تحقیقات آفات گیاهی
۱۴۰۰ -۱۱(۱): ۱۵-۲۹

علمی پژوهشی

پایش حساسیت جمعیت‌های مختلف پسیل پسته *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Psyllidae) در برابر ایمیداکلوپرید و کلرپایریفوس در باغ‌های پسته

لیلا کمالی دماوندی[۱]، محبوبه شریفی[۲*]، نرگس معماری زاده[۳] و محمد قدمیاری[۴]

۱- موسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر، سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، ایران، ۲- بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران، ۳- بخش تحقیقات آفت-کش‌ها، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، ۴- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۱)

چکیده

استفاده مکرر و گسترده از آفت‌کش‌های گوناگون به منظور کنترل پسیل معمولی پسته (*Agonoscena pistaciae*)، به عنوان مهم‌ترین آفت درختان پسته، احتمال بروز کاهش حساسیت به آفت‌کش‌ها را در این آفت فراهم کرده است. در این پژوهش، با انجام زیست‌سنجی به روش غوطه‌وری دیسک برگی و براساس دز افتراقی، حساسیت ۱۳ جمعیت پسیل پسته جمع‌آوری شده از باغ‌های پسته بردسکن، خلیل‌آباد و فیض‌آباد نسبت به حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و کلرپایریفوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون زیست‌سنجی نشان داد که میزان LC_{50} حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و کلرپایریفوس روی جمعیت حساس به ترتیب برابر با ۲۶۱/۲ و ۸۳/۰۳ میلی گرم در لیتر است. نتایج آزمون‌های زیست‌سنجی جمعیت‌ها تحت تاثیر دز افتراقی (یعنی LC_{90} جمعیت حساس) نشان داد که همه جمعیت‌های مختلف پسیل پسته مورد آزمایش، نسبت به کلرپایریفوس حساس هستند؛ ولی نتایج زیست-سنجی ایمیداکلوپرید حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در میزان حساسیت جمعیت‌های مختلف به این آفت‌کش نسبت به جمعیت حساس است. بیش‌ترین درصد تلفات با کاربرد دز افتراقی، مربوط به جمعیت کندر حساس و کم‌ترین آن مربوط به جمعیت‌های جلال‌آباد، ظاهرآباد و کندر مقاوم بود. در آزمون‌های بیوشیمیایی، اندازه‌گیری فعالیت استرازی بیانگر آن است که یکی از سازوکارهای کاهش حساسیت پسیل پسته به ایمیداکلوپرید افزایش فعالیت استرازی است؛ به‌طوری که فعالیت این آنزیم در جمعیت حساس ۲/۵ برابر کم‌تر از جمعیت های با حساسیت پایین‌تر بود. هم‌چنین بررسی الگوی باندی این آنزیم در تحلیل زایموگرامی نشان دادکه تمام جمعیت‌ها دارای دو ایزوفرم آنزیمی هستند که در جمعیت‌های مختلف با جمعیت حساس از لحاظ کیفی متفاوت می‌باشد. علاوه بر این، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌اس-ترانسفراز نشان داد که این سامانه آنزیمی نیز در کاهش حساسیت پسیل پسته به ایمیداکلوپرید درگیر است.

واژه‌های کلیدی: *Agonoscena pistaciae*، دز افتراقی، ایمیداکلوپرید، کلرپایریفوس، آنزیم‌های سم‌زدا

*نویسنده مسئول: Mahboobehsharifi67@yahoo.com

مقدمه

پسته با نام علمی *Pistacia vera* L.، یکی از مهم‌ترین و ارزآورترین محصولات باغی کشور محسوب می‌شود (Basirat *et al*., 2009). سطح زیرکشت پسته در ایران حدود ۴۸۰ هزار هکتار است که از این مقدار حدود ۹۲ هزار هکتار آن در استان خراسان رضوی واقع شده است. استان خراسان رضوی از نظر سطح زیر کشت و همچنین میزان تولید پسته پس از استان کرمان در مقام دوم قرار دارد (Ahmadi *et al*., 2018).

پسیل معمولی پسته، *Agonoscena pistacia* Burckhardt and Lauterer، مهم‌ترین آفت کلیدی درختان پسته در ایران است (Mehrnejad, 2010). این آفت متعلق به راسته Hemiptera، بالاخانواده Psylloidae و خانواده Psyllidae است (Burckhardt and lauterer, 1993). پسیل پسته با تغذیه از شیره گیاهی و دفع ماده چسبناکی به صورت عسلک سبب ضعف درختان پسته، ریزش برگ‌ها، جوانه‌ها، میوه‌های کوچک و افزایش درصد پوکی و دهان بستگی میوه می‌شود (Saour, 2005). برای کنترل خسارت این آفت گاهی درختان پسته را تا ۶ مرتبه در سال سم‌پاشی می‌کنند. این عمل سبب افزایش میزان مصرف آفت‌کش‌ها و آلودگی محیط زیست می‌شود (Lababidi, 2002). توانایی تولید مثل بالا، طول دوره رشدی کوتاه و تعداد نسل زیاد پسیل و از طرفی سمپاشی‌های بیش از اندازه در طول یک فصل جهت کنترل آن، پتانسیل از دست دادن حساسیت این آفت به آفت‌کش‌ها افزایش می‌دهد (Berrada *et al*., 1995). یکی از جدی‌ترین مشکلات در مدیریت کشاورزی و بهداشت عمومی، کاهش حساسیت و پیرو آن بروز پدیده مقاومت به آفت‌کش است که با طولانی شدن سابقه مصرف یک آفت‌کش علیه یک آفت به‌وجود می‌آید. مقاومت نتیجه غیرقابل اجتناب کاربرد مکرر هر گروه جدید از حشره‌کش‌ها است و به‌عنوان توانایی یک جمعیت از حشرات برای زنده‌ماندن در برابر دزی از آفت‌کش محسوب می‌شود که برای بیشتر جمعیت‌های طبیعی همان گونه کشنده است. مشخص نمودن سازوکارهای بیوشیمیایی زیربنایی، می‌تواند نقش مهمی در غلبه بر مشکلات ناشی از کاهش حساسیت به حشره‌کش‌ها ایفا نماید و علاوه بر کمک در انتخاب منطقی مخلوط حشره‌کش‌ها و تناوب آن‌ها، فرصتی برای گسترش آزمون‌های سریع و کارآ برای پایش تغییرات در پاسخ به کاربرد حشره‌کش‌های بعدی فراهم کند (Scott, 1995). کلرپایریفوس از گروه آفت‌کش‌های فسفره آلی است که برای کنترل پسیل پسته استفاده می‌شود. تاکنون پژوهشی به منظور تعیین حساسیت این آفت به این آفت‌کش در ایران و دنیا انجام نشده است. یکی دیگر از حشره‌کش‌هایی که برای کنترل پسیل پسته به‌کار می‌رود، ایمیداکلوپرید است که مقاومت برخی حشرات به این حشره-کش نئونیکوتینوئیدی گزارش شده است (Olson *et al*., 2000). بررسی‌های انجام شده روی پایش مزرعه‌ای مقاومت شب‌پره *Spodoptera exigua* Hübner به فن والریت، پرمترین و متومتیل نشان داد که بیشترین احتمال بروز مقاومت مربوط به حشره‌کش پرمترین می‌باشد (Brewer and Trumbele, 1989). همچنین، پژوهش‌های دیگری روی *Spodoptera litura* Fabricius انجام شده که نتایج پایش مقاومت جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مزارع چغندر در پاکستان به انواع مختلف حشره‌کش‌ها نشان می‌دهد که احتمال بروز مقاومت به آبامکتین، سایپرمترین، کلروپیریفوس و پروفنفوس بسیار زیاد می‌باشد (Saleem *et al*., 2015). پایش گسترش مقاومت به حشره‌کش‌های مختلف در پسیل آسیایی مرکبات *Diaphorina citri* Kuwayana نشان داد که احتمالاً این آفت به حشره‌کش-های مالاتیون، سایپرمترین و فنپیروکسیمیت مقاوم شده است (Kanga *et al*., 2015). بررسی حساسیت پسیل پسته به ایمیداکلوپرید اولین بار توسط علیزاده و همکاران (Alizadeh *et al*., 2011) در استان کرمان انجام شد. به دلیل استفاده مکرر این دو آفت‌کش در باغ‌های پسته مناطق کاشمر، این احتمال وجود دارد که جمعیت‌هایی از پسیل پسته به این دو آفت‌کش غیرحساس شده باشد. یکی از راه‌کارهای مورد استفاده در مدیریت مقاومت به آفت‌کش‌ها، پایش حساسیت جمعیت ها است. نتایج حاصل از پایش حساسیت،

