تحقیقات آفات گیاهی
۱۳۹۹ -۱۰(۳): ۳۵-۴۸

علمی پژوهشی

کارآیی حشره‌کشی اختلاط ایمیداکلوپرید با برخی از کنه‌کش‌ها علیه شته جالیز *Aphis gossypii* (Hem.: Aphididae) در شرایط آزمایشگاهی

مطلب آذربو، محمد قدمیاری*، جلیل حاجی‌زاده و الهه شفیعی علویجه
گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۴/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۲۷)

چکیده

استفاده از مخلوط آفت‌کش‌ها، یکی از راه‌های مؤثر در کاهش هزینه‌های سم‌پاشی، کاهش مصرف آن‌ها و جلوگیری از توسعه مقاومت در جمعیت آفات است. این در حالی است که با توجه به مخاطرات احتمالی، قبل از هرگونه توصیه به اختلاط آفت‌کش‌ها، می‌بایست لزوم اختلاط و سازگاری‌های فیزیکی و شیمیایی آن مورد بررسی دقیق قرار گیرد. در این مطالعه با توجه به هم‌زمانی کنترل شته جالیز و کنه‌های آفت گیاهی، کارآیی حشره‌کشی ایمیداکلوپرید (SC, 35%) در اختلاط با هریک از کنه‌کش‌های فن‌پیروکسیمیت (SC, 5%)، اسپیرودیکلوفن (SC, 24%) و اتوکسازول (EC, 10%) روی پوره‌های سن سه شته‌ی جالیز مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین، سطح فعالیت آنزیم‌های سم‌زدای استراز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز در حشرات تیمار شده با ترکیب آفت‌کش‌ها اندازه‌گیری شد. آزمایش‌های زیست‌سنجی با استفاده از برج پاشش انجام گرفت. میزان LC_{50} حشره‌کش ایمیداکلوپرید به تنهایی و در ترکیب با هریک از کنه‌کش‌های فن‌پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن و اتوکسازول به‌ترتیب ۴۵/۴۱، ۸۴/۹۱، ۴۴/۶۵ و ۴۸/۹۴ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد. هم‌چنین، برآورد شاخص ترکیب (Combination Index) نشان‌دهنده اثر سینرژیستی هر کدام از کنه‌کش‌های اختلاط شده با ایمیداکلوپرید در کارآیی حشره‌کشی آن بود. بالاترین فعالیت سینرژیستی در غلظت‌های بالاتر از LC_{30} گزارش شد و با افزایش غلظت آفت‌کش‌ها در تیمارهای مخلوط، مقدار شاخص CI کاهش یافت. مقایسه فعالیت آنزیم‌های سم‌زدای مورد بررسی نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم‌ها در تیمارهای مخلوط ایمیداکلوپرید: فن-پیروکسیمیت و ایمیداکلوپرید: اسپیرودیکلوفن بالاتر از تیمارهای ایمیداکلوپرید به تنهایی و مخلوط ایمیداکلوپرید: اتوکسازول بود. کم‌ترین شاخص CI در غلظت LC_{50}، مربوط به مخلوط‌های ایمیداکلوپرید: اتوکسازول (۰/۵۲۹) و ایمیداکلوپرید: اسپیرودایکلوفن (۰/۵۴۵) بود که نشان از اثر سینرژیستی بیش‌تر داشت. نتایج این پژوهش نشان داد که کارآیی فرمولاسیون SC ایمیداکلوپرید در اختلاط با هر یک از کنه‌کش‌های مورد آزمایش برای کنترل شته جالیز افزایش یافته است. این در حالی است که مخلوط ایمیداکلوپرید: اتوکسازول بیش‌ترین افزایش کارآیی حشره‌کشی را نشان داده است.

واژه‌های کلیدی: اتوکسازول، فن‌پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن، شاخص ترکیب، آنزیم‌های سم‌زدا

* نویسنده مسؤل: mghadamyari@gmail.com

مقدمه

شته جالیز یا شته پنبه *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)، حشره‌ای چندخوار و یکی از مهم‌ترین شته‌های خسارت‌زا در مزرعه و گلخانه است که به دلیل پراکنش گسترده و دامنه میزبانی وسیع، دارای اهمیت اقتصادی زیادی است (Blackman and Eastop, 2000). این آفت علاوه بر خسارت مستقیم از طریق تغذیه از شیره گیاهی، که منجر به پژمردگی، کوتولگی و ریزش برگ‌ها می‌شود، به صورت غیر مستقیم نیز از طریق ترشح عسلک و انتقال ویروس‌های گیاهی خسارت قابل‌ملاحظه‌ای به گیاهان میزبان وارد می‌کند (Irshaid and Hasan, 2011). عواملی نظیر سم‌پاشی‌های بی‌رویه، پیدایش جمعیت‌های مقاوم (Kerns and Gaylor, 1992) و از بین رفتن دشمنان طبیعی، باعث افزایش جمعیت شته‌ی جالیز و تبدیل آن به یک آفت مهم شده است (Cisneros and Godfrey, 2001). در سراسر جهان، کنترل شیمیایی به دلیل تأثیر سریع و قاطع و ضریب اطمینان بالا، یکی از ابزارهای اصلی مورد کاربرد کشاورزان برای کاهش خسارت ناشی از آفات است (Shi *et al*., 2011). یکی از ترکیبات مؤثر برای کنترل آفات مکنده و به‌ویژه شته‌ها، آفت‌کش ایمیداکلوپرید[1] است.

ایمیداکلوپرید از حشره‌کش‌های گروه نئونیکوتینوئیدها است که به صورت تماسی و گوارشی روی حشرات مکنده تأثیر می‌گذارد و به دلیل دارا بودن خاصیت سیستمیک از راه ریشه، شاخه و برگ نیز جذب گیاه می‌شود. این حشره‌کش از پرمصرف‌ترین ترکیبات توصیه شده توسط سازمان حفظ نباتات برای کنترل برخی از آفات سبزی و جالیز است (Sheikhi-Garjan *et al*., 2009).

امروزه مخلوط آفت‌کش‌ها در مخزن سم‌پاش، یکی از راه‌کارهای کنترلی مورد استفاده به‌منظور افزایش کارآیی، کاهش هزینه، جلوگیری از توسعه‌ی مقاومت آفات به آفت‌کش‌ها و کاهش ورود آفت‌کش‌ها به محیط زیست است (Yuya *et al*., 2009). کاربرد مخلوط آفت‌کش‌ها در جهت کاهش مقاومت و افزایش کارآیی کنترل شته‌ی جالیز در اتیوپی توصیه شده است (Shonga *et al*., 2013). مخلوط ترکیبات پایریتروئیدی[2] و فسفره آلی روی کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* Hubner موجب اثر سینرژیستی و جلوگیری از توسعه مقاومت به حشره‌کش‌ها شده است (Martin *et al*., 2000). نتایج حاصل از بررسی مخلوط دوتایی حشره‌کش‌های بی‌فنترین[3] (پایریتروئیدی) و کلرپایریفوس‌متیل[4] (فسفره آلی) روی سویه حساس و مقاوم پشه آنوفل *Anopheles gambiae* Giles به بی‌فنترین، نشان داده است که در اختلاط دو ترکیب با دزهای بالا، اثر سینرژیستی روی هر دو سویه حساس ($0.3 < CI < 0.7$) و مقاوم به بی‌فنترین ($0.7 < CI < 0.9$) وجود دارد. این نتایج بیان می‌کند که مخلوط حشره‌کش‌ها ممکن است یک راه‌برد جایگزینی برای کنترل مقاومت، به‌ویژه در مناطقی که پشه‌ها مقاوم به پایریتروئیدها شده‌اند، باشد (Bonnet *et al*., 2004). تأثیر سمیت هم‌زمان پرمترین[5] و آمیتراز[6] روی کنه‌ی دامی، *Boophilus microplus* Canestrini به صورت هم‌افزایی گزارش شده است (Li *et al*., 2007). سازوکار مقاومت در سوسری آلمانی مقاوم به شش گروه از آفت‌کش‌ها، آنزیم‌های سم‌زدا استراز و مونواکسیژناز بود و کاربرد هم‌زمان آفت‌کش‌ها موجب اثر سینرژیستی و شکست کامل مقاومت به این آفت‌کش‌ها شده است (Chai and Lee, 2010).

