۱± ۰/۸۹، ۰/۰۱±۰/۵۶ و ۰/۰۱± ۰/۱۴ بود. به غیر از میانگین‌های شکار روزانه پخش‌کننده تجاری شبه فرومون با زمان تعویض هر چهار هفته با نانوکپسول حاوی فرومون جنسی با زمان تعویض هر هشت هفته که از نظر آماری در یک سطح قرار گرفتند، سایر موارد تفاوت معنی‌دار داشتند (شکل ۴).



شکل ۴- میانگین (± خطای معیار) شکار روزانه پروانه کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* در تیمارهای مختلف (حروف غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال یک درصد است)

Figure 4. The mean (± standard error) of *Ectomyelois ceratoniae* daily capture by different treatments. (Different letters indicate significant difference, Tukey, $P<0.01$)

بررسی نوسان‌های میانگین شکار روزانه حشرات در تیمارهای مختلف نشان داد که تیمار نانوکپسول حاوی فرومون جنسی در همهٔ زمان‌های تعویض پخش‌کننده، حشرات نر بیشتری نسبت به تیمار پخش‌کننده تجاری شبه فرومون در زمان‌های مشابه شکار کردند. همچنین، نانوکپسول حاوی فرومون جنسی تا ۴۹ روز بعد از نصب تله داری قابلیت شکار حشرات بود؛ اما پخش‌کننده تجاری شبه فرومون تا ۲۱ روز در شکار شب‌پره‌ها مؤثر بود (شکل ۵).



شکل ۵- نوسان‌های میانگین شکار هفتگی پروانه کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* در تیمارهای مختلف

Figure 5. Fluctuations of the mean of *Ectomyelois ceratoniae* weekly males capture in different treatments

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که ساختار شیمیایی جلب‌کننده و یا نوع پخش‌کننده و زمان تعویض پخش‌کننده در کارایی تله‌ها برای شکار شب‌پره‌های کرم گلوگاه انار در شرایط صحرایی تأثیرگذار است. همچنین، نانوکپسول پلیمری حاوی جزء اصلی فرومون سنتتیک در شرایط صحرایی موجب شکار بیشتر پروانه‌های نر کرم گلوگاه به تله‌ها می‌شود. بر اساس گزارش‌های مختلف، شبه فرومون این آفت قادر به شکار تعداد مناسب شب‌پرهٔ نر در مناطق مختلف جغرافیایی ایران نیست (Farazmand, 2011). بر اساس منابع، شبه فرومون این آفت -*Z*,*E*)-7,9,11 Dodecatrienyl formate)، ساخت شرکت فروبانک هلند نیز در شرایط صحرایی اثر رضایت بخشی نداشته است (Avand-Faghih *et al*., 2012). ناصریان و همکاران (Naserian *et al*., 2012) میانگین شکار روزانه حشرات نر پروانه گلوگاه انار جلب شده به شبه فرومون تجاری ساخت شرکت راسل انگلستان را در استان لرستان از تاریخ هفتم خرداد تا سوم تیرماه ۰/۰۳±۰/۸۹ حشره در روز و از تاریخ سوم تیرماه تا بیست و چهارم تیرماه ۰/۰۲± ۰/۶۸ حشره در هرروز گزارش نمودند که بسیار نزدیک به یافته‌های این تحقیق است. نتایج بررسی کارایی شبه فرومون سنتتیک کرم گلوگاه انار در باغ‌های انار استان تهران نیز نشان داد که شبه فرومون ساخت شرکت آلفاآلفا با میزان شکار ۰/۵۸ حشره در روز کارایی بهتری نسبت به شبه فرومون ساخت شرکت سانتاموس با شکار روزانه ۰/۲۸ حشره داشت (Farazmand and Moshiri, 2012). نتایج مطالعهٔ پژمان و سعیدی (Pezhman and Saeidi, 2018) در شهرستان شیراز نشان داد که میانگین حشرات جلب شده به تلفیق کارت‌های زرد

رنگ چسبنده و شبه فرومون تجاری پروانه کرم گلوگاه انار ساخت شرکت‌های اکونکس، آلفاآلفا، سانتاموس و راسل به‌ترتیب ۱/۹، ۱/۴، ۰/۲۸ و ۰/۲۵ حشره در روز بود (Pezhman and Saeidi, 2018). همچنین ایشان به این نتیجه رسیدند که شکار انبوه با ۶۰ تله در هکتار طعمه‌گذاری شده با شبه فرومون روشی مؤثر برای کنترل کرم گلوگاه انار و تولید انار ارگانیک است و این روش نسبت به سایر روش‌های غیر شیمیایی از نظر هزینه، وقت و کاربرد آسان برتری قابل‌ملاحظه‌ای دارد.