می‌تواند به انتخاب ترکیبات مؤثر در کنترل آفت کمک نموده و گسترش مقاومت را به تأخیر اندازد. از این رو در این تحقیق آزمون‌های زیست‌سنجی روی جمعیت جمع‌آوری شده پسیل پسته از منطقه بدون هیچ‌گونه سابقه سم‌پاشی، به عنوان جمعیت حساس، انجام و LC_{50} و LC_{90} محاسبه شد. سپس، پاسخ جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف کاشمر به LC_{90} محاسبه شده، به عنوان دز افتراقی، مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین در این تحقیق در راستای بررسی سازوکار کاهش حساسیت متابولیکی احتمالی، ویژگی‌های دو نوع از مهم‌ترین آنزیم‌های سم‌زدای درگیر، شامل آنزیم استراز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز، در جمعیت‌های مختلف ارزیابی و با جمعیت حساس مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

مواد

آفت‌کش‌های ایمیداکلوپراید و کلرپایریفوس مورد استفاده در آزمون زیست‌سنجی به نرتیب به صورت سوسپانسیون ۳۵٪ و امولسیون ۴۰/۸٪ از شرکت‌های مشکفام و رازی شیمی فراهم شده است. گلوتاتیون احیا شده (GSH)، CDNB[1] ، ترایتون[2] X-100، آلفا- نفتیل استات[3] (α –NA) و بتا- نفتیل استات[4] (ß-NA)، آمونیوم پرسولفات[5]، سوکروز[6]، برموفنل بلو[7]، تریس[8]، اکریل آمید[9]، بیس اکریل آمید[10]، تمد[11]، اسید استیک[12]، گلایسین[13]، سدیم دودسیل سولفات (SDS)[14]، استون، بی‌کربنات سدیم و سرم آلبومین گاوی (BSA)[15] از شرکت مرک[16] (آلمان) و نمک فاست بلو آر آر[17] از شرکت فلوکا[18] (آمریکا) تهیه شد.

جمع‌آوری جمعیت‌های حساس و غیرحساس پسیل پسته

به‌منظور انجام این تحقیق، جمعیت حساس از باغی آلوده به پسیل واقع در شهر کندر (۳۵/۲۰۵۱۸۳-۵۸/۱۶۴۴۶۷) انتخاب شد که هیچ گونه سابقه سم‌پاشی نداشته است. جمعیت‌های مشکوک به عدم حساسیت و یا با حساسیت کم‌تر نیز از مناطق جلال‌آباد (۳۵/۱۱۴۲۰۱-۵۷/۹۱۹۰۴۰)، رکن‌آباد (۳۵/۱۴۷۳۵۳-۵۸/۰۵۴۷۰۲)، ظاهرآباد (۳۵/۵۸-۱۵۳۰۲۵/۰۰۲۰۶۹)، عظیم‌آباد (۵۸/۰۷۰۴۹۱-۳۵/۱۴۹۰۹۸)، قوژدآباد (۳۵/۱۳۸۶۲۴-۵۸/۰۳۳۶۸۶)، شهرآباد (۳۵/۱۵۲۴۲۸-۵۷/۹۳۸۴۲۷)، کندر (۵۸/۱۴۱۲۵۹-۳۵/۲۲۵۱۳۲)، تکمار (۳۵/۲۰۴۹۹۳-۵۸/۱۹۶۸۰۱)، جعفرآباد (۳۵/۰۰۸۲۳۷-۵۸/۰۸۴۱۲۰)، دوغ‌آباد (۳۵/۵۸-۱۱۷۹۸۶/۱۱۴۲۰۱)، دهنو (۵۸/۳۱۰۰۸۶-۳۵/۲۴۷۲۹۴) و میرملک (۳۵/۱۸۲۸۷۴-۵۸/۳۲۵۳۱۷) واقع در شهرستان‌های بردسکن، خلیل‌آباد و فیض‌آباد جمع‌آوری شدند.

آزمون زیست سنجی

آزمون زیست‌سنجی به روش غوطه‌وری دیسک برگی در محلول سمی صورت گرفت (Morin *et al.*, 2002). در این تحقیق، ابتدا جمعیت حساس(S) مورد زیست‌سنجی قرار گرفت، در این آزمون ۵ غلظت از هرآفت‌کش تهیه شد (رقیق‌سازی آفت‌کش‌ها به وسیله آب مقطر انجام شد) و غلظتی از این آفت‌کش‌ها که می‌توانست ۹۰٪ تلفات در جمعیت (S) ایجاد نماید، به عنوان دز افتراقی روی جمعیت-های غیرحساس نیز مورد آزمایش قرار گرفت (Rahim *et al.*, 2016). نهال‌های پسته رقم فندوقی که رقم غالب شهرستان بردسکن و خلیل‌آباد است، خریداری شده و در

[1]. 1-chloro-2,4-dinitrobenzene
[2]. Triton X-100
[3]. α-Naphtyl Acetate
[4]. ß-Naphtyl Acetate
[5]. Amonium Persulphate
[6]. Sucrose
[7]. Bromophenolblue
[8]. Tris
[9]. Acrylamide
[10]. N,Ń- methylene-bisacrylamide (Bis-acrylamide)
[11]. Tetramethylethylenediamine
[12]. Acetic Acide
[13]. Glycine
[14]. Sodium Dodecyl Sulphate
[15]. Bovine serum albumin
[16]. Merck
[17]. Fast blue RR salt
[18]. Fluka

گلدان (۳۵ ×۷ سانتی‌متر) و در شرایط مناسب گلخانه‌های پلاستیکی پرورش داده شدند. پسیل پسته از باغ‌های آلوده از مناطق یاد شده جمع‌آوری شد و روی گلدان‌های پسته در گلخانه منتقل شد. گلدان‌های آلوده در قفس‌های چوبی (۸۰×۶۰×۵۰ سانتی‌متر) در شرایط آزمایشگاهی نگهداری شد تا از حشرات هم‌سن شده برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شود (Alizadeh *et al*., 2013). برای هر غلظت ۵ تکرار در نظر گرفته شد که در هر تکرار ۱۲ عدد پوره سن ۵ پسیل به صورت کاملاً تصادفی مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام آزمایش، ابتدا برگ‌های سالم را به اندازه ظروف آزمایش (ظروف پتری cm ۵) برش داده شدند. غلظت‌های مختلف حشره‌کش‌ها نیز آماده شدند. هر دیسک برگی به مدت ۱۰ ثانیه و به طور کامل در محلول سمی غوطه‌ور شده و برای تیمار شاهد، برگ‌ها در آب مقطر فرو برده شدند. درصد کارایی حشره‌کشی (براساس میزان کاهش جمعیت نسبت به قبل از محلول‌پاشی) طبق فرمول زیر محاسبه شد (Keita *et al*., 2000):

(1-(NEt/NEc))*100

NEt عبارت است از تعداد پوره پس از تیمار و NEc عبارت است از تعداد پوره قبل از سمپاشی.

ارزیابی آنزیم‌های استراز

فعالیت آنزیم‌های استراز در جمعیت‌های مختلف به روش وناسپرن اندازه‌گیری شد (Van Asperen, 1962). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استراز دو زیرنهشت α-NA و β-NA استفاده شد. ۱۲ میکرولیتر نمونه به چاهک پلیت الایزا حاوی ۱۱۳ میکرولیتر بافر فسفات (۰/۱ مولار ، pH ۷) اضافه شد. بعد از ۳ دقیقه با اضافه کردن ۵۰ میکرولیتر زیرنهشت (۱/۸ mM) واکنش آغاز شد. پس از اضافه نمودن ۵۰ میکرولیتر محلول نمک فاست بلو آرآر (۰/۰۷۵٪)، جذب آلفا- نفتول و بتا- نفتول تولید شده، به‌ترتیب در ۴۵۰ و ۵۴۰ نانومتر به وسیله‌ی میکروپلیت ریدر (Awareness Technology Inc., Florida, USA) خوانده شد. منحنی‌های استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف آلفا- نفتول و بتا- نفتول رسم شد و برای تبدیل تشکیل کمپلکس آلفا- نفتول- و بتا- نفتول- فاست بلو آرآر به فعالیت ویژه استرازی مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های استراز به‌صورت نانو مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین ارائه شد.

الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید و آنالیز زایموگرام آنزیم‌های استراز

الکتروفورز ژل پلی‌اکریل‌آمید غیر تغییر ماهیت‌دهنده به روش دیویس با استفاده از ژل ۷/۵٪ انجام شد (Davis, 1964).

