



علمی پژوهشی

شناسایی ترکیبات آلی فرار رقم‌های انار و اثر آنها بر جلب کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lep.: Pyralidae)

حمیده صحرائیان^۱، سیدعلی صفوی^{۱*}، وحید حسینی نوه^۲ و مهدی ضیاءالدینی^۳

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ۳- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۱۰)

چکیده

کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae*، یک آفت کلیدی در باغ‌های انار در ایران است. استفاده از ترکیبات فرار گیاهی به عنوان یکی از عوامل موثر در تغییر رفتار حشرات است که گامی مهم در مبارزه با آفات و در نتیجه کاهش مصرف آفت‌کش‌ها و کاهش خطر برای انسان و محیط‌زیست است. در این راستا، ترکیب‌های آلی فرار از شاخ و برگ و میوه درختان انار رقم‌های کدرو، رباب و شیرین‌شهواری و با روش کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) شناسایی شدند. به ترتیب، در شاخ و برگ این رقم‌ها ۱۷، ۳۳ و ۲۴ و در میوه آنها ۲۳، ۲۶ و ۲۳ ترکیب آلی فرار شناسایی شد. فراوان‌ترین ترکیب شناسایی شده در شاخ و برگ و میوه رقم کدرو به ترتیب ۲,۶-Dimethoxyphenol (۵۱/۰۱٪) و 6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene (۳۶/۹۲٪) بود. این ترکیبات به ترتیب در شاخ و برگ و میوه رقم رباب، Bis (2-ethylhexyl) phthalate (۴۶/۳۷٪) و 6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene (۳۲/۲۴٪) و در شاخ و برگ و میوه رقم شیرین‌شهواری، 9,17-Octadecadienal, (Z)- (۲۷/۶۲٪) و Benzoic acid, 2,5-bis (trimethylsiloxy) -trimethylsilyl ester (۴۶/۲۵٪) از ترکیبات اصلی بود. بررسی پاسبی بویایی ماده‌های جفت‌گیری کرده کرم گلوگاه انار در تونل باد نشان داد که حشره‌های ماده از نظر آماری به صورت متفاوت به بوی شاخ و برگ و میوه ارقام کدرو، رباب و شیرین‌شهواری درختان انار جذب می‌شوند. نتیجه این پژوهش می‌تواند در توسعه روش‌های مدیریت بر اساس به کارگیری مواد پیام‌رسان شیمیایی همانند شکار انبوه، دور کردن کرم گلوگاه انار و یا جلب دشمنان طبیعی آن استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: کروماتوگرافی گازی، طیف‌سنجی جرمی، بویایی سنجی، ترکیب‌های آلی فرار، کرم گلوگاه انار

مقدمه

غیرمستقیم (جلب دشمنان طبیعی) نقش ایفا کرده (Pickett and Khan, 2016) یا حامل پیام‌های شیمیایی باشند که گیاهان مجاور را تحریک به پاسخ‌های دفاعی کنند (Engelberth *et al.*, 2004). ترکیب‌های فرار در اثر تغییر نور و رطوبت و دیگر تنش‌های محیطی مانند خشکی و غرقاب شدن نیز از سطح گیاهان پراکنده می‌شوند (Holzinger *et al.*, 2000) و بنابراین می‌توانند داده‌هایی را درباره شرایط فیزیولوژیک و فنولوژی گیاه میزبان در اختیار حشره‌های گیاه‌خوار و کنه‌ها یا شکارگرها و پارازیتوئیدها قرار دهند (Dudareva *et al.*, 2013). افزایش توجه به بیوشیمی، فیزیولوژی و بوم‌شناسی ترکیب‌های آلی فرار در گیاهان، باعث توسعه روش‌های مختلفی مانند جمع‌آوری بخش‌های انتهایی (Headspace) گیاه به منظور بررسی ترکیب‌های فرار گیاهی شده است. این روش‌ها باعث نمایاندن تصویر بهتر و واقعی از ترکیب‌های فرار در گیاهان در مقایسه با روش‌های سنتی از جمله استخراج افشرد، اسانس‌گیری و ریزاستخراج شده است (Tholl *et al.*, 2006). باید توجه داشت در روش اسانس‌گیری با تقطیر آب، ساختار برخی از ترکیب‌های فرار به دلیل کاربرد حرارت دگرگون می‌شود. همچنین روش ریزاستخراج (microextraction)، گنجایش کمابیش پایینی در استخراج ترکیب‌های فرار دارد (Talebpour *et al.*, 2013). روش فضای فوقانی پویا (Dynamic Headspace) یک روش غیرمخرب و بسیار سودمند است که در پژوهش‌های بوم‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تاکنون پژوهش‌های گسترده‌ای در این زمینه روی درختان سیب (Bengtsson *et al.*, 2001)، انجیر (Grison-Pigé *et al.*, 2002)، انگور (Tasin *et al.*, 2005)، مرکبات (Pat and Sétamou, 2010; Robbins *et al.*, 2012)، بادام (Beck *et al.*, 2014b)، گلابی (Scutareanu *et al.*, 1997)، چای (Zhang *et al.*, 2013) و بسیاری از گیاهان و درختان دیگر انجام شده است. شناسایی این ترکیب‌ها و بررسی اثرهای رفتاری آن‌ها به صورت الکتروفیزیولوژیک، بویایی‌سنجی و یا روش‌های صحرائی

گیاهان به صورت مداوم مقدار قابل توجهی از مواد فرار را به داخل اتمسفر آزاد می‌کنند. این مواد آزاد شده از گیاه به نسبت پیچیده بوده و هر گونه گیاهی نیز ده‌ها ترکیب شیمیایی آزاد می‌کند. ترکیب‌های فرار گیاهی دارای وزن مولکولی بسیار پایین (کمتر از ۳۰۰ دالتون) بوده و به سه گروه اصلی ترینوئیدها (ایزوپرنوئیدها)، فنیل پروپنوییدها (بنزنوئیدها) و مشتقات اسید چرب تقسیم می‌شوند (Dudareva *et al.*, 2006). عمده مواد متصاعد شده شامل ایزوپرن‌ها و مونوترپن‌ها هستند، اما آلکان‌ها، آلکن‌ها، الکل‌ها، کربونیل‌ها، اسیدهای آلی، استرها و اترها نیز آزاد می‌شوند (Kesselmeier and Staudt, 1999). در حال حاضر، مهار رفتاری آفت‌ها با تأکید بر پیام‌رسان‌های شیمیایی (سمیوکیکال‌ها) جایگاه ویژه‌ای در برنامه‌های مدیریت تلفیقی دارد (Dudareva *et al.*, 2013) و ترکیب‌های آلی فرار به عنوان بخش برجسته‌ای از این گروه نیازمند توجه بیش از پیش هستند.

ترکیب‌های آلی فرار (Volatile Organic Compounds) موادی هستند که در دمای اتاق فشار بخار بالا و دمای جوش پایین دارند و طی فرایند فرار (Volatility) از مواد مایع و جامد وارد هوای مجاور می‌شوند (Tholl *et al.*, 2006). طی این پدیده گیاهان ترکیب‌های با وزن مولکولی پایین و چربی‌دوست پخش می‌کنند که به عنوان ترکیب‌های آلی فرار شناخته می‌شوند (Tholl *et al.*, 2006). بسیاری از گیاهان این ترکیب‌ها را در اندام‌هایی مانند تریکوم‌های غده‌ای و مجراهای رزینی ذخیره (Gershenzon, 2000) و بیشتر آن‌ها را بر اساس یک الگوی وابسته به زمان آزاد می‌کنند (Loughrin *et al.*, 1990). برخی از این ترکیب‌ها در اثر تغذیه حشره‌های گیاه‌خوار نیز به محیط رها می‌شوند و می‌توانند به عنوان پیام‌هایی در جلب شکارگران و پارازیتوئیدها نقش ایفا کنند (Pare and Tumlinson, 1997).

ترکیب‌های آلی فرار که بیشتر آن‌ها در واقع متابولیت‌های ثانویه فرار هستند، می‌توانند به عنوان ترکیب‌های کارآمد در دفاع مستقیم (دورکننده یا بازدارنده) عمل نمایند یا در دفاع

همین دلیل به نام شب‌پره خرنوب نیز شهرت دارد. پژوهشگران معتقدند *E. ceratoniae* آفتی چندین‌خوار (پلی‌فاژ) میوه است و در بیشتر کشورهای گرمسیری و نیمه‌استوایی انتشار دارد. این حشره، میزبان‌های متعددی نظیر آکاسیا، ازگیل ژاپنی، افاقیا، انار، انجیر، انگور، بادام، بادام زمینی، بلوط، به، پسته، خرما، خرنوب، زردآلو، زیتون، سیب، گردو، هلو، پرتقال، سایر مرکبات و میوه‌های خشک دارد (Gothilf, 1984; Mehrnejad, 2006; Nay, 2006).

