تحقیقات آفات گیاهی
۱۳۹۸ -۹ (۲): ۶۳-۷۴

برهمکنش مخلوط حشره‌کش‌های هگزافلومورون و فلوبن‌دیامید روی لارو بید کلم *Plutella xylostella*

فرحناز افسری[۱]، عزیز شیخی گرجان[۲*]، سهراب ایمانی[۱] و یحیی استادی[۱]

۱ -گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، ۲- موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۶/۲۴)

چکیده

بید کلم نسبت به حشره‌کش‌ها مقاومت ذاتی بالایی دارد. یکی از راه‌کارهای کاهش سرعت رشد مقاومت به آفت‌کش‌ها، استفاده از مخلوط حشره‌کش‌ها با نحوه تاثیر متفاوت است. در این تحقیق حشره‌کش‌های هگزافلومورون و فلوبن‌دیامید به تنهایی و مخلوط با هم، روی لارو سن سوم بید کلم مورد آزمایش قرار گرفتند. در اختلاط نیز سه غلظت از هر حشره‌کش استفاده شد. مقدار LC_{50} برای لارو سن سوم، ۱/۴۸ و ۱۰/۲۷ میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب برای فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون محاسبه شد. زیست‌سنجی ترکیب دو حشره‌کش فوق روی لارو سن سوم نشان داد که اختلاط در غلظت‌های پایین دو حشره-کش اثر تشدیدکنندگی دارد، اما اختلاط در غلظت‌های بالای هر دوی آن‌ها دارای اثر برهمکنش از نوع تجمعی است. اضافه کردن غلظت‌های پایین حشره‌کش فلوبن‌دیامید به هگزافلومورون می‌تواند ضمن افزایش مرگ و میر لاروها، فاصله زمانی بین تیمار- مرگ و میر را کاهش داده و در نهایت درصد خسارت لاروها را بعد از سمپاشی کاهش دهد. بنابراین استفاده از مخلوط حشره‌کش‌ها در مدیریت بید کلم با توصیه کارشناس و در یک محدوده غلظت از آن‌ها امکان‌پذیر است.

واژه‌های کلیدی: زیست‌سنجی، تجمعی، مخلوط، تشدیدکنندگی

*نویسنده مسئول: asheikhi48@gmail.com

مقدمه

بید کلم یا شب‌پره پشت الماسی، *Plutella xylostella* (Linnaeus) یکی از مهم‌ترین آفات گیاهان خانواده چلیپائیان در ایران و جهان می‌باشد. این آفت در ایران در سال‌های اخیر حالت طغیانی داشته و خسارت شدیدی روی محصولات گیاهان خانواده کلم به خصوص کلم پیچ، شلغم و کلزا ایجاد می‌کند (Fahimi *et al.*, 2008). بید کلم دارای تنوع میزبانی زیادی بوده و از قدرت پراکنش و تولیدمثل بالا و خصوصیات ژنتیکی منحصر به‌فردی برخوردار است، به همین خاطر خیلی زود به انواع آفت‌کش‌ها مقاوم می‌شود (Shelton, 2004; Zhao *et al.*, 2006).

برای مدیریت بید کلم از انواع روش‌های زراعی بیولوژیک و شیمیایی استفاده می‌شودکه در این میان روش کنترل شیمیایی بیشتر رایج بوده و از انواع حشره‌کش‌های مختلف مانند ترکیبات آلی فسفره، کاربامات‌ها، ترکیبات کلره، پایرتروئید و ترکیبات تنظیم‌کننده رشد برای کنترل آن استفاده می‌کنند (Tabashnik *et al.*, 1990). در سال‌های اخیر گروه‌های جدید حشره‌کش‌ها مانند دیامیدها (تاکومی®)، پیریدالیل، حشره‌کش‌های گیاهی مانند اکسی‌ماترین روی بید کلم آزمایش و ثبت شده‌اند (Sheikhigarjan *et al.*, 2017)، اما گزارش‌هایی از وجود مقاومت بید کلم به گروه‌های جدید نشان می‌دهد که این آفت پتانسیل بالایی از مقاومت به آفت‌کش‌ها را دارد (Troczka *et al.*, 2017).

مقاومت به حشره‌کش‌ها از مشکلات مهم گیاه‌پزشکی بوده که در حال رشد و توسعه می‌باشد. در سال‌های اخیر به خاطر وضع قوانین سرسختانه زیست‌محیطی و انسانی در جهان، روند معرفی تعداد حشره‌کش‌های جدید در سال کاهش یافته است (Ware, 2000). بنابراین لازم است سرعت رشد مقاومت به آفت‌کش‌ها از طریق استفاده از راه‌کارهایی مانند کاربرد موزاییکی و متناوب گروه‌های مختلف حشره‌کش‌ها تعدیل شود (Ahmed, 2009). رشد مقاومت در محیط‌های بسته بیشتر از محیط های باز می‌باشد، زیرا در محیط بسته محدودیت مهاجرت وجود دارد. میزان مقاومت از یک گلخانه به گلخانه دیگر متفاوت است و به مقدار مصرف آفت‌کش‌ها (دز یا غلظت و دفعات سمپاشی) بستگی دارد (Scott *et al.*, 2006). به طور کلی، یک حشره‌کش جدید به مدت ۲- ۳ سال می‌تواند در مزرعه روی بید کلم موثر باشد (Jayadevi and Kumar 2011). اختلاط حشره‌کش‌ها با اثر تشدیدکنندگی می‌تواند مدت زمان کارایی هر یک از آفت‌کش‌ها را افزایش دهد (Willmott *et al.*, 2013).

