

حساسیت جمعیت‌های مختلف پسیل معمولی پسته، *Agonoscena pistaciae* (Hem.: Psyllidae) به آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید در استان کرمان

علی‌علیزاده^{۱*}، خلیل طالبی جهرمی^۲، وحید حسینی نوه^۳ و محمد قدمیاری^۴
۱، استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، ۲ و ۳، استاد و دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۴، دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان
(تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۳۱ - تاریخ تصویب: ۹۲/۳/۷)

چکیده

پسیل معمولی پسته، *Agonoscena pistaciae* Burckhardt & Lauterer، یکی از مهمترین آفات پسته است که پوره‌ها و حشرات کامل از شیره گیاهی تغذیه می‌کنند و سبب کاهش رشد، ریزش جوانه‌های گل و کاهش محصول می‌شوند. توانایی تولید مثل بالا و طول دوره رشدی کوتاه استعداد مقاوم شدن این آفت را در برابر حشره‌کش‌ها بالا می‌برد. در این پژوهش حساسیت جمعیت‌های مختلف *A. pistaciae* به حشره‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید در شرایط آزمایشگاه مورد آزمون قرار گرفت. ۹ جمعیت پسیل پسته از مناطق پسته‌کاری رفسنجان، انار، بم، کرمان، شهرابک، سیرجان، پاریز، پاقلعه و هرات در استان کرمان جمع‌آوری شدند و زیست‌سنجی به روش غوطه‌وری پوره‌های سن ۵ در محلول‌های آفت‌کش انجام شد. نتایج زیست‌سنجی نشان داد که جمعیت‌های مختلف پسیل پسته حساسیت متفاوتی نسبت به این آفت‌کش‌ها نشان می‌دهند به طوری که کمترین و بیشترین LC_{50} برای آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید به ترتیب در جمعیت‌های بم (۱۳/۹ و ۱۷/۱ میلی‌گرم در لیتر) و رفسنجان (۳۱۰/۵ و ۴۶/۳ میلی‌گرم بر لیتر) بدست آمد. در بین جمعیت‌های پسیل جمع‌آوری شده از باغ‌های پسته، بیشترین نسبت مقاومت برای آفت‌کش‌های آمیتراز (۲۲/۳ برابر) و ایمیداکلوپرید (۲/۷ برابر) مربوط به جمعیت رفسنجان بود. الگوی پراکنش باند گلوکاتیون اس‌ترانسفراز در جمعیت‌های مختلف با هم مقایسه شد و نتایج نشان داد که غلظت و تحرک الکتروفورزی باندها در جمعیت‌های رفسنجان و بم (حساس) متفاوت است.

واژه‌های کلیدی: زایموگرام گلوکاتیون اس- ترانسفراز، نسبت مقاومت، *Agonoscena pistaciae*

Agonoscena pistaciae Burckhardt & Lauterer (Hom.: Psyllidae)، یکی از مهمترین آفات پسته است که در بیشتر مناطق پسته‌کاری دنیا مانند ایران، ترکیه، عراق، ارمنستان و ترکمنستان و همچنین نواحی مدیترانه همانند سوریه و یونان پراکنش دارد (Burckhardt & Lauterer 1989; Lauterer et al., 1998;)

مقدمه

پسته اهلی، *Pistacia vera*، یکی از محصولات مهم کشاورزی کشور است که ارزش اقتصادی بسیار بالایی دارد و اکنون استان کرمان و در این استان، شهرستان رفسنجان مهم‌ترین منطقه پسته‌کاری ایران و جهان محسوب می‌شود (Razavi 2005). پسیل معمولی پسته،

آفت به حشره کش فوزالن نشان دادند که فعالیت آنزیم استراز در جمعیت مقاوم (رفسنجان) حدود ۲ برابر جمعیت حساس (بم) است. همچنین فعالیت آنزیم‌های گلوکاتایون اس ترانسفراز و سیتوکروم P₄₅₀ در جمعیت مقاوم بالاتر بود. آفت کش آمیتراز از گروه آفت کش‌های فرمامیدینی است که در سطح وسیع برای کنترل پسیل استفاده می‌شود. همچنین از این آفت کش در مناطق مختلف جهان برای کنترل کنه‌های دامی استفاده می‌شود و مطالعات مقاومت کنه دامی *Boophilus microplus* به این کنه کش در بسیاری از کشورها مانند استرالیا (Kunz & Kemp 1994)، کلمبیا (Benavides et al., 2000)، آفریقای جنوبی (Strydom & Peter 1999) و برزیل (Furlong 1999) به ثبت رسیده است. سمیت آمیتراز روی بندپایان در ارتباط با گیرنده‌های اکتوپامین در سامانه عصبی مرکزی می‌باشد (Evans & Gee 1980) و این امکان وجود دارد که سبب مهار اکسیدازهای مونوآمین نیز شود (Atkinson et al., 1974). از مکانیسم‌های مقاومت به آمیتراز در کنه دامی *B. microplus* که به آن اشاره می‌شود، جهش‌های نقطه‌ای در مکان هدف آن یا تغییر در گیرنده‌های اکتوپامین می‌باشد، هرچند که به نقش آنزیم‌های استراز و مونوآکسیژنار نیز پرداخته شده است (Li et al., 2004). یکی دیگر از حشره کش‌های نسبتاً جدید که امروزه برای کنترل پسیل پسته بکار می‌رود، ایمیداکلوپرید است که مقاومت برخی حشرات به این حشره کش نیکوتینوئیدی در برخی موارد گزارش شده است (Zhao et al. 1995; 2000; Olson et al. 2000); اما پژوهشی در این ارتباط روی پسیل پسته انجام نشده است.

