مجله علوم كشاورزي ايران
جلد ۳۸، شماره ۲، سال ۱۳۸٦ (۱۸۹-۱۸۱)

بررسي سازوكار مقاومت شته سبز هلو ***Myzus persicae*** **(Sulzer)** به حشره كش هاي پيريميكارب و اكسي دي متون متيل

محمد قدمياري[۱]، خليل طالبي جهرمي[۲]، عليرضا بنداني[۳] ، مهران حبيبي رضايي[٤] و غلامرضا رسوليان[٥]
۱، ۲، ۳، ٥، دانشجوي دوره دكتري، استاد، دانشيار و استاد پرديس كشاورزي و منابع طبيعي
دانشگاه تهران ٤، استاديار پرديس علوم دانشگاه تهران
(تاريخ دريافت: ۸۴/۱۲/۲۸- تاريخ تصويب: ۸۵/۷/۱۹)

چكيده

شته سبز هلو يكي از آفات مهم كشاورزي در سرتاسر جهان مي‌باشد. به دليل استفاده مكرر و گسترده از تركيبات شيميايي، اين آفت مكانيسم‌هاي مختلف مقاومت به حشره كش‌ها را بروز داده است. در اين مقاله مكانيسم مقاومت به حشره كش‌هاي پريميكارب و اكسي دي متون متيل مورد بررسي قرار گرفت. زيست سنجي به روش قطره‌گذاري و با استفاده از ماده تكنيكال پيريميكارب و ماده فرموله شده اكسي دي متون متيل انجام شد. نتايج آزمايشات زيست سنجي روي ٦ جمعيت جمع آوري شده از استانهاي شمالي و شهرستان كرج نشان داد كه جمعيت‌هاي تالش، تيرتاش، پلنگر و كرج به حشره كش‌هاي پريميكارب و اكسي دي متون متيل حساس بودند. نتايج آزمايشات بيوشيميايي مشخص كرد كه در تيمار پيريميكارب دوز بازدارنده ۵۰ درصد آنزيم استيل كولين استراز (I_{50}) به ترتيب براي جمعيت‌هاي كرج، رشت و مقاوم $۱/۳٦٥\times۱۰^{-۸}$، $۱/۳٦٦\times۱۰^{-۸}$ و $۱/۸۹\times۱۰^{-۵}$ مولار است. همچنين در تيمار اكسي دي متون متيل دوز بازدارنده ۵۰ درصد آنزيم استيل كولين استراز به ترتيب براي جمعيت‌هاي كرج، رشت و مقاوم $۷/۵٦٦\times۱۰^{-۷}$، $۸/۲۳٦\times۱۰^{-۷}$ و $۲/۱۱\times۱۰^{-٦}$ مولار مي‌باشد. نسبت غيرحساس شدن آنزيم استيل كولين استراز جمعيت مقاوم نسبت به پيريميكارب و اكسي دي متون متيل به ترتيب ۱۳۸٤/٦ و ۲/۷ بود. نتايج نشان مي‌دهد كه آنزيم استيل كولين استراز جمعيت مقاوم، به اين حشره كش‌ها غيرحساس است.

واژه‌هاي كليدي: شته سبز هلو، پيريميكارب، اكسي دي متون متيل، استيل كولين استراز، مقاومت به حشره كشها

مقدمه

شته سبز هلو Myzus persicae Sulzer يكي از آفات مهم اقتصادي است كه در سرتاسر جهان پراكنش داشته و به طيف وسيعي از محصولات زراعي و گياهان زينتي حمله مي‌كند (۱). اين حشره از شيره گياهي تغذيه نموده و ضمن اينكه موجب ضعف گياه، ايجاد پيچيدگي در برگهاي جوان و ترشح عسلک مي‌شود، باعث انتقال بيش از يكصد نوع ويروس گياهي نيز مي‌گردد (۹). اين شته ناقل بيماري‌هاي ويروسي مانند ويروس پيچيدگي برگ سيب زميني، ويروس Y سيب‌زميني روي گياهان تيره Solanaceae و ويروسهاي زردي و زردي غربي چغندرقند روي گياهان تيره Chenopodiaceae و ويروسهاي موزاييک خيار و طالبي روي گياهان تيره Cucurbitaceae مي‌باشد (۲۰).