اختلاط آفت‌کش‌ها یکی از ابزارهای مدیریت آفات می‌باشد (Hemingway and Ranson, 2000) که برای افزایش کارایی و تاخیر در رشد مقاومت به آفت‌کش‌ها مورد توجه است (Naun, 2007). زیرا شانس مقاومت به دو یا چند آفت‌کش در یک زمان به صورت مخلوط بسیار کمتر است (Curtis,1985). نکات ضعف اختلاط آفت‌کش‌ها، اختلال در کنترل بیولوژیک، ایجاد آفات ثانویه و مقاومت تقاطعی می‌باشد. آفت‌کش‌های مخلوط می‌توانند توسط کارخانجات سموم فرموله شده و به صورت تجاری در دسترس مصرف‌کنندگان قرار گیرند یا اینکه توسط خود کشاورز مخلوط شده و استفاده شوند. حشره‌کش‌ها با شیوه تاثیر متفاوت می‌توانند مکمل هم باشند، به عنوان مثال مخلوط پایرتروئید و فسفره‌آلی در افزایش حساسیت آفات مختلف مانند سفید بالک توتون (Denholm *et al.*,1998)، برگ‌خوار کارادرینا (Ahmand, 2009) و کرم میوه‌خوار (Ahmad, 2004) موثر است، اما کاهش سمیت مخلوط سموم فسفره‌آلی و پایرتروییدها در کرم میوه‌خوار (Martin *et al.*, 2003) و سفید بالک توتون (Ahmad, 2007) نیز گزارش شده است.

فلوبن‌دیامید، حشره‌کشی متعلق به یک گروه جدید از حشره‌کش‌ها با ساختار شیمیایی فتالیک‌اسیددیامید می‌باشد (Masaki *et al.*, 2006; Naun, 2006). این حشره‌کش فعال‌کننده گیرنده‌های ریانودین است که از طریق افزایش تراکم یون کلسیم انقباض ماهیچه‌ای به وجود آورده و سبب توقف تغذیه، فلج شدن و در نهایت مرگ می‌شود

(Hannig *et al.*, 2009). این حشره‌کش انتخابی بوده و تنها روی بال‌پولکداران موثر است (Wu *et al.*, 2013). همچنین سمیت کمی برای دشمنان طبیعی دارد (Larson, 2012) و با هیچکدام از حشره‌کش‌های رایج مقاومت تقاطعی ندارد (Tohnishi *et al.*, 2005; Sattelle *et al.*, 2008) که می‌تواند ابزار مناسبی برای مدیریت مقاومت به حشره‌کش‌ها باشد.

تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات IGRs مانند هگزافلومورون،گروهی از حشره‌کش‌ها هستند که روی مرحله نابالغ آفت موثر بوده و از مهارکننده‌های سنتز کتین در حشرات می‌باشند. این حشره‌کش از گروه بنزوئیل فنیل اوره‌ها بوده و سمیت کمی برای انسان، محیط زیست و دشمنان طبیعی دارند (Sheikhigarjan *et al.*, 2017). این حشره‌کش خاصیت تخم‌کشی داشته و می‌تواند روی لاروها از طریق گوارش و تماس اثر کند (Mohmodvand *et al.*, 2011).

حشره‌کش هگزافلومورون روی بید کلم اثر تدریجی داشته و در ایران کمتر مورد توجه کشاورزان قرار می‌گیرد. از طرف دیگر، حشره‌کش فلوبن‌دیامید به خاطر گران بودن از لحاظ اقتصادی مورد پذیرش کشاورزان نمی‌باشد. برای تعدیل این موضوع و افزایش بهره‌وری کنترل شیمیایی بید کلم، کاهش رشد مقاومت به حشره‌کش‌ها از روش اختلاط دو حشره‌کش یاد شده استفاده شد. هدف از این پژوهش، مطالعه حساسیت لارو بید کلم به حشره‌کش فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون به تنهایی و تعیین کارایی مخلوط دو حشره‌کش و اثر برهمکنش آن دو در کاربرد مخلوط می‌باشد.

مواد و روش

پرورش بید کلم

لاروها و شفیره‌های بید کلم از مزارع کلم واقع در جنوب تهران جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. برای تشکیل کلنی بید کلم و تولید تخم، از قفس پرورش به ابعاد ۴۰× ۴۰× ۶۰ سانتی‌متر استفاده و برای تهویه قفس یکی از دیوارهای جانبی آن سوراخ و با توری مسدود شد. برای تغذیه شب‌پره‌ها از پنبه آغشته به محلول آب قند ۱۰٪ استفاده شد. برای داشتن لاروهای هم‌سن، برگ‌های کلم به مدت ۲۴ ساعت داخل قفس قرار می‌گرفت تا شب‌پره‌ها روی برگ‌ها تخم‌ریزی کنند. برای جلوگیری از پلاسیدگی و کاهش رطوبت برگ‌ها انتهای دمبرگ‌ها به وسیله پنبه خیس و با نایلون پوشانده می‌شد.

حشره‌کش‌ها

حشره‌کش‌های مورد استفاده شامل هگزافلومورون (۱۰٪ EC فرموله شده، گل‌سم گرگان، ایران) و فلوبن-دیامید (تاکومی® WG20%، نیهون نویاکو، ژاپن) بود.

زیست‌سنجی لاروها

برای زیست‌سنجی از روش آغشته کردن برگ گل کلم در محلول حشره‌کش‌ها و از لارو سن سوم استفاده شد. برای این منظور ابتدا آزمایش مقدماتی انجام گرفت تا محدوده غلظت‌های ۷۵ و ۲۵ درصد مرگ و میر مشخص شود. سپس حداقل ۶ غلظت برای هر یک از حشره‌کش‌ها در آن محدوده تعیین شد. برای تهیه غلظت‌های زیست-سنجی از حشره‌کش تاکومی® WG20% و هگزافلومورون EC10% به ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۵– ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و ۱۰۰۰–۵ میلی‌گرم بر لیتر و برای شاهد نیز از آب مقطر حاوی توین ۸۰ با غلظت ۰/۰۱ درصد استفاده شد. دیسک‌های برگی به مدت ۳۰ ثانیه در محلول حشره‌کش خیس شده و بعد از خشک شدن برگ‌ها در شرایط آزمایشگاه در ظروف پتری ۹ سانتی‌متر قرار داده شد و تعداد ۱۰ عدد لارو سن ۳ یک روزه در هر ظرف پتری رهاسازی و برای تهویه هوا سوراخی به قطر یک سانتی‌متر روی درب پتری ایجاد شد. آزمایش سه بار در طول زمان در مدت ۶ ماه تکرار و در دمای ۲±۲۶ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱±۶۵ درصد و شرایط نوری: تاریکی ۱۶ : ۸ ساعت انجام شد. درصد مرگ و میر به صورت روزانه ثبت و برای فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون تا ۵ روز بعد از تیمار مرگ و میر ثبت شد. لاروهای تیمار شده که در برابر تحریکات قلم مو عکس العمل ضعیف نشان می‌دادند و به صورت بی‌حال بودند به عنوان اثر ضربه‌ای در نظر گرفته شدند و درصد اثر ضربه‌ای از نسبت تعداد لاروهای بی‌حال به کل لاروها محاسبه شد.