با توجه به اهمیت موضوع مقاومت حشرات به حشره کش‌ها و مطرح شدن آن در مورد پسیل معمولی پسته و نیز بدین علت که تا کنون پژوهشی در جهت تعیین مقاومت این آفت به حشره کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید در ایران و دنیا انجام نشده است، تعیین حساسیت جمعیت‌های مختلف پسیل نسبت به این آفت کش‌ها در استان کرمان که به‌عنوان قطب پسته کاری ایران شناخته می‌شود، ضروری به نظر می‌رسد که در این پژوهش حساسیت ۹ جمعیت پسیل

(Mar et al., 1995; Anagnou-Veroniki et al., 2008) در بین پسیل‌های پسته ایران پسیل معمولی پسته گونه غالب و زیان‌بارترین آفت پسته به‌شمار می‌رود که پوره‌ها و حشرات کامل این آفت با فرو بردن قطعات دهانی درون برگ‌ها از شیر گیاهی تغذیه می‌کنند و از این طریق سبب کاهش کیفی و کمی محصول پسته می‌شوند و بین پسته کاران استان کرمان به نام «شیره خشک» مشهور است (Samih et al., 2005). این آفت در شرایط رفسنجان ۶ نسل کامل و یک نسل ناقص در سال دارد (Hasani et al., 2009) و برای مهار خسارت این آفت گاهی درختان پسته را تا شش مرتبه در سال سمپاشی می‌کنند. این عمل سبب افزایش میزان مصرف آفت کش‌ها و آلودگی محیط زیست می‌شود. از ترکیبات آفت کش مورد استفاده در باغ‌های پسته برای کنترل پسیل پسته می‌توان به ترکیبات فسفره آلی (فوزالون (زولون[®]، دیازینون، اتیون و کلرپایریفوس)، پایرتروئیدی (فن والریت و پرمترین)، تنظیم کننده‌های رشد (هگزافلوموران (کنسالت[®]) و تفلوبنزوران+فوزالن (مارشال[®]))، فرمامیدین‌ها (آمیتراز (میتاک[®]) و جدیداً ترکیبات نیکوتینوئیدی (ایمیداکلوپرید (کونفیدور[®]))، استامی‌پرید (موسپیلان[®]))، تیاکلوپرید (کالیپسو[®]) و بیسکایا[®]) و کنه کش (اسپیرودایکلوفن (انویدور[®])) اشاره کرد (Lababidi 2002).

توانایی تولید مثل 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 آفت کش‌ها افزایش می‌دهد (Berrada et al., 1995). امروزه با توجه به تعدد سمپاشی‌ها و کارا نبودن برخی از آفت کش‌ها روی این آفت، بحث مقاومت پسیل به برخی از حشره کش‌ها مطرح است. حساسیت جمعیت‌های مختلف پسیل پسته تنها به حشره کش فوزالن که به‌عنوان یکی از با سابقه‌دارترین آفت کش‌ها در کنترل پسیل پسته است، متمرکز شده است به طوری که پژوهش‌های قبلی در استان کرمان نشان داد که جمعیت رفسنجان حساسیت کمتری به این حشره کش دارد (Talebi et al., 2001; Alizadeh et al., 2011). تعیین سازوکارهای متابولیکی درگیر در مقاومت این

گلدان‌های پسته در گلخانه منتقل شد (جدول ۱). گلدان‌های آلوده در قفس‌های چوبی (۵۰×۶۰×۸۰ cm) پوشیده با توری (مش ۴۰) در اتاق رشد با دمای 26 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت 45 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی به ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. جهت تهیه پسیل‌های هم‌سن مورد نیاز برای آزمایش‌ها، ۲۰ تا ۲۵ جفت پسیل بالغ را در قفس‌های از جنس PVC استوانه‌ای (۱۲×۳۰ cm) روی نهال پسته که نزدیک ۶ ماه و حدود ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر طول داشتند به مدت ۲۴ ساعت نگهداری و از تخم‌های آنها جهت تهیه پوره‌های هم‌سن استفاده شد.

پسته از استان کرمان نسبت به دو آفت‌کش آمیتراز و ایمیداکلوپرید مورد آزمایش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش پسیل پسته

جهت پرورش این حشره از نهال‌های پسته رقم بادامی ریز زرنندی استفاده شد که این نهال‌ها در درون گلدان‌های پلاستیکی (۳۵×۷ cm) و در شرایط مناسب گلخانه پرورش داده شدند. پسیل پسته از باغ‌های آلوده در شهرستان‌های رفسنجان، کرمان، انار، بم، شهرابک، هرات، سیرجان و منطقه پاریز و پاقلعه جمع‌آوری و روی

جدول ۱- تاریخ، محل جمع‌آوری، نام اختصاری و مختصات جغرافیایی جمعیت‌های مورد آزمون در زیست‌سنجی