بررسی متابولیسم آفت‌کش‌ها نقش مهمی در تأثیر انتخابی آفت‌کش‌ها برای آفات هدف دارد که به‌وسیله گروه متعددی از آنزیم‌ها شامل آنزیم‌های استرا ز[7]، مونواکسیژنازهای وابسته به سیتوکرو م[8] P450 و آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفرا ز[9] صورت می‌گیرد (Hemingway *et al*., 1995). هم‌چنین، در مخلوط آفت‌کش‌ها بسته به نوع برهم‌کنش، پاسخ‌های فیزیولوژیکی

[1]. Imidacloprid
[2]. Pyrethroid
[3]. Bifenthrin
[4]. Chlorpyrifos-methyi
[5]. Permethrin
[6]. Amitraz
[7]. Esterase
[8]. Cytochrome P450 monooxygenases
[9]. Glutathione S-Transferase (GSTs)

متفاوتی مشاهده می‌شود (Zhu *et al*., 2017). بنابراین شناسایی دقیق آنزیم‌های درگیر در سم‌زدایی حشره‌کش‌ها از اهمیت ویژه‌ای در توسعه گروه‌های جدید آفت‌کش‌ها برای استفاده در مدیریت مقاومت به حشره‌کش‌ها و انتخاب آفت‌کش‌های مناسب برخوردار است. در زنجرک قهوه‌ای، *Nilaparvata lugens* Stal مخلوط پایریتروئیدها و ترکیبات فسفره آلی فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا را کاهش داده است. از نظر تئوری، اثر سینرژیستی یکی از حشره‌کش‌ها در مخلوط، با مسیر سم‌زدایی متابولیکی حشره‌کش دیگر تداخل داشته و بدین صورت سمیت حشره‌کش دیگر را تشدید خواهد کرد. به‌طور کلی سموم فسفره توسط سامانه اکسیداسیون سمی‌تر می‌شوند، در حالی‌که ترکیبات پایریتروئیدی توسط این سامانه سم‌زدایی می‌شوند. هنگامی که مخلوط این ترکیبات با هم استفاده می‌شوند، بخشی از سامانه اکسیداسیون (که مسؤل سم‌زدایی پایریتروئیدها است)، درگیر اکسیداسیون ترکیب فسفره شده؛ بنابراین سمیت مخلوط افزایش می‌یابد (Yu and Ting, 2019).

کشاورزان برای کنترل چند آفت به‌طور همزمان از مخلوط آفت‌کش‌ها استفاده می‌کنند. امروزه شته جالیز و کنه تارتن دو لکه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch) از آفات مهم و مسئله‌ساز گیاهان زراعی، باغی، سبزی و جالیز و هم‌چنین گلخانه‌ای هستند. این آفات به‌طور همزمان باعث خسارت به محصولات کشاورزی می‌شوند. از آن‌جا که ایمیداکلوپرید خاصیت کنه‌کشی نداشته و از ترکیبات رایج و پرمصرف برای کنترل شته‌ها است و اتوکسازول[1]، اسپیرودیکلوفن[2] و فن‌پیروکسیمیت[3] دارای خاصیت کنه‌کشی به‌ویژه روی کنه دو لکه‌ای هستند (Noorbakhsh et al., 2016) و با توجه به هم‌پوشانی زمان کنترل شته و کنه‌های زیان‌آور محصولات کشاورزی، برخی از بهره‌برداران برای کاهش هزینه‌های سم‌پاشی اقدام به اختلاط ترکیبات حشره‌کش و کنه‌کش در مخزن سم‌پاش در جهت کنترل هم‌زمان شته‌ها و کنه‌ها می‌نمایند. مطالعه‌ی کارآیی حشره‌کشی دو آفت‌کش می‌تواند نتایج مفیدی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات درپی داشته باشد برای این منظور پژوهش حاضر، با هدف بررسی کارآیی اختلاط ایمیداکلوپرید با فن‌پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن و اتوکسازول در کنترل شته جالیز، برآورد شاخص ترکیب اختلاط‌های مورد آزمایش و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا در تیمارها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد

در این تحقیق از آفت‌کش‌های ایمیداکلوپرید با فرمولاسیون تجاری (Confidor®; SC, 35%)، فن‌پیروکسیمیت با فرمولاسیون تجاری (Ortus®; SC, 5%)، اسپیرودیکلوفن با فرمولاسیون تجاری (Envidor®; SC, 24%) و اتوکسازول با فرمولاسیون تجاری (Baroque®; EC, 10%) از محصولات شرکت آریا شیمی استفاده شد. آلفا- و بتا- نفتیل استات[4] از شرکت سیگما، گلوتاتیون احیا شده و CDNB[5] از شرکت مرک و نمک فست بلو آرآر[6] از شرکت فلوکا خریداری شد.

جمع‌آوری و پرورش کلنی شته جالیز

شته جالیز از مزارع اطراف دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان جمع‌آوری و پس از شناسایی، جهت انجام آزمایش‌ها به گلخانه حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه گیلان منتقل شد. به‌منظور پرورش و ایجاد کلنی شته جالیز از بوته‌های خیار (۵-۴ برگی) استفاده شد، به این ترتیب که بذر رقم نگین (Negin) داخل گلدان‌های پلاستیکی به قطر دهانه ۱۲ و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متری حاوی مخلوطی از خاک مزرعه، پیت‌ماس و کوکوپیت کاشته شد. به منظور جلوگیری از آلوده شدن جمعیت شته به سایر حشرات و به ویژه پارازیتوئیدها، کلنی داخل قفس‌های توری با ابعاد ۱×۱×۱ متر و در شرایط گلخانه‌ای (دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد) نگهداری شد.

[1]. Etoxazole
[2]. Spirodiclofen
[3]. Fenpyroximate
[4]. α-and β- Naphthyl acetate
[5]. 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)
[6]. Fast blue RR salt

هم‌سن‌سازی شته جالیز

برای هم‌سن کردن شته‌ها، تعدادی از حشرات کامل بکرزای بی‌بال روی گیاهان سالم انتقال داده و به آن‌ها اجازه داده شد که به مدت ۲۴ ساعت پوره‌زایی داشته باشند. پس از ۲۴ ساعت حشرات کامل حذف و به پوره‌ها امکان داده شد تا رشد و نمو خود را سپری کرده و به مرحله سنی مورد نظر برسند (Ebert and Cartwright, 1997).