اختلاط

برای این منظور سه غلظت از هگزافلومورون شامل ۲/۵، ۸، ۲۵ میلی‌گرم ماده موثره بر لیتر (LC_5, LC_{10}, LC_{25}) با سه غلظت فلوبن‌دیامید ۱، ۰/۲، ۰/۰۵ میلی‌گرم ماده موثره بر لیتر (LC_{25}، LC_{10}، LC_{50}) مخلوط شدند و در این آزمایش ۹ غلظت به همراه شاهد بررسی شدند. مشابه روش زیست‌سنجی بیان شده، مرگ و میر لاروهای سن سوم تا ۵ روز بعد از تیمار ثبت شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تعیین LC_{50} حشره‌کش‌ها از برنامه پروبیت نرم‌افزار SAS استفاده و برای مطالعه اثر برهمکنش از معادله CTF (Co-Toxicity Factor) استفاده شد (Pandiyan *et al.*, 2019) (CTF=(Oc-Oe)/(Oe*100)). در این معادله Oc: درصد مرگ و میر مشاهده شده و Oe: درصد مرگ و میر مورد انتظار، جمع درصد مرگ و میر حشره‌کش‌ها به تنهایی در همان غلظت می‌باشد. اگر مقدارCTF محاسبه شده، مثبت و بزرگتر از ۲۰ باشد، برهمکنش از نوع تشدیدکننده و چنانچه CTF منفی و کوچکتر از ۲۰- باشد، از نوع آنتاگونیستی خواهد بود. اثر تجمعی، زمانی است که ۲۰-<CTF<۲۰ باشد.

نتایج

اندازه‌گیری غلظت کشندگی فلوبن‌دیامید روی لارو سن سوم ۴۸ و ۷۲ ساعت تماس با برگ‌های آغشته به فلوبن‌دیامید نشان داد که با افزایش مدت زمان تماس میزان سمیت افزایش پیدا می‌کند. به‌طوری‌که LC_{50} محاسبه شده فلوبن‌دیامید برای ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب ۲۷ و ۱/۴۸ میلی‌گرم بر لیتر می‌باشد. همچنین آماره مقادیر کای اسکور و درصد انطباق آنها برای ۷۲ ساعت قابل اطمینان‌تر از ۴۸ ساعت می‌باشد. مقایسه مقادیر LC_{50} محاسبه شده فلوبن‌دیامید روی لارو بیدکلم در ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تیمار نشان داد که مقدار LC_{50} ۷۲ ساعت، ۱۸ برابرکمتر از ۴۸ ساعت است (جدول ۱).

زیست‌سنجی حشره‌کش هگزافلومورون روی لارو سن سوم بید کلم نشان داد که این حشره‌کش در مقایسه با فلوبن‌دیامید اثر تاخیری داشته، به‌طوری‌که مقدار LC_{50} تخمین‌زده‌شده برای هگزافلومورون در ۹۶ و ۱۲۰ ساعت بعد از تیمار ۱۷/۹ و ۱۰/۲۷ میلی‌گرم بر لیتر و نسبت LC_{50} ۹۶ به ۱۲۰ ساعت ۱/۷ برابر بود. ثبت مرگ و میر در غلظت‌های مختلف نیز نشان داد که حشره‌کش هگزافلومورون تا ۲۴ ساعت بعد از سمپاشی حتی در بالاترین غلظت تلفاتی روی لاروهای بید کلم ایجاد نمی‌کند، در حالی‌که در ۱۲۰ ساعت مرگ و میر به ۸۰ درصد می‌رسد (جدول ۱).

بررسی روند مرگ و میر، اثر ضربه‌ای (بی‌حال) و درصد خوردگی برگ‌های تیمار شده با حشره‌کش فلوبن‌دیامید در روزهای بعد از تیمار نشان داد که این حشره کش در ۲۴ ساعت بعد از تیمار، در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم ماده موثره بر لیتر مرگ و میری ایجاد نمی‌کند، اما اثر ضربه‌ای دارد؛ به‌طوری‌که بیشتر لاروهای تیمار شده ۲۴ ساعت بعد از تغذیه از برگ‌های تیمار شده مسموم شدند و به صورت بی‌حال (عدم تحرک) بودند. بررسی لاروهای مسموم شده و بی‌حال طی گذشت زمان نشان داد که اغلب آن‌ها می‌میرند. در حشره‌کش هگزافلومورون با غلظت ۲۵ میلی‌گرم ماده موثره بر لیتر، درصد لاروهای بی‌حال (اثر ضربه‌ای) در ۲۴ ساعت ۱۰ درصد بود، اگرچه اثر ضربه‌ای طی ۵ روز ارزیابی به ۳۰-۴۰ درصد رسید (شکل ۱). بررسی درصد خوردگی برگ‌های کلم تیمار شده با هگزافلومورون توسط لاروها نشان داد که درصد خوردگی در این تیمار کمتر از شاهد است، اما میزان خوردگی در تیمار هگزافلومورون (۵۳/۵ درصد) بیشتر از فلوبن‌دیامید (۲۳/۵ درصد) بود (جدول ۳). در مخلوط دو حشره‌کش، بیشترین (۶۰) و کمترین (۱۰) درصد خوردگی به ترتیب در اختلاط فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون در غلظت پایین (۱/۲۵+۰/۰۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) و بالای (۱۲/۵+۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) آن دو حشره‌کش ثبت شد. اضافه‌کردن فلوبن‌دیامید در مقدار کم می‌تواند اثر ضربه‌ای را در اختلاط افزایش داده و درصد خسارت را در مخلوط هگزافلومورون کاهش دهد.