این آفت هر ساله به طور متوسط ۳۰ درصد از تولید انار کشور را به مخاطره انداخته و مقادیر متناهی از تولید را غیر قابل استفاده می‌نماید. با نگرش به سطح زیر کشت ۷۰۰۰۰ هکتاری باغات انار در ایران، هر ساله روش‌های گوناگون از جمله جمع‌آوری و معدوم نمودن میوه‌های آلوده، حذف تاج انار، پاک کردن تاج انار، رهاسازی عوامل بیولوژیک از جمله زنبورهای تریکوگراما برای کنترل این آفت به کار گرفته می‌شود، اما هیچ‌کدام از این روش‌ها موثر واقع نشده‌اند (Farazmand et al., 2008; Soufbaf et al., 2017).

روی آفت‌های فعال روی این گیاهان، سبب گسترش تولید ترکیب‌های دورکننده و یا جلب‌کننده در مهار آفت‌ها شده است (Tholl et al., 2006).

کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* (Lep.: Pyralidae) (Zeller) از جمله آفات مهم و چند میزبان روی برخی محصولات باغی و انبازی در خاورمیانه و نواحی مدیترانه‌ای است. این حشره، به عنوان یک آفت کلیدی در باغ‌های میوه انار در ایران (Fakharzadeh, 2002; Yousefi et al., 2004; Mozaffarian et al., 2007) و باغ‌های خرما در کشورهای نظیر آمریکا و تونس (Cox, 1976; Al-Rubeai, 1987; Baker et al., 1997) مطرح است.

یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده صادرات این محصول، کرم گلوگاه انار است که همه ساله خسارت جبران ناپذیری به کشاورزان وارد می‌کند (Soufbaf et al., 2017). حشره مذکور در کشورهای حوزه مدیترانه به عنوان آفت عمده درختان خرنوب محسوب می‌شود، به

جدول ۱- ترکیب‌های آلی فرار شاخ و برگ رقم کدرو انار

Table 1. Volatile organic compounds of foliage in Kadro cultivar of Pomegranate

No.	Compounds	RT* (min)	Relative percent (%)
1	2,6-Dimethoxyphenol	9.07	51.01
2	3-Methoxy-4-hydroxybenzaldehyde (Vanillin)	12.79	4.34
3	o-Methoxyphenol	4.91	12.63
4	1-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-carbethoxy-2-(2-methoxyphenoxy)ethanol	21.10	0.16
5	2-Methoxy-4-methylphenol (p-Methylguaiacol)	5.84	4.78
6	2-Methoxy-4-methylphenol (p-Methylguaiacol)	5.88	4.21
7	3,4-Bis-(p-oxocyclohexyl)-hexane (mixture of racemic and meso isomers)	21.13	0.48
8	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	21.20	0.18
9	Benzenecarbothioamide	21.08	0.38
10	Benzyl butyl phthalate	22.00	1.53
11	Cyclohexanone, 2-(dimethylamino)-4-(1,1-dimethylethyl)-, oxime (CAS)	21.05	0.70
12	Dibutyl phthalate	22.03	0.22
13	DIBUTYLPHTHALATE	18.63	0.65
14	Di-n-octyl phthalate	18.65	1.30
15	Hydroxyoxindole	18.60	0.70
16	Pentacyclo[9.1.0.0(2,4).0(5,7).0(8,10)]dodecane, 3,3,6,6,9,9,12,12-octaethyl-	20.98	0.42
17	Phenol	5.14	16.33

* RT: Retention time

جانشین مناسب در برنامه‌های کنترل آفات به کار گرفته شود (Howse *et al.*, 1998). استفاده از پیام‌رسان‌های شیمیایی به عنوان یکی از عوامل موثر در تغییر رفتار حشرات می‌تواند گام مهمی در مبارزه با آفات و در نتیجه، کاهش مصرف سموم باشد (Casado, 2007).

برخلاف حشره‌کش‌های شیمیایی که اشکال‌هایی نظیر سمیت مزمن و حاد، مقاومت سریع حشرات در مقابل آن‌ها، زیان‌های زیست‌محیطی و اثر سوء بوم‌شناختی و ابقایی دارند، کاربرد پیام‌رسان‌های شیمیایی (Semiochemicals) غیرسمی بوده و می‌تواند همراه حشره‌کش‌ها و یا به عنوان

جدول ۲- ترکیب‌های آلی فرار میوه رقم کدرو انار

Table 2. Volatile organic compounds of fruit in Kadro cultivar of Pomegranate

No.	Compound	RT* (min)	Relative percent (%)
1	Tricosanoic acid, 2-hydroxy-, methyl ester	20.99	0.07
2	14B-PREGNANE	7.31	0.08
3	6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	4.23	36.92
4	octadecamethyl cyclononasiloxane	5.49	10.25
5	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-Hexadecamethyloctasiloxane	3.15	0.24
6	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11,13,13,15,15-Hexadecamethyloctasiloxane	3.20	1.86
7	n-Heptadecane	5.82	0.27
8	n-Heptadecane	5.87	1.21
9	5.alpha.-Cholest-3-ene, 2.alpha.-methyl-	24.80	0.30
10	5.alpha.-Cholest-3-ene, 2.alpha.-methyl-	25.08	0.28
11	5-.beta.-Cholest-7-en-6-one	23.55	0.37
12	E-15-Heptadecenal	5.73	0.19
13	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, 6-chloro-N-ethyl- (CAS)	6.44	0.12
14	1,3-Dioxane, 5-(hexadecyloxy)-2-pentadecyl-, trans-	3.91	0.05
15	1,3-Dioxane, 5-(hexadecyloxy)-2-pentadecyl-, trans-	3.96	0.18
16	2-benzoyl-6,7-dimethoxy-4-methylidene-2H-1,3-benzothiazine	3.88	0.08
17	Hexadecane	4.99	1.47
18	Hexadecane	4.96	2.12
19	Hexadecane	5.05	1.19
20	(Z)-9-Tricosene	7.78	0.17
21	1,1,3,3-TETRAMETHYL-1,3-DISILAIN DAN	9.05	0.16
22	1,1-Bis(p-tolyl)ethane	9.95	1.16
23	1,1-Bis(p-tolyl)ethane	11.40	0.40
24	1,1-Bis[4-(dimethylamino)phenyl]-5-(dimethylamino)-isobenzofuran-3-one	3.98	0.09
25	Diethyl phthalate	13.16	0.87
26	1,3,5-Pentanetricarboxamide, N,N',N''-triheptyl-N,N',N''-trimethyl-	8.00	0.39
27	10,10-ethylenedithio-3,3-dimethyl-2,4-dioxadispiro[5.0.5.4]hexadecane-1,5,14-trione	22.98	0.16
28	2,3',5'-Trimethyldiphenylmethane	10.62	0.19
29	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	24.27	0.30
30	5,6-dihydro-5,6-dimethylbenzo[c]cinnoline \$\$	10.45	1.89

31	Benzo[c]cinnoline, 5,6-dihydro-5,6-dimethyl- (CAS) 5-[(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1,2,3,4,6,6a,12a,12b-octahydro-12H-benz[a]xanthen-12-one	22.12	0.05
32	5-[(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1,2,3,4,6,6a,12a,12b-octahydro-12H-benz[a]xanthen-12-one	23.79	0.26
33	9,9'-DIANTHRAQUINONE	21.05	0.06
34	9,9'-DIANTHRAQUINONE	23.24	0.08
35	9,9'-DIANTHRAQUINONE	23.87	0.06
36	Benzeneacetic acid, 2,5-bis[(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester (CAS)	23.97	0.05
37	Benzeneacetic acid, 2,5-bis[(trimethylsilyloxy)-, trimethylsilyl ester (CAS)	24.02	0.04
38	Cholest-2-ene, 4-methyl-, (4.alpha.,5.alpha.)-	21.23	0.07
39	Cholest-2-ene, 4-methyl-, (4.alpha.,5.alpha.)-	24.57	0.14
40	Dibutyl phthalate	20.31	0.68
41	Dibutyl phthalate	21.99	0.67
42	Dibutyl phthalate	18.65	2.45
43	Ethoxycarbonyl derivative of (+),(R)p-17	22.58	0.17
44	8-hexyl-8-pentyl-hexadecane	6.79	1.66
45	Insovitamin D3	21.02	0.04
46	Insovitamin D3	23.13	0.13
47	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl	6.77	1.36
48	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl	17.58	6.26
49	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl	17.64	6.78
50	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl	18.85	12.33
51	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl	19.13	0.78
52	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl	19.17	2.83

* RT: Retention time

می‌کنند که سبب ایجاد شبکه‌ای از ارتباط‌های شیمیایی میان آنها و موجودات پیرامون مانند گیاه‌خواران و دشمنان طبیعی می‌شود. در حال حاضر، مهار رفتاری آفت‌ها با تأکید بر پیام‌رسان‌های شیمیایی (سمیو‌کمی‌کال‌ها) جایگاه ویژه‌ای در برنامه‌های مدیریت تلفیقی دارد (Dicke and Baldwin, 2010; Dudareva *et al.*, 2013).

