نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۸، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۳، ص. ۵۷۲-۵۶۵

Journal of Plant Protection
Vol. 28, No. 4, Winter 2015, P. 565-572

# اثر پی‌پرونیل بوتوکساید در حساسیت پسیل معمولی پسته، *Agonoscena pistacia* Burkhardt and Lauterer به آفت‌کش آمیتراز و فعالیت ویژه آنزیم استراز

پویان مصلحی[۱]- علی علیزاده[۲*]- محمد قدمیاری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۸/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۰۷

## چکیده

یکی از آفت‌کش‌هایی که در سطح وسیع برای کنترل پسیل معمولی پسته، *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Aphalaridae)، استفاده شده است، آمیتراز می‌باشد. در این پژوهش اثر تشدیدکنندگی پی‌پرونیل‌بوتوکساید (PBO) بر سمیت آفت‌کش آمیتراز روی حشرات کامل پسیل معمولی پسته جمعیت رفسنجان در شرایط آزمایشگاه بررسی شد، بدین منظور روش زیست‌سنجی باقیمانده در لوله شیشه‌ای (RCV) استفاده شد. نتایج پژوهش نشان داد که LC50 آفت‌کش آمیتراز به تنهایی و به همراه PBO در فرم تابستانه پسیل معمولی پسته به ترتیب ۲۱۳/۷ و ۱۵۱/۸ میلی‌گرم بر لیتر بود. بر اساس این نتایج نسبت سینرژیستی (SR) برابر ۱/۳ به‌دست آمد. هم‌چنین $LC_{50}$ آفت‌کش آمیتراز به تنهایی و در زمان استفاده همراه با PBO در فرم زمستانه ۳۵۱/۶ ، ۹۵/۳ میلی‌گرم بر لیتر بود که از نظر آماری در کشندهٔ ۵۰ درصد فرم زمستانه اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد در زمان استفاده از آفت‌کش به تنهایی و به همراه PBO نشان داد و نسبت سینرژیستی در این فرم برابر با ۳/۶ به دست آمد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که حساسیت فرم زمستانه پسیل به آفت‌کش آمیتراز کم‌تر بوده و ترکیب PBO نقش سینرژیستی در افزایش سمیت این آفت‌کش دارد. هم‌چنین اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استراز نشان داد که بین فرم تابستانه و زمستانه پسیل اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد وجود دارد. چنین به نظر می‌رسد که یکی از دلایل حساسیت کم‌تر فرم زمستانه به آفت‌کش آمیتراز مربوط به افزایش فعالیت آنزیم استراز می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** پی‌پرونیل بوتوکساید، پسیل پسته، آمیتراز، فعالیت استراز

## مقدمه

پسته اهلی، *Pistacia vera* L.، یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی کشور است که ارزش اقتصادی بسیار بالایی دارد. درخت پسته از دیرباز در نقاط مختلف ایران کشت می‌شده و سطح زیرکشت آن افزایش چشم‌گیری داشته است. اکنون استان کرمان و در این استان، شهرستان رفسنجان مهم‌ترین منطقه پسته‌کاری ایران و جهان محسوب می‌شود (۲ و ۳۳). آفات پسته دارای تنوع گونه‌ای زیاد می‌باشند و خسارت شماری از آن‌ها به گونه‌ای جدی تولید این محصول را کاهش می‌دهد. بی‌تردید پسیل معمولی پسته، *A. pistaciae* (Hem: Aphalaridae)، یکی از مهم‌ترین آفات پسته در ایران است و بیش‌ترین تأکید برنامه‌های مدیریتی آفات در باغ‌های پسته را به خود معطوف کرده است. پسیل معمولی پسته، در بیش‌تر مناطق پسته‌کاری دنیا مانند ایران، ترکیه، عراق، ارمنستان و ترکمنستان و هم چنین نواحی مدیترانه همانند سوریه و یونان پراکنش دارد (۸، ۱۶، ۲۵ و ۲۹). در بین پسیل‌های پسته ایران این گونه غالب بوده و به سبب پراکنش بالا و خسارت فراوان آن در کشور «پسیل معمولی پسته» نامیده شد. این آفت بین پسته‌کاران استان کرمان به‌نام « شیره خشک» مشهور است. برای مهار خسارت این آفت، گاهی درختان پسته را تا بیش از شش مرتبه در سال سم پاشی می‌کنند (۵). این عمل سبب افزایش میزان مصرف آفت‌کش‌ها و آلودگی محیط زیست می‌شود. از جمله آفت‌کش‌هایی که برای کنترل پسیل معمولی پسته در باغ‌های پسته مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به ترکیبات فسفره آلی (فوزالون (زولون®)، دیازینون، اتیون و کلرپایریفوس)، پایریتروئیدی (فن والریت و پرمترین)، تنظیم‌کننده‌های رشد (هگزافلوموران (کنسالت®) و تفلوبنزوران+فوزالون (مارشال®)، فرامیدین‌ها (آمیتراز (میتاک®) و جدیداً ترکیبات نیکوتینوئیدی (ایمیداکلوپرید (کونفیدور®)، استامی‌پرید (موسپیلان®)، تیاکلوپرید (کالیپسو® و بیسکایا®) و کنه‌کش (اسپیرودایکلوفن (انویدور®) اشاره کرد (۲۴). توانایی تولیدمثل بالا، طول دوره رشدی کوتاه و تعداد نسل زیاد پسیل‌ها و از طرفی سمپاشی‌های بیش از اندازه در طول یک فصل جهت کنترل آن‌ها، پتانسیل مقاوم شدن پسیل‌ها را در برابر آفت‌کش‌ها افزایش می‌دهد (۳۵). آفت‌کش آمیتراز از گروه آفت‌کش‌های فرامیدینی است که در سطح وسیع برای کنترل پسیل