جدول ۱- آماره‌های زیست‌سنجی هگزافلوموروون و فلوبن‌دیامید روی لارو سن سوم *Plutella xylostella*

Table 1. Bioassay parameters of hexaflumuron and flubendiamide on the third instar larva of *Plutella xylostella*

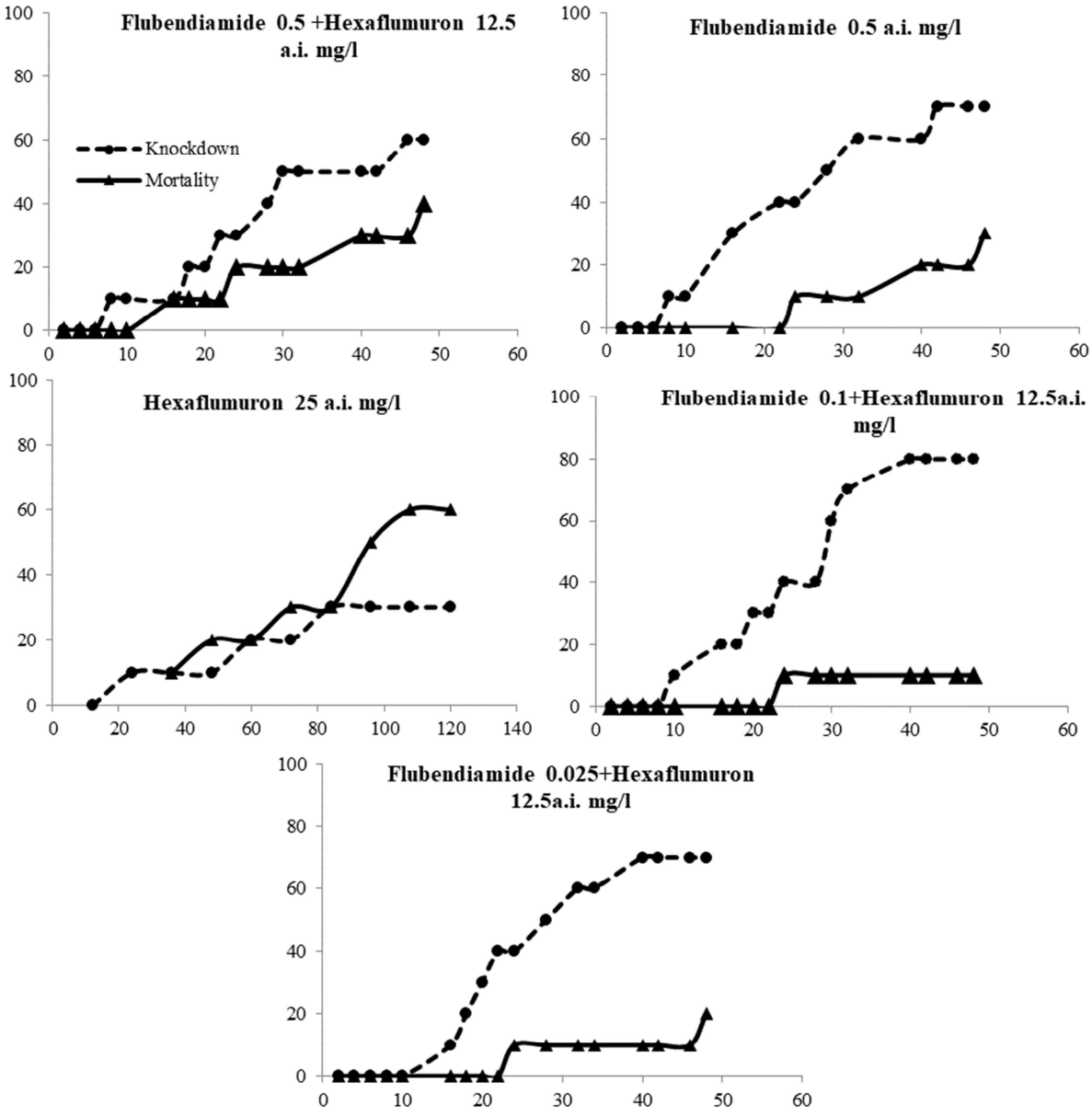
Insecticides	**Hexaflumuron**		**Flubendiamide**	
Time after treatment (hours)	+96	+120	+48	+72
df	13	16	4	3
Slope	1.8±0.4	1.5±0.28	0.71±0.14	1.2±0.4
LC_{75} (CL95%) mg/l	41.49 (27.2-94.3)	27.8 (18-56.4)	235.2 (81.2-2443)	5.05 (1.8-55.3)
LC_{50} (CL95%) mg/l	17.9 (11.6-27.4)	10.27 (18-56.4)	27 (14.4-76.61)	1.48 (0.0.29-4.5)
LC_{25}(CL95%) mg/l	7.8 (3.3-11.98)	3.79 (1.8-5.9)	3.1 (1.06-5.08)	0.43 (0.01-1.2)
X^2	4.57	5.16	3.9	1.77
P	0.98	0.99	0.4	0.62

جدول ۲- اختلاط دوگانه هگزافلوموروون و فلوبن‌دیامید در غلظت‌های مختلف و کارایی آن روی لارو سن سوم *Plutella xylostella* و اندازه‌گیری Co-Toxicity Factor (CTF) و تعیین نوع برهمکنش براساس مرگ‌ومیرهای مشاهده شده و مورد انتظار

Table 2. Binary combination of hexaflumuron and flubendiamide at different concentrations against the third instar larva of *Plutella xylostella* and estimating Co-Toxicity Factor (CTF) and type of combined action based on observed and expected mortalities