در حال حاضر یافتن راه‌های جایگزین در مهار کرم گلوگاه انار به یکی از چالش‌های متخصصین در این زمینه تبدیل شده است. به نظر می‌رسد توجه به ویژگی‌های درونی درختان انار و ارتباط‌های شیمیایی میان آن‌ها و آفات می‌تواند بستر مناسبی برای گسترش روش‌های مدیریت تلفیقی و زیست‌سازگار فراهم آورد. درختان انار همانند دیگر گیاهان، طیف گسترده‌ای از ترکیب‌های آلی فرار را تولید

فوقانی پویا به دلیل نشان دادن تصویر بهتر و واقعی از ترکیب-های فرار (Tholl *et al.*, 2006) جمع‌آوری و شناسایی شد. همچنین، پاسخ بویایی حشره‌های ماده به ماده فرار برگ و میوه انار در تونل باد بررسی شد (Bengtsoon *et al.*, 2005; Tasin *et al.*, 2005).

در حال حاضر مهار رفتاری آفت‌ها با تأکید بر پیام‌رسان‌های شیمیایی جایگاه ویژه‌ای در برنامه‌های مدیریت تلفیقی دارد (Dudareva *et al.*, 2013) و ترکیب‌های آلی فرار به عنوان بخش برجسته‌ای از این گروه نیازمند توجه بیش از پیش هستند. در این تحقیق ترکیب‌های فرار شاخ و برگ و میوه درختان انار در شرایط آزمایشگاهی به روش فضای

جدول ۳- ترکیب‌های آلی فرار شاخ و برگ رقم رباب انار

Table 3. Volatile organic compounds of foliage in Rabbab cultivar of Pomegranate

No.	Compound	RT* (min)	Relative percent (%)
1	Ethylbenzene	4.53	4.65
2	Z-3-Hexenol	3.83	0.46
3	2-Ethyl-1-hexanol	8.18	0.57
4	3-Hexen-1-ol, acetate, (Z)-	7.47	2.24
5	METHYLLAURATE	3.98	0.50
6	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	56.91	46.37
7	3-Isopropoxy-1,1,1,7,7,7-hexamethyl-3,5,5-tris(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	27.35	2.05
8	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl- (CAS)	3.63	0.38
9	Heneicosane	52.23	0.70
10	Heptadecane	34.71	0.37
11	Heptadecane	14.75	0.28
12	Hexacosane	58.16	13.20
13	6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	33.78	3.14
14	Nonanal	10.92	0.64
15	Pentacosane	55.78	8.69
16	Pentadecane	27.16	0.76
17	Tetracosane	53.86	3.71
18	Tetradecane	23.13	0.61
19	Hexadecane	31.02	1.30
20	1-Ethyl-2-methylbenzene	6.19	0.75
21	1,2,4-Trimethylbenzene	7.10	0.79
22	Dodecamethylcyclohexasiloxane	20.31	0.32
23	Decamethylcyclopentasiloxane	13.01	3.04
24	1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL-CYCLOOCTASILOXANE	7.15	1.30
25	1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL-CYCLOOCTASILOXANE	3.24	1.12
26	p-Xylene	4.11	2.04

*RT: Retention time

شاخ و برگ‌های انتهایی در ارتفاع یک و نیم متری و میوه‌های درختان انار جدا شده و در ظرف شیشه‌ای در بسته قرار داده شد. ظرف شیشه‌ای به طور کامل و محکم بسته شد تا هیچ‌گونه جریان هوایی وارد ظرف نشود. به‌منظور جریان

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری ترکیب‌های آلی فرار از درختان انار جمع‌آوری ترکیب‌های آلی فرار به روش فضای فوقانی پویا انجام شد (Tholl *et al.*, 2006). بخش مشخصی از

شد. جریان هوای ورودی و خروجی با یک عدد پمپ مینیاتوری هوا از نوع پمپ‌های دیافراگمی به جریان انداخته شد (۰/۵ لیتر در دقیقه). جریان هوای ورودی قبل از ورود به محفظه از درون زغال فعال عبور داده شد تا هوای به نسبت تمیز وارد محفظه جمع‌آوری شود. جمع‌آوری به مدت ۱۲ ساعت در آزمایشگاه در تاریکی انجام شد (Bengtsson *et al.*, 2001; Tholl *et al.*, 2006).

یافتن هوا درون محفظه شیشه‌ای دو عدد شلنگ سیلیکونی از محل بسته شدن دهانه ظرف برای ورود و خروج هوا وارد ظرف شد. در ابتدای دهانه شلنگ خروجی (داخل ظرف)، فیلتر جاذب ترکیبات فرّار (PropakTMQ (50/80) (150/75mg) قرار داده شد تا هوای خروجی حاوی ترکیبات فرّار، ابتدا از فیلتر عبور کند که این عامل سبب اتصال مولکول‌های ترکیبات فرّار به ترکیبات پلیمری در درون فیلتر

جدول ۴- ترکیب‌های آلی فرّار میوه رقم رباب انار

Table 4. Volatile organic compounds of fruit in Rabbab cultivar of Pomegranate

No.	Compound	RT* (min)	Relative percent (%)
1	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-	9.00	0.66
2	Phenol, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-	6.94	2.14
3	14B-PREGNANE	4.75	0.05
4	14B-PREGNANE	5.73	0.43
5	14B-PREGNANE	6.19	0.80
6	1,1,3,3,5,5,7,7,9,9,11,11-dodecamethylhexasiloxane	6.77	3.86
7	1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	8.76	0.30
8	1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	10.27	0.14
9	6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	4.22	15.17
10	6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene	4.24	17.08
11	Cyclononasiloxane, octadecamethyl-	5.49	10.19
12	Octadecanoic acid, ethenyl ester	5.71	0.24
13	Eicosane (CAS)	3.66	0.01
14	Eicosane (CAS)	3.74	0.12
15	5.alpha.-Cholest-3-ene, 2.alpha.-methyl-	23.08	0.02
16	5.alpha.-Cholest-3-ene, 2.alpha.-methyl-	24.85	0.06
17	5.alpha.-Cholest-3-ene, 2.alpha.-methyl-	24.89	0.04
18	1-Bromo-11-iodoundecane	4.77	0.03
19	5.beta.-Cholest-7-en-6-one 5-	23.35	0.06
20	Thiocolchicine	3.86	1.00
21	Ledene oxide-(II)	6.23	1.05
22	Tetracosamethyl-cyclododecasiloxane	8.09	0.15
23	1-Heptadecanamine	3.79	0.37
24	1-Pentadecene	3.71	0.09
25	Hexadecane	5.02	3.42
26	Hexadecane	5.04	2.48
27	(Z)-1,5-DIMETHYLSPIRO[3.5]NONAN-(Z)-7-ONE-8-DIMETHYLAMINOMETHYLENE	7.63	0.15
28	1-(2,4-Dicyanophenyl)-2,3-dimethyl-2-butene	11.42	0.03
29	1-(3-phenyl-2-propynyl)-2-endo-methyldecahydroquinolin-4-one	8.58	0.24
30	1,1-Bis[4-(dimethylamino)phenyl]-5-(dimethylamino)-isobenzofuran-3-one	3.95	0.12
31	Isobutyl phthalate	18.64	11.08
32	Ethyl phthalate	13.14	1.25