آزمون‌های زیست‌سنجی

به منظور تعیین محدوده‌ی غلظت‌های مؤثر آفت‌کش ایمیداکلوپرید روی شته‌ی مورد مطالعه، ابتدا آزمون‌های مقدماتی[1] زیست‌سنجی در جهت تعیین غلظت‌های با حداکثر تلفات (حدود ۸۵ درصد) و حداقل تلفات (حدود ۲۰ درصد) طراحی و انجام شد. سپس، پنج غلظت از آفت‌کش ایمیداکلوپرید با استفاده از فاصله لگاریتمی، تعیین و در آزمون نهایی زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت. تیمارها با هر یک از غلظت‌ها در چهار تکرار انجام شد. قبل از تیمار ابتدا دیسک‌های برگی (به قطر ۴ سانتی‌متر) از برگ‌های خیار تهیه و برگ‌ها از سطح رویی در ظروف پتری حاوی پنبه مرطوب قرار داده شد. هر تشتک پتری حاوی برگ خیار با مقدار ۲ میلی‌لیتر از محلول رقیق شده آفت‌کش مورد نظر با فرمولاسیون سوسپانسون یا امولسیون با استفاده از دستگاه برج پاشش[2] تیمار شد (شاهد با آب مقطر تیمار شد). فشار دستگاه طوری تنظیم شد تا با پاشیدن ۲ میلی‌لیتر محلول، به ازای هر سانتی‌متر مربع یک میلی‌گرم محلول سمی به سطح تیمار شده برسد. تشتک‌های پتری بعد از تیمار به مدت نیم ساعت در دمای اتاق قرار داده و پس از خشک شدن قطرات محلول سمی، ۱۰ عدد پوره‌ی سن سوم هم‌سن روی هر دیسک (پشت برگ) منتقل شد. شته‌ها در انکوباتور با دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰±۱۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) نگهداری شدند. میزان تلفات ۷۲ ساعت بعد از تیمار ارزیابی شد. شته‌هایی که پس از تحریک با قلم‌مو قادر به حرکت به اندازه‌ی طول بدن خود نبودند، مرده در نظر گرفته شدند (Khajehali *et al*., 2010; Amini Jam *et al*., 2014).

هم‌چنین به‌منظور بررسی برهم‌کنش بین آفت‌کش‌ها، این ترکیبات به نسبت ۱:۱ با هم مخلوط شدند. سپس، میزان LC_{50} مخلوط آن‌ها روی شته‌ها بر اساس روش ذکر شده در بالا اندازه‌گیری شد.

آزمون‌های بیوشیمیایی

اثر LC_{50} ایمیداکلوپرید و مخلوط دو به دوی آن با کنه‌کش‌های اتوکسازول، اسپیرودیکلوفن و فن‌پیروکسیمیت روی آنزیم‌های سم‌زدای شته جالیز به شرح ذیل مورد بررسی قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آلفا- و بتا- استرازی

فعالیت استرازهای عمومی مطابق روش وان اسپرن[3] (۱۹۶۲) اندازه‌گیری شد. در این آزمون از زیرنهشت‌های آلفا- نفتیل استات و بتا- نفتیل استات برای اندازه‌گیری فعالیت استراز استفاده شد. برای تهیه نمونه آنزیمی، ۱۵ عدد پوره‌ی سن سوم هم‌سن در ۸۰ میکرولیتر بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH=7) حاوی ۰/۱ درصد ترایتون X-100[4] روی یخ هموژنایز شد. سپس، محلول هموژنایز شده در سانتریفیوژ با سرعت ۱۱۵۰۰ دور بر دقیقه (rpm) به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ و محلول رویی (سوپر ناتانت[5]) به عنوان نمونه آنزیمی استفاده شد. ۱۲/۵ میکرولیتر از محلول رونشین با ۱۱۲/۵ میکرولیتر بافر فسفات، ۲۵ میکرولیتر سوبسترا و ۵۰ میکرولیتر معرف رنگی فست بلو آر آر درون چاهک‌های پلیت الایزا ریخته شد. جذب محلول رنگی ایجاد شده هر دو دقیقه یک بار به وسیله دستگاه میکروپلیت ریدر (Awareness Stat Pax 3200®) در طول موج ۴۵۰ نانومتر برای زیرنهشت آلفا- نفتیل استات و ۵۴۰ نانومتر برای زیرنهشت بتا- نفتیل استات خوانده شد. منحنی استاندارد با استفاده از خوانش جذب غلظت‌های مختلف نفتول ترسیم

[1]. Bracketing
[2]. Potter Spray Tower
[3]. Van Asperen
[4]. Triton X-100
[5]. Supernatant

شد و فعالیت آنزیم به صورت نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (Van Asperen, 1962).

اندازه‌گیری میزان فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز، ۱۵ میکرولیتر محلول آنزیمی (۱۵ عدد پوره‌ی سن سوم هم‌سن در۸۰ میکرولیتر بافر فسفات (۰/۱ مولار، pH=7) هموژنایز و با سرعت ۱۱۵۰۰ دور بر دقیقه (rpm) به مدت ۱۵ دقیقه در چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد)، ۱۰۰ میکرولیتر CDNB (۱/۲ میلی‌مولار) و ۱۰۰ میکرولیتر گلوتاتیون احیاء شده[1](۱۰ میلی‌مولار) در پلیت الایزا ریخته شد. جذب نمونه در ۳۴۰ نانومتر به وسیله دستگاه میکروپلیت ریدر هر ۳۰ ثانیه یک بار خوانده شد (Habig *et al.*, 1974).

اندازه‌گیری غلظت پروتئین کل

به منظور تعیین غلظت پروتئین منبع آنزیمی از روش بردفورد[2](۱۹۷۶) استفاده شد. منحنی استاندارد پروتئین با استفاده از غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی ترسیم شد (Bradford, 1976).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

برای محاسبه LC_{50}، LC_{90} و نسبت سمیت حاصل از آزمون زیست‌سنجی از نرم افزار POLO-PLUS استفاده شد و مقایسه دو به دوی سمیت نسبی[3]با نرم افزار POLO-PC انجام شد. محاسبه شاخص CI با استفاده از نرم‌افزار Compusyn (Chou and Talalay, 1984) و داده‌های به دست آمده از آزمون‌های بیوشیمیایی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 (2002) تجزیه و تحلیل شدند. از آزمون توکی برای مقایسه میانگین داده‌ها در سطح احتمال آماری ۵٪ استفاده شد. نیکویی برازش خط غلظت-پاسخ با استفاده از نرم افزار SAS برآورد شد.