Insecticide concentration		**Mortality (%)**		**Co-Toxicity Factor(CTF)**	**Type of Combined Action**
Hexaflumuron mg a.i. /L	**Flubendiamide** mg a.i. /L	**Observed**	**expected**		
0.000	0.000	0.00	0.00	0.00	-
0.000	0.025	1.00	1.00	0.00	-
0.000	0.100	6.50	6.50	0.00	-
0.000	0.500	27.00	27.00	0.00	-
1.250	0.000	9.00	9.00	0.00	-
1.250	0.025	19.00	9.91	91.73	sy*
1.250	0.100	16.00	14.92	7.27	ad**
1.250	0.500	37.00	33.57	10.22	ad
4.000	0.000	19.50	19.50	0	-
4.000	0.025	29.50	20.31	45.28	sy
4.000	0.100	26.50	24.73	7.15	ad
4.000	0.500	47.50	41.24	15.19	ad
12.500	0.000	55.00	55.00	0.00	-
12.500	0.025	65.00	55.45	17.22	ad
12.500	0.100	62.00	67.28	-7.84	ad
12.500	0.500	83.00	72.26	14.86	ad

-: No interaction, *sy: synergistic, **ad: addition,



شکل ۱- درصد مرگ و میر و اثر ضربه‌ای غلظت‌های مختلف فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون به تنهایی و مخلوط روی لارو سن سوم *Plutella xylostella* در زمان‌های بعد از تیمار

Figure 1. Mean mortality and knock down effect of different concentrations of flubendiamide and hexaflumuron as alone and mixed on third instar larvae of *Plutella xylostella* during different time after treatment

جدول ۳- میانگین (±خطای معیار) درصد خوردگی برگ کلم تیمار شده با فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون به تنهایی و مخلوط آن‌ها توسط لارو سن سوم *Plutella xylostella*

Table 3. Mean (±SE) percentage of damaged cabbage leaf area treated with flubendiamide and hexaflumuron alone and their mixture by third instar larvae of *Plutella xylostella*

Concentration (mg a.i. /L)		**Flubendiamide**			
		0	**0.025**	**0.1**	**0.5**
Hexaflumuron	**0**	100	40.±4.58	33.2±9.06	23±2.78
	1.25	53.83±13.43	60±8.66	30.33±9.07	30±3
	4	40.33±7.37	40.33±9.07	26.53±5.66	20.33±1.53
	12.5	20.33±3.79	26.87±7.97	20±4.36	10.33±5.03

ترکیب حشره‌کش فلوبن‌دیامید با سه غلظت هگزافلومورون نشان می‌دهد که تنها پایین‌ترین غلظت فلوبن‌دیامید با هگزافومورون اثر تشدیدکنندگی (ضریب برهمکنش مثبت) دارد و این اثر تشدیدکنندگی از لحاظ آماری تنها در دو غلظت هگزافلومورون (۱/۲۵ و ۴ میلی گرم بر لیتر) معنی‌دار است. در بقیه تیمارهای اختلاط (غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۵ فلوبن‌دیامید میلی‌گرم بر لیتر با سه غلظت هگزافلومورن) اثر برهمکنش از نوع تجمعی است. بنابراین غلظت‌های کمتر از LC_{25} هر دو حشره‌کش، می‌توانند اثرات تشدیدکنندگی داشته باشند، اما اختلاط در غلظت‌های بالاتر از LC_{25} هر دو حشره‌کش ممکن است اثر تجمعی داشته باشند (جدول ۲).

بحث

نتایج حاصل نشان داد که اختلاط دو حشره‌کش فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون اثر آنتاگونیستی در غلظت‌های مورد مطالعه ندارد، اما اثر سینرژیستی یا تشدیدکنندگی را تنها در غلظت‌های پایین هردو حشره‌کش می‌توان مشاهده کرد. در بقیه موارد، اثر اختلاط از نوع تجمعی است. همچنین در تمام غلظت‌های مخلوط، هیچگونه علائم گیاه‌سوزی مشاهده نشد.

برای مطالعه اثر تشدیدکنندگی، تجمعی و آنتاگونیستی دو ترکیب به صورت اختلاط می‌توان از فرمول CI[1] (Willmott *et al.*, 2013) برای توصیف اثر برهمکنش داروها استفاده کرد. این فرمول در حشره‌شناسی نیز استفاده شده است (Martin *et al.*, 2003). در این تحقیق از فرمول CTF استفاده شد (Pandiyan *et al.*, 2019). در روش CTF نیاز به محاسبه LC_{50} نیست و می‌توان به آسانی اثر تشدیدکنندگی و آنتاگونیستی را محاسبه کرد. این روش در سال‌های اخیر توسط حشره‌شناسان بیشتر مورد استفاده قرار گرفته است، از طرف دیگر کار کردن با آن راحت‌تر و واقعی‌تر است، زیرا یکی از داده‌ها واقعی بوده که مربوط به درصد مرگ و میر ناشی از مخلوط می‌باشد و درصد مرگ و میر مورد انتظار، حاصل جمع درصد مرگ و میر هریک از حشره‌کش‌ها به تنهایی است. با توجه به اینکه دامنه شاخص در اثر تجمعی ۲۰>CTF>۲۰- است، اظهار نظر در مورد اثرات تشدیدکنندگی و کاهش‌دهنده دقیق‌تر است. برای تعیین اثر برهمکنش دو ترکیب حشره‌کش می‌توان به ضریب سمیت سون (CTC[2]) (Sun and Johnson 1960)، ضریب تشدیدکنندگی فینی (SC[3]) (Finney, 1971) و ضریب منصور[4] (Mansor *et al.* 1966) اشاره کرد. به استثنای ضریب منصور، بقیه روش‌ها به LC_{50} نیاز دارند.