بیکر و همکاران (Baker *et al.*, 1991) نشان دادند که مخلوطی از (*Z*, *E*)-9,11,13-Tetradecatrienal (trienal)، (*Z*, *E*)-9,11-Tetradecadienal (d'ienal) و (*Z*)-9-Tetradecenal (monoenal) با نسبت ۸: ۱: ۱ تعداد قابل‌توجهی از پروانه‌های نر کرم گلوگاه انار را در نخلستان‌های خرما به خود جلب می‌کند، اما در مقایسه با حشره مادهٔ زنده تعداد کمتری را جلب می‌کند که ممکن است به دلیل تجزیهٔ جزء اصلی فرومون در شرایط صحرایی باشد. نانوذرات با ظرفیت جذب مناسب مولکول‌های فرومون و رهاسازی آهسته و کنترل‌شده مولکول‌های آن در طول دورهٔ فعالیت حشرات فرصتی برای افزایش کارایی فرمون‌های سنتز شده در مدیریت آفات فراهم می‌کنند. انواع مختلفی از ترکیبات مانند شیشه‌های سیلیسی متخلخل (Tiboni *et al.*, 2008)، پلیمرها (Bradley *et al.*, 1995)، زئولیت‌ها (Muñoz-Pallares *et al.*, 2001) و پارافین واکس (Atterholt *et al.*, 1999) به‌عنوان پخش‌کنندهٔ فرومون‌ها استفاده‌شده است که باعث افزایش کارایی آن‌ها می‌شود. پلیمر، حلال و دوز موجود در نانوفیبرها برای رهایش کنترل‌شده و تهیه پخش‌کننده‌های فرومون مهم هستند (Bisotto-De-Oliveira *et al.*, 2015).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که فاکتور زمان تعویض پخش‌کننده‌ها نیز تأثیر زیادی بر میزان شکار تله‌ها دارد. نتایج نشان داد که تیمار نانوکپسول حاوی فرومون جنسی در مقایسه با تیمار پخش‌کننده تجاری شبه فرومون، با زمان تعویض مشابه، همواره تعداد بیشتری افراد نر را شکار می‌کند (شکل ۴). همچنین، تیمار نانوکپسول حاوی فرومون جنسی با زمان تعویض یک هفته با میانگین شکار روزانه ۰/۰۲± ۱/۹۳ کارایی بهتری در مقایسه با زمان‌های تعویض دو هفته (۰/۰۶± ۱/۷۴)، چهار هفته (۰/۰۴± ۱/۵۱) و هشت هفته (۰/۰۴± ۰/۶) داشت. بررسی ناصریان و همکاران (Naserian *et al.*, 2016) نشان داد که میانگین حشرات نر کرم گلوگاه انار جلب شده به شبه فرومون این آفت در دوره‌های زمانی تعویض پخش‌کننده شامل ۷، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روز به ترتیب ۰/۰۲± ۰/۳، ۰/۰۴± ۰/۲۵، ۰/۰۱± ۰/۱۲، ۰/۰۱± ۰/۰۸ حشره در هر روز بود، اما نتایج ما نشان داد که میانگین شکار روزانه نرها به‌وسیله شبه فرومون در زمان‌های مذکور به‌ترتیب ۰/۰۳± ۱/۱۷، ۰/۰۱± ۰/۸۹، ۰/۰۱± ۰/۵۶ و ۰/۰۱± ۰/۱۴ بود که در همه زمان‌ها بیشتر است. با این‌حال، میانگین نرهای جلب شده به نانوکپسول حاوی فرومون جنسی در تحقیق حاضر، در دوره‌های زمانی تعویض پخش‌کننده شامل ۷، ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روز به‌طور مشخصی از تعداد افراد شکار شده توسط شبه فرومون بیشتر بود.