نتایج

زیست‌سنجی

نتایج حاصل از آزمون‌های زیست‌سنجی در جدول شماره ۱ آمده است. میزان LC_{50} حشره‌کش ایمیداکلوپرید روی پوره‌های سن سوم *A. gossypii* به تنهایی و در ترکیب با هریک از کنه‌کش‌های فن‌پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن و اتوکسازول با نسبت ۱:۱ به‌ترتیب ۴۵/۴۱، ۸۴/۹۱، ۴۴/۶۵ و ۴۸/۹۴ میلی‌گرم بر لیتر به‌دست آمد. هم‌چنین با برآورد CI (شاخص ترکیب) مشخص شد که در ترکیب ایمیداکلوپرید با هر یک از کنه‌کش‌های مذکور اثر سینرژیستی وجود دارد و بهترین اثر سینرژیستی برای مخلوط ایمیداکلوپرید و اتوکسازول در غلظت LC_{50} به‌دست آمد.

نسبت سمیت

نسبت‌های غلظت کشندگی ۵۰ درصد مخلوط دوتایی آفت‌کش‌های ایمیداکلوپرید، اتوکسازول، اسپیرودیکلوفن و فن‌پیروکسیمیت روی سن سوم پورگی شته جالیز با حدود اطمینان ۹۵٪ در جدول شماره ۲ آورد شده است. براساس نسبت سمیت، LC_{50} مخلوط ایمیداکلوپرید: فن‌پیروکسیمیت با LC_{50} مخلوط ایمیداکلوپرید: اتوکسازول از نظر آماری در سطح ۹۵٪ اختلاف معنی‌داری داشته و مخلوط ایمیداکلوپرید: اتوکسازول ۲/۷۳ برابر سمی‌تر از مخلوط ایمیداکلوپرید: فن‌پیروکسیمیت می‌باشد. LC_{50} مخلوط ایمیداکلوپرید: اتوکسازول با LC_{50} مخلوط ایمیداکلوپرید: اسپیرودایکلوفن اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵٪ ندارند.

[1]. Reduced glutathione
[2]. Bradford
[3]. Relative potency

جدول ۱- نتایج تجزیه پروبیت زیست‌سنجی ایمیداکلوپرید به تنهایی و در ترکیب با فن‌پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن و اتوکسازول با نسبت ۱:۱ روی پوره سن سوم شته جالیز *Aphis gossypii* پس از ۷۲ ساعت

Table 1. Results of probit analysis of imidacloprid bioassay alone and in combination with fenpyroximate, spirodiclofen and etoxazole with 1:1 ratio on third instar of melon aphid, *Aphis gossypii* after 72 h

Pesticides	Lethal concentration (95% CL[a]) (mg. L^{-1} or nanogram per cm^2)		Slope ± SE	X^2(df)	CI	P-Value[b]
	LC_{50}	LC_{90}				
Imidacloprid	45.41 (28.19-67.03)	434.14 (239.56-1295.45)	1.38 ± 0.22	0.55(3)*	-	0.9007
Imidacloprid: Fenpyroximate (1:1)	84.91 (36.90- 158.85)	547.95 (260.27-3826.31)	1.58 ± 0.21	7.93(4)*	0.807	0.0373
Imidacloprid: Spirodiclofen (1:1)	44.65 (31.93- 61.44)	352.93 (208.08-870.17)	1.42 ± 0.21	2.25(3)*	0.545	0.4916
Imidacloprid: Etoxazole (1:1)	48.94 (35.56- 66.21)	310.14 (193.99-674.51)	1.59 ± 0.23	1.58(3)*	0.529	0.5833

[a] Confidence limits

* The obtained value of χ^2 is lower than tubular χ^2, p=0.05

[b] Goodness-of-fit tests (Pearson chi-square)

جدول ۲- نسبت سمیت غلظت کشندگی ۵۰ درصد مخلوط دوتایی ترکیبات مورد آزمایش روی پوره سن سوم شته جالیز *Aphis gossypii*

Table 2. Relative potencies of 50% lethal concentration of the binary mixture of the tested compounds on third instar of melon aphid, *Aphis gossypii*

Pesticides	Relative potencies	95% Confidence limits (lower-upper)
(Imidacloprid: Fenpyroximate) / (Imidacloprid: Etoxazole)	2.73	(1.51-4.93)*
(Imidacloprid: Fenpyroximate) / (Imidacloprid: Spirodiclofen)	3.02	(1.69-5.38)*
(Imidacloprid: Fenpyroximate) / (Imidacloprid)	2.99	(1.56-5.73)*
(Imidacloprid: Etoxazole) / (Imidacloprid: Spirodiclofen)	1.10	(0.63-1.91)
(Imidacloprid: Etoxazole) / (Imidacloprid)	1.09	(0.58-2.04)
(Imidacloprid) / (Imidacloprid: Spirodiclofen)	1	(0.54-1.86)

*The differences between LC_{50} values were supposed to be statistically significant when the 95% confidence intervals of the ratios did not include the value of 1.

بررسی روابط برهم‌کنش مخلوط ایمیداکلوپرید با کنه‌کش‌های مورد آزمایش

به‌منظور تعیین نوع برهم‌کنش بین ترکیبات، شاخص (CI) مطابق روش چو وتلالی با استفاده از نرم‌افزار Compusyn محاسبه شد. مقادیر CI به‌دست آمده از مخلوط ایمیداکلوپرید با کنه‌کش‌های مورد آزمایش در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. شاخص CI مساوی یک (CI=1)، کوچک‌تر از یک (CI<1) و بزرگ‌تر از یک (CI >1) به ترتیب نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی، اثر سینرژیست و اثر آنتاگونیسم است. بر اساس شاخص CI اثر مخلوط ایمیداکلوپرید با کنه‌کش‌های مورد آزمایش روی پوره سن سوم شته جالیز از نوع سینرژیسم (حالت تشدید اثر)

است و بالاترین فعالیت سینرژیستی بین ایمیداکلوپرید با کنه‌کش‌های مورد آزمایش در غلظت‌های بالاتر از LC_{30} اتفاق افتاد. در غلظت‌های پایین یعنی LC_{10} و LC_{20} برهم‌کنش مخلوط ایمیداکلوپرید با فن‌پیروکسیمیت از نوع آنتاگونیستی و در غلظت‌های بالاتر از نوع سینرژیسم است. به‌طور کلی، در مخلوط ایمیداکلوپرید با کنه‌کش‌ها هرچه غلظت افزایش می‌یابد، شاخص CI کاهش پیدا می‌کند (جدول ۳).