توانايي توليد مثل بالا و طول دوره رشدي كوتاه در اين آفت سبب شده است كه به بسياري از آفت كش‌ها مقاوم شود. بيشترين مورد مقاومت به حشره كش‌ها مربوط به شته

* نويسنده مسئول: خليل طالبی جهرمی تلفن: ۰۲۶۱-۲۸۱۸۷۰۵ E-mail: khtalebi@ut.ac.ir

سبز هلو مي‌باشد که بر اساس کتاب رکوردهاي حشرات رکورد دار مقاومت به حشره‌کش‌هاست (۲۱). در سايت بانک اطلاعات مقاومت بند پايان به آفت کش‌ها ليست کاملي از آفت کش‌هايي که اين حشره به آنها مقاومت نشان داده است ارايه شده است (۱۳). تا کنون مقاومت به آفت کش‌ها از ۳۱ کشور جهان گزارش گرديده است (۱). به دليل استفاده گسترده و مکرر از حشره کش‌ها اين آفت حداقل سه مکانيسم مختلف مقاومت را گسترش داده است که اين مکانيسم‌ها عبارتند از افزايش سطح آنزيم‌هاي استرازها (۷، ۸)، استيل کولين استراز تغييريافته (۱۵) و مقاومت در برابر اثر ضربه اي (kdr) (۱۱). در شته سبز هلو همبستگي مثبت بين فعاليت کربوکسيل استراز و مقاومت به حشره کش‌هاي فسفره در اوايل دهه ۱۹۷۰ گزارش شده بود (۱۹). بعداً مشخص گرديد که افزايش فعاليت استرازي به دليل توليد بسيار زياد آنزيم استراز E4 مي‌باشد که موجب مي‌گردد حشره‌کش‌هاي داراي پيوند استري تجزيه شده و حشره‌کش محصور[1] گردد. اين آنزيم خالص شده و خواص آن تعيين گرديده است و نشان داده شده که قادر است استرهاي حشره‌کش‌ها (شامل فسفره، کاربامات و پايريتروييد) را تجزيه کند. در مقاومترين کلني شته سبز هلو، E4 تا سه درصد وزن کل پروتئين شته را تشکيل مي‌دهد که ناشي از افزايش mRNA کد کننده E4 مي‌باشد (۵، ٦). مشخص شده است که استراتژي مصرف مخلوط حشره‌کش‌ها يا تناوب در مصرف آنها به عنوان وسيله غلبه بر اين نوع مقاومت کارساز نيست (٤). مقاومت مبتني بر استيل کولين استراز غيرحساس در شته سبز هلو اولين بار از يونان گزارش گرديد سپس اين آنزيم غيرحساس در جمعيت‌هايي از ژاپن و جنوب آمريکا مشاهده شد. اين مکانيسم باعث بروز مقاومت بالايي نسبت به حشره‌کش‌هاي دي متيل کاربامات مانند پيريميکارب و همچنين تري آزاميت مي‌گردد (۱۵).

از روش ساده Microtiter plate براي توصيف خصوصيات آنزيم استيل کولين استراز در حشرات انفرادي شته سبز هلو استفاده شد. در اين مطالعه ۲۱ نمونه از انگلستان، ۲٤ نمونه از قاره اروپا، ۱۹ نمونه از ايالات متحده، يک نمونه از چين، يک نمونه از استراليا و ۵ نمونه از ژاپن مورد بررسي قرار گرفت و مشخص شد که در بين اين نمونه‌ها، فقط ٤ نمونه از اروپا و ۳ نمونه از ژاپن داراي استيل کولين استراز غيرحساس مي‌باشند (۱٤).

تاکنون تحقيق مشخصي در زمينه مقاومت شته سبز هلو به حشره‌کش‌ها در ايران صورت نگرفته است. هدف از اين مطالعه جمع‌آوري اطلاعاتي در زمينه مقاومت به حشره‌کش‌هاي پيريميکارب و اکسي دي متون متيل با استفاده از آزمون‌هاي زيست سنجي و بيوشيميايي است. اين اطلاعات براي مديريت مقاومت بسيار مفيد خواهد بود.

مواد و روش‌ها

جمع آوري جمعيت‌هاي حساس و مقاوم به حشره کش

محل و تاريخ جمع‌آوري جمعيت‌هاي مورد آزمون در زيست سنجي در جدول ۱ آمده است.

جمعيت‌ها پس از جمع‌آوري به آزمايشگاه منتقل و روي گياهان کلزاي رقم بهاره (AGS) در شرايط گلخانه پرورش داده شدند.