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان
(*-نویسنده مسئول: (Email: a.alizadeh@vru.ac.ir
۳- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه گیلان

معمولی پسته استفاده می‌شود که این آفت‌کش اثر سمی خود را با پیوند شدن به گیرنده‌های اکتوپامین موجود در سیستم عصبی مرکزی و احتمالاً با مهار مونو آمین اکسیدازها روی گونه‌های آفت اعمال می‌کند (۲۰ و ۲۱). علیزاده و همکاران (۴) نشان دادند که جمعیت پسیل معمولی پسته رفسنجان دارای نسبت مقاومت ۱۲برابری نسبت به جمعیت بم به این آفت‌کش می‌باشد. هم‌چنین نشان داده شده است که ساز و کار مقاومت به آمیتراز در جمعیت مقاوم پسیل مربوط به بیش‌بود فعالیت آنزیم استراز است (۷). یکی از راهکارهای مدیریت مقاومت آفات به آفت‌کش‌ها استفاده از سینرژیست‌ها می‌باشد (۲۷). از مهم‌ترین ترکیبات سینرژیست که مطالعات زیادی روی آن انجام شده است، پی‌پرونیل بوتوکساید (PBO) از مشتقات متیلن دی‌اکسی فنیل است. این ترکیب پس از وارد شدن به بدن حشره به کمک سیستم مونواکسیژناز به رادیکال فعال تبدیل می‌شود که این رادیکال‌ها تمایل زیادی به ایجاد کمپلکس با یون آهن موجود در سیتوکروم $P_{450}$ دارند. با ایجاد این کمپلکس فعالیت سیستم اکسید کننده متوقف می‌شود. با استفاده از سینرژیست‌ها می‌توان فرایند متابولیسم حشره‌کش‌ها را مشخص نمود (۳۴). باتوجه به اهمیت موضوع مقاومت حشرات به حشره‌کش‌ها و به اثبات رسیدن آن در مورد پسیل معمولی پسته و مشخص شدن ساز وکارهای مقاومت متابولیکی برای این آفت، انجام بررسی‌هایی در ارتباط با شکستن مقاومت و به‌عبارت دیگر افزایش حساسیت جمعیت مقاوم پسیل به آمیتراز، ضروری به‌نظر می‌رسد که در این پژوهش تاثیر سینرژیست PBO بر سمیت آفت‌کش آمیتراز و تفاوت حساسیت فرم‌های تابستانه و زمستانه پسیل معمولی پسته به این آفت‌کش مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### هم‌سن سازی پسیل پسته

از آن‌جایی که جهت آزمایش‌های زیست‌سنجی به جمعیت هم‌سن نیاز است، ابتدا تعدادی از برگ‌های آلوده به پسیل از باغ مورد نظر واقع در قسمت مرکزی شهرستان رفسنجان و به مختصات جغرافیایی "۴۲/۳۱۶۴ '۲۳ °۳۰ شمالی و "۵۱/۱۱۷۷ '۵۶ °۵۵ شرقی، که گزارش مقاومت به آمیتراز برای آن به ثبت رسیده بود جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد (۴). پس از حذف حشرات کامل از روی برگ‌ها در اتاق رشد با دمای ۲±۲۶ سلسیوس، رطوبت ۵ ± ۴۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی به ۸ ساعت تاریکی قرار داده و برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت نگه‌داری شدند، حشرات کاملی که ظاهر می‌شدند کم‌تر از ۲۴ ساعت با هم اختلاف داشته و هم‌سن‌سازی به این صورت انجام شد.

### آزمون‌های زیست سنجی

آزمون مقدماتی جهت تعیین دامنه غلظت‌های پایین و بالا که تلفاتی بین ۲۵ تا ۷۵ درصد ایجاد می‌کنند، انجام شد. حشره‌کش مورد استفاده در زیست‌سنجی به صورت ماده تکنیکال آمیتراز ۹۸ درصد از شرکت گیاه (وارداتی از کشور چین) تهیه شد. در زیست سنجی، از روش باقیمانده در لوله شیشه‌ای[1] (RCV) مطابق روش بوئس و همکاران (۱۵) و با کمی تغییرات توسط علیزاده و همکاران (۷) که برای پسیل پسته معرفی شده است انجام شد. در این روش مقدار۲۰۰ میکرولیتر از مخلوط آفت‌کش و پی‌پرونیل بوتوکساید (نسبت ۱:۱) را به داخل لوله‌های آزمایش (۶ سانتی‌متر طول و ۱ سانتی‌متر قطر) اضافه و لوله‌ها را روی سطح صاف مانند میز آزمایشگاه به آرامی غلطانده تا جدار داخلی لوله ها به خوبی آغشته به مخلوط شد. پس از خشک شدن لوله‌ها تعداد ۱۲ تا ۱۵ حشره کامل در داخل لوله‌های آزمایش رها و با پارافیلم دهانه لوله‌ها بسته شد. لوله‌های آزمایش در شرایط اتاقک رشد با دمای ۱±۲۸ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۴۵ درصد و دوره‌ی روشنایی ۱۶:۸ نگه‌داری شد و پس از ۸ ساعت میزان مرگ حشرات کامل پسیل شمارش و درصد تلفات طبق فرمول ابوت اصلاح (۶) و این آزمایش چندین بار انجام شد تا دامنه دزهای مورد نظر به‌دست آمد.