33	10,10-ethylenedithio-3,3-dimethyl-2,4-dioxadispiro[5.0.5.4]hexadecane-1,5,14-trione	24.47	0.04
34	12.beta.-hydroxy-5.alpha.-pregna-7-en-20-one	4.78	0.05
35	2(1H)-Pyrimidinone, 4-(4-methoxyphenyl)-5-(4-methylphenoxy)-6-phenyl-	25.05	0.02
36	2-Nonen-1-ol, 2-methyl-3,5-CYCLOCHOLESTAN-6-ONE \$\$ 17-(1,5-Dimethylhexyl)-10,13-dimethyl-1,2,3,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydrocyclopenta[a]phenanthren-6-one	7.77	1.06
37	3-Furancarboxylic acid, 2-(ethoxymethyl)-5-methyl-, methyl ester	20.90	0.03
38	4,5-Dimethyltetrahydro-1,3-oxazine-2-thione	10.91	0.01
39	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	8.01	0.94
40	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	21.11	0.05
41	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	21.20	0.05
42	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	22.87	0.05
43	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	23.12	0.11
44	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	23.29	0.06
45	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl)phenyl]-	24.22	0.05
46	5-[(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1,2,3,4,6,6a,12a,12b-octahydro-12H-benz[a]xanthen-12-one	20.96	0.08
47	5-[(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1,2,3,4,6,6a,12a,12b-octahydro-12H-benz[a]xanthen-12-one	22.95	0.07
48	5-[(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1,2,3,4,6,6a,12a,12b-octahydro-12H-benz[a]xanthen-12-one	23.25	0.05
49	5-[(tert-Butyldimethylsilyloxy)-1,2,3,4,6,6a,12a,12b-octahydro-12H-benz[a]xanthen-12-one	23.75	0.08
50	9,9'-DIANTHRAQUINONE	22.35	0.02
51	9,9'-DIANTHRAQUINONE	24.29	0.07
52	9,9'-DIANTHRAQUINONE	24.75	0.08
53	Amiphenazole	9.94	0.66
54	Benzamide, N-[2-(2-oxopropyl)phenyl]-	10.41	0.98
55	Benzoic acid, pentyl ester	5.90	6.31
56	Benzoic acid, pentyl ester	6.46	5.04
57	Dibutyl phthalate	20.30	5.78
58	Dibutyl phthalate	22.00	2.63
59	Ethoxycarbonyl derivative of (+),(R)p-17	22.21	0.04
60	Ethoxycarbonyl derivative of (+),(R)p-17	23.43	0.07
61	Ethoxycarbonyl derivative of (+),(R)p-17	23.53	0.04
62	Ethoxycarbonyl derivative of (+),(R)p-17	25.02	0.04
63	Ethoxycarbonyl derivative of (+),(R)p-17	25.12	0.03
64	Insovitamin D3	21.29	0.05
65	Insovitamin D3	23.50	0.07
66	Insovitamin D3	25.19	0.04
67	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridy	8.13	0.60
68	Iron, monocarbonyl-(1,3-butadiene-1,4-dicarboxylic acid, diethyl ester) a,a'-dipyridyl	9.68	0.29
69	Isoxazole, 3,5-diphenyl-	9.61	0.30
70	Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-	8.44	0.41
71	Naphthalene, 2,7-dimethyl-	7.33	0.86

* RT: Retention time

جدول ۵- ترکیب‌های آلی فرار شاخ و برگ رقم شیرین شهوار انار

Table 5. Volatile organic compounds of foliage in Shirin Shahvar cultivar of Pomegranate

No.	Compound	RT* (min)	Relative percent (%)
1	11-Dodecen-1-ol trifluoroacetate	10.53	0.08
2	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	10.74	0.32
3	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	10.77	0.11
4	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	10.79	0.23
5	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	10.91	0.12
6	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	10.97	0.09
7	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	11.14	0.55
8	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	11.16	0.15
9	9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	20.00	2.83
10	9,17-Octadecadienal, (Z)-	28.14	24.79
11	Hexadecanoic acid, methyl ester	15.06	1.22
12	1-Ethylpyrrole	33.75	0.31
13	1-Hexadecene	25.84	15.30
14	9,17-Octadecadienal, (Z)-	10.70	0.44
15	9,17-Octadecadienal, (Z)-	11.29	1.69
16	9,17-Octadecadienal, (Z)-	11.33	0.56
17	9,17-Octadecadienal, (Z)-	11.37	0.15
18	Bicyclo[2.2.2]octanone	34.58	0.56
19	(-)-(1R,5S)-exo-2(R)-Methylbicyclo[3.2.1]octan-3-one	27.87	5.19
20	(-)-(1R,5S)-exo-2(R)-Methylbicyclo[3.2.1]octan-3-one	28.44	5.80
21	(-)-(1R,5S)-exo-2(R)-Methylbicyclo[3.2.1]octan-3-one	30.67	0.81
22	1,2-dideuteriobicyclo[3.2.0]hept-2-ene	30.43	0.67
23	6,8-Nonadien-2-one	32.94	0.67
24	Bicyclo[2.2.2]oct-5-ene-2-carbonitrile	33.80	0.74
25	Bicyclo[2.2.2]octanone	26.35	1.09
26	Bicyclo[3.2.1]octan-2-one	30.40	0.87
27	Bicyclo[3.2.1]octan-2-one	30.84	0.60
28	Bicyclo[3.2.1]octan-2-one	26.32	1.59
29	Bicyclo[3.2.1]octan-2-one	32.92	1.01
30	Bicyclo[3.2.1]octan-3-one	29.04	2.27
31	Bicyclo[3.2.1]octan-3-one	30.82	0.70
32	Cycloocta-2,4-dien-1-ol	28.33	4.27
33	Cycloocta-2,4-dien-1-ol	30.55	4.05
34	1,2-dideuteriobicyclo[3.2.0]hept-2-ene	33.90	1.69
35	1,2-Epoxy-4-vinylcyclohexane	20.20	3.92
36	2,3-dioxabicyclo[2.2.2]oct-2-ene	20.42	4.70
37	Dimethyl phosphite	25.95	1.39
38	Dimethyl phosphite	33.93	3.34
39	Bicyclo[3.2.1]octan-3-one	10.63	0.17
40	bicyclo[4,2,0]oct-2-ene	10.57	0.06
41	Bicyclo[6.1.0]non-4-ene	27.89	4.46
42	trans-1,4-Diacetoxycyclohexane	5.40	0.45

* RT: Retention time

استخراج ترکیبات آلی فرار

ترکیب پلیمری درون فیلتر جاذب شیشه‌ای با ۰/۵ میلی‌لیتر هگزان نرمال شسته شد. بدین منظور با به کارگیری یک پیست پاستور شیشه‌ای از یک انتهای فیلتر، هگزان به درون فیلتر تزریق شده و هگزان خروجی از انتهای دیگر فیلتر جمع‌آوری شد. درون‌مایه‌ها به لوله‌های شیشه‌ای دو میلی‌لیتری انتقال داده شدند و به آزمایشگاه تجزیه دستگاهی به منظور انجام گاز کروماتوگرافی (GC) و GC-Mass Spectroscopy و شناسایی ترکیب‌ها منتقل شد (Röse et al., 1996; Bengtsson et al., 2001; Tasin et al., 2005; Tholl et al., 2006).

کروماتوگرافی گازی همراه با طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)

برای شناسایی ترکیب‌های فرار از روش کروماتوگرافی گازی همراه با طیف‌سنجی جرمی استفاده شد. بدین منظور، نخست حجم محلول برآمده از ترکیب‌های شست‌وشو شده با هگزان در دمای اتاق به نزدیک ۱۰۰ میکرولیتر کاهش داده شده و به میزان ۰/۵ میکرولیتر به دستگاه کروماتوگرافی تزریق شد. سامانه کروماتوگرافی دربرگیرنده دستگاه GC مدل Agilent 7890A GC 5977B MSD—0°C: 325°C (350°C): 30 m × 250 μm × 0.25 μm Agilent MSD استفاده شد. داده‌های خروجی با برنامه Chemstation تجزیه و تحلیل شدند. برای آزمایش‌های بویایی‌سنجی لاروها از انارهای آلوده جمع‌آوری شده از باغ انار حومه شیراز جداسازی و روی ۲۰۰ گرم جیره مصنوعی (شامل سبوس گندم، شکر، گلیسرین، مخمر و آب مقطر) پرورش داده شد (Finney and Brinkman, 1967). حشرات کامل پس از خروج به ظرف استوانه‌ای پلاستیکی گلاس به ابعاد ۱۰۰×۵۰×۵۰ سانتی‌متر برای جفت‌گیری و تخم‌ریزی منتقل شدند. پس از ظهور، حشرات ماده در تونل باد مورد آزمایش قرار گرفتند (Calatayud et al., 2014).