برای این منظور ابتدا محلول‌ها و بافرهای زیر تهیه شد:
۱) بافر ژل؛ حاوی اسید کلریدریک ۲ نرمال، تریس و تمد، ۲) استوک اکریل‌آمید؛ حاوی اکریل آمید و بیس اکریل آمید، ۳) محلول آمونیوم پر سولفات؛ حاوی محلول آمونیوم پرسولفات به غلظت ۱/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، ۴) بافر الکتروفورز؛ حاوی تریس و گلایسین، ۵) بافر بارگذاری نمونه؛ حاوی سوکروز ۴۰ درصد و ۰/۰۲ درصد برومونفل بلو.

آماده‌سازی الکتروفورز

در این آزمایش از روش کونو و تومیتا استفاده شد (Kono and Tomita, 1992). محلولی شامل ۲۰ میکرولیتر بافر نمونه و ۲۰ میکرولیتر از نمونه به وسیله‌ی سرنگ همیلتون در داخل چاهک‌ها لود (بارگذاری) شد. الکتروفورز در دمای ۴ درجه سلسیوس انجام شد.

رنگ‌آمیزی ژل

پس از اتمام الکتروفورز، ژل از صفحات شیشه‌ای جدا شده به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۰/۱ مولار اسید بوریک قرار داده شد. سپس، برای رنگ‌آمیزی در محلول زیر به مدت یک ساعت نگهداری شد: ۰/۰۲ درصد ۱- نفتیل استات + ۰/۰۲ درصد ۲- نفتیل استات + ۰/۱ درصد نمک فاست بلو آرآر. بعد از رنگ‌آمیزی ژل‌ها در داخل اسید استیک ۷ درصد نگهداری شد.

ارزیابی آنزیم گلوتاتیون اس-ترنسفراز

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترنسفراز به روش هبیگ و همکاران (Habig *et al*., 1974) و با استفاده از دو زیرنهشت CDNB و DCNB انجام شد. ۱۵ میکرولیتر آنزیم، ۱۰۰ میکرولیتر زیرنهشت (۱/۲ میلی‌مولار) و ۱۰۰ میکرولیتر GSH (۱۰ میلی‌مولار) در پلیت الایزا ریخته شد.

میزان جذب در ۳۴۰ نانومتر به وسیله‌ی میکروپلیت ریدر به صورت سینتیک (هر ۲۰ ثانیه) خوانده شد. فعالیت GST به‌صورت نانو مول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

اندازه‌گیری غلظت پروتئین

غلظت پروتئین منبع آنزیمی مورد استفاده در آزمون‌های بیوشیمیایی به روش بردفورد (Bradford, 1976) تعیین شد. برای تعیین مقدار پروتئین کل، ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۵۰۰ میکرو لیتر معرف بردفورد اضافه شده و میزان جذب در ۶۳۰ نانومتر با دستگاه میکروپلیت ریدر خوانده شد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین از منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف و مشخص آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد استفاده شد؛ به این ترتیب که غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ ، ۰/۳ ، ۰/۴ ، ۰/۵ ، ۰/۶ ، ۰/۷ ، ۰/۸ ، ۰/۹ و ۱ میلی‌گرم بر میلی لیتر از BSA تهیه و به معرف بردفورد اضافه کرده و جذب آن‌ها در ۶۳۰ نانومتر خوانده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده از آزمون زیست‌سنجی به کمک نرم افزار پولوپی‌سی (Polo-Pc) تجزیه شد (Leora, 1978). رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل انجام شد. داده‌های مربوط به فعالیت آنزیم‌های استراز و گلوتاتیون اس-ترنسفراز برای جمعیت‌های حساس و غیرحساس در پایه طرح کاملاً تصادفی و با آزمون توکی مقایسه شدند. تمام آزمون‌های آماری با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد (SAS, 2002).

نتایج و بحث

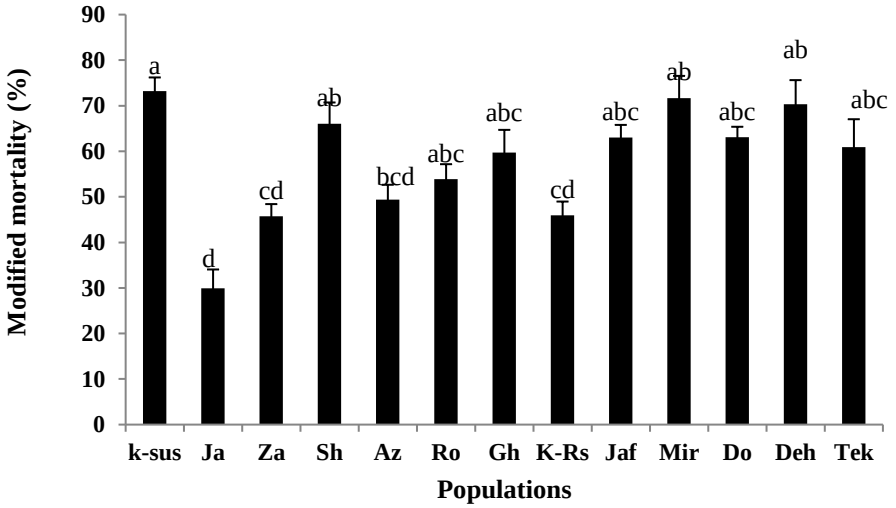
مقدار LC_{90} ایمیداکلوپرید و کلرپایریفوس روی پوره سن ۵ پسیل پسته جمعیت حساس، به روش غوطه‌وری دیسک برگی و توسط نرم‌افزار Polo-PC، به ترتیب ۹۴۵/۹ میلی-گرم بر لیتر و ۴۲۵ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه و به عنوان دز افتراقی در نظر گرفته شد (جدول ۱).

جدول ۱- LC_{50} و LC_{90} ایمیداکلوپرید و کلرپایریفوس و حدود اطمینان بالا و پایین ۹۵٪ آن‌ها روی پوره‌های سن ۵ پسیل پسته *Agonoscena pistaciae* جمعیت کندر حساس

Table 1. LC_{50} and LC_{90} of imidacloprid and chlorpyrifos and 95% high and low confidence limits on fifth instar nymphs of sensitive pistachio psyllids *Agonoscena pistaciae*

Insecticide	Insect number	X^2(df)	Slope ± SE	LC_{50}(CL%95) mg/l	LC_{90}(CL%95)	Relative toxicity
Imidacloprid	330	3.93(4)	2.25±0.2	261.23(3.3-308.230)	945.9 (687.2-1545)	3.43(4.2-9.4)
Chlorpyriphos	360	5.6(2)	7.2±0.1	83.03(4.2-172.51)	425 (228.5-765.7)	5.11(4.46-6.56)

دز افتراقی محاسبه شده یعنی غلظتی از آفت‌کش‌های ایمیداکلوپرید و کلرپیریفوس که حداقل باعث ۹۰٪ تلفات در جمعیت حساس شد، روی ۱۲ جمعیت مشکوک به غیرحساس شدن، آزمایش شد. با برآورد درصد تلفات این جمعیت‌ها و مقایسه آن‌ها با جمعیت حساس، سطوح مختلف حساسیت به دست آمد (شکل‌های ۱ و ۲).

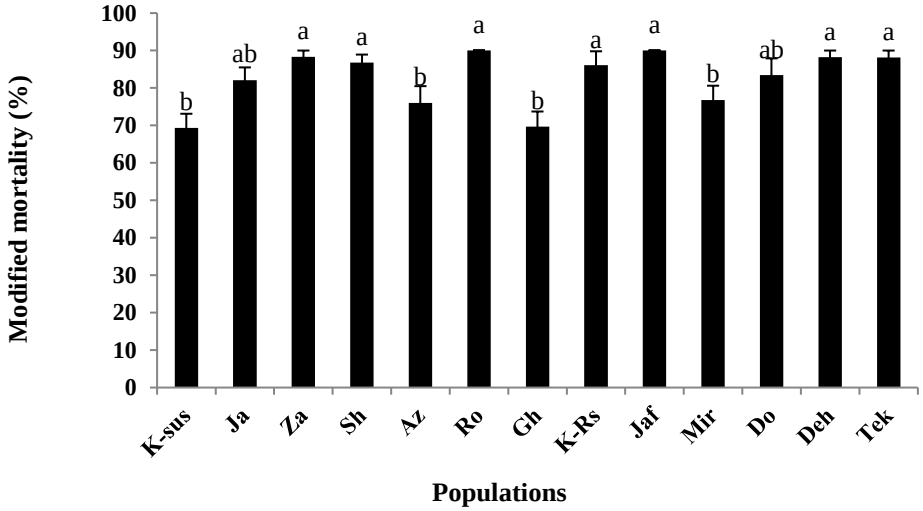


شکل ۱- درصد تلفات پوره‌های سن ۵ جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae* تیمار شده با دز افتراقی (غلظت LC_{90} ایمیداکلوپرید تعیین شده روی استرین حساس) (میانگین درصد تلفات ±خطای معیار). (K-sus: کندر حساس؛ Ja: جلال‌آباد؛ Za: ظاهرآباد؛ Sh: شهرآباد؛ Az: عظیم‌آباد؛ Ro: رکن‌آباد؛ Gh: قوژدآباد؛ K-Rs: کندر غیرحساس ؛ Jaf: جعفرآباد؛ Mir: میرملک؛ Do: دوغ‌آباد؛ Deh: دهنو؛ Tek: تکمار)

Figure 1. Percentage of mortality of fifth instars nymphs aged 5 in different populations of *Agonoscena pistaciae* treated with differential dose (concentration of LC90 imidacloprid determined on sensitive strain). (mean percentage of mortality ± SE). (K-sus: susceptible Kondor; Ja: Galal Abad; Za: Zaher Abad; Sh: Shahr Abad; Azim Abad; Ro: Rokn Abad; Gh: Quzhd Abad; K-Rs: Resistant Kondor; Jaf: Jaf´ar Abad; Mir: Mirmalek; Do: Doogh Abad; Deh: Deh Now; Tek: Tak Mar)
Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test ($p < 0.05$).