### آزمون‌های نهایی

پس از تعیین دامنه دزهایی که تلفات بین ۲۵ تا ۷۵ درصد ایجاد می‌کنند در فاصله لگاریتمی تعداد ۵ یا ۶ غلظت انتخاب گردید و داده‌ها جهت برآورد منحنی‌های غلظت-پاسخ (مرگ) مورد استفاده قرار گرفتند. بر این اساس، ۵ غلظت آمیتراز به تنهایی روی فرم تابستانه (۱۰،۳۰،۸۰،۱۴۰،۳۰۰)، ۵ غلظت آمیتراز همراه با PBO روی فرم تابستانه (۴۰۰،۲۵۰،۱۴۲،۱۳۲،۱۰۰) و ۵ غلظت آمیتراز به تنهایی روی فرم زمستانه (۱۰۰۰، ۶۰۰،۳۹۸، ۱۵۸، ۱۰۰) بر حسب میلی‌گرم بر لیتر مورد بررسی قرار گرفت. روش تیمار کردن، مشابه آزمون‌های مقدماتی که در بالا شرح داده شد. غلظت مربوط به سینرژیست PBO غلظتی که تلفاتی درحدود تلفات شاهد داشت (۲ میلی‌گرم بر لیتر) بود. در این آزمایش حداقل ۳۰۰ حشره مورد آزمون قرار گرفت و برای هر غلظت چهار تکرار در نظر گرفته و در هر تکرار حداقل ۱۵ عدد حشره کامل هم‌سن استفاده گردید.

### آزمون‌های بیوشیمیایی

#### تهیه عصاره آنزیمی

تعداد ۲۰۰ عدد حشره کامل در ۲۰۰ میکرو لیتر بافر ۰/۱ مولار فسفات با PH ۷ حاوی ترایتون X-100 با استفاده از همگن‌ساز،

1- Residual Contact Vial

همگن و در g ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول رونشین به میکروتیوب‌های جدید منتقل شده و برای انجام آزمون‌های بیوشیمیایی در ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد (۳۲). اندازه‌گیری غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد (۱۳) و غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد صورت گرفت.

## اندازه‌گیری فعالیت استراز

فعالیت استرازهای عمومی مطابق روش ون اسپرن (۳۸) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت استرازها، از سوبسترای آلفا نفتیل استات استفاده گردید. بدین ترتیب که درون چاهک‌های میکروپلیت مقدار ۱۰ میکرولیتر از محلول رونشین رقیق شده با ۳۵ میکرولیتر سوبسترا در دمای ۲۳ درجه سلسیوس (در تیمارهای شاهد به جای محلول رونشین از ۱۰ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار استفاده شد.) سپس ۵۰ میکرولیتر محلول رنگی فست بلو آر آر (فولکا، سوئیس) به آن اضافه شد و به وسیله میکرو پلیت ریدر مدل $EL_X$ 808 در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. آزمایش در ۳ تکرار انجام شد.

## تجزیه داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده از آزمایش‌های زیست‌سنجی با استفاده از نرم‌افزارPolo- Plus و روش تجزیه پروبیت تجزیه و تحلیل شد و روابط دز-پاسخ برای حشره‌کش آمیتراز روی پسیل معمولی پسته تعیین گردید. غلظت کشنده ۵۰درصد ($LC_{50}$) آفت‌کش آمیتراز و به همراه PBO در فرم تابستانه پسیل پسته و $LC_{50}$ آفت‌کش آمیتراز در فرم زمستانه تعیین و نسبت سینرژیستی به‌وسیله تقسیم غلظت کشندهٔ ۵۰ درصد آفت‌کش آمیتراز بر غلظت کشندهٔ ۵۰درصد آفت‌کش آمیتراز به همراه PBO به‌دست آمد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن توسط نرم افزار SPSS 19 و رسم نمودارها با نرم افزار SigmaPlot10.0 انجام شد.