زيست سنجي

مواد شيميايي: حشره کش پيريميکارب مورد استفاده در زيست سنجي به صورت ماده تکنيکال از مرکز تحقيقات آفت‌کش‌ها و شرکت گياه (وارداتي از کشور چين) تهيه شد. اين ماده داراي درجه خلوص ۹۵% بود. حشره‌کش اکسي دي متون متيل[2] بصورت ماده فرموله شده (EC ۲۵%) در زيست سنجي مورد آزمون قرار گرفت و از شرکت بايز[3] تهيه گرديد. استيل تيوکولين آيوديد[4]، دي تي ان بي[5] و ماده تکنيکال پريميکارب از شرکت واکو[6] و ماده تکنيکال اکسي دي متون متيل از شرکت آکواستاندارد[7] (با درجه خلوص ۹۸ درصد) تهيه شد.

1. Sequester

2. Oxydimeton methyl
3. Bayer
4. Acetylthiocholine Iodide
5. 5,5- dithiobis- (2-nitrobenzoic acid) (DTNB)
6. Wako
7. Accustandard

جدول ۱- محل و تاريخ جمع آوري جمعيت هاي مورد آزمون در زيست سنجي

جمعيت	محل جمع آوري	تاريخ جمع آوري	گياه ميزبان
پلنگر	گرگان- روستاي پلنگر	تابستان ۱۳۸۳	توتون
تير تاش	تيرتاش- مركز تحقيقات توتون	تابستان ۱۳۸۳	توتون
رشت	رشت- مركز تحقيقات توتون	تابستان ۱۳۸۳	توتون
تالش	تالش	تابستان ۱۳۸۳	توتون
كرج	كرج- گلخانه تحقيقاتي گروه باغباني دانشگاه تهران	بهار ۱۳۸٤	
مقاوم	كرج- گلخانه تحقيقاتي ويروس شناسي گروه گياهپزشكي دانشگاه تهران	پاييز ۱۳۸۳	چغندر قند

آزمون مقدماتي براي تعيين دامنه دوز: ابتدا آزمون‌هاي مقدماتي براي تعيين محدوده دوزهاي موثر حشره‌كش بر حشره انجام گرفت و دوزهايي كه مابين ۱۰ تا ۹۰ درصد تلفات ايجاد مي‌كردند، در آزمون نهايي استفاده گرديد.

آزمون نهايي: در اين آزمايش از روش قطره گذاري موضعي[1] استفاده گرديد و استون ۷۰ درصد (۷۰ قسمت استون + ۳۰ قسمت آب) به دليل قدرت تبخير شوندگي بالاي استون به عنوان حلال حشره‌كش بكار برده شد. در اين آزمون پنج يا شش غلظت از ماده تكنيكال پيريميكارب و ماده فرموله شده اكسي دي متون متيل تهيه و بر حشرات كامل (حداكثر ٢٤ ساعته) اثر داده شد. شاهد با حلال (۷۰ قسمت استون + ۳۰ قسمت آب) تيمار گرديد. براي هر غلظت چهار تكرار در نظر گرفته كه در هر تكرار۱۱ تا ۱۲ عدد حشره كامل به صورت كاملا تصادفي استفاده گرديد. قطره گذاري بر روي حشرات كامل با استفاده از يک ميكرواپليكاتور (ساخت شركت بوركارت[2]) انجام شد. بر سطح پشتي هر حشره ۰/۲۵ ميكروليتر از محلول سمي گذاشته شد. حشرات پس از تيمار روي گياهان كلزا رقم بهاره (AGS) منتقل شدند و هر گلدان در ظرف استوانه‌اي از جنس پلاكسي گلاس (به ارتفاع ۱۸ و قطر ۸ سانتيمتر) براي مجزا كردن از گلدان هاي ديگر قرار داده شد. براي تهويه و جريان يافتن هوا، سوراخهاي پوشيده با توري پارچه اي در بدنه و در ظروف تعبيه گرديد. آزمايش در اتاقک رشد بادماي ۱±۲٤ درجه سانتيگراد، رطوبت نسبي ۱۰±۷۰ درصد و دوره ي روشنايي ۱٦:۸ (تاريكي: روشنايي) انجام گرديد. پس از ٢٤ ساعت ميزان تلفات تعيين و داده ها به كمک نرم افزار پولوپي سي[3] تجزيه گرديد (۱۰).