مختصات جغرافیایی	نام اختصاری جمعیت	محل جمع‌آوری	تاریخ جمع‌آوری
30°23'42.3164"N 55°56'51.1177"E*	RF	رفسنجان	۱۳۸۸/۳/۴
30°45'30.0913"N 55°20'32.7347"E	AN	انار	۱۳۸۸/۳/۴
29°20'13.4401"N 57°56'36.0733"E	BA	بم	۱۳۸۸/۳/۱۰
30°9'31.6195"N 56°47'32.2019"E	KR	کرمان	۱۳۸۸/۳/۱۰
30°3'14.1829"N 55°7'51.3822"E	SH	شهرابک	۱۳۸۸/۳/۱۲
30°3'45.4061"N 54°26'29.648"E	H	هرات	۱۳۸۸/۳/۱۲
29°51'42.4282"N 55°44'54.105"E	PA	پاریز	۱۳۸۸/۳/۱۶
29°22'47.2145"N 55°40'46.4491"E	SI	سیرجان	۱۳۸۸/۴/۳
30°18'24.0786"N 55°25'44.8536"E	PGH	پاقلعه	۱۳۸۸/۴/۱۲

*N شمال و E شرقی

زیست‌سنجی ایمیداکلوپرید از کشور چین تهیه شدند. از آنجایی که ماده تکنیکال در آب حل نمی‌شود ابتدا مقدار مورد نظر جهت تهیه محلول پایه در یک میلی‌لیتر استون حل سپس جهت حل شدن این ترکیب در آب از توئین ۸۰ (با غلظت ۰/۲ درصد) استفاده شد. آزمون‌های مقدماتی جهت تعیین دامنه غلظت‌هایی که حدود ۲۵ تا ۷۵ درصد تلفات ایجاد می‌کردند، برای آزمون نهایی مشخص شدند. آزمایش زیست‌سنجی روی پوره‌های سن ۵ هم‌سن که کمتر از ۲۴ ساعت اختلاف بین آنها وجود داشت و شناسایی آنها با وجود دو لکه سیاه در دو طرف و لکه سیاه در انتهای بدن از دیگر سنین پورگی به آسانی قابل تفکیک هستند، صورت گرفت. روش تیمار کردن طبق روش Alizadeh et al. (2011) انجام شد که در این

زیست‌سنجی

با توجه به اینکه روش زیست‌سنجی بایستی قابل تکرار بوده و تا حد امکان از تجهیزات و وسایل ساده‌ای برای انجام آن استفاده شود. بنابراین، با انجام آزمایش‌های اولیه از بین روش‌های متداول دیسک برگگی، قطره‌گذاری، پاششی و غوطه‌وری، روش غوطه‌ور کردن حشرات در محلول سمی^۱ که تلفات در شاهد کمتر و همچنین انجام آن ساده‌تر بود، انتخاب و تمام آزمون‌های زیست‌سنجی روی جمعیت‌های مختلف با این روش انجام شد. حشره‌کش‌های مورد استفاده در زیست-سنجی به صورت ماده تکنیکال ۹۸٪ آمیتراز و ۹۵٪

1. Insect-dip method

(pH ۷) هموژنایز شدند. بعد از هموژنایز کردن نمونه‌ها در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. پیش از استفاده از محلول رونشین، میزان پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش *Lowry et al.* (1951) سنجش و میزان پروتئین نمونه‌ها با اضافه کردن بافر یکسان شد. الگوی فعالیت گلوکاتایون اس ترانسفراز در ژل آکریل آمید حاوی ۰/۰۴ درصد نشاسته ارزیابی شد، برای این منظور پس از پایان مرحله الکتروفورز، ژل در ۲۰ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۰/۱ مولار با pH ۶/۵ شامل ۸ میلی‌گرم سوبسترای ۱، کلرو و ۴ دی‌نیتروبنزن (CDNB) و ۱۴ میلی‌گرم گلوکاتایون احیاء شده (GSH) به مدت ۱۵ دقیقه انکوباسیون و از محلول لگول برای رنگ آمیزی استفاده شد. مواد این واکنش به صورت تازه تهیه شدند.

تجزیه داده‌ها

برای تجزیه داده‌ها از روش پروبیت و نرم افزار-Polo Plus version 2 استفاده شد و روابط غلظت- پاسخ برای حشره‌کش‌ها روی پسیل پسته تعیین گردید. غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید روی جمعیت‌های مختلف پسیل پسته تعیین و نسبت مقاومت (RR^2) هر حشره‌کش بوسیله تقسیم LC_{50} جمعیت تیمار شده بر LC_{50} جمعیت حساس به دست آمد.

نتایج و بحث

زیست‌سنجی

نتایج حاصل از زیست‌سنجی آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید به روش غوطه‌وری روی پوره‌های سن ۵ پسیل پسته مربوط به ۹ جمعیت در جدول‌های ۲ و ۳ آمده است. با توجه به این نتایج، سطوح مختلفی از حساسیت در بین جمعیت‌ها دیده می‌شود، به طوری که کمترین و بیشترین LC_{50} برای آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید به ترتیب در جمعیت‌های بم (۱۳/۹) و ۱۷/۱ (میلی‌گرم در لیتر) و رفسنجان (۳۱۰/۵) و ۴۶/۳ (میلی‌گرم بر لیتر) بدست آمد. نتایج نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری در سطح ۵ درصد ($p < 0.05$) بین