جدول ۳- شاخص ترکیبی (CI) مخلوط ایمیداکلوپرید با کنه‌کش‌های مورد آزمایش (در نسبت ۱:۱) روی پوره سن سوم شته جالیز *Aphis gossypii*

Table 3. Combination index (CI) of the imidacloprid mixture with the tested acaricides (at 1:1 ratio) on third instar of melon aphid, *Aphis gossypii*

Effect levels[a]٪	Imidacloprid: Fenpyroximate (1:1)		Imidacloprid: Etoxazole (1:1)		Imidacloprid: Spirodiclofen (1:1)	
	Mixture concentration(mg/L or nanogram/cm²)	CI	Mixture concentration(mg/L or nanogram/cm²)	CI	Mixture concentration(mg/L or nanogram/cm²)	CI
10	7.29	1.18	5.28	0.77	4.71	0.69
20	15.47	1.02	11.07	0.67	10.27	0.63
30	25.51	0.93	18.12	0.61	17.24	0.59
40	38.44	0.86	27.13	0.56	26.35	0.56
50	55.99	0.80	39.30	0.52	38.89	0.54
60	81.54	0.75	56.92	0.49	57.40	0.52
70	122.84	0.69	85.22	0.46	87.74	0.50
80	202.51	0.63	139.44	0.42	147.21	0.48
85	279.73	0.59	191.67	0.40	205.68	0.47

[a] Indicate the percentage of mortality rate associated with different concentrations

نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی

فعالیت استرازی

فعالیت استرازی شته جالیز با استفاده از زیرنهشت‌های آلفا-نفتیل استات (α-NA) و بتا-نفتیل استات (β-NA) اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از سنجش استرازهای عمومی نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده زیرنهشت α-NA ($F = ۲۲۴/۷۳$، $df = ۳$، $P <۰,۰۰۰۱$) و β-NA ($F = ۵۰/۲۲$، $df = ۳$، $P <۰/۰۰۰۱$) بود. هم‌چنین اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در هر دو سوبسترا مشاهده شد و بالاترین فعالیت استرازی مربوط به مخلوط ایمیداکلوپرید و فن‌پیروکسیمیت بود که میزان فعالیت آلفا- و بتا-استرازی در این تیمار به‌ترتیب برابر ۱۴/۵۳ و۱۸/۲۰ (نانومول/دقیقه/میلی‌گرم پروتئین) برآورد شد (جدول ۴).

فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST)

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) با استفاده از زیرنهشت CDNB نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میزان فعالیت این آنزیم بین تیمارها بود ($F = ۲۵/۸۱$، $df = ۳$، $P <۰/۰۰۰۲$). در این بررسی بیش‌ترین فعالیت مربوط به تیمار مخلوط ایمیداکلوپرید و فن‌پیروکسیمیت بود که مقدار آن ۰/۲۳۸ (نانومول/دقیقه/میلی‌گرم پروتئین) محاسبه شد (جدول ۴)

جدول ۴- میانگین (± خطای معیار) فعالیت استرازی (سوبستراهای آلفا-نفتیل استات و بتا-نفتیل استات) و گلوتاتیون اس-ترانسفراز در شته جالیز *Aphis gossypii* تیمار شده با غلظت LC_{50} ایمیداکلوپرید و ترکیب آن با فن‌پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن و اتوکسازول پس از ۷۲ ساعت

Table 4. The mean ± SE of esterase activity (α-naphthyl acetate and β-naphthyl acetate substrates) and glutathione-s-transfer in melon aphid *Aphis gossypii* treated with LC_{50} concentration of imidacloprid and its combination with fenpyroximate, spirodiclofen and etoxazole after 72 h

Pesticides	**α-NA (nmol.min^{-1}mg protein^{-1}) ±SE**	**β-NA (nmol.min^{-1}mg protein^{-1}) ±SE**	**GST (CDNB) (nmol.min^{-1}mg protein^{-1}) ±SE**
Imidacloprid	5.36±0.13^{c}	7.66±0.29^{c}	0.049±0.004^{c}
Imidacloprid: Fenpyroximate	14.53±0.20^{a}	18.20±0.37^{a}	0.238±0.023^{a}
Imidacloprid: Spirodiclofen	8.46±0.56^{b}	11.20±0.36^{b}	0.083±0.016^{cb}
Imidacloprid: Etoxazole	4.26±0.06^{c}	6.73±0.18^{c}	0.142±0.014^{b}

Means with different letters in each column are significantly different at 5% level (tuekey's test)

بحث

برآورد CI (شاخص ترکیب) مشخص نمود که در ترکیب ایمیداکلوپرید با هر یک از کنه‌کش‌ها، بهترین اثر سینرژیستی برای مخلوط ایمیداکلوپرید:اتوکسازول و ایمیداکلوپرید:اسپیرودیکلوفن در غلظت LC_{50} به‌دست آمد. نتایج حاصل از مطالعه روابط برهم‌کنش حشره‌کش ایمیداکلوپرید با هر یک از کنه‌کش‌های رایج فن-پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن و اتوکسازول، حالت سینرژیسم را نشان داد و بالاترین فعالیت سینرژیستی بین ایمیداکلوپرید با کنه‌کش‌های مورد آزمایش در غلظت‌های بالاتر از LC_{30} اتفاق افتاد. در مورد اختلاط ایمیداکلوپرید با فن‌پیروکسیمیت این نکته حائز اهمیت است که در غلظت-های پایین، شاخص CI بیش‌تر از یک بوده، بنابراین در این غلظت‌ها، حالت آنتاگونیستی بین این ترکیبات وجود دارد. در تحقیقی مشابه، اثرات مخلوط چهار حشره‌کش استامی-پرید[1]، کلرپایریفوس[2]، دلتامترین و فیپرونیل[3] در غلظت LC_{10} روی پوره‌ی شته نخود فرنگی *Acyrthosiphon pisum* Harris نشان داد که برهم‌کنش بین این ترکیبات در تمام حالت‌ها، غیر از مخلوط سه‌تایی دلتامترین، کلرپایریفوس و فیپرونیل که از نوع آنتاگونیستی بود، اثر سینرژیستی داده است (Taillebois and Thany, 2016). هم‌چنین، برهم‌کنش آنتاگونیستی بین پرمترین و پروپوکسور[4] روی لارو پشه *Culex quinquefasciatus* Say مقاوم به پروپکسور در غلظت‌های LC_{10} گزارش شده است (Corbel *et al*., 2004). در تحقیق حاضر نیز، در غلظت LC_{10} مخلوط ایمیداکلوپرید با فن‌پیروکسیمیت، مقدار CI برابر ۱/۱۸ بود که نشان‌دهنده ناسازگاری شیمیایی این دو ترکیب در غلظت‌های پایین است. اما با این وجود در مورد همه مخلوط‌ها، برهم‌کنش در غلظت‌های بالا از نوع سینرژیستی بوده که باعث افزایش کارآیی کنترل می‌شود. نکته‌ای که در مورد اختلاط سموم مطرح است، مسئله به تأخیرانداختن و برگشت مقاومت است. کاربرد مخلوط آفت‌کش‌ها روی سویه‌های مقاوم مگس میوه *Bacterocera dorsalis* Hendel نشان داد که مخلوط آفت‌کش‌ها قادر به کاهش نسبت مقاومت به سموم است (Hsu *et al*., 2004).