1. Topical application
2. Burkard®

اندازه گيري**I50**

سي عدد حشره كامل بدون بال در ۹۰۰ ميكروليتر بافر يک دهم مولار فسفات (pH= ۷) حاوي تريتون X-۱۰۰ يک دهم درصد (V/V) با استفاده از هموژنايزر شيشه‌اي هموژنايز شدند سپس هموژنانت در ۱۰۰۰۰g و به مدت ده دقيقه در چهار درجه سانتيگراد سانتريفوژ گرديد. رونشين به ظرف شيشه‌اي جديد منتقل شده و با بافر فسفات رقيق گرديد. براي اندازه‌گيري ميزان بازدارندگي آنزيم استيل كولين استراز به وسيله بازدارنده‌ها از روش ژو و گائو(۱۹۹۹) با تغييرات جزيي استفاده شد (۲۳). ۱۰۰ ميكروليتر بافر فسفات، ٤۰ ميكروليتر رونشين، ٤۰ ميكروليتر از غلظت‌هاي مختلف بازدارنده و ۲۰ ميكروليتر از محلول دي تي ان بي درون هر يک از چاهک‌هاي پليت الايزا ريخته بعد از ۱۰ دقيقه، ٤۰ ميكروليتر محلول استيل تيوكلين ايوداید اضافه نموده و مقدار استيل تيوكلين تجزيه شده بوسيله يک ميكرو پليت ريدر (بكمن[4]) مدل ٤۰۵ در ٤۱۵ نانومتر اندازه‌گيري شد. شاهد شامل آنزيم، سوبسترا، DTNB، بافر فسفات و فاقد بازدارنده است در شاهد معادل حجم بازدارنده بافر فسفات اضافه گرديد. با استفاده از رابطه

3. Polo-pc
4. Beckman

پروبيت درصد مهار كنندگي- لگاريتم غلظت، I50 محاسبه گرديد.

نتايج و بحث

زيست سنجي: نتايج حاصل از زيست سنجي حشره كش‌هاي پيريميكارب و اكسي دي متون متيل بر روي حشرات كامل در جدول ۲ و ۳ آمده است. با وارد كردن داده‌ها در برنامه پولوپي‌سي ميزان LD50 حشره كش‌هاي پيريميكارب و اكسي دي متون متيل روي جمعيت‌ها تخمين زده شد. جمعيت كرج به دليل دارا بودن پايين ترين LD50 به عنوان جمعيت پايه حساس در نظر گرفته شد (جداول ۲ و۳) و هر كدام از جمعيت‌هاي مورد آزمون با جمعيت كرج مورد مقايسه قرار گرفتند. نتايج نشان داد كه در تيمار پيريميكارب چون محدوده اطمينان ۹۵% نسبت LD50هاي محاسبه شده (يعني سميت نسبي[1]) توسط برنامه پولو پي سي براي جمعيت‌هاي پلنگر، تيرتاش و تالش شامل عدد يک مي‌شود (جدول ۳). بنابراين از نظر آماري LD50 اين جمعيت‌ها اختلاف معني‌داري ندارند و تمام اين جمعيت‌ها به حشره‌كش پيريميكارب حساس هستند. در مورد جمعيت رشت نسبت مقاومت ۲ برابر بود (جدول ۳). سطح مقاومت در جمعيت مقاوم به حدي بالا بود كه ميسر نشد LD50 اندازه‌گيري شود. چون حتي در دوز اشباع هيچ مرگ و ميري مشاهده نگرديد. بنابراين ماده تكنيكال مشكوک در نظر گرفته شد. براي رفع هر گونه شک در مورد ماده تكنيكال پيريميكارب، آزمون مجددا به وسيله ماده تكنيكال جديدي كه از شركت گياه تهيه شده تكرار گرديد. نتايج حاصله با ماده تكنيكال جديد، مشابه با نتايج آزمون قبلي بود. اين نتيجه نشان مي‌دهد كه درجه خلوص ماده تكنيكال مورد استفاده در آزمون اول صحيح بوده است. همچنين با استفاده از روش غوطه وري حشره در محلول اشباع شده از پيريميكارب و روش غوطه وري گياه در محلول اشباع شده هيچ تلفاتي مشاهده نشد. داده‌هاي بيوشيميايي تاييد كننده مقاومت بسيار بالاي جمعيت مقاوم به حشره كش پيريميكارب مي‌باشد (جدول ٤). چون مكانيسم مقاومت شته مقاوم، مبتني بر استراز (قدمياري، داده‌هاي چاپ نشده) و استيل كولين استراز غيرحساس مي‌باشد (جدول ٤). در حشره مقاوم ميزان فعاليت استرازها ۳/۲۷ برابر جمعيت حساس مي‌باشد (قدمياري، داده‌هاي چاپ نشده). همچنين آنزيم استيل كولين استراز به ميزان ۱۳۸٤/٦ برابر غيرحساس به حشره‌كش پيريميكارب است (جدول ٤). با توجه به اينكه مكانيسم‌هاي مقاومت اثر سينرژيستي دارند. بنابراين دور از انتظار نخواهد بود كه حشره مقاوم در دوز اشباع تلفاتي نشان ندهد.