روش تعداد پوره‌ای که در هر تکرار مورد نظر بود با استفاده از قلم‌مو نرم روی پارچه‌ی توری (۴۰ مش) به اندازه (۵×۲cm) قرار داده و به مدت ۲ ثانیه در محلول حشره‌کش فرو برده شدند سپس پوره‌ها روی کاغذ صافی قرار گرفتند. قبل از تیمار کردن پوره‌ها دیسک‌های برگ‌ی به قطر ۵ سانتی‌متر برش و جهت تامین رطوبت، آنها روی کاغذ صافی مرطوب در پتری‌دیش قرار داده شدند. برای تهویه و جریان یافتن هوا، سوراخهایی روی درب ظروف تعبیه و با توری پارچه‌ای پوشیده شد. پوره‌ها پس از تیمار شدن روی دیسک‌های برگ‌ی منتقل و پتری‌ها در اتاقک رشد با دمای 26 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 45 ± 5 درصد و دوره‌ی روشنایی ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی) نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت میزان مرگ‌ومیر پوره‌های پسیل بدست آمد و درصد تلفات با استفاده از فرمول ابوت اصلاح شد. حشراتی که قادر به حرکت نبودند و علائم مسمومیت شدید نشان می‌دادند به عنوان مرده در نظر گرفته شدند. برای اثبات مرده بودن حشرات، اگر پس از تحریک کردن حشره با سوزن نمی‌توانستند به اندازه طول بدن خود حرکت کنند به عنوان مرده در نظر گرفته می‌شدند.

آزمون‌های نهایی

حداقل ۵ غلظت با فاصله لگاریتمی بین غلظت‌هایی که حدود ۲۵ تا ۷۵ درصد تلفات ایجاد می‌کردند، انتخاب گردید و داده‌ها جهت برآورد منحنی‌های غلظت- پاسخ (مرگ) مورد استفاده قرار گرفتند. اثر غلظت‌های انتخاب شده روی پوره سن ۵ به روش غوطه‌وری با استفاده از ماده تکنیکال آفت‌کش‌ها و مطابق روش ارایه شده در آزمون‌های مقدماتی انجام شد. برای هر آفت‌کش حداقل ۲۴۰ حشره مورد آزمون قرار گرفت به طوری که برای هر غلظت چهار تکرار در نظر گرفته و در هر تکرار حداقل ۱۲ عدد پوره سن ۵ به صورت کاملاً تصادفی استفاده گردید.

تهیه عصاره آنزیمی و Native PAGE¹ گلوکاتایون اس- ترانسفراز

۵۰ عدد حشره کامل هر یک از جمعیت‌های پسیل در ۲۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات سرد ۱۰ میلی‌مولار

حساسیت برای جمعیت‌های کرمان و رفسنجان و بیشترین حساسیت برای جمعیت جبال‌بارز وجود دارد و سطح مقاومت برای نمونه‌های جمع‌آوری شده از شهرستان رفسنجان نسبت به جمعیت حساس (جبال‌بارز) حدود ۲ برابر بود.

همچنین Alizadeh *et al.* (2011) با انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی فوزالن به دو روش غوطه‌وری و تماس با باقیمانده در لوله (RCV^1) روی جمعیت‌های مورد مطالعه در پژوهش حاضر نشان دادند که بیشترین نسبت مقاومت در جمعیت رفسنجان و حدود ۱۱ برابر جمعیت حساس (بم) است. در پژوهش Talebi *et al.* (2001) نسبت مقاومت از $1/3$ تا $1/8$ برابر دیده شد که این حساسیت جزئی جمعیت‌ها به حشره‌کش فوزالن احتمالاً^۲ به سبب اختلاف طبیعی بین آنها بوده است.

با توجه به اینکه رفسنجان منطقه اصلی پسته‌کاری در ایران است و از حشره‌کش‌های متنوع برای کنترل این آفت مهم استفاده می‌شود، به نظر می‌رسد تعدد و تداوم استفاده از حشره‌کش‌ها سبب بالا رفتن سطح مقاومت در این جمعیت در مقایسه با جمعیت‌های دیگر به آفت‌کش‌های مختلف شده است. جمعیت بم که به‌عنوان جمعیت حساس پسپیل پسته شناخته شد، از روی پسته‌های اهلی جمع‌آوری شد که هیچ‌گونه آفت‌کشی برای کنترل پسپیل پسته بکار نمی‌رفت. میزان شیب خطوط دز-پاسخ در جمعیت حساس نسبت به دیگر جمعیت‌ها کم‌تر بود که این نشانگر بیشتر بودن تعداد افراد هتروزیگوت (هتروژنتی^۲) در این جمعیت است و ثابت می‌کند فشار آفت‌کش در این جمعیت کمتر بوده است زیرا در صورتی که فشار آفت‌کش روی جمعیتی زیاد باشد احتمال انتخاب شدن هموزیگوت‌های مغلوب مقاوم بیشتر و در نتیجه امکان افزایش شیب دز-پاسخ وجود دارد. چنین نتیجه‌ای در مطالعات اولیه روی این جمعیت که برای تعیین حساسیت این جمعیت‌ها نسبت به آفت‌کش فوزالن انجام شده بود، نیز بدست آمد (Alizadeh *et al.*, 2011). نتایج زیست‌سنجی حساسیت به آفت‌کش آمیتراز نشان داد که