نتایج تیمار جمعیت‌ها با دز افتراقی حشره‌کش ایمیداکلوپرید (۹۴۵/۹ میلی‌گرم بر لیتر) (شکل ۱) نشان داد که در بین جمعیت‌های پسیل جمع‌آوری شده از باغات پسته، جمعیت کندر حساس بیش‌ترین درصد تلفات و جمعیت مربوط به منطقه جلال آباد، کم‌ترین میزان درصد تلفات را نشان دادند و مناطق ظاهرآباد و کندر غیرحساس پس از جلال آباد و دیگر جمعیت‌ها نیزدر گروه‌های آماری دیگر قرار گرفتند. علیزاده و همکاران (Alizadeh *et al*., 2011) حساسیت جمعیت‌های مختلف پسیل معمولی پسته *A. pistaciae* را نسبت به آفت‌کش ایمیداکلوپرید و آمیتراز در استان کرمان بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که حساسیت آفت به ایمیداکلوپرید مربوط به مراحل ابتدایی است و فشار آفت‌کش آمیتراز در جمعیت‌ها بیش‌تر از ایمیداکلوپرید است. کاهش حساسیت به حشره‌کش‌های نئونیکوتینوئید احتمالاً به دلیل استفاده بیش از حد از این گروه از آفت‌کش‌ها است. به عنوان مثال در حالی که *Bemisia tabaci* Gennadius حساسیت بسیار پایینی به آفت‌کش-های فسفره آلی، کاربامات و پایروتروئید نشان داده است، اما از سال ۱۹۹۱ با کشف نئونیکوتینوئیدها کنترل این آفت بسیار موفقیت‌آمیز بوده است. این در حالی است که به دلیل استفاده بیش از حد از این حشره‌کش‌ها در سال ۱۹۹۶ اولین مورد مقاومت *B. tabaci* به آفت‌کش ایمیداکلوپرید در منطقه‌ای در جنوب اسپانیا گزارش شد. هم‌چنین، فاستر و همکاران (Foster *et al*., 2003) گزارش کردند که نئونیکوتینوئیدها در ابتدای کشف، تأثیر کنترلی خوبی روی آفات داشته‌اند. اما پس از چند سال اولین مورد عدم حساسیت در ژاپن و جنوب اروپا مشاهده شد که مقاومتی به میزان ۱۰ برابر جمعیت حساس نشان داد. بررسی‌های دیگر در مناطق کشت پنبه در آریزونا روی شته جالیز نیز نشان داد که مقاومت به ایمیداکلوپرید در طی ۱۳ نسل ۸ برابر جمعیت حساس بوده

است (Wang *et al*., 2002). این مسئله برای کشاورزانی که از ایمیداکلوپرید استفاده می‌کنند پیامدهای جدی در پی دارد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که غیرحساس شدن به این حشره‌کش در منطقه کاشمر و فیض‌آباد در حال گسترش است و برگزیدن تمهیدات موثر از جانب کشاورزان برای جلوگیری از گسترش غیرحساس شدن به این ترکیب الزامی است.



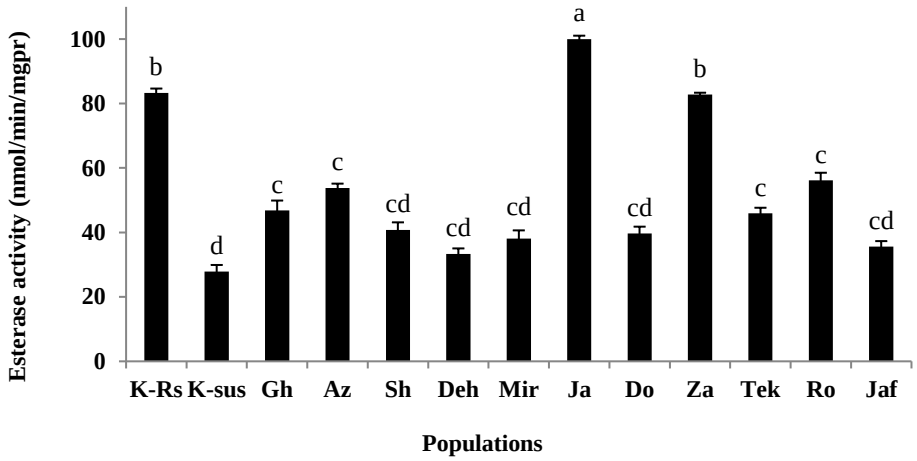
شکل ۲- درصد تلفات پوره‌های سن ۵ جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae* تیمار شده با دز افتراقی (غلظت LC_{90} کلرپایریفوس تعیین شده روی استرین حساس) (میانگین درصد تلفات ±خطای معیار). (K-sus: کندر حساس؛ Ja: جلال‌آباد؛ Za: ظاهرآباد؛ Sh: شهرآباد؛ Az: عظیم‌آباد؛ Ro: رکن‌آباد؛ Gh: قوژدآباد؛ K-Rs: کندر غیرحساس ؛ Jaf: جعفرآباد؛ Mir: میرملک؛ Do: دوغ‌آباد؛ Deh: دهنو؛ Tek: تکمار)

Figure 2. Percentage of mortality of fifth instars nymphs aged 5 in different populations of treated with differential dose (concentration of LC90 chloropyrefos determined *Agonoscena pistaciae* on sensitive strain) (mean percentage of mortality ± SE). (mean percentage of mortality ± SE). (K-sus: susceptible Kondor; Ja: Galal Abad; Za: Zaher Abad; Sh: Shahr Abad; Azim Abad; Ro: Rokn Abad; Gh: Quzhd Abad; K-Rs: Resistant Kondor; Jaf: Jaf´ar Abad; Mir: Mirmalek; Do: Doogh Abad; Deh: Deh Now; Tek: Tak Mar)

Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test ($p < 0.05$).

در مورد زیست‌سنجی با دز افتراقی حشره‌کش کلرپیریفوس (۴۲۵ میلی‌گرم بر لیتر) (شکل۲) بیش‌ترین میزان تلفات مربوط به تیمارهای جعفرآباد، رکن‌آباد، تکمار، دهنو، ظاهرآباد و شهرآباد و کم‌ترین میزان تلفات مربوط به مناطق کندرحساس و قوژدآباد بود. ژانگ و همکاران (۲۰۱۲) عدم حساسیت *Laodelphax striatellus* Fallen به حشره‌کش‌های کلرپایریفوس، پی‌متروزین، تیامتوکسام در مناطق مختلف چین را مورد سنجش قرار دادند. نتایج مطالعه آن‌ها نشان داد که در بین آفت‌کش‌ها غیرحساس شدن آفت به کلرپایریفوس چشمگیر است. در چین در جهت کشف سازوکار عدم حساسیت *B. tabaci* نسبت به کلرپایریفوس بررسی‌هایی انجام شده است و سنجش بیوشیمیایی حاکی از افزایش فعالیت آنزیم استراز است که منجر به بروز این پدیده در این آفت شده است (Zhang *et al*., 2012). گائو و همکاران عدم حساسیت شپش سر (*Pediculus capitis* De Geer) به مالاتیون را مورد بررسی قرار دادند و تغییرات آنزیم استراز را عامل غیرحساس شدن شپش به این آفت‌کش دانستند (Gao *et al*., 2005). وانگ و همکاران (۲۰۱۰) نیز سازوکار غیرحساس شدن *L. striatellus* به کلرپایریفوس را بررسی کردند. نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی نشان داد که افزایش فعالیت کربوکسیل استراز و استیل کولین استراز عامل

بروز عدم حساسیت در این آفت است (Wang *et al.*, 2010).