در تحقیق حاضر مقدار LC_{50} محاسبه شده برای هگزافلومورن روی بید کلم نسبت به تحقیقات انجام شده (Mahmoudvand *et al.*, 2012) LC_{50} =1.48 بیشتر بود که می‌توان آن را ناشی از تفاوت در حساسیت جمعیت های لارو بید کلم دانست. در هگزافلومورن مرگ و میر لاروها ۵-۴ روز بعد از تیمار ظاهر می‌شود. اختلاط این

[1]. Combination Index

[2]. Sun's Co-Toxicity coefficient
[3]. Finney Synergistic Coefficient
[4]. Mansor 's CTF

ترکیب با حشره‌کش‌های دیگر می‌تواند اثر تاخیری مرگ و میر هگزافلومورن را کاهش دهد. این راه‌کار ضمن کاهش خسارت بید کلم، کارایی آن را افزایش می‌دهد. سایر پژوهشگران نیز بیان کرده‌اند که استفاده از چندین مولکول حشره‌کش در یک زمان سمپاشی، سرعت رشد مقاومت بید کلم را کاهش می‌دهد (Taillebois *et al.*, 2015) و موجب صرفه‌جویی در زمان، هزینه کارگری و افزایش کارایی کنترل می‌شود (Willmott *et al.*, 2013).

زیست‌سنجی فلوبن‌دیامید روی لارو سن سوم بید کلم در مطالعه حاضر نشان داد که مقدار LC_{50} ۲۷ و ۱/۴۸ میلی-گرم بر لیتر به ترتیب برای ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تیمار می باشد. مقدار LC_{50} فلوبن‌دیامید محاسبه شده به روش کاغذ صافی برای جمعیت حساس کرم ساقه‌خوار برنج ۰/۰۹میلی-گرم بر لیتر است، در حالی‌که دامنه LC_{50} در بین ۴۰ جمعیت، ۱/۹-۰/۰۳ میلی‌گرم بر لیتر بود (Wu *et al.*, 2014). مقدار LC_{50} فلوبن‌دیامید برای لارو سن سوم کارادرینا (۰/۵۹-۰/۱۱) ۰/۲۴ میلی‌گرم بر لیتر، در ۷۲ ساعت بعد از تماس با برگ‌های آغشته به حشره‌کش محاسبه شده بود (Sukonthabhirom and Siripontangmun, 2013). مقایسه مقادیر LC_{50} فلوبن-دیامید در پژوهش حاضر با سایر منابع بیان می‌کند که این اختلاف‌ها می تواند ناشی از تفاوت در روش زیست‌سنجی و متفاوت بودن جمعیت‌های مورد مطالعه باشد.

حشرات خیلی سریع با راه‌کارهای جدید مدیریت آفات سازگار می‌شوند. تحقیقات آزمایشگاهی در زمینه اختلاط آفت‌کش‌ها پتانسیل کارایی و اثر برهمکنش دو آفت‌کش را نشان می‌دهد (Taillebois and Thany, 2016). در زمینه اختلاط هگزافلومورن و فلوبن‌دیامید و بررسی اثر برهمکنش آن در زمینه بید کلم مستندی در جهان وجود نداشت به همین خاطر برای تعیین غلظت‌های مختلف هر یک از حشره‌کش‌ها از روش زیست‌سنجی به منظور تخمین LC_{50} استفاده شد. با توجه به اینکه مقدار مصرف حشره‌کش فلوبن‌دیامید کمتر بوده و از نظر اقتصادی نیز گران‌تراست، از غلظت‌های پایین این حشره‌کش با غلظت‌های بالای هگزافلومورن استفاده شد.

برای بهره‌برداری طولانی مدت از آفت‌کش‌های جدید، مدیریت مقاومت به سموم توصیه می‌کند که از کاربرد بیش از دو نوبت سمپاش در یک فصل زراعی و دزهای بالاتر از دز توصیه شده خودداری شود (Darriet and Chandre, 2013). نتایج حاضر نشان داد که کارایی غلظت‌های پایین حشره‌کش‌ها به تنهایی قابل توجه نیست، اما می‌توانند به صورت اختلاط اثر قابل توجهی داشته باشد. در بررسی‌های دیگر به اثرتشدیدکنندگی در دزهای پایین دو حشره‌کش تاکید شده است (Ahmad *et al.*, 2009; Willmott *et al.*, 2013). اثر سینرژیستی ترکیب دو حشره‌کش در غلظت پایین می‌تواند ناشی از تفاوت در شیوه تاثیر آن‌ها باشد (Taillebois *et al.*, 2015). مخلوط قارچ بیمارگر *Isaria fumosorosea* Wize با ایمیداکلوپرید و تیامتوکسام و استامی پرید اثر سینرژیستی دارند و همین اختلاط LT_{50} را کاهش می‌دهد و این کاهش زمان تاثیر روی بید کلم، بسیار مهم است، زیرا مرگ زودتر لارو سبب کاهش خسارت به محصول می‌شود (Zou *et al.*, 2014). همچنین ترکیب حشره‌کش فلوبن‌دیامید با هگزافلومورن نشان داد که اثر کاهنده در کنترل بید کلم ندارند و اثر بیشتر تیمارهای اختلاط، از نوع تجمعی بوده و تنها در غلظت‌های پایین فلوبن‌دیامید اثر سینرژیستی دیده می‌شود و این اثر زمانی شدیدتر است که هر دو حشره‌کش در غلظت پایین باهم ترکیب شوند. کاربرد کلرفنابیر در غلظت‌های‌پایین با سایپرمترین می‌تواند روی پشه *Culex pipens* L. موثر باشد. این اثر سینرژسیتی در غلظت‌های بالای کلرفناپیر در مخلوط از بین می‌رود (Yuan *et al.*, 2015).

امروزه حشره‌کش‌های جدید از گروه دیامید مانند فلوبن‌دیامید از جمله ترکیباتی هستند که می‌توانند با طیف وسیعی از دشمنان طبیعی مانند کنه‌های شکارگر تا میکروارگانیسم (باکتری‌ها و قارچ بیمارگر حشرات) سازگار باشند (Hungenberg *et al.*, 2010) و در مدیریت تلفیقی (IPM) بالپولکداران استفاده شوند. کاربرد ویروس بیمارگر حشرات NPV و فلوبن‌دیامید با همدیگر اثر برهمکنش از نوع تجمعی و تشدیدکننده داشته و سازگار با سایر حشره-کش‌ها از جمله مواد ارگانیک می‌باشد (Maqsood *et al.*,

2017) و این موضوع با نتایج پژوهش ما مطابقت داشت. کاربرد حشره‌کش‌های فلوبن‌دیامید با بنزوییل اوره‌ها روی شفیره و حشرات کامل زنبور پارازیتوید تخم *Telenomus podisi* (Ashmed) تاثیری ندارد (Stecca *et al.*, 2017).