# نتایج و بحث

نتایج حاصل از زیست‌سنجی آفت‌کش آمیتراز به تنهایی و به همراه PBO روی حشرات کامل فرم تابستانه و زمستانه به روش باقیمانده در لوله شیشه‌ای (RCV) در جدول۱ آمده است. نتایج نشان داد که دز کشنده ۵۰ درصد آفت‌کش آمیتراز به تنهایی و به همراه PBO در فرم تابستانه پسیل پسته به ترتیب ۲۱۳/۷ و ۱۵۱/۸ میلی‌گرم بر لیتر بود. با واردکردن هم‌زمان داده‌ها در برنامه پولو-پلاس، $LC_{50}$ فرم‌های مختلف پسیل مورد مقایسه قرارگرفت و نتایج نشان داد که دز کشنده‌ی ۵۰ درصد آفت‌کش آمیتراز به تنهایی در دو فرم تابستانه و زمستانه اختلاف معنی‌داری در محدوده اطمینان ۹۵درصد نشان می‌دهند در حالی‌که بین فرم تابستانه در زمان استفاده از PBO و آفت‌کش به تنهایی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و نسبت سینرژیستی (SR) در این فرم برابر ۱/۳ به‌دست آمد. نتایج زیست‌سنجی از اثر آمیتراز روی فرم زمستانه نشان داد که دز کشنده‌ی ۵۰ درصد آفت‌کش به تنهایی و به همراه PBO برابر ۳۵۱/۶، ۹۵/۳ میلی‌گرم بر لیتر بود که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد در زمان استفاده از آفت‌کش به تنهایی و به همراه PBO نشان داد و از این طریق نسبت سینرژیستی در این فرم برابر با ۳/۶ به دست آمد که نشان دهنده تاثیر سینرژیستی PBO در سمیت آمیتراز بود.

نتایج نشان داد که خطوط دز-پاسخ در زمان استفاده از آفت‌کش به همراه PBO و آفت‌کش به تنهایی در فرم تابستانه موازی نیستند و شیب خط در شرایط استفاده از PBO افزایش می‌یابد (شکل۱). در فرم زمستانه خطوط دز-پاسخ در زمان استفاده از PBO و آفت‌کش به تنهایی موازی می‌باشد و PBO با وجود اثر سینرژیستی تغییری در شیب خط دز- پاسخ نداشته است. در زمانی که PBO به همراه آفت‌کش آمیتراز استفاده می‌شود نتایج شیب خطوط دز- پاسخ در دو فرم نشان می‌دهد که این شیب در فرم زمستانه پایین‌تر است. پایین‌تر بودن شیب خطوط دز- پاسخ در این شرایط احتمالاً به دلیل وجود هتروژنتی یا تعداد افراد هتروزیگوت در این فرم است (۳۶).

هم‌چنین خطوط دز- پاسخ در فرم‌های زمستانه و تابستانه در زمان استفاده از آمیتراز به تنهایی موازی می‌باشند و یکی بودن خطوط احتمال یکسان بودن نحوه اثر آمیتراز را در این دو فرم نشان می‌دهد (۳۶).

با توجه به این‌که شیب خط، اثر متغیرهایی که در بروز پاسخ و چگونگی اندازه‌گیری آن دخالت دارند را نشان می‌دهد. وقتی پاسخ اثر متقابل یا برهم‌کنش مربوط به یک ترکیب یا یک محل تأثیر باشد (مثلاً با یک آنزیم یا یک واکنش متابولیکی خاص) در این صورت شیب خط زیاد خواهد بود و بر عکس وقتی ترکیب جایگاه تأثیر عمومی‌تری را داشته باشد، شیب خط کم می‌شود. با توجه به افزایش شیب خطوط دز-پاسخ در زمان استفاده از PBO به همراه آفت‌کش می‌توان اطلاعات اولیه از تغییر جایگاه اثر آفت‌کش را پیشنهاد نمود. هم‌چنین خطوط دز- پاسخ در فرم‌های زمستانه و تابستانه در زمان استفاده از آمیتراز به تنهایی موازی می‌باشند و یکی بودن خطوط احتمال یکسان بودن نحوه اثر آمیتراز را در این دو فرم نشان می‌دهد (۳۶).

اثر آمیتراز روی فرم تابستانه پسیل پسته توسط علیزاده و همکاران (۴) نیز بررسی شده است که نتایج زیست‌سنجی آن‌ها نشان داد که میزان $LC_{50}$ در جمعیت رفسنجان ۳۱۰/۵ میلی‌گرم در لیتر است، نتایج این پژوهش مقدار $LC_{50}$ ۲۱۳/۷ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد که با توجه به محدودهٔ اطمینان ۹۵ درصد نتایج با هم مطابقت

دارد. بررسی نوشته‌ها نشان می‌دهد که اطلاعاتی در زمینه اختلاف بین حساسیت فرم‌های مختلف پسیل معمولی پسته نسبت به دیگر آفت‌کش‌ها نیز وجود ندارد در حالی‌که حساسیت فرم‌های مختلف حشرات دیگر مانند پسیل گلابی *Cacopsylla pyri* به آفت‌کش‌های مختلف نیز نشان می‌دهد که فرم زمستانه حساسیت کم‌تری نسبت به فرم تابستانه دارد (۱۴).

با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش چنین به نظر می‌رسد که PBO نتوانسته حساسیت پسیل را به آفت‌کش آمیتراز افزایش دهد در حالی‌که ویژگی سینرژیستی آن در مطالعات زیادی نشان داده شده است. در بررسی‌هایی که روی یکی از جمعیت‌های مقاوم *Aedes aegypti* انجام شد نقش دو سینرژیست PBO و DEF را بر افزایش سمیت اندوکسیکارب، سی هالوترین، متومیل و تیودیکارب نشان داد (۹). پژوهش دیگر تأثیر سینرژیستی PBO را بر افزایش سمیت کلرپایریفوس و دی‌کلروس نشان داد (۴۱).