همچنین نتایج این پژوهش نشان داد که دوام فرومون جنسی بارگذاری شده داخل نانوکپسول به‌طور معنی‌داری بیشتر از پخش‌کننده تجاری شبه فرومون بود. مقایسه حشرات شکار شده به‌وسیله جلب‌کننده‌های مختلف به‌صورت هفتگی نشان داد که تیمار نانوکپسول حاوی فرومون جنسی با زمان تعویض هشت هفته تا هفته هفتم توانسته بود حشرات نر کرم گلوگاه را به خود جلب کند، درحالی‌که تیمار شبه فرومون با زمان تعویض هشت هفته فقط تا هفته سوم توانسته بود حشرات نر کرم گلوگاه را شکار کند. این نتیجه نشان از دوام بیشتر نانوکپسول حاوی فرومون جنسی در جلب حشرات در شرایط باغ است (شکل ۵). ناصریان و همکاران (Naserian *et al.*, 2016) مدت‌زمان تعویض پخش‌کننده‌های تجاری شبه فرومون و آوندفقیه (Avand-Faghih, 2007) مدت‌زمان تعویض پخش‌کننده‌های آزمایشی فرومون را به دلیل دوام پایین یک یا دو هفته بیان داشتند که با نتایج حاصل از دوام شبه فرومون به کار رفته در این تحقیق مطابقت دارد.

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق فرمولاسیون نانوکپسول حاوی فرومون جنسی کرم گلوگاه انار که جلب‌کنندگی بهتر و دوام بیشتری نسبت به شبه فرومون

تجاری داشت، می‌تواند جهت پایش و احتمالاً کنترل این آفت در باغ‌های انار در چارچوب برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) مورد استفاده قرار گیرد. بدیهی است برای استفاده از این نانوکپسول برای کنترل آفت، آزمایش‌های صحرایی تکمیلی مورد نیاز است.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از رساله دکتری نویسنده اول مقاله است، بدینوسیله نویسندگان از دانشگاه لرستان و موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور برای همکاری در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

Abbes, K. and Chermiti, B. 2011. Comparison of two marks of sex pheromone dispensers commercialized in Tunisia for their efficiency to monitor and to control by mass-trapping *Tuta absoluta* under greenhouses. **Tunisian Journal of Plant Protection** 6(2): 133-148.

Atterholt, C. A., Delwiche, M. J., Rice, R. E. and Krochta, J. M. 1999. Controlled release of insect sex pheromones from paraffin wax and emulsions. **Journal of Controlled Release** 57(2): 233-247.

Auffan, M., Rose, J., Bottero, J. Y., Lowry, G. V., Jolivet, J. P. and Wiesner, M. R. 2009. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. **Nature Nanotechnology** 4(10): 634-641.

Avand-Faghih, A. 2007. Efficiency of sex pheromone of *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae) and *Euzophera bigella* Zeller (Lep.: Pyralidae) in Iran condition. Final report of research project. Iraninan research Institute of Plant Protection, Tehran, pp. 15. (In Persian).

Avand-Faghih, A., Rastegari, N. and Jafari Nodooshan, A. 2012. Effect of dispenser type and dose of the pheromone mimic, (Z, E)-7,9,11-dodecatrienyl formate, on trapping of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller). Proceedings of 20th Iranian Plant Protection Congress. 26-29 august, Shiraz, Iran, pp. 841. (In Persian).

Baker, T., Francke, W., Millar, J., Löfstedt, C., Hansson, B., Du, J., Phelan, P., Vetter, R., Youngman, R. and Todd, J. 1991. Identification and bioassay of sex pheromone components of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller). **Journal of Chemical Ecolology** 17(10): 1973-1988.

Bhagat, D., Samanta, S. K. and Bhattacharya, S. 2013. Efficient management of fruit pests by pheromone nanogels. **Scientific Reports** 3: 1294.

Bisotto-De-Oliveira, R., Morais, R. M., Roggia, I., Silva, S. J., Sant'Ana, J. and Pereira, C. N. 2015. Polymers nanofibers as vehicles for the release of the synthetic sex pheromone of *Grapholita molesta* (Lepidoptera, Tortricidae). **Revista Colombiana de Entomologia** 41(2): 262-269.

Bradley, S. J., Suckling, D. M., McNaughton, K. G., Wearing, C. H. and Karg, G. 1995. A temperature-dependent predictive model for polyethylene tubing pheromone dispenser release rates. **Journal of Chemical Ecololgy** 21(6): 745-760.

Cichón, L. I. Trematerra, P., Coracini, M. D. A., Fernandez, D., Bengtsson, M. and Witzgall, P. 2004. Sex pheromone of *Argyrotaenia pomililiana* (Lepidoptera: Tortricidae). **Journal of Economic Entomology** 97: 946-949.

Dhouibi, M. H., Hermi, N., Soudani, D. and Thlibi, H. 2016. Biocontrol of the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) in pomegranate and citrus orchards in Tunisia. **International Journal of Agriculture Innovations and Research** 4(5): 849-856.