LC_{50} جمعیت بم و سایر جمعیت‌ها وجود دارد. بنابراین جمعیت بم با توجه به حساسیت بیشتر نسبت به این حشره‌کش‌ها، به عنوان جمعیت حساس در نظر گرفته شد و سایر جمعیت‌ها با آن مورد مقایسه قرار گرفتند و نسبت مقاومت (RR) براساس آن بدست آمد. در بین جمعیت‌های پسپیل جمع‌آوری شده از باغ‌های پسته بیشترین نسبت مقاومت برای آفت‌کش آمیتراز مربوط به جمعیت رفسنجان حدود ۲۲ برابر و کمترین مقدار آن مربوط به جمعیت شهرباک ($RR=1/6$) بدست آمد که جمعیت شهرباک با بم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. با توجه به جدول ۲ اختلاف معنی‌داری بین LC_{50} جمعیت‌های کرمان، هرات، پاریز و سیرجان وجود ندارد و این جمعیت‌ها از نظر حساسیت به آفت‌کش آمیتراز در یک گروه قرار گرفتند. به دلیل نسبت مقاومت بالاتر جمعیت رفسنجان، این جمعیت به عنوان مقاوم‌ترین جمعیت و جمعیت‌های پاقلعه، کرمان، هرات، سیرجان و انار نیز با نسبت‌های مقاومت $1/9$ تا $4/4$ برابر به عنوان جمعیت‌های با حساسیت متوسط به آمیتراز مشخص گردیدند. نتایج مربوط به حساسیت جمعیت‌های مختلف پسپیل پسته به آفت‌کش ایمیداکلوپرید نشان داد که کمترین و بیشترین میزان غلظت کشنده 50 درصد به ترتیب در جمعیت‌های بم ($17/1$ میلی‌گرم در لیتر) و رفسنجان ($46/3$ میلی‌گرم بر لیتر) بدست آمد. بیشترین نسبت مقاومت این حشره‌کش بر پایه جمعیت حساس (بم) در جمعیت‌های رفسنجان ($RR=2/7$) و انار ($RR=2/6$) بود و اختلاف معنی‌داری بین این جمعیت‌ها و جمعیت‌های کرمان، هرات، شهرباک و سیرجان دیده‌نشده. با توجه به نتایج حاصل از زیست‌سنجی آفت‌کش ایمیداکلوپرید روی جمعیت‌های مختلف، به نظر می‌رسد که مقاومت در مراحل اولیه خود می‌باشد و مطالعات بیشتر برای فهم سازوکارهای مقاومت به این آفت‌کش نیاز می‌باشد.

همچنین بررسی‌های مقاومت تقاطعی این حشره‌کش با حشره‌کش‌های نئونیکوتینوئیدی متداول در کنترل این آفت ضروری به نظر می‌رسد. حساسیت پسپیل پسته نسبت به آفت‌کش‌ها اولین بار توسط Talebi *et al.* (2001) در استان کرمان نسبت به حشره‌کش فوزالن مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج آنها نشان داد که کمترین

1. Residual contact vial
2. Heterogeneity

با هم مقایسه کرده و در نهایت برابر بودن و موازی بودن آنها را مشخص نماید. با وارد کردن همزمان داده‌ها، خطوط دز- پاسخ جمعیت‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد شیب خطوط دز- پاسخ جمعیت حساس (بم) با جمعیت مقاوم (رفسنجان) یکسان (موازی) نبود (جدول ۲ و ۳).

جمعیت‌های رفسنجان و انار در یک گروه و بین جمعیت‌های کرمان، هرات، پاریز و سیرجان اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) وجود ندارد که احتمالاً به دلیل شرایط یکسان کنترل پسپل پسته در این مناطق و ناشی از این است که فشار آمیتراز روی این جمعیت‌ها تا اندازه‌ای یکسان است. یکی از ویژگی‌های نرم افزار پولو- پی سی این است که می‌تواند خطوط دز-پاسخ را

جدول ۲- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط پاسخ پوره‌های سن ۵ جمعیت‌های

مختلف *Agonoscena pistaciae* به حشره‌کش آمیتراز

جمعیت ^a	تعداد حشره	LC ₅₀ (محدوده اطمینان ۹۵٪) (میلی‌گرم بر لیتر)	SE±شیب	X ² (df) ^b	RR ^c (محدوده اطمینان ۹۵٪)
RF	۲۹۰	۳۱۰/۵(۱۷۹/۲-۷۱۳/۵)	۱/۰۵±۰/۲	۰/۲ (۳)	۲۲/۳ ^{cd} (۱۰/۵-۴۷/۵)
AN	۳۲۴	۶۱/۴(۴۵-۹۱/۵)	۱/۳۲±۰/۲۵	۰/۸ (۳)	۴/۴ ^b (۲/۵-۷/۶)
BA	۲۹۸	۱۳/۹(۸/۷-۲۱/۴)	۰/۸۵±۰/۱۸	۱/۲(۴)	— ^d
KR	۲۸۴	۴۰/۸(۲۱/۶-۸۴)	۰/۷۸±۰/۱۴	۰/۸ (۳)	۲/۹ ^{bc} (۱/۴-۶/۳)
SH	۲۸۲	۲۲/۸(۱۵/۷-۳۴)	۱/۲۶±۰/۲۵	۱/۲(۳)	۱/۶ ^{cd} (۰/۹-۲/۸)
HE	۳۱۶	۴۰/۱(۲۳/۶-۶۵/۲)	۰/۸۷±۰/۱۹	۰/۷ (۳)	۲/۹ ^{bc} (۱/۵-۵/۵)
SI	۲۸۹	۴۸/۹(۲۴/۶-۱۱۰/۸)	۰/۹۷±۰/۱۴	۰/۶ (۳)	۳/۵ ^{bc} (۱/۵-۷/۹)
PA	۲۳۴	۴۴/۵(۲۲/۵-۷۱/۵)	۰/۹۱±۰/۱۵	۱/۲(۴)	۳/۲ ^{bc} (۱/۶-۶/۴)
PGH	۲۸۴	۲۶/۵(۱۶/۴-۴۳/۷)	۰/۹۲±۰/۱۶	۴(۵)	۱/۹ ^c (۱-۳/۵)