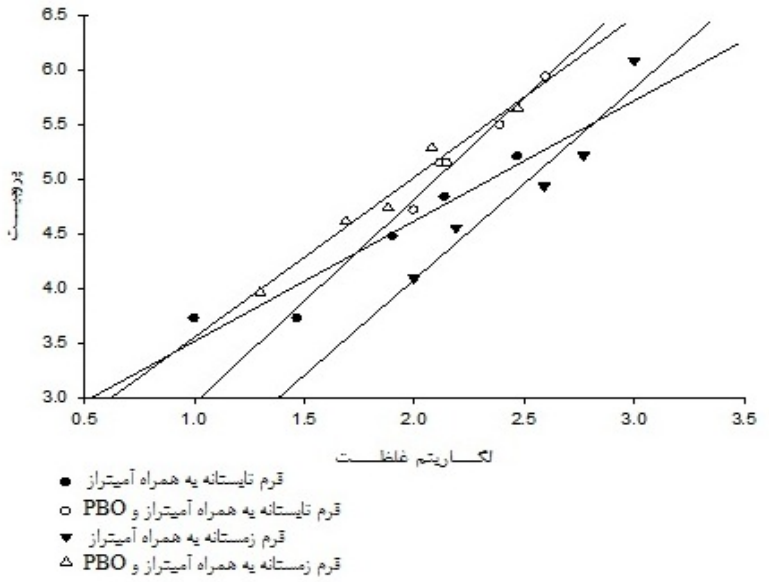
**جدول ۱- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط غلظت- پاسخ حشرات کامل فرم تابستانه و زمستانه *Agonoscena pistaciae* به حشره‌کش آمیتراز به تنهایی و به همراه سینرژیست PBO**

| فرم | آفت‌کش | تعداد حشره | $LC_{50}$ (محدوده اطمینان ۹۵ درصد) (میلی‌گرم بر لیتر) | شیب±SE | $\chi^2$ (df) * | SR** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| تابستانه | آمیتراز | ۴۲۲ | ۲۱۳/۷(۱۳۲-۳۵۷/۷)[c] | ۱/۳۵±۰/۳۸ | ۱/۸(۳) | - |
| | آمیتراز+PBO | ۳۷۳ | ۱۵۱/۸(۱۱۳/۸-۱۸۸/۴)[abc] | ۲/۰۶±۰/۳۸ | ۱/۰۳(۳) | ۱/۳ |
| زمستانه | آمیتراز | ۳۶۵ | ۳۵۱/۶(۱۵۱/۱-۶۹۹/۷) [bc] | ۱/۶۷±۰/۲۳ | ۵/۹(۳) | - |
| | آمیتراز+PBO | ۴۱۴ | ۹۵/۳(۷۲/۲-۱۲۴/۶)[a] | ۱/۴ ±۰/ ۲ | ۱/۷(۳) | ۳/۶ |

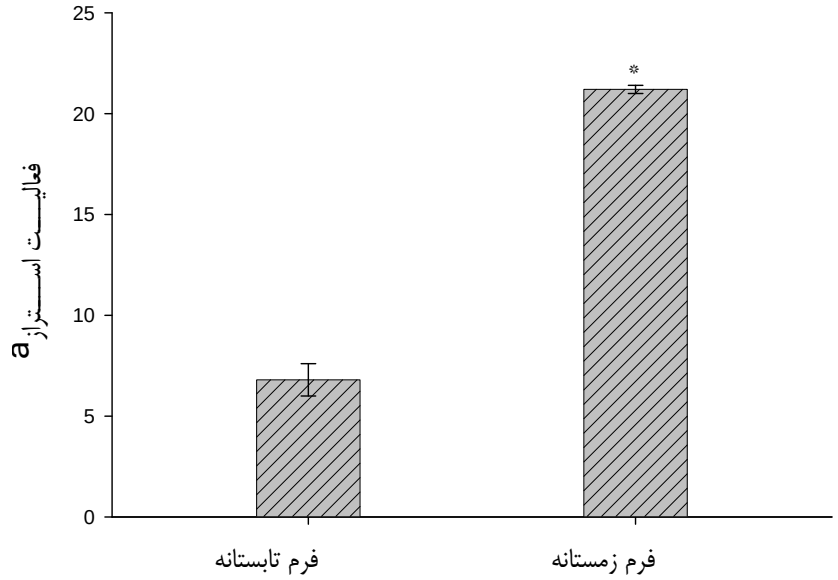
[a] مقدار $\chi^2$ در سطح ۵ درصد از مقدار کای اسکوار جدول کم‌تر است.

[b] نسبت سینرژیست: $LC_{50}$ آمیتراز به تنهایی تقسیم بر $LC_{50}$ آمیتراز به همراه سینرژیست.

*از نظر $LC_{50}$ با فرم تابستانه اختلاف معنی‌داری دارد.