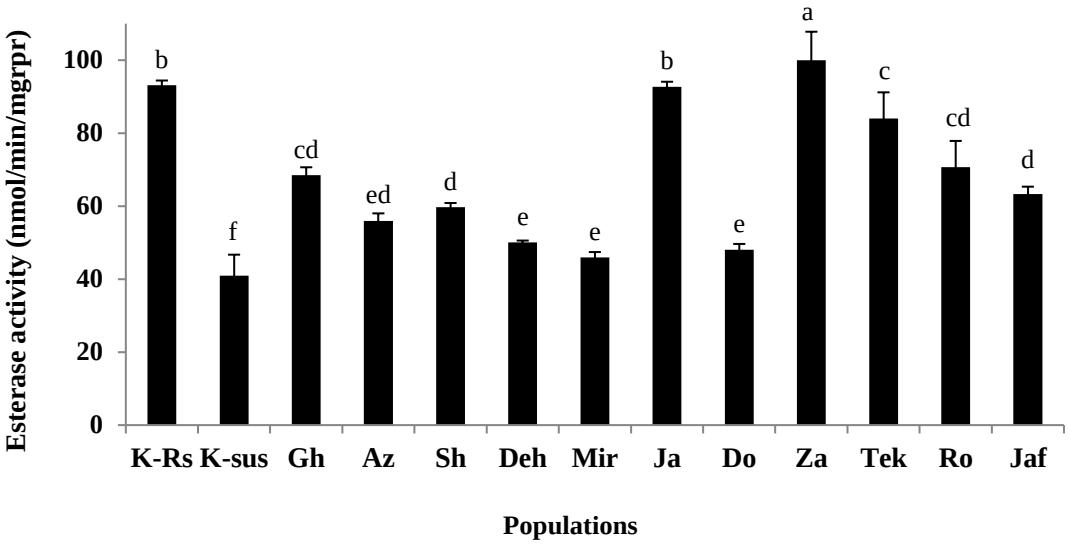


شکل ۳- مقایسه فعالیت استرازی با به‌کارگیری زیر نهشت آلفا-نفتیل استات در جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae* (K-sus: کندرحساس؛ Ja: جلال آباد؛ Za: ظاهرآباد؛ Sh: شهرآباد؛ Az: عظیم آباد؛ Ro: رکن آباد؛ Gh: قوژدآباد؛ K-Rs: کندر غیرحساس ؛ Jaf: جعفرآباد؛ Mir: میرملک؛ Do: دوغ آباد؛ Deh: دهنو؛ Tek: تکمار)

Figure 3. Comparison of esterase activity with α- naphthyl acetate substrate in different populations of *Agonoscena pistaciae* (mean percentage of mortality ± SE). (K-sus: susceptible Kondor; Ja: Galal Abad; Za: Zaher Abad; Sh: Shahr Abad; Azim Abad; Ro: Rokn Abad; Gh: Quzhd Abad; K-Rs: Resistant Kondor; Jaf: Jaf´ar Abad; Mir: Mirmalek; Do: Doogh Abad; Deh: Deh Now; Tek: Tak Mar)
Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test ($p < 0.05$).

در مطالعه حاضر فعالیت استرازی جمعیت‌های مختلف پسیل پسته با دو زیرنهشت آلفا-نفتیل استات (α-NA) و بتا-نفتیل استات (β-NA) سنجش شد. مطابق شکل ۳ بیش‌ترین فعالیت استرازی با کاربرد زیرنهشت آلفا-نفتیل استات در جمعیت‌های غیرحساس جلال آباد، کندر غیرحساس و ظاهرآباد و کم‌ترین فعالیت در منطقه کندرحساس است. لازم به ذکر است مناطق رکن آباد و عظیم آباد که در گروه آماری b و هم‌چنین قوژد آباد و تکمار که در گروه آماری c قرار دارند، سطح متوسطی از فعالیت این آنزیم را نشان دادند.

بیش‌ترین فعالیت استرازی با به‌کارگیری بتا-نفتیل استات به عنوان زیرنهشت (شکل ۴) در جمعیت‌های غیرحساس ظاهرآباد و کم‌ترین فعالیت استرازی در کندر حساس مشاهده شد. مقایسه آنزیم استراز در جمعیت‌های حساس و غیرحساس *B. tabaci* نشان داده است که در بیش‌تر موارد، افزایش میزان فعالیت آنزیم استراز منجر به عدم حساسیت شده است. فعالیت استرازی *Triatoma infestans* Klug از زیرنهشت آلفا-نفتیل استات و پی-نیترو نفتیل استات در جمعیت بولیوی و آرژانتین اندازه‌گیری و سپس با فعالیت آنزیم استراز در جمعیت حساس مقایسه شد. نتایج نشان داد که فعالیت این آنزیم در منطقه بولیوی و حساس به یک میزان است، اما میزان آن در جمعیت آرژانتین به مقدار زیادی افزایش یافته است. این محققین نتیجه گرفتند که عامل ایجاد عدم حساسیت در منطقه آرژانتین، آنزیم استراز بوده است (Santo *et al.*, 2008). در مطالعه‌ای دیگر، علت غیرحساس شدن *B. tabaci* نسبت به تیامتوکسام، آنزیم کربوکسیل استراز گزارش شده است که میزان آن در جمعیت غیرحساس ۲/۹۶ برابر جمعیت حساس است (Yuntao *et al.*, 2010). بسیاری از پژوهشگرات فعالیت بالای آنزیم استرازی را به عنوان عامل غیرحساس شدن آفات به آفت-کش‌های فسفره آلی و کاربامات دانسته‌اند



شکل ۴- مقایسه فعالیت استرازی با به‌کارگیری زیر نهشت بتا-نفتیل استات در جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae* (K-sus: کندر حساس؛ Ja: جلال آباد؛ Za: ظاهرآباد؛ Sh: شهرآباد؛ Az: عظیم آباد؛ Ro: رکن آباد؛ Gh: قوژدآباد؛ K-Rs: کندر غیرحساس ؛ Jaf: جعفرآباد؛ Mir: میرملک؛ Do: دوغ آباد؛ Deh: دهنو؛ Tek: تکمار)

Figure 4. Comparison of Esterase activity activity withβ- naphthyl acetate substrate substrate in different populations of *Agonoscena pistaciae* (mean percentage of mortality ± SE). (K-sus: susceptible Kondor; Ja: Galal Abad; Za: Zaher Abad; Sh: Shahr Abad; Azim Abad; Ro: Rokn Abad; Gh: Quzhd Abad; K-Rs: Resistant Kondor; Jaf: Jaf´ar Abad; Mir: Mirmalek; Do: Doogh Abad; Deh: Deh Now; Tek: Tak Mar)

Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test ($p < 0.05$).

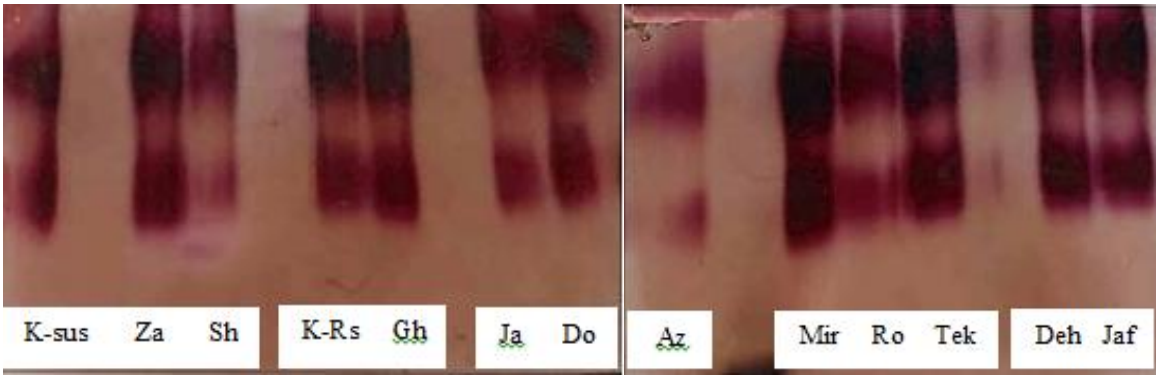
(Field *et al*., 1988). آزمایش‌های آنزیمی روی پشه کولکس *Culex pipiens* Linnaeus نشان داد که عامل غیرحساس شدن نسبت به حشره‌کش‌های فسفره آلی، ازدیاد بیان ژن استراز است. در ارزیابی‌های متابولیکی سوش‌های مختلف سوسری آلمانی جمع‌آوری شده از تهران نسبت به حشره‌کش پرمترین، نقش آنزیم‌های استراز و منواکسیژناز در بروز عدم حساسیت اثبات شد (Limoe *et al*., 2011). در بررسی‌های انجام شده مشخص شده است که یکی از اساسی-ترین عوامل عدم حساسیت نسبت به حشره‌کش‌های نئونیکوتینوئیدی افزایش آنزیم‌های سم‌زدای عمومی است (Zhang *et al*. 2016; Yang *et al*. 2017). در تحقیق حاضر نیز میزان فعالیت استرازی در جمعیت ظاهرآباد ۲/۵ برابر فعالیت آن در جمعیت حساس است.