^a RF: رفسنجان؛ AN: انار؛ BA: بم؛ KR: کرمان؛ SH: شهر بابک؛ HE: هرات؛ SI: سیرجان؛ PA: پاریز؛ PGH: پاقلعه

^b مقدار χ^2 در سطح ۵٪ از مقدار کای اسکوار جدول کمتر است.

^c نسبت مقاومت: LC₅₀ جمعیت مشکوک به مقاومت تقسیم بر LC₅₀ جمعیت حساس (BA)

ستون‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (در سطح ۵ درصد).

جدول ۳- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط پاسخ پوره‌های سن ۵ جمعیت‌های

مختلف *Agonoscena pistaciae* به حشره‌کش ایمیداکلوپرید

جمعیت ^a	تعداد حشره	LC ₅₀ (محدوده اطمینان ۹۵٪) (میلی‌گرم بر لیتر)	SE±شیب	X ² (df) ^b	RR ^c (محدوده اطمینان ۹۵٪)
RF	۲۷۸	۴۶/۳(۲۵/۶-۶۰/۵)	۱/۶±۰/۳	۱/۲ (۳)	۲/۷ ^d (۲-۲/۷)
AN	۲۹۱	۴۵/۵(۳۵/۸-۵۷/۲)	۲/۲±۰/۳۶	۰/۵ (۳)	۲/۶ ^a (۱/۹-۳/۶)
BA	۲۹۴	۱۷/۱(۱۳/۴-۲۰/۶)	۱/۴±۰/۲۳	۲/۸(۳)	— ^c
KR	۲۶۵	۳۶/۹(۲۸-۵۰/۶)	۱/۷±۰/۳۲	۰/۴ (۳)	۲/۲ ^{ab} (۱/۵-۳/۱)
SH	۲۸۶	۳۶/۱(۲۶/۳-۵۲/۳)	۱/۳±۰/۲۴	۱ (۳)	۱/۲ ^{ab} (۱/۴-۳/۱)
HE	۲۶۸	۴۱/۷(۲۹/۶-۵۹/۹)	۲/۴±۰/۴	۳/۲ (۴)	۲/۴ ^{ab} (۱/۶-۳/۶)
SI	۲۹۲	۳۹/۵(۲۵/۸-۵۶)	۲/۳±۰/۳۵	۳/۱ (۳)	۲/۳ ^{ab} (۱/۷-۳)
PA	۲۸۴	۲۷/۳(۱۹/۵-۴۰/۷)	۱/۳±۰/۲۶	۱/۲ (۴)	۱/۶ ^b (۱/۱-۲/۴)
PGH	۲۷۶	۳۱/۵(۲۵/۵-۴۰/۷)	۱/۲±۰/۴	۱/۲ (۳)	۱/۸ ^b (۱/۴-۲/۵)

^a RF: رفسنجان؛ AN: انار؛ BA: بم؛ KR: کرمان؛ SH: شهر بابک؛ HE: هرات؛ SI: سیرجان؛ PA: پاریز؛ PGH: پاقلعه

^b مقدار χ^2 در سطح ۵٪ از مقدار کای اسکوار جدول کمتر است.

^c نسبت مقاومت: LC₅₀ جمعیت مشکوک به مقاومت تقسیم بر LC₅₀ جمعیت حساس (BA)

ستون‌های با حروف مشابه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (در سطح ۵ درصد).

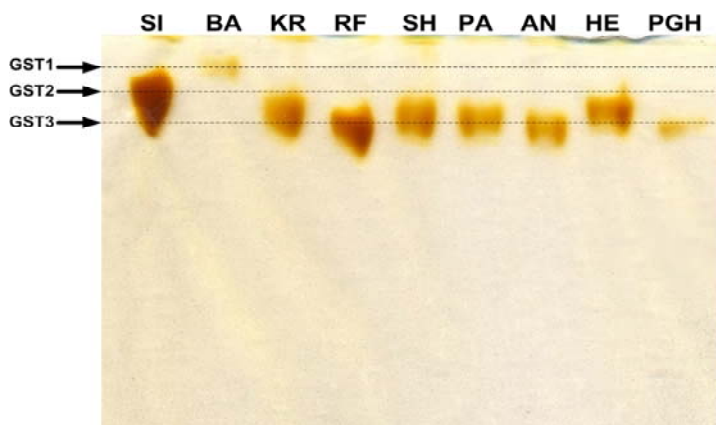
مکانیسم‌های متابولیکی مقاومت پسپل به حشره‌کش فورالن نشان دادند که میزان فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا (استرازها، گلوکاتایون اس‌ترانسفراز و سیتوکروم P₄₅₀) در جمعیت مقاوم (رفسنجان) بیشتر از جمعیت حساس (بم) است.