برخی از پژوهش‌ها نشان‌دهنده اثر سینرژیستی مخلوط آفت‌کش‌ها در کنترل آفات است. به عنوان مثال مخلوط حشره‌کش اسپینوزاد[5] و کنه‌کش آبامکتین روی کنه‌ی تارتن دولکه‌ای منجر به مرگ و میر بیش‌تر جمعیت آفت نسبت به

[1]. Acetamiprid
[2]. Chlorpyriphos
[3]. Fipronil
[4]. Propoxur
[5]. Spinosad

کاربرد جداگانه هر دو آفت‌کش شده است (Ismail *et al.*, 2007). هم‌چنین، مخلوط ایمیداکلوپرید با آمیتراز اثر سینرژیستی در کنترل پشه *A. aegypti* داشته است (Ahmed and Matsumura, 2012). با بررسی تأثیر اختلاط دستراکسین[1] و سه حشره‌کش گیاهی آزادایراختین[2]، روتنون[3] و پائنولوم[4] روی شته‌ی جالیز، حالت سینرژیسم در بسیاری از نسبت‌های اختلاط مشاهده شده و بیش‌ترین اثر سینرژیستی در مخلوط دستراکسین و روتنون به نسبت ۱:۹ به‌دست آمده است (Yi *et al.*, 2012). نتایج حاصل از مطالعه روابط برهم‌کنش آمیتراز با ایمیداکلوپرید و مالاتیون[5] روی شته جالیز *A. gossypii* نشان داد که بالاترین نسبت سینرژیستی بین آمیتراز و ایمیداکلوپرید مربوط به کم‌ترین غلظت (LC_{10}) ایمیداکلوپرید بوده که مناسب برای کاهش هزینه کنترل است، در حالی که این نسبت برای مالاتیون در غلظت‌های بالاتر از LC_{30} اتفاق افتاده است (Shojaei *et al.*, 2018)، اما در پژوهش حاضر، مخلوط ایمیداکلوپرید با فن‌پیروکسیمت در غلظت‌های پایین (LC_{10} و LC_{20}) اثر آنتاگونیستی روی شته جالیز داشت. بر اساس نتایج حاصل از بررسی، اثر اختلاط ایمیداکلوپرید و پی‌متروزین[6] روی شته جالیز، سمیت هم‌زمان این دو ترکیب با نسبت اختلاط ۵:۵ بیش‌ترین خاصیت سینرژیستی را داشته و برای کنترل مؤثر شته‌ی جالیز توصیه شده است (Olfati Soomar, 2017).

آنزیم‌های متابولیک حشرات (اکسیژنازها، استرازها و گلوتاتیون اس-ترانسفراز) که در متابولیزه کردن مواد سمی نقش دارند، با نحوه‌ی تأثیر آفت‌کش‌ها و مقاومت حشرات مرتبط هستند (Sadek, 2003). در سنجش سطح فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا در این مطالعه مشخص شد که بیش‌ترین فعالیت استرازهای عمومی و گلوتاتیون اس-ترانسفراز در تیمار مخلوط ایمیداکلوپرید و فن‌پیروکسیمت وجود دارد. این تیمار بر اساس نتایج حاصل از آزمون‌های زیست‌سنجی و برآورد شاخص ترکیب (CI) فعالیت سینرژیستی کم‌تری را در مقایسه با دو تیمار مخلوط دیگر به خود اختصاص داده بود. این نتایج حاکی از آن است که افزایش فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا سبب کاهش میزان خاصیت سینرژیستی بین دو ترکیب شده است. به عبارتی حالت سینرژیسم با غیرفعال کردن آنزیم‌های مؤثر در سم‌زدایی یا به علت فعال شدن یکی از آفت‌کش‌های موجود در مخلوط حاصل می‌شود (Ahmad *et al.*, 2009). در مطالعه مشابه، اثر سینرژیستی آمیتراز در ترکیب با ایمیداکلوپرید و مالاتیون روی شته جالیز، به‌واسطه‌ی کاهش سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز اتفاق افتاده است (Shojaei *et al.*, 2018). آفت‌کش‌ها بسته به ساختار شیمیایی و چگونگی تأثیرشان باعث افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا می‌شوند. فعالیت استرازهای عمومی و گلوتاتیون اس-ترانسفراز در جمعیتی از کنه شکارگر *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot که تحت تأثیر اتوکسازول قرار گرفته به‌ترتیب ۲/۷۱ و ۳/۰۹ برابر افزایش یافت (Yorulmaz Salman *et al.*, 2014). در مطالعه حاضر مخلوط ایمیداکلوپرید و فن‌پیروکسیمت بیش‌ترین شاخص CI و کم‌ترین میزان سینرژیستی را نشان داد، در حالی که میزان بیان آنزیم‌های سم‌زدا در این حالت بالاتر از بقیه تیمارها بود. بنابراین، می‌توان نتیجه‌گیری نمود که افزایش فعالیت آنزیم‌ها در مخلوط ایمیداکلوپرید و فن‌پیروکسیمت منجر به کاهش اثر سینرژیستی در مقایسه با بقیه تیمارها شده است. افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در لاروهای *Spodoptera litura* Boisduval تیمار شده با ایندوکساکارب[7] نشان‌دهنده نقش مهم این آنزیم در مکانسیم سم‌زدایی حشره بوده است (Gamil *et al.*, 2011). نتایج حاصل از بررسی اثرات فوکسیم[8]، متومیل[9]، دیکلروس و مخلوط دوتایی این ترکیبات روی فعالیت آنزیم گلوتاتیون

1. Destruxins
2. Azadirachtin
3. Rotenone
4. Paeonolum
5. Malathion
6. Pymetrozine
7. Indoxacarb
8. Phoxim
9. Methomyl

اس-ترانسفراز (GST) در *Helicoverpa armigera* Hubner نشان داد که بیش‌ترین فعالیت GST در حشرات تیمار شده با فوکسیم مشاهده شده است (Wang *et al.*, 2011). بررسی روی کنه شکارگر *Amblyseius swirskii* تغذیه شده با کنه‌های تارتن دو لکه‌ای که ۷۲ ساعت از تیمار شدنشان با فن‌پیروکسیمیت، تیاکلوپرید[1] و مخلوط دوتایی آن‌ها می‌گذرد، نشان از افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون اس-ترانسفراز و استرازهای عمومی در کنه‌ی شکارگر تغذیه شده با کنه‌ی تارتن دولکه‌ای تحت تیمار با مخلوط دوتایی آفت‌کش‌ها داشته است (Ghasemzadeh, 2016). این نتایج بیان می‌کند حتی در صورت وجود سینرژیسم بین مخلوط دو آفت‌کش، میزان فعالیت آنزیم‌های متابولیکی در حالت مخلوط بیش از آفت‌کش‌ها به‌طور جداگانه است که پژوهش حاضر نیز این نتایج را تأیید می‌کند. در این مطالعه نشان داده شد که سمیت ایمیداکلوپرید در ترکیب با هر یک از کنه‌کش‌های فن‌پیروکسیمیت، اسپیرودیکلوفن و اتوکسازول روی شته جالیز افزایش یافته و حالت سینرژیستی در غلظت‌های بیش‌تر قابل مشاهده است.