به طور کلی بر اساس نتایج پژوهش حاضر و نتایج سایر تحقیقات در ایران (Mahmoudvand *et al.*, 2011; Mahmoudvand *et al.*, 2012) می‌توان نتیجه‌گیری کرد که لاروهای بید کلم مزارع اطراف تهران، حساسیت خود را به حشره‌کش‌های فلوبن‌دیامید و هگزافلومورون کاهش داده‌اند و ضروری است در نحوه استفاده از آن‌ها، برنامه ترویجی و آموزشی موثر در نظر گرفته شود. اگرچه بیشتر پژوهشگران در مدیریت مقاومت به حشره‌کش‌ها، اختلاط را یک راه‌کار اساسی نمی‌دانند، اما در کوتاه مدت اختلاط حشره‌کش‌هایی که مقاومت تقاطعی ندارند می‌تواند در برنامه مدیریت بید کلم موثر باشد و در بیشتر اوقات برای مدیریت مقاومت، توصیه می‌شودکه حشره‌کش‌های متنوع به صورت موزاییکی و یا متناوب به همراه سایر روش‌های غیرشیمیایی استفاده شود.

سپاسگزاری

نگارندگان این مقاله در اجرای این پروژه از همکاری صمیمانه بخش حفظ نباتات سازمان جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران و استان البرز به ویژه آقایان مهندس افسری و ابراهیمی و تمام همکاران آزمایشگاه تحقیقات گیاه‌پزشکی کرج، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

Ahmad, M. 2004. Potentiation/antagonism of deltamethrin and cypermethrins with organophosphate insecticides in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 80: 31–42.

Ahmad, M. 2007. Potentiation/antagonism of pyrethroids with organophosphate insecticides in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae**). Journal of Economic Entomology** 100: 886–893.

Ahmad, M. 2009. Observed potentiation between pyrethroid and organophosphorus insecticides for the management of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Crop Protection** 28: 264–268.

Curtis, C. 1985. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. **Bulletin of Entomological Research** 75: 259–266.

Darriet, F., and Chandre, F. 2013. Efficacy of six neonicotinoid insecticides alone and in combination with deltamethrin and piperonyl butoxide against pyrethroid-resistant *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). **Pest Management Science** 69: 905–910.

Denholm, I., Pickett, J. and Devonshire, A. 1998. Insecticide resistance: from mechanisms to management (a discussion meeting issue). Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B: **Biological Sciences 353**: 1673–1795.

Fahimi, A., Kharrazi-Pakdel, A. and Talaei-Hassanloui, R. 2008. Evaluation of effect of PxGV-Taiwanii on cabbage moth *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae) in laboratory conditions. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 11(13): 1768-1770.

Hannig, G. T., Ziegler, M. and Marc¸ P.G. 2009. Feeding cessation effects of chlorantraniliprole, a new anthranilic diamide insecticide, in comparison with several insecticides in distinct chemical classes and mode-of-action groups. **Pest Management Science** 65: 969–974.

Hemingway, J. and Ranson, H. 2000. Insecticide resistance in insect vectors of human disease**. Annual Review of Entomology** 45: 371–391.

Hungenberg, H., Schnorbach, H. J., Andersch, W. and Reckmann, U. 2010. Combinations of Flubendiamide and Beneficial Species. Bayer Cropscience AG, U.S. Patent Application 12/793,078.

Jayadevi, H.C. and Kumar, A. R. V. 2011. Why is a crude extract of neem superior to commercial neem formulations? A field test against *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in cabbage. Proceedings of the Sixth International Workshop on Management of the Diamondback Moth and other Crucifer Insect Pests (edited by Srinivasan, R., Shelton, A.M. and Collins, H.L.) April 1, AVRDC – The World Vegetable Center, Tainan, pp. 172–181.

Larson, J. L., Redmond, C. T. and Potter, D. A. 2012. Comparative impact of an anthranilic diamide and other insecticidal chemistries on beneficial invertebrates and ecosystem services in turfgrass. **Pest Management Science** 68: 740– 748.

Mahmoudvand, M., Sheikhigarjan, A. and Abbasipour, H. 2011. Ovicidal effect of some insecticides on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Yponomeutidae). **Chilean Journal of Agricultural Research** 71(2): 226-230.

Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Sheikhigarjan, A. and Bandani, A. R. 2012. Life expectancy (e_x) and stable age distribution (Cx) of *Plutella xylostella* (L.)(Lep.: Yponomeutidae), exposed to sublethal doses of hexaflumuron. **Archives of Phytopathology and Plant Protection** 45(3): 318-324.

Maqsood, S., Afzal, M., Aqueel, M. A., Raza, A. B. M., Wakil, W. and Babar, M. H. 2017. Efficacy of nuclear polyhedrosis virus and Flubendiamide alone and in combination against *Spodoptera litura* F. **Pakistan Journal of Zoology** 49(5): 1783-1788.

Martin, T., Ochou O. G., Vaissayre, M. and Fournier, D. 2003. Organophosphorus insecticides synergize pyrethroids in the resistant strain of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hu ¨bner) (Lepidoptera: Noctuidae) fromWest Africa. **Journal of Economic Entomology** 96: 468–474.

Masaki, T., Yasokawa, N., Tohnishi, M., Nishimatsu, T., Tsubata, K., Inoue, K., Motoba, K. and Hirooka, T. 2006. Flubendiamide, a novel Ca^{2+} channel modulator, reveals evidence for functional cooperation between Ca^{2+} pumps and Ca^{2+} release. **Molecular pharmacology** 69(5): 1733-1739.