طبق گفته Robertson *et al.* (2007) تفاوت شیب خطوط، احتمالاً ناشی از تفاوت کمی و کیفی آنزیم‌های موثر در کاهش سمیت در جمعیت حساس نسبت به جمعیت مقاوم است که Alizadeh *et al.* (2011) این مطلب را تا اندازه‌ای به اثبات رساندند و بررسی

الگوی فعالیت گلوپروتئین اس‌ترانسفراز در ژل

با توجه به شکل ۱ الگوی پراکنش باند گلوپروتئین اس‌ترانسفراز در جمعیت‌های مختلف با هم متفاوت است و احتمالاً سه نوار مختلف از این آنزیم در پسیل پسته فعالیت دارند که با نام‌های GST1، GST2 و GST3 نامگذاری شدند. GST1 تنها در جمعیت بم فعال است و همچنین نوع ۲ و ۳ در این جمعیت هیچگونه فعالیتی نشان نداد. از طرفی الکتروفورز ژل نشان داد که غلظت باند در جمعیت‌های سیرجان و رفسنجان از دیگر جمعیت‌ها بیشتر است. تا کنون مطالعه‌ای در زمینه سازوکارهای مقاومت پسیل پسته به آفت‌کش آمیتراز انجام نشده است و تنها مکانیسم مقاومت به این آفت‌کش در کنه دامی *Boophilus microplus* مورد بررسی قرار گرفته است. Li et al. (2004) نشان دادند که استفاده از سینرژست DEM سبب افزایش میزان سمیت آمیتراز در جمعیت مقاوم کنه دامی *B. microplus* می‌شود و بدین وسیله اثبات کردند که گلوپروتئین اس‌ترانسفراز در مقاومت نقش دارد. هرچند که این مطالعه با مطالعه ما قدری متفاوت است. اما مطالعات پیشین روی جمعیت رفسنجان مشخص کرد که میزان فعالیت این آنزیم در این جمعیت حدود ۲ برابر جمعیت حساس است و ارتباط بین مقاومت به

آفت‌کش فوزالن و فعالیت این آنزیم مشخص شد (Alizadeh et al., 2011). (Alizadeh et al., 2011) نشان دادند که جمعیت رفسنجان که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت دارای مقاومتی حدود ۱۲ برابر نسبت به آفت‌کش فوزالن است. با توجه به این نتایج چنین به نظر می‌رسد که آنزیم گلوپروتئین اس‌ترانسفراز علاوه بر مقاومت پسیل به فوزالن، احتمالاً در مقاومت آن به آفت‌کش آمیتراز نیز درگیر است و در واقع یک مقاومت تقاطعی مثبت بین دو آفت‌کش وجود دارد. همان‌طور که در پژوهش‌های پیشین مقاومت تقاطعی بین برخی استرین‌های *B. microplus* که به آفت‌کش‌های فسفره مقاوم بودند و آمیتراز دیده شده است (Soberanes et al. 2002; Li et al. 2004). از آنجایی که گیرنده‌های اکتوپامین در سیستم عصب مرکزی حشرات به عنوان مهمترین مکان هدف آمیتراز شناخته شده‌اند (Evans & Gee 1980, Dudai et al. 1987)، برای پژوهش‌های آینده، بررسی سینرژست‌های مختلف جهت فهم بیشتر سازوکارهای متابولیسمی مقاومت پسیل پسته به آمیتراز و همچنین تعیین حساسیت مکان هدف این آفت‌کش که گیرنده‌های اکتوپامین می‌باشد، پیشنهاد می‌شود.



شکل ۱- زایموگرام گلوپروتئین اس‌ترانسفراز در جمعیت‌های مختلف *Agonoscena pistaciae*

(RF: رفسنجان؛ AN: انار؛ BA: بم؛ KR: کرمان؛ SH: شهرابک؛ HE: هرات؛ SI: سیرجان؛ PA: پاریز؛ PGH: پاقله)

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش نتایج حساسیت جمعیت‌های مختلف پسیل پسته به آفت‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید

نشان داد که میزان LC_{50} آفت‌کش آمیتراز در جمعیت رفسنجان حدود ۲۲ برابر جمعیت بم است و همچنین نسبت مقاومت در این جمعیت به آفت‌کش

پسیل پسته، این حشره برای سم‌زدایی از آنزیم‌های گلوکاتایون اس‌ترانسفراز استفاده می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور برای تامین مالی این پژوهش، طرح شماره ۸۶۰۹۵/۴۰ سپاسگزاری و تشکر می‌نمایند.

ایمیداکلوپرید حدود ۳ برابر بود و چنین به نظر می‌رسد که فشار آفت‌کش آمیتراز در این جمعیت‌ها بیشتر است. همچنین در این بررسی الگوی فعالیت گلوکاتایون اس‌ترانسفراز با استفاده از الکتروفورز نشان داد که باند شکل گرفته در جمعیت مقاوم با جمعیت حساس کاملاً متفاوت است. با توجه به این یافته‌ها چنین به نظر می‌رسد که با افزایش فشار آفت‌کش در جمعیت‌های