Farazmand, H. 2011. Comparison of synthetic pheromone traps capture for pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae). Final Report of Research Project. Iranian Research Institute of Plant Protection,Tehran, pp. 31. (In Persian).

Farazmand, H. and Moshiri, A. 2012. Comparison of synthetic pheromone traps capture for pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae). Proceedings of 20th Iranian Plant Protection Congress. 26-29 august, Shiraz, Iran, pp. 801. (In Persian).

Farazmand, H., Vafaii Shoshtari, R. and Moshiri, A. 2011. Preliminary studies on the impact of kaolin in reducing the damage of carob moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep.: Pyralidae) in Garmsar region. **Journal of Entomological Reserch** 3(2): 163-171. (In Persian).

Hashemi Fesharaki, H., Karimizadeh, J., Jalalzand, A.R., Besharatnejad, M. H. and Modaresid, M. 2011. Studying on damage of carob moth in three pomegranate cultivars of Isfahan (Iran). **Procedia Environmental Sciences** 8: 257-261.

Il'ichev, A. L., Williams, D. G. and Drago, A. 2003. Distribution of the oriental fruit moth *Grapholita molesta* Busck (Lep., Tortricidae) infestation on newly planted peaches before and during 2 years of mating disruption. **Journal of Applied Entomology** 127(6): 348-353.

Madge, D. 2014. Carob moth eating your profits? Proceedings of 16th Australian Almond Conference. Australia, pp. 33.

Mazhab, S., Farazmand, H., Vafaei-Shoushtari, R. and Emami, M. S. 2014. Effect of kaolin and stamen-removing on damage reduction of pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae). **Journal of Entomological Reserch** 6(2): 183-190. (In Persian).

Mamay, M., Unlü, L., Yanık, E., Dogramaci, M. and Ikinci, A. 2016. Efficacy of mating disruption technique against carob moth, *Apomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in pomegranate orchards in Southeast Turkey (Şanlıurfa). **International Journal of Pest Management** 69(4): 295-299.

Mozaffarian, F., Mardi, M., Sarafrazi, A. and Nouri Ganbalani, G. 2008. Assessment of geographic and host-associated population variations of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, on pomegranate, fig, pistachio and walnut, using AFLP markers. **Journal of Insect Science** 8(6): 1-9.

Muñoz-Pallares, J., Corma, A., and Primo-Yufera, J. 2001. Zeolites as pheromone dispensers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49(10): 4801-4807.

Nagavarma, B. V. N., Yadav Hemant, K. S., Ayaz, A., Vasudha, L. S. and Shivakumar, R. H. G. 2012. Different techniques for preparation of polymeric nanoparticles–A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research** 5(13): 16-23.

Naserian, N., Farazmand, H., Vafaei Shoushtari, R., Avand-Faghih, A. and Azadbakht, N. 2012. The seasonal population fluctuations of pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and quince moth, *Euzophera bigella* Zeller in pomegranate orchards. **Journal of Entomological Reserch** 5(2): 161-170. (In Persian).

Naserian, N., Farazmand, H., Vafaei Shoushtari, R. and Avand-Faghih, A. 2016. Study of effective factors in capture of pheromone trap carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller. **Journal of Plant Protection** 30(3): 481–487. (In Persian).

Nay, J. E., Boyd, E. A. and Perring, T. M. 2006. Reduction of carob moth in 'Deglet Noor'dates using a bunch cleaning tool. **Crop Protection** 25 (8): 758-765.

Noorbakhsh, S., Heydari Alizadeh, B., Farazmand, H. and Saber, M. 2017. Comparative study of the sex pheromone of carob moth, *Apomyelois ceratoniae* (Zeller, 1839) (Lepidoptera: Pyralidae) from four regions of Iran using headspace solid phase micro extraction–gaschromatography/mass spectrometry. **Turkish Journal of Entomology** 41(1): 61-73.

Nuruzzaman, M., Rahman, M. M., Liu, Y. and Naidu, R. 2016. Nanoencapsulation, nano-guard for pesticides: a new window for safe application. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 64(7): 1447-1483.

Pezhman, H. and Saeidi, K. 2018. Evaluation of light traps, pheromone traps and light –pheromone traps for mass trapping of *Ectomyelois ceratoniae* (Lepdoptera: Pyralidae) and determination the best pheromone traps density to decrease the pest damage in a pomegranate orchard. **Journal of Entomological Reserch** 10(1): 13-28. (In Persian).