در تحلیل زایموگرامی، با استفاده از الکتروفورز ژل پلی-اکریل‌آمید غیر تغییر ماهیت دهنده، به‌وسیله ژل ۷/۵٪ و کاربرد همگنه کل بدن پسیل، الگوهای پراکنش متفاوتی بین باندهای ۱۳ جمعیت مشاهده شد که نشان‌دهنده تفاوت در ایزوآنزیم‌ها در این جمعیت‌ها است (شکل ۵).

نتایج الکتروفورز هم نشان داد که تراکم باند آنزیم در جمعیت‌های ظاهرآباد، کندر غیرحساس و جلال‌آباد از دیگر جمعیت‌ها بیشتر است و نتایج حاصل از سنجش آنزیمی را تأیید می‌کند. حداقل دو باند مشخص در جمعیت‌های مختلف قابل مشاهده است که هر دو ایزوفرم در جمعیت ظاهرآباد قوی‌تر از جمعیت حساس است. در جمعیت حساس، هردو باند ضعیف‌تر از جمعیت‌های ظاهرآباد، کندر غیرحساس و جلال‌آباد هستند.

نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) با کاربرد دو زیرنهشت CDNB و DCNB در جمعیت‌های مختلف پسیل پسته در شکل‌های ۶ و ۷ نشان داده شده است. اختلاف معنی‌داری بین جمعیت‌ها

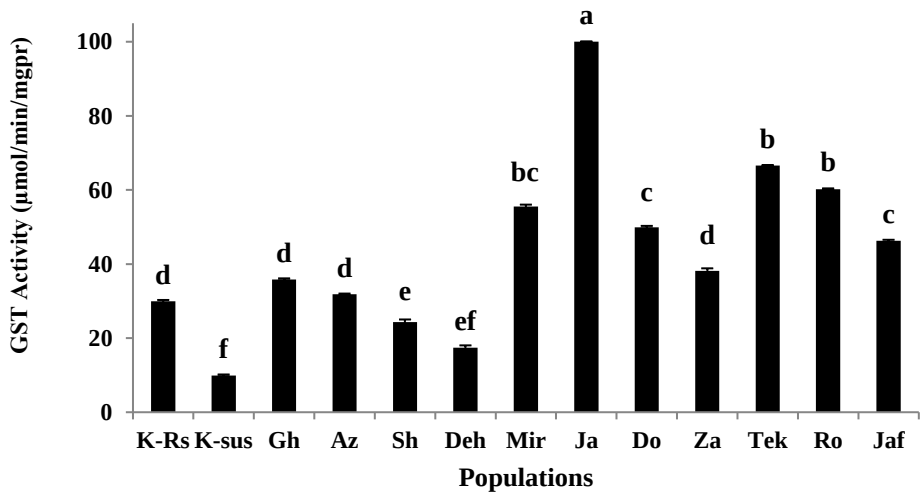
وجود دارد. بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت کاتالیتیکی مزدوج شدن گلوتاتیون با سویسترای CDNB به ترتیب، در جمعیت‌های جلال‌آباد و کندر حساس مشاهده شد. بنابراین، میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترنسفراز در جمعیت غیرحساس جلال‌آباد ۱۰ برابر جمعیت حساس کندر بود (شکل ۶)



شکل ۵- زایموگرام آنزیم‌های استراز در جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae*

(K-sus: کندر حساس؛ Ja: جلال آباد؛ Za: ظاهرآباد؛ Sh: شهرآباد؛ Az: عظیم آباد؛ Ro: رکن آباد؛ Gh: قوژدآباد؛ K-Rs: کندر غیرحساس؛ Jaf: جعفرآباد؛ Mir: میرملک؛ Do: دوغ آباد؛ Deh: دهنو؛ Tek: تکمار)

Figure 5. Zymograms of esterase enzymes activity in different populations of *Agonoscena pistaciae* (mean percentage of mortality ± SE). (K-sus: susceptible Kondor; Ja: Galal Abad; Za: Zaher Abad; Sh: Shahr Abad; Azim Abad; Ro: Rokn Abad; Gh: Quzhd Abad; K-Rs: Resistant Kondor; Jaf: Jaf´ar Abad; Mir: Mirmalek; Do: Doogh Abad; Deh: Deh Now; Tek: Tak Mar)



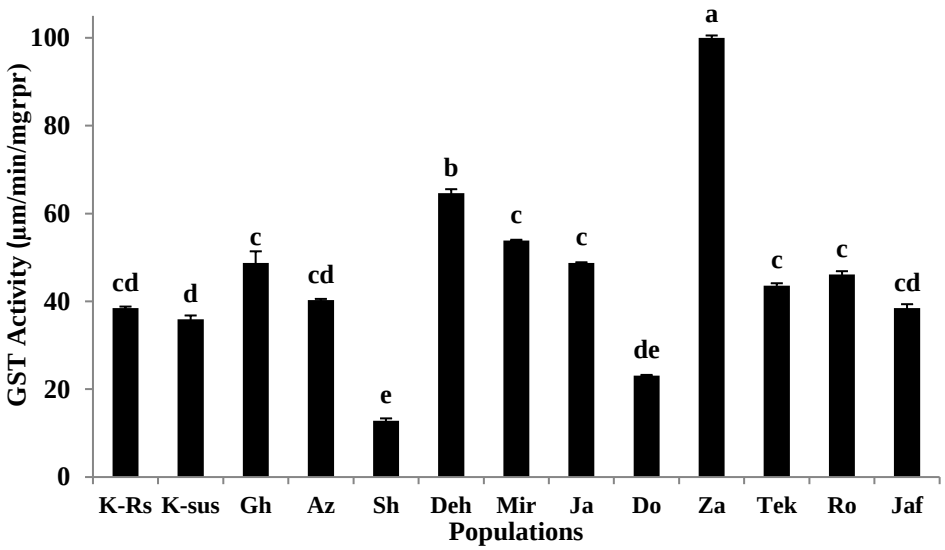
شکل ۶- مقایسه فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز با زیر نهشت CDNB در جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae*

(K-sus: کندر حساس؛ Ja: جلال آباد؛ Za: ظاهرآباد؛ Sh: شهرآباد؛ Az: عظیم آباد؛ Ro: رکن آباد؛ Gh: قوژدآباد؛ K-Rs: کندر غیرحساس؛ Jaf: جعفرآباد؛ Mir: میرملک؛ Do: دوغ آباد؛ Deh: دهنو؛ Tek: تکمار)

Figure 6. Comparison of glutathione S-transferase activity with CDNB substrate in different (mean percentage of mortality ± SE). (K-sus: susceptible populations of *Agonoscena pistaciae* Kondor; Ja: Galal Abad; Za: Zaher Abad; Sh: Shahr Abad; Azim Abad; Ro: Rokn Abad; Gh: Quzhd Abad; K-Rs: Resistant Kondor; Jaf: Jaf´ar Abad; Mir: Mirmalek; Do: Doogh Abad; Deh: Deh Now; Tek: Tak Mar)

Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test ($p < 0.05$).

بیش‌ترین فعالیت گلوتاتیون اس-ترنسفراز با به‌کارگیری زیرنهشت DCNB مربوط به جمعیت ظاهرآباد و کم‌ترین فعالیت در جمعیت شهرآباد مشاهده شد (شکل ۷). این نتایج با درصد تلفات کم‌تر حاصل از کاربرد دز افتراقی ایمیداکلوپرید، در منطقه جلال‌آباد و ظاهرآباد نسبت به سایر مناطق هم‌خوانی دارد. نتایج بسیاری از پژوهش‌ها نشان داده که عدم حساسیت در حشرات مرتبط با افزایش فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز است (Grant, 1991). علیزاده و همکاران (Alizadeh *et al*., 2013) با بررسی الگوی فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز با استفاده از الکتروفورز در جمعیت‌های مختلف پسیل پسته *A. pistaciae* استان کرمان نشان دادند که باند شکل گرفته در جمعیت غیرحساس به آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید با جمعیت حساس کاملاً متفاوت است و با افزایش فشار آفت‌کش در جمعیت-های پسیل پسته، این حشره برای سم‌زدایی از آنزیم‌های گلوتاتیون اس ترانسفراز استفاده می‌کند.