حضور هم‌زمان کنه‌های آفت و شته‌ها در گلخانه و مزرعه، باعث می‌شود تا کشاورزان از حشره‌کش‌ها و کنه‌کش‌ها برای کنترل این آفات استفاده کنند. با توجه به اینکه حشره‌کش‌های گروه نئونیکوتینوئیدی به‌خصوص ایمیداکلوپرید به‌طور گسترده برای کنترل آفات مکنده نظیر شته جالیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (Seyedebrahimi *et al.*, 2016)، گزارش‌های متعددی از مقاومت این آفت به ایمیداکلوپرید از سراسر جهان ارائه شده است (Chen *et al.*, 2017). با وجود این، کشاورزان برای افزایش کارآیی کنترل آفات، کاهش مصرف آفت‌کش‌ها، کاهش هزینه‌های سم‌پاشی و هم‌چنین جلوگیری از توسعه مقاومت در جمعیت‌های آفت، از مخلوط حشره‌کش-کنه‌کش‌ها به عنوان یک راه‌کار مناسب برای کنترل هم‌زمان آفات استفاده می‌کنند (Yu, 2014). در این تحقیق، بیش‌ترین برهم‌کنش سینرژیستی در مخلوط ایمیداکلوپرید: اتوکسازول و ایمیداکلوپرید: اسپیرودایکلوفن مشاهده شد که به این ترتیب می‌توان ضمن کاهش میزان مصرف ایمیداکلوپرید در کنترل شته جالیز، کنه‌های آفت را نیز کنترل نمود. هم‌چنین با اندازه-گیری فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا مشخص شد که در مخلوط آفت‌کش‌ها، متناسب با افزایش یا کاهش میزان فعالیت آنزیم‌ها، اثر سینرژیستی نیز افزایش یا کاهش پیدا می‌کند و ممکن است اثر سینرژیستی بین دو ترکیب در نتیجه‌ی کاهش سطح فعالیت آنزیم‌های متابولیک ایجاد شده باشد. نتایج این تحقیق نشان‌دهنده اثر سینرژیستی اختلاط‌های مورد بررسی در غلظت‌ها و فرمولاسیون‌های مورد آزمایش ایمیداکلوپرید با اتوکسازول و ایمیداکلوپرید با اسپیرودیکلوفن است. این در حالی است که اثر سینرژیستی اختلاط ایمیداکلوپرید و فن‌پیروکسیمیت وابسته به غلظت است و بهترین اثر سینرژیستی نیز در اختلاط حاصل از ایمیداکلوپرید و اتوکسازول به‌دست آمد. فرمولاسیون‌های ترکیبات مورد استفاده در این تحقیق از لحاظ فیزیکی در غلظت‌های مورد آزمون سازگاری فیزیکی داشتند. پیشنهاد می‌شود قبل از اختلاط این ترکیبات با هم، سازگاری فیزیکی در غلظت‌های توصیه شده نیز مدنظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه گیلان به منظور فراهم کردن امکانات لازم برای انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Ahmad, M. A. I. and Matsumura, F. 2012. Synergistic actions of formamidine insecticides on the activity of pyrethroids and neonicotinoids against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology** 49: 1405-1410.

Ahmad, M., Saleem, M. A. and Sayyed, A. H. 2009. Efficacy of insecticide mixtures against pyrethroid- and organophosphate-resistant populations of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Pest Management Science** 65: 266-274.

[1]. Thiacloprid

Amini Jam, N., Kocheili, F., Mossadegh, M. S., Rasekh, A. and Saber, M. 2014. Lethal and sublethal effects of imidacloprid and pirimicarb on the melon aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) under laboratory conditions. **Journal of Crop Protection** 3(1): 89-98.

Blackman, R. L. and Eastop, V. F. 2000. Aphids on the world's crops: an identification and information guide (2nd ed.), Wiley, London, United Kingdom.

Bonnet, J., Corbel, V., Darriet, F., Chandre, F. and Hougard, J. M. 2004. Topical applications of pyrethroid and organophosphate mixtures revealed positive interactions against pyrethroid-resistant *Anopheles gambiae*. **Journal of the American Mosquito Control Association** 20(4): 438-443.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry** 72: 248-254

Chai, R. and Lee, C. 2010. Insecticide resistance profiles and synergism in field populations of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) from Singapore. **Journal of Economic Entomology** 103(2): 460-471.

Chen, X., F. Li, A. Chen, K. Ma, P. Liang, Y. Liu, D. Song and Gao, X. 2017. Both point mutations and low expression levels of the nicotinic acetylcholine receptor β1 subunit are associated with imidacloprid resistance in an *Aphis gossypii* (Glover). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 141: 1-8.

Chou, T. C. and Talaly, P. 1984. Quantitative analysis of dose-effect relationships: the combined effects of multiple drugs or enzyme inhibitors. **Advances in Enzyme Regulation** 22: 27-57.

Cisneros, J. J. and Godfrey, L. D. 2001. Midseason pest status of the cotton aphid (Homoptera: Aphididae) in California cotton: is nitrogen a key factor? **Environmental Entomology** 30: 501-510.

Cloyd, R. A., Galle, C. L. and Keith, S. R. 2007. Greenhouse pesticide mixtures for control of silver leaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) and twos potted spider mite (Acari: Tetranychidae). **Journal of Entomological Science** 42: 375-382.

Corbel, V., Raymond, M., Chandre, F., Darriet, F. and Hougard, J. M. 2004. Efficacy of insecticide mixtures against larvae of *Culex quinquefasciatus* (Say) (Diptera: Culicidae) resistant to pyrethroids and carbamates**. Pest Management Science** 60(4): 375-380.

Ebert, T.A. and Cartwright, B. 1997. Biology and ecology of *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). **Southwestern Entomologist** 22(1): 116-153.

Gamil, W. E., Mariy, F. M., Youssef, L. A. and Abdel Halim, S. M. 2011. Effect of indoxacarb on some biological and biochemical aspects of *Spodoptera litura* (Boisduval) larvae. **Annals of Agricultural Science** 56(2): 121-126.

Ghasemzadeh, S. 2016. Effects of fenpyroximate and thiacloprid on biological parameters and some biochemical characteristics of the predatory mite *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae) under laboratory conditions using applied non-linear programming. PhD. Thesis. The University of Urmia (In Persian).

Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. 1974. Glutathione S- transferase, the first step in mercapturic acid formation. **Journal of Biological Chemistry** 249: 7130-7139.

Hemingway, J. G., Small, J., Lindsay, S. and Collins, F. H. 1995. Combined use of biochemical, immunological and molecular assays for infection, and species identification and resistance detection in field populations of *Anopheles* (Diptera: Tephritidae). In Symondson, Lydell, W.O.C.E. (eds.). The Ecology of Agricultural Pests: Biochemical Approaches. Chapman and Hall, London.

Hsu, J., Feng, H. and Wu, W. 2004. Resistance and synergistic effects of insecticides in *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) in Taiwan. **Journal of Economic Entomology** 97(5): 1682-1688.

Irshaid, Y. B. and Hasan, H. S. 2011. Bioresidual effect of two insecticides on melon Aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) and its parasitoid *Aphidius colemani* Verick (Hymenoptera: Brachonidae). **Journal of Agricultural and Environmental Science** 11(2): 228-236.

Ismail, M. S., Soliman, M. F., El Naggar, M. H. and Ghallab, M. M. 2007. Acaricidal activity of spinosad and abamectin against two-spotted spider mites. **Experimental and Applied Acarology** 43(2): 129-135.

Kerns, D. L. and Gaylor, M. J. 1992. Insecticide resistance in field populations of the cotton aphid (Homoptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology** 85(1): 1-8.

Khajehali, J., Van Leeuwen, T., Grispou, M., Morou, E., Alout, H., Weill, M., Tirry, L., Vontas, J. and Tsagkarakou, A. 2010. Acetylcholinesterase point mutations in European strains of

Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae) resistant to organophosphates. **Pest Management Science** 66(2): 220-228.