پيريميكارب شته كش سيستميک و انتخابي است كه به طور وسيع براي كنترل شته‌ها روي گياهان زينتي، پنبه، درختان ميوه و در گلخانه‌ها استفاده مي‌شود. تاكنون مقاومت به اين حشره‌كش در گونه‌هاي زيادي از حشرات گزارش شده است. مورس و همكاران (۱۹۹٦) گزارش كردند كه نسبت مقاومت بدست آمده براي شته جالیز (Aphis gossypii Glover) با استفاده از روش غوطه وري برگ[2] بيشتر از ۳۸۰ برابر بود (١٦). همچنين نسبت مقاومت به پيريميكارب (تخمين زده شده با استفاده از روش تماسي) در استرين شته جالیز مقاوم جمع آوري شده از جنوب فرانسه معادل ۱۳۵۰ برابر بود، همچنين اين استرين نسبت به برخي از حشره‌كش‌هاي فسفره و تري آزاميت مقاوم بود (۳).

چون امكان اندازه‌گيريLD50 پيريميكارب روي جمعيت مقاوم وجود نداشت. به همين دليل نسبت مقاومت براي اين حشره‌كش قابل محاسبه نبود (جدول ۳). ولي نسبت مقاومت گزارش شده براي حشره‌كش پيريميكارب توسط مورس و همكاران براي استرين‌هاي مقاوم شته سبز هلو 927B ، 926B و A 1051 به ترتيب ٤٥، بيشتر از ۵۰۰ و ۱۲۲ بود. اين محققين از روش غوطه‌وري شته‌ها در محلول حشره‌كش استفاده كرده بودند (۱۵). ميزان LD50 گزارش شده توسط نانن و البرت براي استرين حساس به حشره كش با استفاده از روش غوطه‌وري برگها ۳/۷ mg/L بود (۱۸). نتايج ما نشان مي‌دهد كه ميزان LD50 براي جمعيت حساس (جمعيت كرج) ۲/٤٦ نانو گرم ماده موثره بر حشره مي‌باشد (جدول ۳).

1. Relative potency = LD_{50} جمعيت مشكوک به مقاومت / LD_{50} جمعيت حساس

2. Leaf dip bioassay

جدول ۲- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهاي خطوط پاسخ حشرات کامل جمعیت‌هاي مختلف شته سبز هلو به حشره کش اکسي دي متون متیل

جمعیت	تعداد حشره با شاهد	تعداد دوز	LD50a (محدوده اطمینان ۹۵%)	سمیت نسبي (محدوده اطمینان ۹۵%)b	شیب خط±SE	X2 (df)c
پلنگر	۲۷۰	٦	۲۷/۹۰(۲۰/۷۸-۳۵/۷)	۱/۱٤۱ (۱/٦۳ -۰/۷۸)	۲/۷۳±۰/۲۸	۹/۱۳ (٤)
تیرتاش	۲۷۰	٦	۲۸/۱٦ (۳۵/٦٦ -۲۲/۱٦)	۱/۱۹٤ (۱/٦۵ – ۰/۸۷)	۲/٤۱±۰/۲۸	٤/۰۱ (٤)
تالش	۲۷۰	٦	۲۵/٤۵ (۲۹/٤۸ -۲۱/٤)	۱/۰۷۲ (۱/۳۹ – ۰/۸۲)	۲/۳۹±۰/۲۸۹	۲/۸۳ (٤)
کرج	۲۷۰	٦	۲۳/۲٦ (۲۸/۵٦ -۱۸/٦٦)	d	۱/۸۲±۰/۲۵	۳/۸۵ (٤)
رشت	۲۷۰	٦	۳۱/۳۱ (٤۱/۳ -۲٤/٤٦)	۱/۳٤ (۱/۸۳ – ۰/۹۹)	۱/۷۸±۰/۲٦	٤/۳۹ (٤)
مقاوم	۲۷۰	٦	۶۳۷/۵* (۶۹۹/۱ -۵۶۳/۲)	۲۲/۱۰*(۳۲/۰۹ – ۱٤/۱۰)	٤/۷٦±۰/۸٦	۰/۳۲ (٤)