**شکل ۱- خطوط دز- پاسخ فرم های تابستانه و زمستانه پسیل پسته در برابر حشره‌کش آمیتراز و خطوط دز - پاسخ فرم تابستانه در برابر آفت‌کش آمیتراز به همراه PBO**




**شکل۲- مقایسه فعالیت استرازها با سوبسترا آلفا نفتیل استات در فرم‌های تابستانه و زمستانه حشرات کامل *Agonoscena pistaciae***

[a] میکرومول نفتول در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین

[*] اختلاف معنی‌دار با فرم تابستانه با اطمینان ۹۵ درصد نشان می‌دهد

هم‌چنین لی و همکاران (۲۶) مطالعاتی در رابطه با مقایسه تأثیر PBO بر سمیت دیازینون در استرین‌های حساس و مقاوم *Haematobia irritans* انجام دادند به این نتیجه رسیدند که دزهای پایین (۱ درصد) PBO به‌طور مؤثری سمیت دیازینون را افزایش می‌دهد. اما مطالعات سینرژیستی نسبت به مقاومت فوزالون در جمعیت‌های مختلف سوسک کلرادو سیب‌زمینی نشان داد که سینرژیست PBO به‌طور قابل ملاحظه‌ای سمیت فوزالون را در استرین‌های حساس کاهش می‌دهد (۲۸). هم‌چنین نتایج به‌دست آمده توسط یانگ و همکاران (۴۰) نشان داد که در جمعیت‌های مقاوم *Locusta migratoria manilensis* تغییری در افزایش سمیت مالاتیون توسط PBO صورت نگرفت.

## فعالیت استرازی

فعالیت استرازی فرم تابستانه و زمستانه پسیل با استفاده از سوبسترای آلفا نفتیل استات سنجش شد و نتایج نشان داد که فعالیت استرازی مربوط به فرم تابستانه و زمستانه به ترتیب ۶/۸ و۲۱/۲ میکرومول نفتول در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین به دست آمد که اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) در فعالیت استرازی بین فرم‌ها وجود دارد. با توجه به آزمایش‌های زیست‌سنجی یکی از دلایل حساسیت کم‌تر فرم زمستانه به آفت‌کش آمیتراز، افزایش فعالیت این آنزیم می‌تواند باشد که باعث تجزیه یا منزوی شدن[1] حشره‌کش‌های دارای پیوند استری از جمله آمیتراز می‌شود. تاکنون مطالعاتی در رابطه با مقایسه فعالیت استرازها و نقش آن‌ها در مقاومت به آفت‌کش‌ها بین فرم‌های مختلف پسیل پسته صورت نگرفته است اما تحقیقات زیادی در رابطه با اهمیت استرازها و درگیر بودن این آنزیم‌ها در سم‌زدایی بین جمعیت‌های حشرات دیگر مورد بررسی قرار گرفته است. یافته‌های پژوهشگران روی پسیل گلابی *Psylla piricolla* و *Cacopsyllid pyri* درگیر بودن استرازها را در سم‌زدایی آفت‌کش‌ها نشان دادند (۱۲ و ۳۹). هم‌چنین باراتا و همکاران (۱۰) با استفاده از مهارکننده‌های اختصاصی کربوکسیل‌استراز نشان دادند که سمیت مالاتیون و کلرپایریفوس در *Daphnia magna* تا دو برابر افزایش یافت. در بررسی‌هایی که توسط ماتاوا و همکاران (۳۰) انجام شد افزایش فعالیت MFO و استرازهای نوع B را در سم‌زدایی پرمترین را روی *Anophele arabiensis* نشان داد. پژوهش دیگر (۴۲) با مقایسه بین دو استرین حساس و مقاوم *Lygus lineolaris* افزایش فعالیت آنزیم استراز را در مقاومت به مالاتیون را نشان داد. هم‌چنین صحراگرد و همکاران (۳) نقش استرازها را در سم‌زدایی آفت‌کش پرمترین روی شپشک آرد آلود مرکبات نشان دادند. در بررسی‌های دیگر، پژوهشگران به این نتیجه رسیدند که بالا رفتن کیفیت و کمیت آنزیم با تکثیر و یا تغییر بیان ژن کدکننده آنزیم رخ می‌دهد و افزایش

1- Sequesteration

تعداد ژن‌های کربوکسیل‌استراز مهم‌ترین سازوکار مقاومت *C. pipiens* به حشره‌کش‌های فسفره است (۱۷ و ۱۸). پژوهش‌های دیگر که توسط معماری‌زاده و همکاران (۳۱) انجام شد نقش استرازها را در مقاومت به آبامکتین در کنه دو نقطه‌ای را نشان دادند. هم‌چنین در مطالعاتی که توسط بهلول‌زاده و همکاران (۱) که روی جمعیت‌های مختلف عسلک پنبه انجام شد، به این نتیجه رسیدند که فعالیت استراز اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند.

با توجه به یافته‌های این پژوهش، حساسیت فرم زمستانه پسیل معمولی پسته نسبت آفت‌کش آمیتراز کمتر از فرم تابستانه می‌باشد و در کنترل شیمیایی با این آفت چنین به نظر می‌رسد که مبازه با فرم زمستانه که در ابتدای فصل صورت می‌گیرد چندان کارآیی ندارد از طرفی این کاهش حساسیت را می‌توان با بیش بود فعالیت آنزیم‌های استراز به‌عنوان مکانیسم سم‌زدایی توجیه نمود. مطالعات قبلی هم روی جمعیت‌های مختلف پسیل ثابت کرده که کاهش حساسیت به برخی آفت‌کش‌ها مانند فوزالون در ارتباط با فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا بویژه استرازها و گلوتاتیون اس‌ترانسفراز می‌باشد (۴ و ۷) از این‌رو برای پژوهش‌های آینده، بررسی زایموگرام استرازها در فرم‌های مختلف پسیل معمولی پسته و هم‌چنین بررسی نقش سینرژیست‌ها در مهار این آنزیم‌ها برای فهم بیش‌تر نقش PBO در مهار آنزیم‌های استراز، و فراهم آوردن راهکارهای مناسب در مدیریت مقاومت[1] برای این آفت کلیدی پیشنهاد می‌شود.

## سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از امکانات پژوهشی دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان انجام شده است. بدین‌وسیله از معاونت پژوهشی این دانشگاه سپاسگزاری می‌شود.

## منابع


۱- بهلول‌زاده م.، طالبی جهرمی خ. و حسینی نوه و. ۱۳۹۱. ارزیابی حساسیت سه جمعیت عسلک پنبه *Bemesia tabaci* (Hom.:Aleyrodidae) به حشره کش‌های ایمیداکلوپرید و آمیتراز. مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران، ۴۳: ۳۴۵-۳۵۶.

۲- شیبانی ع.، فریورمهین ح. و ازقندی ع. ۱۳۷۳. پسته و تولید آن در ایران. انتشارت موسسه تحقیقات پسته ایران، رفسنجان. ۷۳ صفحه.

۳- صحراگرد ا.، قدمیاری م. و معماری‌زاده ن. ۱۳۸۸. بررسی حساسیت دو جمعیت شپشک آرد آلود مرکبات *Planococcus citris* به آفت‌کش پرمترین. مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران، ۴۰: ۱۵-۲۵.

۴- علیزاده ع.، طالبی جهرمی خ.، حسینی نوه و. و قدمیاری، م. ۱۳۹۲. حساسیت جمعیت‌های مختلف پسیل معمولی پسته، *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Psyllidae) به آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید در استان کرمان. مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران، ۴۴: ۱۵۳-۱۶۱.

۵- علیزاده ع. ۱۳۹۰. بررسی مکانیسم‌های مقاومت جمعیت‌های مختلف پسیل معمولی پسته (*Agonoscena pistaciae* Burckhardt and Lauterer 1989) نسبت به حشره‌کش فوزالون در استان کرمان. رساله دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پردیس کرج ، ۱۱۶ صفحه.

6- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.

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

8- Anagnou Veroniki M., Papaioannou Souliotis P., Karanastasi E. and Giannopolitis C.N. 2008. New records of plant pests and weeds in Greece. Journal of Hellenic Plant Protectection, 1: 55-78.

9- Astari S. and Ahmad I. 2005. Insecticide resistance and effect of piperonyl butoxide as a synergist in three strains of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) on insecticides Permethrin, Cypermethrin and D-Allethrin. Pesticide Biochemistry and Physiology, 33, 2:73-79.

10- Barata C., Solayan A., and Porte C. 2004. Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorous (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna*. Aquatic Toxicology, 66: 125–139.

11- Benavides E., Rodrı´guez J.L. and Romero A. 2000. Isolation and partial characterization of the montecinos strain of *Boophilus microplus* (Canestrini 1877) multiresistant to different acaricides. Annals of the New York Academy of Sciences, 916: 668–671.

12- Berrada S., Fournier D., Cuany A., and Nguyen T.X. 1994. Identification of Resistance Mechanisms in a Selected Laboratory Strain of *Cacopsyllid pyri* (Homoptera: Psyllidae): Altered Acetylcholinesterase and Detoxifying Oxidases. Pesticide Biochemistry and Physiology, 48: 41-47.

13- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the


1- Pesticide Resistance Management

principle of protein binding. Analytical Biochemistry, 72: 248–254.
14- Bues R., Boudinhon L.,Toubon J.F., and Faivre F. 1999. Geographic and seasonal variability of resistance to inseticides in C*acopsylla pyri* L. (Hom: psyllidae). Journal of Applied Entomology, 123: 289-297.
15- Bues R., Boudinhon L., and Toubon L. 2003. Resistance of pear psylla (*Cacopsylla pyri* L.; Hom:Psyllidae) to deltamethrin and synergism with piperonyl butoxide. Journal of Applied Entomology, 127: 305-312.
16- Burckhardt D. and Lauterer P. 1989. Systmatics and biology of the Rhinocolinae (Homoptera: Psylloidea). Journal of Natural History, 23: 643-712.
17- Cao C.W., Zhang J., Gao X.W., Liang P. and Guo H.L. 2008. Overexpression of carboxylesterase gene associated with organophosphorus insecticide resistance in cotton aphids, *Aphis gossypii* (Glover). Pesticide Biochemistry and Physiology, 90: 75–180.
18- Cui F., Qu H., Cong J., Liu X.L., and Qiao C.L. 2007. Do mosquitoes acquire organophosphorus resistance by functional changes in carboxylesterases? FASEB Journal, 21: 3584-3591.
19- Devonshire A.L., and Moores G.D. 1982. A carboxylesterase with broad substrate specificity causes organophosphorus, carbamate, pyrethroid resistance in peach potato aphid (*Myzus persicae*). Pesticide Biochemistry and Physiology, 18: 235-246.
20- Dudai Y., Buxbaum J., Corfas G., and Ofarim M. 1987. Formamidines interact with *Drosophila* octopamine receptors, alter the flies behavior and reduce their learning ability. Journal of Comparative Physiology, 161: 739-746.
21- Evans P.D., and Gee J.D. 1980. Action of formamidine pesticides on octopamine receptors. Nature, 28: 60-62.
22- Furlong J. 1999. Diagnosis of the susceptibility of the cattle tick, *Boophilus microplus* to acaricides in Minas Gerais state, Brazil. In H.S., Fragoso, Z.V. Garcı´a (Eds.), IV Seminario Internacional de Parasitologı´a Animal Control de la resistencia en garrapatas y moscas de importancia veterinaria y enfermedades que trasmiten. 41–46. Puerto Vallarta Jalisco Me´xico.
23- Kunz S.E., and Kemp D.H. 1994. Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. Revue Scientifigue Et Technique De L Office International Des Epizooties, 13: 1249–1286.
24- 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 Pest Science, 75: 84-88.
25- Lauterer P., Broumas T., Drosopoulos S., Souliotis C., and Tsourgianni A. 1998. Species of the genus *Agonoscena*, pests on Pistacia and first record of *A. pistaciae* in Greece. Annales of l'Institut Phytopathologique Benaki (N.S.), 18: 135-141.
26- Li A.L., Guerrero F.D., and Pruett J.H. 2007. Involvement of esterases in diazinon resistance and biphasic effects of piperonyl butoxide on diazinon toxicity to *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). Pesticide Biochemistry and Physiology, 87:147-155.
27- Liu, N., and Yue, X. 2000. Insecticide resistance and crossresistance in the house fly (Diptera: Muscidae). Journal of Economic and. Entomology, 93: 1269.
28- Malek Mohamadi M., Mossadegh M.S., Hejazi M.J., Goodarzi M.T., Khanjani M., and Galehdari H. 2010. Synergism of resistance to phosalone and comparison of kinetic properties of acetylcholinesterase from four field populations and a susceptible strain of Colorado potato beetle. Pesticide Biochemistry and Physiology, 98: 254–262.
29- Mart C., Erkilic L., Uygun N. and Altin M. 1995. Species and pest control methods used in pistachio orchards of Turkey. Acta Horticul, 419: 379-386.
30- Matowo J., Kulkarni M.A., Mosha F.W., Oxborough R.M., Kitau J.A., Tenu F. and Rowland M. 2010. Biochemical basis of permethrin resistance in *Anopheles arabiensis* from Lower Moshi, north-eastern Tanzania. Malaria Journal, 9:193.
31- Memarizadeh N., Ghadamyari M., Sajedi R. H. and Jalali Sendi, J. 2010. Characterization of esterases from abamectin resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae* Koch (Acari:Tetranychidae). International Journal Acarology, 37: 271-281.
32- Rauch N., and Nauen R. 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross- resistance in *Bemesia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Insect Biochemistry and Physiology, 54: 165-176.
33- Razavi S. 2005. Pistachio production, Iran vs. the world. In: Proceedings of the 4th International Symposium on Pistachios and Almonds. ISHS-Tehran, Iran, 209: 22-25.
34- Scott J.G. 1999. Cytochromes P450 and insecticide resistance. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 29: 757-777.
35- Scott J.G. 1990. Investigating mechanisms of insecticide resistance: Methods, strategies and pitfalls. In: Pesticides resistance in arthropods, R.T. Roush and E. Tabashnik (Eds.). Chapman and hall Newyork and Landon, 39- 57.
36- Robertson J. L. 2007. Pesticide Bioassay with Arthropods. CRC press. USA, 127.
37- Strydom T. and Peter R. 1999. Acaricide and *Boophilus* spp. Resistance in South Africa. In H.S., Fragoso, Z.V. Garcı´a, (Eds.), IV Seminario Internacional de Parasitologı´a Animal Control de la resistencia en garrapatas y moscas de importancia veterinaria y enfermedades que trasmiten. pp. 41–46. Puerto Vallarta Jalisco Me´xico.
38- Van Asperen K. 1962. A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. Journal of Insect

Physiology, 8: 401-416.
39- Van de Baan H.E., and Croft B.A. 1990. Factors influencing insecticide resistance in *Psyllid pyricola* (Homoptera: Psyllidae) and susceptibility in the predator *Deraeocoris brevis* (Heteroptera: Miridae). Environmental Entomology, 19: 1223-1228.
40- Yang M.L., Zhang J.Z., Zhu K.Y., Xuan T., Liu X.J., and Guo Y.P. 2009. Mechanism organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). Archives of insect biochemistry and phisyology, 71: 3–15.
41- YuXian H., Jian H., QiYong W. and ZhiSheng L. 2008. Biochemical mechanisms of resistance to chlorpyrifos and dichloruos in field populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) B-biotype. Acta Entomologica Sinica, 51: 384-389.
42- Zhu Y.C., Snodgrass G., and Chen M.S. 2006. Comparative study on glutathione s-transferase activity, cDNA, and gene expression between malathion susceptible and resistant strains of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 87: 62-72.