آزمایش‌های بویایی‌سنجی

این آزمایش درون تونل بادی با مشخصات تونل به طول ۱/۵، عرض و ارتفاع ۰/۵ متر و از جنس پلاستیکی گلاس انجام شد (Miller and Roelofs, 1978) و در اتاقی با شرایط

دمایی ۲۷±۱ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰±۱۰ درصد و در شرایط روشنایی قرار گرفت. سرعت باد درون تونل ۰/۳ متر بر ثانیه بود که توسط یک فن به قطر ۳۰ سانتی‌متر ایجاد شد. هر بار یک حشره ماده جفت‌گیری کرده به تنهایی در سیلندرها قرار داده شد و به مدت یک ساعت اجازه داده شد تا با شرایط محیط تطبیق پیدا کند. تعداد ۳۰ حشره برای هر رقم انار (۱۵ حشره ماده با استفاده از ترکیبات شاخ و برگ و ۱۵ حشره ماده با استفاده از ترکیبات میوه) و در مجموع ۹۰ حشره به صورت تصادفی در بویایی‌سنجی بررسی شد. ظرف محتوی ترکیبات فرار استخراج شده در ۲۰ سانتی‌متری انتهای تونل باد بر روی سکویی با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر گذاشته شد و حشرات ماده با فاصله ۱۲۴ سانتی‌متری از سکوی تیمار روی سکویی با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر خلاف جهت باد قرار گرفته و پرواز و جلب آن‌ها به سمت ماده فرار و نشستن آن‌ها روی آن بررسی شد (Calatayud et al., 2014). داده‌های مربوط به مراحل پاسخ‌گویی حشرات درون تونل پرواز، بر اساس آزمون کای مربع (X^2) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۲ تجزیه آماری شد (Zaka et al., 2010; Diaz-Montano and Trumble, 2013).

نتایج

ترکیب‌های آلی فرار درختان انار

ترکیب‌های آلی فرار شناسایی شده از شاخ و برگ و میوه رقم‌های کدرو، رباب و شیرین شهور به ترتیب در جدول‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ آمده است. بر اساس نتیجه‌های GC-MS به ترتیب در شاخ و برگ و میوه رقم کدرو ۱۷ و ۳۳، رقم رباب ۲۴ و ۴۲ و رقم شیرین شهور ۲۳ و ۲۶ ترکیب آلی فرار شناسایی شدند. در رقم کدرو (شاخ و برگ) سه ترکیب ۲، ۶-دی‌متوکسی فنل، فنل و O-متوکسی فنل به ترتیب با ۵۱/۰۱، ۱۶/۳۳ و ۱۲/۶۳ درصد و در میوه رقم کدرو سه ترکیب ۶-آزا-۱۲، ۷، ۵-تتراتیپنتاسن، اکتادکامیتیل سیکلونوناسیلوکسان و هگزادکان به ترتیب با ۳۶/۹۲، ۱۰/۲۵ و ۴/۷۸ درصد، در رقم رباب (شاخ و برگ) سه ترکیب بیس (۲-اتیل هگزیل) فتالات، هگزاکوزان و پنتاکوزان به ترتیب با ۴۶/۳۷، ۱۳/۱۹ و ۸/۶۹ درصد و در میوه رقم رباب سه ترکیب ۶-

ترکیب تری متیل سیلیل استر، بنزویک اسید - ۵،۲ - بیس تری متیل سیلوکسی و هگزادکان به ترتیب ۴۶/۲۵، ۱۸/۴۶ و ۶/۳۷ درصد بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. بر اساس نتیجه‌های به دست آمده ۷۴ ترکیب همسان در مجموعه ترکیب های آلی فرار در سه رقم مورد بررسی وجود داشت.

آزا-۱۴،۱۲،۷،۵- تترایپنتاسن، دود کامتیل هگزاسیلوکسان و هگزادکان به ترتیب ۳۲/۲۴، ۳/۸۶ و ۳/۴۱ درصد و در رقم شیرین (شاخ و برگ) سه ترکیب ۱۷،۹-اُکتادکادینال، هگزادکان و ۱۲،۹-اُکتادکادینوئیک اسید متیل استر به ترتیب ۲۷/۶۲، ۱۵/۲۹ و ۲/۸۳ درصد و در میوه رقم شیرین سه

جدول ۶- ترکیب‌های آلی فرار میوه رقم شیرین شهوار انار

Table 6. Volatile organic compounds of fruit in Shirin Shahvar cultivar of Pomegranate

No.	Compound	RT* (min)	Relative percent (%)
1	1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3-bis(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	6.75	4.78
2	2-Methoxy-4-methylphenol	5.86	0.58
3	5,6-dihydro-5,6-dimethylbenzo[c]cinnoline	10.44	0.11
4	3-Isopropoxy-1,1,1,7,7,7-hexamethyl-3,5,5-tris(trimethylsiloxy)tetrasiloxane	3.18	1.28
5	Docosane	3.84	0.03
6	octadecamethyl cyclononasiloxane	5.48	18.84
7	Heptadecane	5.83	2.03
8	Heptadecane	5.85	0.43
9	Heptadecane	5.88	1.63
10	Benzoic acid, 2,5-bis(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester (CAS)	4.22	46.35
11	Eicosane (CAS)	5.11	1.53
12	Methoxy-4-hydroxybenzaldehyde (Vanillin)	12.79	0.51
13	1-(1,5-Dimethyl-4-hexenyl)-4-methoxy-1,4-cyclohexadiene	21.13	0.05
14	Hexadecane	5.02	1.10
15	Hexadecane	5.00	5.28
16	3-Ethyl-5-(2'-ethylbutyl) octadecane	4.49	0.13
17	Phenol, 2,6-dimethoxy-	9.06	9.23
18	Cyclohexanone, 4,4'-(1,2-diethyl-1,2-ethanediyl) bis-, (R*, R*)-(+.-)-	21.04	0.03
19	4H-1-Benzopyran-4-one, 7-hydroxy-3-[2,4-dihydroxy-5-methoxy-6-(2,3-epoxy-3-methylbutyl) phenyl]-	25.07	0.13
20	9,9'-DIANTHRAQUINONE	25.16	0.07
21	1-(p-methoxyphenyl)-6-methoxy-7,8-dihydroxy-2,5,10-trioxabicyclo[4.4.0]decane	21.02	0.04
22	Isobutyl phthalate	18.64	2.93
23	Butyl phthalate	20.32	0.65
24	4-[4-Nitrophenyl]-3-thiosemicarbazone 2-acetylpyridine	21.01	0.06
25	Dibutyl phthalate	20.29	0.77
26	Dibutyl phthalate	21.98	1.01
27	2-Butenoic acid, 4,4,4-trifluoro-3-methyl-, ethyl ester, (E)-	21.10	0.04
28	1-Methyl-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-6,7-dimethoxyisochromene	3.16	0.92
29	1-Methyl-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-6,7-dimethoxyisochromene	3.20	-2.61
30	Phenyl carbamate	5.07	1.08
31	Phenyl carbamate	5.09	0.60
32	OXID DTT 1TBDMS 1TMS	3.13	0.41

* RT: Retention time

بویایی سنجی

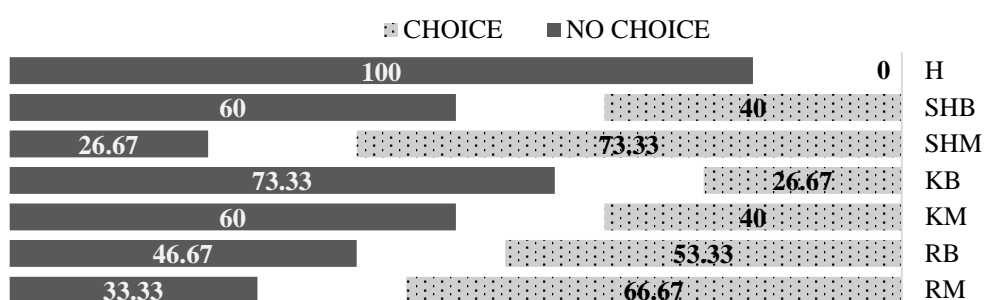
انتخاب حشره‌های ماده در ۱۵ تکرار، ۳ تیمار شاخ و برگ و ۳ تیمار میوه انار رقم‌های کدرو، رباب و شیرین شهوار و تیمار شاهد (هگزگان) طبق شکل ۱ ارائه شده است. نتیجه‌های کلی نشان‌دهنده این بود که بوی شاخ و برگ و میوه در رقم‌های انار در سامانه بویایی سنجی توانایی جلب حشره‌های ماده کرم گلوگاه انار را دارد (شکل ۱).