a (حشره/ ماده فرموله شده µg)

b سمیت نسبي= LD50 جمعیت مشکوک به مقاومت تقسیم بر LD50 جمعیت حساس (کرج)

c مقدار X2 در سطح ۵% از مقدار کاي اسکوار جدول کمتر است.

d پایه حساس

* از لحاظ LD50 و عدم همپوشاني محدوده اطمینان ۹۵% با جمعیت حساس پایه اختلاف معني داري دارد.

جدول ۳- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهاي خطوط پاسخ حشرات کامل جمعیت‌هاي مختلف شته سبز هلو به حشره کش پیریمیکارب

جمعیت	تعداد حشره با شاهد	تعداد دوز	LD50a (محدوده اطمینان ۹۵%)	سمیت نسبي (محدوده اطمینان ۹۵%)b	شیب خط±SE	X2 (df)c
پلنگر	۲۷۰	۵	۳/۰۲ (۳/۵٦-۲/٤۹)	۱/۲٦ (۱/۰۰۱ -۱/۵۸)	۲/٦۱±۰/۲۹	۲/۵۷ (۳)
تیرتاش	۲۷۰	۵	۲/۹۸ (۳/٤۳-۲/۵٦)	۱/۲۰۳ (۱/٤۷ – ۰/۹۸)	۳/۱۱±۰/۳۳	۱/۵۹ (۳)
تالش	۲۷۰	۵	۳/۰۱ (۳/٤٦-۲/۵۸)	۱/۲۰۹ (۱/٤۸ – ۰/۹۹)	۳/۲۹±۰/۳٤٤	۲/٦٦ (۳)
کرج	۲۷۰	۵	۲/٤۵ (۲/۸٤-۲/۰۷)	d	۳/۱۰±۰/۳۵	۲/۸٦ (۳)
رشت	۲۷۰	۵	۵/۲۵ * (٦/٦-٤/۰۳)	۲/۰۸ * (۲/۷۸ – ۱/۵۷)	۳/۷٦±۰/٤۳۰	۷/۲۷ (۳)
مقاومe	-	-	-	-	-	-

a حشره/µg AI1

b سمیت نسبي= LD50 جمعیت مشکوک به مقاومت تقسیم بر LD50 جمعیت حساس (کرج)

c مقدار X2 در سطح ۵% از مقدار کاي اسکوار جدول کمتر است.

d پایه حساس

e به علت محدود بودن میزان حل شدن پریمیکارب میزان LD50 تخمین زده نشد.

* از لحاظ LD50 و عدم همپوشاني محدوده اطمینان ۹۵% با جمعیت حساس پایه اختلاف معني داري دارد.

1. AI (Active ingredient)

در مورد حشره کش اکسي دي متون متيل محدوده اطمينان ۹۵% نسبت LD50هاي محاسبه شده (يعني سميت نسبي) توسط برنامه پولو پي سي براي جمعيت‌هاي پلنگر، تيرتاش، رشت و تالش شامل عدد يک مي‌شود (جدول ۲). بنابراين از نظر آماري LD50 اين جمعيت‌ها اختلاف معني داري ندارند و تمام اين جمعيت‌ها به حشره‌کش اکسي دي متون متيل حساس مي‌باشند. با توجه به شيب محاسبه شده خطوط دوز- پاسخ (جدول ۲) جمعيت حساس (کرج) با مقاوم نه تنها بر هم منطبق نبوده ($\chi2$=۷۰/۳۵ و df=۲، p≤ ۰/۰۰۰۱) بلکه با هم موازي نيستند ($\chi2$=۱۰/۹ و df=۱، p≤ ۰/۰۰۱) که نشان مي‌دهد که کميت و کيفيت آنزيم‌هاي موثر در کاهش سميت در جمعيت‌هاي حساس با مقاوم متفاوت مي‌باشد. آزمون‌هاي بيوشيميايي و ژنتيکي تاييد کننده اين نتايج مي‌باشد (قدمياري، داده‌هاي چاپ نشده). نسبت مقاومت[1] در مورد اکسي دي متون متيل در حدود ۲۲/۱۰ مي‌باشد (جدول ۲). اندازه‌گيري ميزان بازدارندگي استيل کولين استراز به وسيله پريميکارب و اکسي دي متون متيل