Rafeie, B., Farazmand, H., Goldasteh, Sh. and Sheikh Ali, T. 2011. Investigating the impact of various fruit covering in reducing the damage of carob moth in pomegranate, *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep: Pyralidae), in Saveh region. **Journal of Entomological Reserch** 3(1): 11-19. (In Persian).

Rezaei-Azqandi, S., Kazazi, M. and Abdul Ahadi, F. 2015. *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lep., Pyralidae) and its control procedures in Iran. **Journal of Applied Environmental and Biological Sciences** 5(12S): 743-747.

Shakeri, M. 2004. A review on investigations on pomegranate neck worm in Iran, pp. 18-30. In M. Shakeri (ed.), A proceeding on evaluation of finding and current problems associated with *Spectrobates ceratoniae* management in pomegranate. Ministry of Jahad-e-Keshavarzi, organization of research and education, Yazd Agriculture and Natural Resources Research Center, Iran. (In Persian).

Shakeri, M. and Sadatakhavi, Y. 2004. Diseases and pests of pomegranate. Tasbih publications, Agriculture Researchs Center of Yazd, pp. 126.

Sobhani. M., Goldansaz, S. H., Hatami, B. and Hosseini, S. A. 2015. A field screening of pomegranate cultivars for resistance to the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, and compatibility with its larval parasitoids. **International Journal of Pest Management** 61(4): 346-352.

Tamhankar, A. J., Gahukar, R. T. and Rajendran, T. P. 2000. Pheromones in the management of major lepidopterous and colepoterous pests of cotton. **Integrated Pest Management Reviews** 5(1): 11-23.

Tiboni, A., Coracini, M. D. A., Lima, E. R., Zarbin, P. H. G. and Zarbin, A. J. G. 2008. Evaluation of porous silica glasses as insect pheromone dispensers. **Journal of the Brazilian Chemical Society** 19(8): 1634-1640.

Varshovi, F., Heidari Alizadeh, B., Farazmand, H., Oliali Torshiaz, A. and Sirjani, M. 2018. Extraction and identification of the sex pheromone of different populations of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*. **Journal of Pesticides in Plant Protection Sciences** 4(2): 165-177. (In Persian).

Vetter, R. S., Millar, J., Vickers, N., and Baker, T. 2006. Mating disruption of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, with a sex pheromone analog. **Southwestern Entomologist** 31(1): 33-47.

Witzgall, P., Kirsch, P. and Cork, A. 2010. Sex pheromones and their impact on pest management. **Journal of Chemical Ecology** 36(1): 80-100.

Plant Pest Research
2020- 10(3): 49-60

Research paper

Evaluation of field efficiency of the nanocapsule sex pheromone dispensers of carob moth *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae)

A. H. Danaye-Tous[1], Sh. Jafari[1*], B. Heidary Alizadeh[2] and H. Farazmand[2]
1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran, 2. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

(Received: August 9, 2020- Accepted: October 21, 2020)

Abstract

Carob moth is the most important pest of pomegranate in some countries including Iran. The use of sex pheromones is one of the methods to monitor and control of this pest. The major component of the carob moth sex pheromone ((Z, E) -9,11,13-Tetradecatrienal) is unstable, and the effectiveness of its mimic ((Z, E) -7,9,11-Dodecatrienyl format) is less than the sex pheromone. Nanotechnology can play an important role in increasing the efficiency of pheromones through gradual release. In this study, with the aim of increasing the stability of the sex pheromone in garden conditions, in addition to prepare the nanocapsule containing the major component of the sex pheromone, an experiment was conducted in a factorial design based on completely randomized blocks with two factors, including type of attractor (sex pheromone nanocapsule and commercial dispenser of mimic sex pheromone) and replacement time attractor (including one, two, four, and eight weeks). According to results, nanocapsule formulation had better performance than the mimic sex pheromone. The mean number of males attracted to nanocapsule at times of replacement attractor including one, two, four, and eight weeks were 1.93, 1.74, 1.51, and 0.6 insects per day, respectively, and to mimic sex pheromone at the mentioned times were 1.17, 0.89, 0.56, and 0.14 insects per day, respectively. Also, nanocapsule and mimic sex pheromone were able to attract insects for 49 and 21 days, respectively. According to the results of this study, the sex pheromone nanocapsule is recommended to monitor and control of this pest.

Key words: Carob moth, New formulation of pheromone, Pomegranate, Pheromone dispenser efficiency

* Corresponding author: Shahriar.jafari@gmail.com; Jafari.s@lu.ac.ir