پاسخ بویایی حشره‌های ماده کرم گلوگاه انار در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتیجه‌های حشره‌های ماده به طور معناداری به ترکیبات فرار شاخ و برگ ($p < 0.000$)، 3 و میوه ($X^2 = 20.135$, $df = 11/111$, $p < 0.01$) و نتایج درصد انتخاب و عدم

شکل ۱- پاسخ بویایی حشره‌های ماده به تیمار میوه و شاخ و برگ انار رقم‌های کدرو، رباب و شیرین شهوار و تیمار شاهد (هگزگان)

Figure 1. Olfactory responses of females of Carob moth to foliage and fruit volatiles of Kadro, Rabbab, and Shirin Shahvar cultivar of Pomegranate

H: Hexan, SHM: Shirin, RM: Rabab, KM: Kadro cultivar (fruit), SHB: Shirin, RB: Rabbab, KB: Kadro cultivar (foliage)



شده در گیاه جاکاراندا و برندی میوه جوجوبا (Shu *et al.*, 2013) مشابه می‌باشند. ترکیب Z-3-Hexenol شناسایی شده با تحقیق گولر و گل (Güler, and Gül, 2016) در میوه و دانه انار مشابه می‌باشد. پژوهش‌های مختلفی (Raisi *et al.*, 2008; Porat and Ulrich, 2012; Tripathi *et al.*, 2015; Beaulieu *et al.*, 2014) ترکیب‌های آلی فرار در آب میوه انار رقم واندر فول را شناسایی کردند که با بعضی از ترکیب‌های شناسایی شده در این تحقیق مشابه است. تاثیر ترکیب‌های آلی فرار در درختان انار روی کرم گلوگاه انار و حتی سایر حشره‌های گیاه‌خوار و نیز عوامل مهار زیستی پویا در باغ‌های انار تا حدودی ناشناخته مانده است. هم‌چنین، در پژوهش‌هایی که از روش فضای فوقانی پویا استفاده کرده‌اند (Roitman *et al.*, 2011; Beck *et al.*, 2014a,b,c)، جمع‌آوری ترکیب‌ها از بافت‌های گیاهی در آزمایشگاه انجام شده است؛ بنابراین نتایج به دست آمده در این پژوهش‌ها نمی‌توانند به خوبی نشان‌دهنده نوع و نسبت ترکیب‌های آلی فرار باشند که در یک محیط طبیعی قرار

بحث

ترکیب‌های شناسایی شده در این پژوهش، مشابه با ترکیب‌های گزارش شده در دیگر پژوهش‌ها در مورد ترکیب‌های فرار استخراج شده از درخت انار و سایر درختان و گیاهان بود (Misumi *et al.*, 1982, Chung *et al.*, 1993; Xu *et al.*, 2011; Ozawa *et al.*, 2013; Amos Fawole and Linus Opara, 2014; Jung, 2014; Molnár *et al.*, 2015; Shin *et al.*, 2016; Fürstenau *et al.*, 2016; Güler and Gül, 2016; De Lange *et al.*, 2019). در این پژوهش، ترکیب‌های آلی فرار در سه رقم انار (شاخ و برگ و میوه) تفاوت‌هایی از نظر کمی و کیفی با هم داشتند. هم‌چنین ترکیب‌های ۶،۲-بیس فنل، ۱،۱-دی‌متیل اتیل فنل و بنزویک اسید به‌عنوان اجزای ترکیبات شناسایی شده در این تحقیق با ترکیبات شناسایی شده از پوست شاخه، پوست ریشه و پوست میوه انار طبق بررسی‌های جونگ (Jung, 2014) است. به‌علاوه، این ترکیبات با ترکیبات شناسایی شده از آب میوه و شراب انار رقم واندر فول (Andreu-Sevilla *et al.*, 2013) و ترکیبات شناسایی

Tasin (Robbins *et al.*, 2012)، کرم خوشه‌خوار انگور (Bengtsson *et al.*, 2005) و کرم سیب (*et al.*, 2005) انجام شده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، ترکیب‌های آلی فرار در هر سه رقم با وجود همانندی، ناهمگونی‌هایی از نظر کمی و کیفی با هم داشتند. این ناهمگونی‌ها می‌توانند یکی از دلایل حساسیت متفاوت رقم-های انار به کرم گلوگاه انار بوده و نوع و شمار دشمنان طبیعی موجود روی رقم‌های گوناگون را تحت تأثیر قرار دهند (Hosseini *et al.*, 2017; Hosseini *et al.*, 2021). هم-چنین پژوهش‌های بویایی‌سنجی نشان داد که بوی برآمده از شاخ و برگ و میوه درختان انار سبب جلب حشره‌های ماده کرم گلوگاه انار می‌شود. پژوهش و بررسی تأثیر ترکیب‌های آلی فرار درختان انار روی رفتار کرم گلوگاه انار می‌تواند در گسترش روش‌های مهار کرم گلوگاه انار بر اساس راهبرد رانش-ربایش (Push-Pull) کارآمد واقع شود (Cook *et al.*, 2007). به طور کلی، آشکار شدن نقش دقیق هر یک از این ترکیب‌ها (جلب‌کننده یا دورکننده) برای کرم گلوگاه انار یا دشمنان طبیعی آن در پژوهش‌های آتی می‌تواند در پیشبرد راهکارهایی مانند برپایی تله‌های شکار انبوه و ساخت ترکیب‌های دورکننده یا جلب‌کننده دشمنان طبیعی قابل استفاده در باغ‌های انار اهمیت زیادی داشته باشد.

گرفته است؛ زیرا هر گونه ایجاد آسیب و دگرگونی ظاهری در بافت‌های گیاهی باعث دگرگونی آنزیمی و شیمیایی در گیاه شده و در نتیجه، میزان و الگوی پراکندگی ترکیب‌های فرار تغییر خواهد کرد (Smart and Blight, 1997). همچنین، عوامل زنده و غیرزنده در شرایط طبیعی و برهمکنش‌های آن‌ها با گیاهان در نوع و نسبت ترکیب‌های فرار گیاهی تأثیرگذار هستند (Holzinger *et al.*, 2000). تنها در یک پژوهش انجام شده در این زمینه، پاسخ الکتروفیزیولوژیک حشره نر، ماده جفت‌گیری کرده و ماده باکره کرم گلوگاه انار به ترکیبات آلی فرار درختان انار مورد بررسی قرار گرفته و مشخص شده است که کرم گلوگاه انار به میوه و ترکیبات فرار استخراج شده از انار جذب می‌شود (Hosseini *et al.*, 2021). شب‌پره‌های نر، ماده جفت-گیری کرده و ماده باکره کرم گلوگاه در تونل باد رفتار مشابه را دارند و در تمام مراحل زندگی پاسخ مشابهی به قسمت‌های مختلف گیاه و ترکیبات استخراج شده از فضای فوقانی نشان می‌دهند و شب‌پره‌های ماده جفت‌گیری کرده بیشترین جذب به گیاه میزبان برای تخم‌ریزی را از خود نشان می‌دهند (Cossé *et al.*, 1994; Yan *et al.*, 1999; Landolt and Guédot, 2008).

البته پژوهش‌های گوناگونی در ارتباط با بویایی‌سنجی روی پسپیل آسیایی مرکبات (Patt and Sétamou, 2010)

References

- Al-Rubeai, H. F. 1987. Growth and development of *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under laboratory mass-rearing conditions. **Journal of Stored Products Research** 23: 133–135.
- Amos Fawole, O. and Linus Opara, U. 2014. Physico-mechanical, phytochemical, volatile compounds and free radical scavenging properties of eight pomegranate cultivars and classification by principal component and cluster analyses. **British Food Journal** 116(3): 544–567.
- Andreu-Sevilla, A. J., Mena, P., Martí, N., García Viguera, C. and Carbonell-Barrachina, Á. A. 2013. Volatile composition and descriptive sensory analysis of pomegranate juice and wine. **Food Research International** 54(1): 246–254.
- Baker, T. C., Francke, W., Millar, J. G., Löfstedt, C., Hansson, B., DU, J. W., Phelan, P. L., Vetter, R. S., Youngman, R. and Todd, J. L. 1991. Identification and bioassay of sex pheromone components of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller). **Journal of Chemical Ecology** 17: 1973–1988.
- Beaulieu, J. C., Lloyd, S. W., Preece, J. E., Moersfelder, J. W., Stein-Chisholm, R. E. and Obando-Ulloa, J. M. 2015. Physicochemical properties and aroma volatile profiles in a diverse collection of California-grown pomegranate (*Punica granatum* L.) germplasm. **Food Chemistry** 181: 354–364.
- Beck, J. J., Light, D. M. and Gee, W. S. 2014a. Electrophysiological responses of male and female *Amyelois transitella* antennae to pistachio and almond host plant volatiles. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 153: 217-230.