با توجه به آزمايشات زيست سنجي جمعيت‌هاي کرج، رشت و مقاوم (جداول ۲ و ۳) براي انجام آزمايشات بازدارندگي آنزيم استيل کولين استراز انتخاب شدند و رابطه بين درصد بازدارندگي فعاليت استيل کولين استراز و غلظت بازدارنده‌هاي پيريميکارب و اکسي دي متون متيل در اين جمعيت‌ها مورد بررسي قرار گرفت (شکل‌هاي ۱ و۲). نتايج نشان داد که در جمعيت مقاوم نسبت غيرحساس شدن آنزيم به پيريميکارب و اکسي دي متون متيل به ترتيب ۱۳۸٤/٦ و ۲/۷ مي‌باشد (جدول ٤). اين نتايج نشان مي‌دهد که آنزيم استيل کولين استراز جمعيت مقاوم غير حساس به اين حشره‌کش‌هاست. I50 دو جمعيت رشت و کرج اختلاف ناچيزي با هم دارند (جدول ٤). غيرحساس شدن آنزيم کولين استراز و سم‌زدايي متابوليکي از مکانيسم‌هاي مقاومت به سموم فسفره در تعداد زيادي از شته‌ها مي‌باشد (۱٦، ۱۹، ۲۳). براساس تحقيقات مورس و همکاران وجود استيل کولين استراز غير حساس در استرين B ۹۲٦ (استرين مقاوم شته سبز هلو) مقاومت به پيريميکارب و تري آزاميت[2] را باعث مي‌شود و نسبت مقاومت بيشتر از ۵۰۰ برابر مي‌باشد. البته قسمت اعظم مقاومت (۵۰ برابر) ناشي از فعاليت استراز E4 بوده و حداقل ۱۰ برابر مقاومت ناشي از استيل کولين استراز غيرحساس مي‌باشد (۱۵). اما در حشره مقاوم مورد آزمون، فعاليت استرازي ۳/۲۷ برابر حساس مي‌باشد (قدمياري، داده‌هاي چاپ نشده) که مقاومت ناشي از فعاليت استرازي در نمونه مقاوم مورد آزمون به مراتب کمتر از استرين۹۲٦B است. در نمونه‌هاي مقاوم به حشره‌کش پيريميکارب که توسط نابشيما و همکاران از ژاپن گزارش شده، ميزان LD50 استرين‌هاي مقاوم ۳۰۰-۲۰۰۰ برابر استرين حساس مي‌باشد. همچنين ميزان غيرحساس شدن آنزيم استيل کولين استراز ۳۰-۵۰ برابر استرين حساس بود (۱۷). اما نسبت غيرحساس شدن آنزيم استيل کولين استراز جمعيت مقاوم ۱۳۸٤ برابر مي‌باشد (جدول٤).

جدول ۴- بازدارندگی استیل کولین استراز با اکسی دی متون متیل و پیریمیکارب

جمعیت	اکسی دی متون متیل		پیریمیکارب	
	I_{50} (مولار)	RR^1	I_{50} (مولار)	RR
مقاوم	۲/۱۱۷*۱۰$^{-۶}$	۲/۷	۱/۸۹*۱۰$^{-۵}$	۱۳۸۴/۶
کرج	۷/۵۶۶*۱۰$^{-۷}$	____	۱*۳۶۵*۱۰$^{-۸}$	___
رشت	۸/۲۳۶*۱۰$^{-۷}$	____	۱/۳۶۶*۱۰$^{-۸}$	___

مورس و همکاران با تفسير داده‌هاي بيوشيميايي خاطر نشان کردند، ژني که باعث غيرحساس شدن استيل کولين استراز مي‌گردد هتروزيگوت مي‌باشد و اين موضوع را از طريق تلاقي استرين حساس و مقاوم نيز ثابت کردند (۱۵). مازوني و همکاران مقاومت به پيريميکارب را در ۵۰ جمعيت شته سبز هلوي جمع‌آوري شده از درختان هلو در ايتاليا مورد بررسي قرار دادند و مشاهده کردند که ۲۰ درصد از جمعيت‌هاي مورد بررسي داراي استيل کولين استراز غيرحساس به پيريميکارب بودند (۱۲).