Nasution, D.E.A. and Miranti, M. 2015. Biological test of formulation of subculture *Helicovepa armigera* Nuclear Polihedrosis Virus (Ha NPV) on mortality of *Spodoptera litura* larvae infested to cabbage (*Brassica oleracea* Var. capitata Linn.) Plantation. **KnE Life Sciences** *2*(1): 646-648.

Nauen, R. 2006. Insecticide mode of action: return of the ryanodine receptor. **Pest Management Science** 62: 690–692.

Pandiyan, G.N., Mathew, N. and Munusamy, S., 2019. Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 174: 549-556.

Scott, J. G., Alefantis, T. G., Kaufman, P. E. and Rutz, D. A. 2000. Insecticide resistance in house flies from caged- layer poultry facilities. **Pest Management Science** 56: 147–153.

Shaurub, E. H., Meguid, A. A. and Aziz, N. M. A., 2014. Effect of individual and combined treatment with Azadirachtin and *Spodoptera littoralis* multicapsid nucleopolyhedro virus (SpliMNPV, Baculoviridae) on the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). **Ecologia Balkanica** 6: 93-100.

Sheikhigarjan, A., Najafi, H., Abbasi, S., Saberfar, F., Rashid, M., and Moradi, M. 2017. The chemical and organic pesticide guide of Iran 2017. Rah Dan press, Tehran, Iran, p.694.

Stecca, C. S., Bueno, A. F., Pasini, A., Silva, D. M., Andrade, K. and Zirondi Filho, D. M. 2018. Impact of insecticides used in soybean crops to the egg parasitoid *Telenomus podisi* (Hymenoptera: Platygastridae). **Neotropical Entomology** 47(2): 281-291.

Sukonthabhirom, S and Siripontangmun S. 2013.Toxicity of insecticides on diamondback moth from three areas in Thailand. **High Value Vegetables in Southeast Asia: Production, Supply and Demand**: 97-99.

Tabashnik, B. E., Cushing, N. L., Finson, N. and Johnson, M. W. 1990. Field Development of Resistance to *Bacillus thuringiensis* in Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). **Journal of Economic Entomology** 83 (5): 1671-6.

Taillebois, E. and Thany, S. H. 2016. The differential effect of low-dose mixtures of four pesticides on the pea aphid *Acyrthosiphon pisum*. **Insects** 7: 1–7.

Taillebois, E., Alamiddine, Z., Brazier, C., Graton, J., Laurent, A. D., Thany, S. H. and Le Questel, J. Y. 2015. Molecular features and toxicological properties of four common pesticides, acetamiprid, deltamethrin, chlorpyriphos and fipronil. **Bioorganic and Medicinal Chemistry** 23: 1540–50.

Tohnishi, M., Nakao, H., Furuya, T., Seo, A., Kodama, H., Tsubata, K., Fujioka, S., Kodama, H., Hirooka, T. and Nishimatsu, T., 2005. Flubendiamide, a novel insecticide highly active against

lepidopterous insect pests**. Journal of Pesticide Science**, 30(4): 354-360.

Troczka, B. J., Williamson, M. S., Field, L. M. and Davies, T. E. 2017. Rapid selection for resistance to diamide insecticides in *Plutella xylostella* via specific amino acid polymorphisms in the ryanodine receptor. **Neurotoxicology** 60: 224-233.

Ware G. W. 2000. The Pesticide Book, 5th ed. Thomson Publications, Fresno, CA, USA.

Willmott, A. L., Cloyd, R. A. and Zhu, K. Y. 2013. Efficacy of pesticide mixtures against the western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) under laboratory and greenhouse conditions. **Journal of Economic Entomology** 106: 247–256.

Wu, S., Wang, F., Huang, J., Fang, Q., Shen, Z. and Ye, G. 2013. Molecular and cellular analyses of a ryanodine receptor from hemocytes of *Pieris rapae*. **Developmental and Comparative Immunology** 41(1): 1-10.

Yuan, J. Z., Li, Q. F., Huang, J. B. and Gao, J. F. 2015. Effect of chlorfenapyr on cypermethrin-resistant *Culex pipiens pallens* Coq mosquitoes. **Acta Tropica** 143:13-17.

Zhao, J. Z., Collins, H. L., Li, Y. X., Mau, R. F. L., Thompson, G. D., Hertlein, M., Andaloro, J. T., Boykin, R. and Shelton, A.M. 2006. Monitoring of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. **Journal of Economic Entomology** 99(1): 176-181.

Zou, C., Li, L., Dong, T., Zhang, B. and Hu, Q. 2014. Joint action of the entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* and four chemical insecticides against the whitefly *Bemisia tabaci*. **Biocontrol Science and Technology** 24(3): 315-324.

Plant Pest Research
2019- 9 (2): 63-74

Interaction of hexaflumuron and flubendiamide mixture against the larvae of diamondback moth *Plutella xylostella*

F. Afsari[1], A. Sheikhigarjan[2*], S. Imani[1] and Y. Ostadi[1]
1. Department of Plant Protection, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, 2. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

(Received: March 12, 2019- Accepted: September 15, 2019)

Abstract

Diamondback moth has a high potential for insecticide resistance. Usage of insecticides with different modes of action as a mixture is one of the strategies of insecticide resistance management. It can reduce the resistance development rate. In this study, hexaflumuron and flubendiamide were tested as alone and their mixture against the third instar larva of diamondback moth. Three concentrations of each insecticide were used in the mixture. The LC_{50}'s values of hexaflumuron and flubendiamide were calculated as 1.48 and 10.27 mg L^{-1} against the third larvae, respectively. Bioassay of both insecticide mixtures showed that the mixture at the low concentrations had a synergistic effect, whereas it was cumulative effect at the highest concentration mixture. Binary combination of flubendiamide at the lower concentration with hexaflumuron can increase larval mortality. It reduces latent effectiveness of hexaflumuron and causes to decrease crop loss after treatment. Therefore, the use of mixed insecticides in IPM of diamondback moth is possible only with expert advice in the limited concentrations of them.

Key words: Bioassay, cumulative, mixture, synergism

* Corresponding author: asheikhi48@gmail.com