REFERENCES

1. Alizadeh, A., Talebi, Kh., Hosseinaveh, V. & Ghadamyari, M. (2011). Metabolic resistance mechanisms to phosalone in the common pistachio psyllid, *Agonoscaena pistaciae* (Hem.: Psyllidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101, 59-64.
2. Anagnou-Veroniki, M., Papaioannou-Souliotis, P., Karanastasi, E. & Giannopolitis, CN. (2008). New records of plant pests and weeds in Greece, 1990-2007. *Hellenic Plant Protection Journal*, 1, 55-78.
3. Atkinson, P. W., Binnington, K. C. & Roulston, W. J. (1974). High monoamine oxydase activity in the tick *Boophilus microplus*, and inhibition by chlordimeform and related pesticides. *Journal of the Australian Entomological Society*, 13, 207-210.
4. Benavides, E., Rodri'guez, J. L., 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.
5. Berrada, S., Nguyen, T. X., Lemoine, J., Vanpoucke, J. & Fournier, D. (1995). Thirteen pear species and cultivars evaluated for resistance to *Cacopsylla pyri* (Homoptera: Psyllidae), *Environmental Entomology*, 24, 1604-1607.
6. Burckardt, D. & Lauterer, P. (1989). Systematics and biology of the Rhinocolinae (Homoptera: Psylloidea). *Journal of Natural History*, 23, 643-712.
7. Dudai, Y., Buxbaum, J., Corfas, G. & Ofarim, M. (1987). Formamidines interact with *Drosophila* octopamine receptors, alter the flies behavior and reduce their learning ability. *Journal of Comparative Physiology A*, 161, 739-746.
8. Evans, P.D. & Gee, J.D. (1980). Action of formamidine pesticides on octopamine receptors. *Nature*, 28, 60-62.
9. 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. Garci'a (Eds.), IV Seminario Internacional de Parasitolog'ia Animal Control de la resistencia en garrapatas y moscas de importancia veterinaria y enfermedades que transmiten. (pp. 41-46). Puerto Vallarta Jalisco Me'xico.
10. Hasani, M. R., Nouri Ghanbalani, Gh., Eizadi, H. & Shojaei, M. (2009). Population fluctuations of pistachio psylla, *Agonoscaena pistaciae* (Hemiptera :Psyllidae), in Rafsanjan Region. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 40, 93-98. (In Farsi)
11. Kunz, S. E. & Kemp, D. H. (1994). Insecticides and acaricides: resistance and environmental impact. *Revue Scientifique Et Technique De L'Office International Des Epizooties*, 13, 1249-1286.
12. Lababidi, M. S. (2002). Effects of Neem Azal T/S and other insecticides against the pistachio psyllid *Agonoscaena targionii* (Licht.) (Homoptera, Psyllidae) under field conditions in Syria. *Journal of Pest Science*, 75, 84-8.
13. Lauterer, P., Broumas, T., Drosopoulos, S., Souliotis, C. & Tsourgianni, A. (1998). Species of the genus *Agonoscaena*, pests on Pistacia and first record of *A. pistaciae* in Greece. *Anales del Instituto de la Phytopathology*, 18, 135-141.
14. Li, A. Y., Davey, R. B., Miller, R. J. & George, J. E. (2004). Detection and characterization of amitraz resistance in the southern cattle tick, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 41(2), 193-200.
15. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-75.
16. Mart, C., Erkilic, L., Uygun, N. & Altin, M. (1995). Species and pest control methods used in pistachio orchards of Turkey. *Acta Horticulture*, 419, 379-386.

17. Olson, E. R., Dively, G. P. & Nelson, J. O. (2000). Baseline susceptibility to imidacloprid and cross resistance patterns in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) populations. *Journal of Economic Entomology*, 93:447-458.
18. Razavi, S. (2005) Pistachio production, Iran vs. the world. In Proceedings of the 4th International Symposium on Pistachios and Almonds. 22-25 May, ISHS-Tehran, Iran. 209pp.
19. Robertson, J. L., Russell, R. M., Preisler, H. K. & Savin, N. E. (2007). *Bioassays with arthropods*. CRC Press.
20. Samih, M. A., Alizadeh, A. & Saberi Riseh, R. (2005). *Pistachio pests and diseases in Iran and their IPM*. Jahad Daneshgahi Press, Tehran. (In Farsi)
21. Soberanes, N.C., Santamaria, M.V., Fragoso, H.S. & Garcia, Z.V. (2002). First case reported of amitraz resistance in the cattle tick *Boophilus microplus* in Mexico. *Te'c. Pecu. Me'x.* 40, 81-92.
22. Strydom, T. & Peter, R. (1999). Acaricide and Boophilus spp. Resistance in South Africa. In H.S., Fragoso, Z.V. Garcí'a, (Eds.), IV Seminario Internacional de Parasitología Animal Control de la resistencia en garrapatas y moscas de importancia veterinaria y enfermedades que transmiten. (pp. 41-46). Puerto Vallarta Jalisco Me'xico.
23. Talebi, Kh., Rahmani Moghaddam, M. & Moharramipour, S. (2001). Susceptibility of different populations of Pistachio Psylla *Agonoscaena pistaciae* to Phosalone insecticide in Kerman province. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 32, 495-500.
24. Wen, Z. M. & J. G. Scott (1997). Cross-resistance of imidacloprid in strains of German cockroach (*Blattella germanica*) and house fly (*Musca domestica*). *Pesticide Science*, 49, 367-371.
25. Zhao, G., Liu, W. & Brown, J. M. (1995). Insecticidal resistance in field and laboratory strains of western flower thrips (Thsanoptera: Thripidae). *Journal of Economic Entomology*, 88, 1164-1170.
26. Zhao, J. Z., Bishop, B. A. & Grafius, E. J. (2000). Inheritance and synergism of resistance to imidacloprid in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 93, 1508-1514.