- Beck, J. J., Mahoney, N. E., Cook, D., Gee, W. S., Baig, N. and Higbee, B. S.** 2014b. Comparison of the volatile emission profiles of ground almond and pistachio mummies: Part 1 - Addressing a gap in knowledge of current attractants for navel orange worm. **Phytochemistry Letters** 9: 102-106.
- Beck, J. J., Mahoney, N. E., Higbee, B. S., Gee, W. S., Baig, N. and Griffith, C. M.** 2014c. Semiochemicals to monitor insect pests—future opportunities for an effective host plant volatile blend to attract navel orange-worm in pistachio orchards. **ACS Symposium Series** 1172: 191-210.
- Bengtsson, M., Bäckman, A. C., Liblikas, I., Ramirez, M. I., Borg-Karlson, A. K., Ansebo, L., Anderson, P., Löfqvist, J. and Witzgall, P.** 2001. Plant odor analysis of apple: Antennal response of codling moth females to apple volatiles during phenological development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49: 3736-3741.
- Calatayud, P. A., Ahuya, P. and Le Ru, B.** 2014. Importance of the experimental setup in research on attractiveness of odours in moths: an example with *Busseola fusca*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 152: 72–76.
- Casado, D.** 2007. *Cydia pomonella* (L) behavior and responses to host volatiles. **Journal of Theoretical Biology** 235: 199–206.
- Chung, T. Y., Eiserich, J. P. and Shibamoto, T.** 1993. Volatile compounds identified in headspace samples of peanut oil heated under temperatures ranging from 50 to 200°C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 41(9): 1467–1470.
- Cook, S. M., Khan, Z. R. and Pickett, J. A.** 2007. The use of push-pull strategies in integrated pest management. **Annual Review of Entomology** 52: 375-400.
- Cossé, A. A., Endris, J. J., Millar, J. G. and Baker, T. C.** 1994. Identification of volatile compounds from fungus-infected date fruit that stimulate upwind flight in female *Ectomyelois ceratoniae*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 72: 233-238.
- Cox, P. D.** 1976. The influence of photoperiod on the life-cycle of *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Products Research** 15: 111–115.
- De Lange, E. S., Salamanca, J., Polashock, J. and Rodriguez-Saona, C.** 2019. Genotypic variation and phenotypic plasticity in gene expression and emissions of herbivore-induced volatiles, and their Potential Tritrophic Implications, in Cranberries. **Journal of Chemical Ecology** 45(3): 298-312.
- Diaz-Montano, J. and Trumble, J. T.** 2013. Behavioral responses of the potato psyllid (Hemiptera: Trioziidae) to volatiles from dimethyl disulfide and plant essential oils. **Journal of Insect Behavior** 26(3): 336-351.
- Dicke, M. and Baldwin, I. T.** 2010. The evolutionary context for herbivore-induced plant volatiles: beyond the ‘cry for help’. **Trends in Plant Science** 15(3): 167-175.
- Dudareva, N., Klempien, A., Muhlemann, J. K. and Kaplan, I.** 2013. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. **New Phytologist** 198: 16-32.
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A. and Orlova, I.** 2006. Plant volatiles: recent advances and future perspectives. **Critical Reviews in Plant Sciences** 25: 417-440.
- Engelberth, J., Alborn, H. T., Schmelz, E. and Tumlinson, J. H.** 2004. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 101: 1781-1785.
- Fakharzadeh, A.** 2002. Rearing of pomegranate neckworm, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) on artificial diet and evaluation of some oviposition stimulants. M. Sc. dissertation, University of Tehran, 87 pp.
- Farazmand, H., Sirjani, M. and Tufa, K.** 2008. Study on the effect of crown covering of pomegranate flowers on control for reduction of the damage of pomegranate fruit moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Lep., Pyralidae) in Khorasan-Razavi province. Proceedings of the 18th Iranian Plant Protection Congress, University of Bu-Ali Sina, Hamadan, p. 318.
- Fürstenau, B., Adler, C., Schulz, H. and Hilker, M.** 2016. Host habitat volatiles enhance the olfactory response of the larval parasitoid *Holepyris sylvanidisto* specifically host-associated cues. **Chemical Senses** 41(7): 611-621.
- Gershenson, J.** 2000. Regulation of monoterpene accumulation in leaves of peppermint. **Plant Physiology** 122: 205-214.
- Gothilf, S.** 1984. Biology of *Spectrobates ceratonia* on almonds in Israel. **Phytoparasitica** 12: 77-87.
- Grisson-Pigé, L., Hossaert-McKey, M., Greeff, J. M. and Bessière, J. M.** 2002. Fig volatile compounds - A first comparative study. **Phytochemistry** 61: 61-71.

- Güler, Z., and Gül, E.** 2016. Volatile organic compounds in the aril juices and seeds from selected five pomegranates (*Punica granatum* L.) cultivars. **International Journal of Food Properties** 20(2): 281–293.
- Holzinger, R., Rottenberger, S., Crutzen, P. J. and Kesselmeier, J.** 2000. Emissions of volatile organic compounds from *Quercus ilex* L. measured by proton transfer reaction mass spectrometry under different environmental conditions. **Journal of Geophysical Research: Atmospheres** 105: 573-580.
- Hosseini, S.A., Goldansaz, S.H., Menken, S., Wijk, M., Roessingh, P. and Groot, A.** 2017. Field attraction of carob moth to host plants and conspecific females. **Journal of Economic Entomology** 110(5): 2076-2083.
- Hosseini, S. A., Goldansaz, S. H., Groot, A. T., Menken, S. B. J., Van Der Wielen, F., Wissel, C., Vercammen, J., De Rijke, E. and Roessingh, P.** 2021. Identification of bioactive plant volatiles for the carob moth by means of GC-EAD and GC-Orbitrap. **Applied Sciences** 11: 8603.
- Howse, P. E., Stevens, I. D. R. and Jones., O. T.** 1998. Insect pheromones and their use in pest management. Chapman and Hall, London, UK.
- Jung, J.-S.** 2014. Analysis of volatile compounds in the root peel, stem peel, and fruit peel of Pomegranate (*Punica granatum*) by TDGC/MS. **International Journal of Bio-Science and Bio-Technology** 6(3): 169–182.
- Kesselmeier, J. and Staudt, M.** 1999. Biogenic volatile organic compounds (VOC): an overview on emission, physiology and ecology. **Journal of Atmospheric Chemistry** 33: 23-88.
- Landolt, P. J. and Guédot, C.** 2008. Field attraction of codling moths (Lepidoptera: Tortricidae) to apple and pear fruit, and quantitation of kairomones from attractive fruit. **Annals of the Entomological Society of America** 101: 675-681.
- Loughrin, J. N., Hamilton-Kemp, T. R., Andersen, R. A. and Hildebrand, D. F.** 1990. Volatiles from flowers of *Nicotiana sylvestris*, *N. otophora* and *Malus domestica*: headspace components and day/night changes in their relative concentrations. **Phytochemistry** 29: 2473-2477.
- Mehrnejad, M.** 2002. Biology of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, new pest on pistachio in Rafsanjan. **Applied Entomology and Phytopathology** 60: 1-11.
- Misumi, J., Nagano, M. and Nomura, S.** 1982. An experimental study on the neurotoxicity of 2-Octanone and 2-Hexanoal, a metabolite of n-Hexane. **Sangyo Igaku** 24(5): 475–484.
- Molnár, B. P., Tóth, Z., Fejes-Tóth, A., Dekker, T. and Kárpáti, Z.** 2015. Electro-physiologically-active maize volatiles attract gravid female European Corn Borer, *Ostrinia nubilalis*. **Journal of Chemical Ecology** 41(11): 997–1005.
- Mozaffarian, F., Sarafrazi, A. and Ganbalani, G. N.** 2007. Host plant-associated population variation in the carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Iran: A geometric morphometric analysis suggests a nutritional basis. **Journal of Insect Science** 7: 1536–2442.
- Nay, J. E.** 2006. Biology, ecology, and management of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae), a pest of dates, *Phoenix dactylifera* L., in southern California. PhD. Dissertation. University of California, Riverside, USA.
- Ozawa, R., Shiojiri, K., Matsui, K. and Takabayashi, J.** 2013. Intermittent exposure to traces of green leaf volatiles triggers the production of (Z)-3-hexen-1-yl acetate and (Z)-3-hexen-1-ol in exposed plants. **Plant Signaling and Behavior** 8(11): e27013.
- Pare, P. W. and Tumlinson, J. H.** 1997. De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. **Plant Physiology** 114: 1161-1167.
- Patt, J. M. and Sétamou, M.** 2010. Responses of the Asian citrus psyllid to volatiles emitted by the flushing shoots of its rutaceous host plants. **Environmental Entomology** 39: 618-624.
- Pickett, J. A. and Khan, Z. R.** 2016. Plant volatile-mediated signaling and its application in agriculture: successes and challenges. **New Phytologist** 212: 856-870.
- Porat, R. and Ulrich, D.** 2012. Identification of aroma-active compounds in “wonderful” pomegranate fruit using solvent-assisted flavour evaporation and headspace solid-phase micro-extraction methods. **European Food Research and Technology** 235(2): 277–283.
- Robbins, P. S., Alessandro, R. T., Stelinski, L. L. and Lapointe, S. L.** 2012. Volatile profiles of young leaves of *Rutaceae* spp. varying in susceptibility to the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). **Florida Entomologist** 95: 774-776.
- Roitman, J. N., Merrill, G. B. and Beck, J. J.** 2011. Survey of ex situ fruit and leaf volatiles from