شکل ۷- مقایسه فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز با زیر نهشت DCNB در جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae* (sus-K: کندر حساس؛ Ja: جلال آباد؛ Za: ظاهرآباد؛ Sh: شهرآباد؛ Az: عظیم آباد؛ Ro: رکن‌آباد؛ Gh: قوژدآباد؛ K-Rs: کندر غیرحساس ؛ Jaf: جعفرآباد؛ Mir: میرملک؛ Do: دوغ آباد؛ Deh: دهنو؛ Tek: تکمار)

Figure 7. Comparison of glutathione S-transferase activity with DCNB substrate in different (mean percentage of mortality ± SE). (K-sus: susceptible populations of *Agonoscena pistaciae* Kondor; Ja: Galal Abad; Za: Zaher Abad; Sh: Shahr Abad; Azim Abad; Ro: Rokn Abad; Gh: Quzhd Abad; K-Rs: Resistant Kondor; Jaf: Jaf´ar Abad; Mir: Mirmalek; Do: Doogh Abad; Deh: Deh Now; Tek: Tak Mar)

Means followed by similar letters showed no significantly difference from each other by Tukey's test ($p < 0.05$).

نتایج تحقیقاتی که روی پایش حساسیت جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مزارع پسیل آسیایی مرکبات *D. citri* به انواع مختلف حشره‌کش‌ها انجام گرفته شد نشان داد که در بیشتر حشره‌کش‌های مورد استفاده در این پژوهش که بیش از ۱۵ حشره‌کش از چهار گروه مهم شامل فسفره آلی، کاربامات، پیروتیروئید، نئونیکوتینوئید و پیرازول می‌باشند، نسبت مقاومت این جمعیت‌ها به جمعیت حساس بیش از ۲ به دست آمده و در این بین در حشره‌کش‌های مالاتیون، سایپرمترین و فن‌پیروکسی‌میت نسبت مقاومت به ترتیب ۵/۷، ۲/۵ و ۲/۵ محاسبه شد (Kanga *et al*., 2015). همچنین،

در بررسی‌های دیگری نیز مقاومت پسیل آسیایی مرکبات به حشره‌کش‌های فسفره آلی، کاربامات، پیروتیروئید، نئونیکوتینوئید گزارش شده است (Tiwari *et al*., 2011). بررسی‌ها نشان داده است که علت بروز مقاومت این آفت مربوط به گلوتاتیون اس ترانسفراز می‌باشد (Kanga *et al*., 2015). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که فعالیت گلوتاتیون اس-ترنسفراز در جمعیت غیرحساس بیش‌تر از جمعیت حساس است و ممکن است در غیرحساس شدن به ترکیبات نئونیکوتینیدی دخالت داشته باشد. وو و همکاران (Wu *et al*., 2009) سه جمعیت *Liposcelis paeta* Motschulsky غیرحساس نسبت به آفت‌کش دیکلروس را از چین مورد بررسی قرار داده و مشاهده کردند که فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترنسفراز در سه جمعیت غیرحساس در مقایسه با منطقه حساس به میزان ۳۲/۳۴، ۹۹/۱۸ و ۹۲/۵۲ برابر بیش‌تر است. در یک جمعیت مزرعه‌ای، حساسیت ساقه‌خوار برنج به سم تریازوفوس بررسی شد و با استفاده از زیرنهشت DCNB مشخص شد که فعالیت آنزیم گلوتاتیون به میزان ۱/۲۸ برابر جمعیت حساس است (Mingjing *et al*., 2003). هم‌چنین، در بررسی‌های انجام شده روی حساسیت *Euschistus heros* Fabricius نسبت به حشره‌کش ایمیداکلوپراید، نتایج نشان داد که آنزیم‌های سم‌زدای سیتوکروم P_{450}، گلوتاتیون اس-ترانسفراز و هم‌چنین استرازهای عمومی نقش اساسی در بروز عدم حساسیت از خود نشان دادند (Castellanos *et al*., 2018).

به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که در مورد حشره‌کش کلرپایریفوس، درصد تلفات اصلاح شده جمعیت‌های مشکوک به عدم حساسیت با جمعیت حساس اختلاف معنی‌داری ندارند. بنابراین، هنوز غیرحساس شدن نسبت به آفت‌کش مذکور در این مناطق مشاهده نشده است که یکی از دلایل آن می‌تواند عدم سمپاشی بی‌رویه با کلرپایریفوس باشد. نتایج حاصل از زیست‌سنجی حشره‌کش ایمیداکلوپرید نشان داد که از بین ۱۳ جمعیت مورد آزمایش، جمعیت‌های جلال‌آباد، ظاهرآباد و کندر غیرحساس و دارای کم‌ترین سطح حساسیت هستند. نتایج ارزیابی آنزیم‌های استراز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز نشان داد که تغییرات ایجاد شده در هر دو آنزیم سم‌زدا، عامل بروز عدم حساسیت در مناطق جلال‌آباد و ظاهرآباد هستند. این در حالی است که تغییر درآنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز در غیرحساس شدن کندر غیرحساس دخالتی نداشته است. این احتمال وجود دارد که در آینده‌ای نزدیک در صورت مصرف بی‌رویه از آفت‌کش ایمیداکلوپرید و با افزایش سطح فعالیت این آنزیم، سایر مناطق نیز کاهش حساسیت به این آفت‌کش را نشان دهند. یافته‌های این پژوهش با توجه به افزایش فعالیت سامانه‌های آنزیم‌های سم‌زدا در جمعیت‌های مختلف پسیل پسته جمعیت‌های مورد ارزیابی، نشان می‌دهد که فشار بی رویه سم‌پاشی با حشره‌کش ایمیداکلوپراید منجر به ناکارآمدی این حشره‌کش روی پسیل خواهد شد. بنابراین، استفاده از حشره‌کش‌های موثر دیگری از خانواده‌های متفاوت می‌تواند از رخ دادن این فرایند پیش‌گیری کند.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از گروه گیاهپزشکی موسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر و دانشگاه گیلان به جهت مساعدت‌های فراوان صورت گرفته برای اجرای این پروژه مراتب سپاسگزاری خود را اعلام می‌دارند.

References

Ahmadi, K., Ebadzadeh, H., Hatami, F., Hosseinpour, R. and Abdshah, H. 2018. Agricultural Statistics, Volume 3: Horticultural Products. Ministry of Jihad Agriculture, Deputy of Planning and Economy, Information and Communication Technology Center, pp: 241.

Alizadeh, A., Talebi, K., Hosseininaveh, V. and Ghadamyari, M. 2013. Susceptibility of different populations of common pistachio psyllids *Agonoscena pistaciae* to pesticides amitrase and imidacloprid in Kerman province. **Iranian Journal of Plant Protection Science** 44(1): 153-161. (In Farsi)

Alizadeh, A., Talebi, K., Hosseininaveh, V. and Ghadamyari, M. 2011. Metabolic resistance mechanisms tophosalone in the common pistachio psyllid, *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Psyllidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 2: 59-64.

Berrada, S., Nguyen, T. X., Lemoine, J., Vanpoucke, J. and Fournier, D. 1995. Thirteen pear species and cultivars evaluated for resistance to *Cacopsylla pyri* (Homoptera: Psyllidae), **Environmental Entomology** 24: 1604-1607.

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.

Brewer, M. J. and Trumble, J. T. 1989. Field Monitoring for Insecticide Resistance in Beet Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). **Entomological Society of America** 82(6): 1520-1526.

Burckhardt, D. and Lauterer, **P.** 1993. The Jumping Plant-lice of Iran (Homoptera: Psylloidea). **Revue Suisse de Zoologie** 100(4): 829-898.

Castellanos, N. L., Haddi, K., Carvalho, G. A., Paulo, P.D., Hirose, E., Narciso, R., Guedes, C., Smagghe, and Eugênio, E. O. 2018. Imidacloprid resistance in the Neotropical brown stink bug *Euschistus heros*: selection and fitness costs, **Journal of Pest Science** 120: 1-14.

Davis, B. J. 1964. Disc electrophoresis II. Method and application to human serum proteins. **Annals of the New York Academy of Sciences** 121: 404-427.

Fournier, D. J., Bride, M. Hoffmann, F. and Karch, F. 1992. Acetylcholinesterase. Two types of modifications confer resistance to insecticide. **Journal of Biological Chemistry** 267 (20): 14270–14274.

Field, L. M., Devonshire, A. L. and Forde, B. G. 1988. Molecular evidence that insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae* Sulz.) results from amplification of an esterase gene. **Journal of Biochemistry** 251: 309-312.

Foster, P. S., Kift, N. B., Baverstock, J., Sime, S., Reynolds, K., Jones, J. E., Thompson, R. and Tatchell, G. M. 2003. Association of MACE-based insecticide resistance in *Myzus persicae* with reproductive rate, response to alarm pheromone and vulnerability to attack by *Aphidius colemani.* **Pest Management Science** 59: 1169-1178.