Kim, Y. J., Lee, S. H., Lee, S. W. and Ahn, Y. J. 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms**. Pest Management Science** 60(10): 1001-1006.

Li, A. Y., Chen, A. C., Miller, R. J., Davey, R. B. and George, J. E. 2007. Acaricide resistance and synergism between permethrin and amitraz against susceptible and resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Pest Management Science** 63: 882-889.

Lin, H., Chuan-hua, X., Jin-jun, W., Ming, L., Wen-cai, L. and Zhi-mo, Z. 2009. Resistance selection and biochemical mechanism of resistance to two Acaricides in *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 93(1): 47-52.

Martin, T., Ochou, G. O., Hala-NKlo, F., Vassal, J. M. and Vaissayre, M. 2000. Pyrethroid resistance in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* Hubner, in West Africa**. Pest Management Science: formerly Pesticide Science** 56(6): 549-554.

Noorbakhsh, S., Sahraian, H., Soroosh, M. J., Rezaii, V. and Fotoohi, A. R. 2016. List of pests, diseases and weeds of major agricultural products and the recommended methods for their control. Iranian Plant Protection Organization [in Persian]. Ministry of Jihade-Agriculture.

Olfati–Soomar, R., Zamani, A. A. and Alizadeh, M. 2019. Joint action toxicity of imidacloprid and pymetrozine on the melon aphid, *Aphis gossypii*. **Journal of Crop Protection** 124: 104-850.

Sadek, M. M. 2003. Antifeedant and toxic activity of *Adhatoda vasica* leaf extract against *Spodoptera littoralis*. **Journal of Applied Entomology** 127: 396-404.

SAS 9.1.3. 2002. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Seyedebrahimi, S. S., Talebi Jahromi, K., Imani, S., Hosseini Naveh, V. and Hesami, S. 2016. Resistance to imidacloprid in different field populations of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in South of Iran. **Journal of Entomological and Acarological Research** 48: 6-10.

Sheikhi-Garjan, A., Najafi, H., Abbasi, S., Saber, F. and Rashid, M. 2009. The pesticide guide of iran. Capital Book Press.

Shi, X., Jiang, L., Wang, H., Qiao, K., Wang, D. and Wang, K. 2011. Toxicities and sublethal effects of seven neonicotinoid insecticides on survival, growth and reproduction of imidacloprid resistant cotton aphid, *Aphis gossypii*. **Pest Management Science** 67: 1528-1533.

Shojaei, A., Talebi Jahromi, K., Hosseininaveh, V. and Sabahi, G. 2018. Synergistic effects of amitraz on imidacloprid and malathion against cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Agricultural Science and Technology** 20(2): 299-308.

Shonga, E., Ali, K. and Azrefegne, F. 2013. Effect of Insecticide Rotation and Mixtures Use for Resistance Management on Cotton Aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in Middle Awash Areas of Ethiopia**. Greener Journal of Agricultural Science** 3: 569-578.

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(4): 53.

Van Asperen, K. 1962. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. **Journal of Insect Physiology** 8: 401-416.

Wang. L. H, Wu. S. H. and Gao. X. W. 2011. Inhibition of insecticide mixtures on Glutathion S-teransferase in *Helicoverpa armigera* (Hubner), *Musca domestica* (L.) and Tropoderma variabile (Ballion**). International Journal of Integrative Biology** 12(1): 6-10.

Ye, S.D., Dun, Y. H and Feng, M. G. 2005. Time and concentration dependent interactions of *Beauveria bassiana* with sublethal rates of imidacloprid against the aphid pests *Macrosiphoniella sanborni* and *Myzus persicae*. **Annals of Applied Biology** 146(4): 459-468.

Yi, F., Zou, C., Hu, Q. and Hu, M. 2012. The joint action of destruxins and botanical insecticides (Rotenone, Azadirachtin and Paeonolum) against the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. **Molecular Ecology** 17: 7533-7542.

Yu, S. J. 2014. The toxicology and biochemistry of insecticides. CRC press. P297.

Yu, Y. Y. and Ting, L. C. 2019. Synergistic effect and field control efficacy of the binary mixture of permethrin and chlorpyrifos to brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). **Journal of Asia-Pacific Entomology** 22: 67-76.

Yorulmaz Salman, S., Aydinli, F. and Ay, R. 2014. Etoxazole resistance in predatory mite *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae): Cross-resistance, inheritance and biochemical resistance mechanisms. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 122: 96-102.

Yuya, A. I., Tadesse, A., Azerefegne, F. and Tefera, T. 2009. Efficacy of combining Niger seed oil with malathion 5% dust formulation on maize against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research** 45(1): 67-70.

Zhu, Y. C., Yao, J., Adamczyk, J. and Luttrell, R. 2017. Synergistic toxicity and physiological impact of imidacloprid alone and binary mixtures with seven representative pesticides on honey bee (*Apis mellifera*). **Journal of PloS One** 12(5): p. e0176837.

Plant Pest Research
2020- 10(3): 35-48

Research paper

Efficacy of imidacloprid mixture with some acaricides in control of melon aphid, *Aphis gossypii* (Hem.: Aphididae) under laboratory conditions

M. Azarbou, M. Ghadamyari*, J. Hajizadeh and E. Shafiei Alavijeh
Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

(Received: July 9, 2020- Accepted: October 18, 2020)

Abstract

The use of pesticide mixtures is one of the effective ways to reduce spraying costs, reduce their consumption and prevent resistance development in the pest's population. However, due to the potential hazards, before any recommendation to mix pesticides, the need for mixing and its physical and chemical compatibility should be carefully considered. In this study, due to the synchronicity of aphid control with acari pests, the insecticidal performance of mixtures of imidacloprid (SC 35%) with fenpyroximate (SC 5%), spirodiclofen (SC 24%) and etoxazole (EC 10%) were investigated on third instar nymphs of melon aphid, *A. gossypii*. Furthermore, the activity levels of detoxifying enzymes esterase and glutathione S-transferase was measured in treated insects with these compounds. Bioassay tests were performed with a Potter spray tower method. LC_{50} value of the imidacloprid alone and in combination with each of the acaricides of fenpyroximate, spirodiclofen and etoxazole were 45.41, 84.91, 44.65 and 48.94 mg/l, respectively. In addition, by estimating the Combination Index (CI), a synergistic effect was observed in the mixture of imidacloprid with each of the acaricides and the highest synergistic activity occurred at concentrations higher than LC_{30}. In mixed treatments, the CI index decreased with increasing concentration. The results of detoxifying enzyme activities showed that the activity levels in mixture of imidacloprid: fenpyroximate and imidacloprid: spirodiclofen were higher than that of imidaloprid alone and mixture of imidacloprid: etoxazol. In this study, the lowest CI index at LC_{50} concentration, were for binary mixture of imidacloprid: etoxazol (0.529) and imidacloprid: spirodiclofen (0.545) that exhibited high synergistic effect. The results of this study showed that the effectivness of imidacloprid (SC) was increased for control melon aphid, when mixed with the tested acaricides. However, the mixture of imidacloprid: etoxazole showed the highest insecticidal performance.

Key words: Etoxazol, Fenpyroximate, Spirodiclofen, Combination index, Detoxifying enzymes

* Corresponding author: mghadamyari@gmail.com