- several Pistacia cultivars grown in California. **Journal of the Science of Food and Agriculture** 91: 934-942.
- Röse, U. S. R., Manukian, A., Heath, R. R. and Tumlinson, J. H.** 1996. Volatile semiochemicals released from undamaged cotton leaves: a systemic response of living plants to caterpillar damage. **Plant Physiology** 111: 487-495.
- Scutareanu, P., Bruin, J., Posthumus, M. A. and Drukker, B.** 2003. Constitutive and herbivore-induced volatiles in pear, alder and hawthorn trees. **Chemoecology** 13(2): 63-74.
- Shin, B. R., Song, H. W., Lee, J. G., Yoon, H. J., Chung, M. S. and Kim, Y. S.** 2016. Comparison of the contents of benzo-(a)-pyrene, sesamol and sesamol, and volatiles in sesame oils according to origins of sesame seeds. **Applied Biological Chemistry** 59(1): 129-141.
- Shu, Y., Zhang, Z., Wang, Z., Ren, H. and Wang, H.** 2013. Research on characteristic aromatic compounds in Jujube Brandy. **Proceedings of the International Conference on Applied Biotechnology** 249: 499-506.
- Smart, L. E. and Blight, M. M.** 1997. Field discrimination of oilseed rape, *Brassica napus* volatiles by cabbage seed weevil, *Ceutorhynchus assimilis*. **Journal of Chemical Ecology** 23: 2555-2567.
- Soufbaf M., Salehi B., Babaei M., Kalantarian N., Zanganeh A. H., Babaei M., Fathollahi H., Ahari Mostafavi H., Mansourifard M. A., Hoseini Baghdad Abad S. A. H., Mirvakili S. J., Zare Bidoki R., Tollabi H. A. and Amiri Aqda S. A.** 2017. Using sterile insect technique against Carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lep.: Pyralidae), in Yazd province, Iran. **Journal of the Entomological Society of Iran** 37(1): 55-65
- Talebpour, Z., Najafi, S., Sonboli, A., Firozy, M. and Khosroshahi, M.** 2013. Comparison of Chemical Compositions of the *Tanacetum sonbolii* essential oils using head space sorptive extraction and hydrodistillation methods. **Journal of Medicinal Plants** 12(4): 150-159.
- Tasin, M., Anfora, G., Ioriatti, C., Carlin, S., De Cristofaro, A., Schmidt, S., Bengtsson, M., Versini, G. and Witzgall, P.** 2005. Antennal and behavioral responses of grapevine moth *Lobesia botrana* females to volatiles from grapevine. **Journal of Chemical Ecology** 31(1): 77-87.
- Tholl, D., Boland, W., Hansel, A., Loreto, F., Röse U. S. R. and Schnitzler J. P.** 2006. Practical approaches to plant volatile analysis. **The Plant Journal** 45: 540-560.
- Tripathi, J., Chatterjee, S., Gamre, S., Chattopadhyay, S., Variyar, P. S. and Sharma, A.** 2014. Analysis of free and bound aroma compounds of pomegranate (*Punica granatum* L.). **LWT - Food Science and Technology** 59(1): 461-466.
- Vetter, R. S., Tatevossian, S. and Baker, T. C.** 1997. Reproductive behavior of the female carob moth, (Lep.: Pyralidae). **Pan-Pacific Entomologist** 73(1): 28-35.
- Xu, J., Liu, B. and Liu, X.** 2011. Carotenoids synthesized in citrus callus of different genotypes. **Acta Physiologiae Plantarum** 33: 745-753.
- Yan, F., Bengtsson, M. and Witzgall, P.** 1999. Behavioral response of female codling moths, *Cydia pomonella*, to apple volatiles. **Journal of Chemical Ecology** 25: 1343-1351.
- Yousefi, M., Jalali Sendi, J. and Salehi, L.** 2004. Biology of the carob moth, *Specterobates ceratoniae* Zeller (Lep.: Pyralidae) in different temperature regiments under laboratory conditions. **Journal of Agricultural Science** 1: 29-38.
- Yuan, J., Gan, T., Liu, Y., Gao, H., Xu, W., Zhang, T. and Jiang, H.** 2017. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from the branches of *Jacaranda cuspidifolia* Mart. growing in Sichuan, China. **Natural Product Research** 32(12): 1451-1454.
- Zaka, S. M., Zeng, X. N., Holford, P. and Beattie, G. A. C.** 2010. Repellent effect of guava leaf volatiles on settlement of adults of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama, on citrus. **Insect Science** 17(1): 39-45.
- Zhang, Z. Q., Sun, X. L., Xin, Z. J., Luo, Z. X., Gao, Y., Bian, L. and Chen, Z. M.** 2013. Identification and field evaluation of non-host volatiles disturbing host location by the tea geometrid, *Ectropis obliqua*. **Journal of Chemical Ecology** 39: 1284-1296.



Research paper

Identification of volatile organic compounds of pomegranate varieties and their effects on attraction of the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lep.: Pyralidae)

H. Sahraeian¹, S. A. Safavi^{1*}, V. Hosseinaveh² and M. Ziaadini³

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran,
2. Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science and Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, 3. Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Science, Valiasr University, Rafsanjan, Iran

(Received: September 6, 2021- Accepted: December 1, 2021)

Abstract

Carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* is a key pest in pomegranate orchards in Iran. The use of volatile plant compounds as one of the effective factors in changing the behavior of insects can be an important step in combating pests and thus reduce the use of pesticides and the risk to humans and the environment. In this regard, volatile organic compounds from the foliage and fruits of pomegranate trees of Kadro, Rabbab and Shirin Shahvar varieties were collected and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Respectively, in foliage of mentioned pomegranate varieties, 17, 33 and 24, and in their fruit 42, 23 and 26 volatile organic compounds were identified. The most abundant constituents were 2,6-Dimethoxyphenol (51.01%) and 6- Aza-5,7,12,14 - tetrathiapentacene (36.92%) in Kadro foliage and fruit, respectively. They were in Bis (2-ethylhexyl) phthalate (46.37%) and 6-Aza-5,7,12,14-tetrathiapentacene (32.24%) respectively in Rabbab foliage and fruit. Besides, 9,17-Octadecadienal, (Z) (27.62%) and Benzoic acid-2,5-bis-(trimethylsiloxy)-trimethylsilyl ester (46.25%) were the major components respectively in foliage and fruit of Shirin Shahvar variety. Examination of the olfactory response of female insects of Carob moth in the wind tunnel showed that female insects were differently attracted to the odor of pomegranate foliage and fruits of Kadro, Rabbab and Shirin Shahvar cultivars by statistical analysis. These data may be useful in semiochemically-based management strategies in the pomegranate orchards such as mass trapping or deter of Carob moth or attraction of natural enemies.

Key words: Gas chromatography, Mass spectrometry, Olfactometry, Semiochemicals, Carob moth

*Corresponding author: a.safavi@urmia.ac.ir