Gao, J. R., Kyong, S. Y., Richard, K. F., Gerald, C. and Marshall, C. 2005. Esterase-mediated Malathion resistance in the human head louse, *Pediculus capitis* (Anoplura: Pediculidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 42: 17-27.

Grant, D. F. and Matsumura, F. 1988. Glutathione S-transferase-1 in *Aedes aegypti* larvae. Purification and properties. **Insect Biochemistry**18: 615-622.

Galaeian, M. 2008. Investigation of live natural control factors of common pistachio psyllids and introduction of dominant species due to population abundance and distribution in Khorasan Razavi province, Khorasan Razavi: Pistachio Research Institute, 85018-7803-05-150000-100. (In Farsi)

Kanga, L. H. B., Eason, J., Haseeb, M., Qureshi, J. and Stansly, P. 2015. Monitoring for insecticide resistance in Asian Citrus Psyllid (Hemiptera: Psyllidae) populations in Florida. **Journal of Economic Entomology** 12(2): 1-5.

Keita, S. M., Vincent, C., Schmit, J. P. and Belanger, A. 2000. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L., *O. gratissimum* L. and *O. suave* L. in the Republic of Guinea. **Flavor and Fragrance Journal** 15: 339–341.

Kono, Y. and Tomita, T. 1992. Characteristics of highly active carboxylesterases in insecticide-resistant *Culex pipiens quinquefasciatus*. **Japanese Journal of Sanitary Zoology** 43(4): 297-305.

Lababidi, M.S. 2002. Effects of Neem Azal T/S and other insecticides against the pistachio psyllid *Agonoscena targionii* (Licht.) (Homoptera, Psyllidae) under field conditions in Syria. **Journal of Pesticide Science** 75: 84-8.

LeOra Software. 2006. POLO-Plus. A user's guide to Probit or Logit analysis. LeOra Software, Berkeley, CA.

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

Limoee, M., Enayati, A. A., Khassi, K., Salimi, M. and Ladonni, H. 2011. Insecticide resistance and synergism of three field– collected strains of the German cockroach *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae) from hospitals in Kermanshah, Iran. **Tropical Biomedicine** 28: 111-118.

Mehrnejad, M. R. 2010. Potential biological control agents of the common pistachio psylla, *Agonoscena pistaciae*. **Entomofauna** 31: 317-340.

Mingjing, Q., Zhaojun, H., Xinjun, X. and Lina, Y. 2003. Triazophos resistance mechanisms in the rice stem borer (*Chilo suppressalis* Walker). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 77: 99–105.

Morin, S., Williamson, M. S., Goodson, S. J., Brown, J. K., Tabashnik, B. E. and Dennehy, T. J. 2002. Mutations in the *Bemisia tabaci* para sodium channel gene associated with resistance to a pyrethroid plus organophosphate mixture. **Insect Biochemistry and Molecular and Biology** 32: 1781-1791.

Rahim, J., Ahmad, A. H., Kassim, N. F. A., Ahmad, H., Ishak, I. H., Rus, A. C. and Maimusa, H. A. 2016. Revised discriminating lethal doses for resistance monitoring program on *Aedes albopictus* against Temephos and Malathion in Penang Island, Malaysia. **Journal of the American Mosquito Control Association** 32: 210-216.

Saleem, M., Dilbar, H., Ghouse, G., Muneer, A. and Fisher, S. W. 2015. Monitoring of insecticide resistance in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of Punjab, Pakistan to conventional and new chemistry insecticides. **Crop Protection** 23(3): 1-8.

Santo Orihuela, P. L., Vassena C. V., Zerba, E. N. and Picollo M. I. 2008. Relative contribution of monooxygenase and esterase to pyrethroid resistance in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. **Journal of Medical Entomology** 45: 298-306.

Saur, G. 2005. Efficacy of kaolin particle film and selected synthetic insecticides against pistachio psyllid *Agonoscena targionii* (Homoptera: Psyllidae) infestation. **Crop Protection** 24(8): 711-717.

SAS Institute, 2002. SAS/GRAPH Software: Reference Volume 2 Version 8, Cary, NC: SAS Institute Inc.

Scott, J. G. 1995. The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. **Florida Entomology** 78: 399- 414.

Tiwari, S. S., Mann, R. S., Rogers, M. E. and Stelinski, L. 2011. Insecticide resistance in field populations of Asian citrus psyllid in Florida. **Pest Management Science** 67: 1258–1268.

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

Wang, K. Y., Liu, T. X., Yu, C. H., Jiang, X. Y. and Yi, M. Q. 2002. Resistance of *Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) to fenvalerate and imidacloprid and activities of detoxification enzymes on cotton and cucumber. **Journal of Economic Entomology** 95: 407-413.

Wang, L., Zhang, Y., Han, Z., Liu, Y. and Fang, I. 2010. Cross-resistance and possible mechanisms of chlorpyrifos resistance in *Laodelphax striatellus* (Fallén). **Pest Management Science** 66(10): 1096.

Wu, K. Y., Liu, T. X., Yu, C. H., Jiang, X. Y. and Yi, M. Q. 2009. Purification and partial characterization of glutathione S-transferase from insecticide-resistant field populations of *Liposcelis paeta* Pearman (Psocoptera: Liposcelididae). **Archives of Insect Biochemistry and Physiology** 70(2): 136-50.

Yang, Z., Zhang, Y., Liu, X. and Wang, X. 2017. Two novel cytochrome P450 genes CYP6CS1 and CYP6CW1 from *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae): cDNA cloning and induction by host resistant rice. **Pesticide of Biochemical and Physiology** 130:79–83.

Yuntao, F., Wu, Q., Wang, S., Chang, X., Xie, W., Xu, B., and Zhang, Y. 2010. Cross-resistance study and biochemical mechanisms of thiamethoxam resistance in B-biotype *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). **Pest Management Science** 66 (3): 313-318.

Zhang, N., Liu, C. F., Yang, F., Dong, S. I. and Zao, H. 2012. Resistance Mechanisms to chlorpyrifos and F392W mutation frequencies in the acetylcholine esterase ace1 allele of field populations of the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* in China. **Journal of Insect Science** 12: 41-56.

Zhang, Y., Yang, Y., Sun, H. and Liu, Z. 2016 Metabolic imidacloprid resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, relies on multiple P450 enzymes. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** 79: 50–56.

Plant Pest Research
2021- 11 (1): 15-29

Research paper

Monitoring of susceptibility of different populations of pistachio psyllid *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Psyllidae) to imidacloprid and chlorpyrifos in pistachio orchards

L. Kamali Damavandi[1], M. Sharifi[2*], N. Memarezadeh[3] and M. Ghadamyari[4]

1. Higher Education Institute of Kashmar University Jihad, Khorasan Razavi University Jihad Organization, Kashmar, Iran, 2. Plant Protection Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran, 3. Pesticide Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, 4. Department of Plant Protection, Agricultural Science Faculty, University of Guilan, Rasht, Iran.

(Received: October 1, 2020- Accepted: May 1, 2021)

Abstract

Frequent and extensive use of various pesticides to control of common pistachio psylla (*Agonoscena pistaciae*), as one of the most important pests of pistachio, has provided the possibility of reduced susceptibility of this pest to pesticides. In this study, the susceptibility of 13 populations of *A. pistaciae* collected from pistachio orchards at areas of Bardaskan, Khalil Abad and Feiz Abad were studied to imidacloprid and to chlorpyrifos using bioassay experiments by leaf disc dipping method and based on the discriminating dose. The bioassay results indicated that the LC_{50} values of imidacloprid and chlorpyrifos on the susceptible population were determined as 261.2 and 83.03 ppm, respectively. The bioassay with discriminating dose (i.e. LC_{90} of the susceptible population) showed that all of the tested populations were susceptible to chlorpyrifos. But there were significant differences in susceptibility to imidacloprid between different populations compared to the susceptible one. The highest mortality percentage applying the discriminating dose was obtained for Kondor- susceptible population and the lowest one was related to Jalal-Abad, Zaher Abad and Kondor- resistant populations. The biochemical assays with measuring the esterase activity demonstrated that one of the mechanisms reduce susceptibility was an increase of esterase activity; so that, the activity of the susceptible population was 2.5 times less than that of populations that had low sensitivity. Furthermore, zymogram analysis showed that all populations had 2 enzyme bonds that qualitatively differ in the case of non-sensitive populations compared to the susceptible one. Measurement of glutathione S-transferase activity also showed that this enzyme system was involved in the reduction of the susceptibility of common pistachio psylla to imidacloprid.

Key words: *Agonoscena pistaciae*, discriminating dose, Imidacloprid, Chlorpyrifos, Detoxify enzyme

*Corresponding author: Mahboobehsharifi67@yahoo.com