1. $RR = \frac{LD_{50}\ of\ R}{LD_{50}\ of\ S}$

2. Triazamate

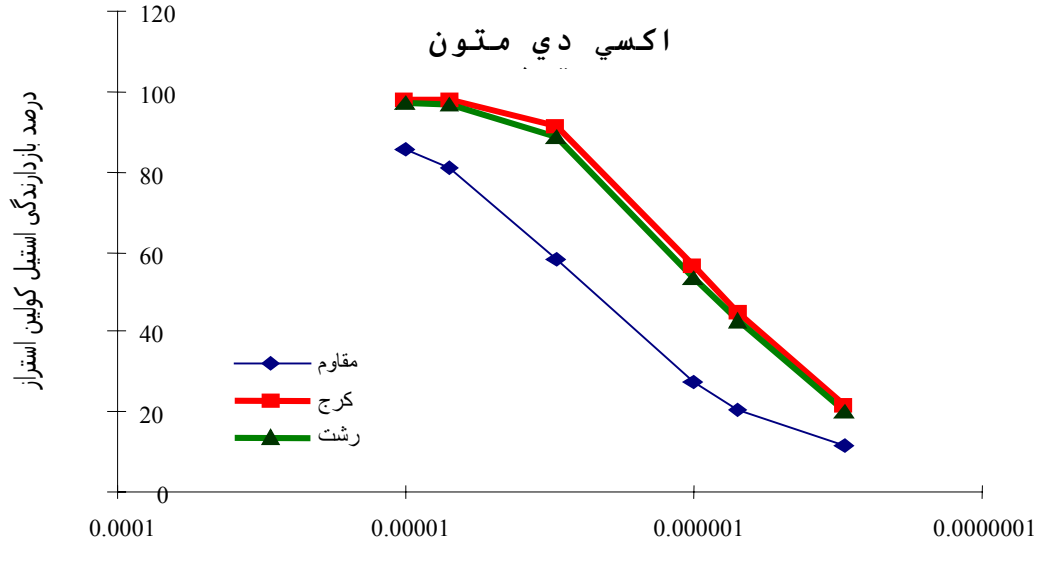
مطالعات ما نشان مي‌دهد بر خلاف اظهارات کارشناسان موسسه توتون هيچ گونه مقاومتي به حشره‌کش‌هاي پيريميکارب و اکسي دي متون متيل در جمعيت‌هاي جمع‌آوري شده از مناطق توتون کاري شمال ايران ثبت نگرديد (جداول ۲ و ۳). فقط در مورد جمعيت رشت نسبت مقاومت دو برابر بود، اما مشخص گرديد که آنزيم استيل کولين استراز اين جمعيت حساس به پيريميکارب مي‌باشد (جدول ٤). احتمالا اين اختلاف در LD50 ناشي از تحمل اين جمعيت در برابر حشره‌کش پيريميکارب و يا خطا در آزمون‌هاي زيست سنجي باشد چون اکثر محققين نسبت‌هاي[2] برابر مقاوت را تحمل به حساب مي‌آورند. به عنوان مثال در مورد سوسري آلماني نسبت‌هاي مقاومت کمتر از ۳ را به تحمل نسبت مي‌دهند (۲). جمعيت مقاوم، مقاومت مبتني بر استيل کولين استراز غيرحساس را گسترش داده است. در اين بررسي مشخص گرديد که مکانيسم موثر در مقاومت، استيل کولين استراز غير حساس مي‌باشد. مشخص نمودن مکانيسم‌هاي بيوشيميايي زير بنايي مي‌تواند نقش مهمي در غلبه بر مشکلات مرتبط با مقاومت به حشره‌کش‌ها داشته باشد و همچنين به انتخاب مخلوط حشره‌کش‌ها و تناوب آنها کمک خواهد کرد. دو راهکار براي غلبه بر مقاومت مبتني بر استيل کولين استراز غير حساس توسط محققين پيشنهاد شده است (۲۲):

استفاده از ترکيباتي که کارايي شان تحت تاثير مقاومت قرار نمي‌گيرد. بنابراين در مديريت حشره مقاوم بايستي از ترکيباتي استفاده کرد که نحوه تاثيرش متفاوت از حشره کش‌هاي فسفره و کاربامات است.

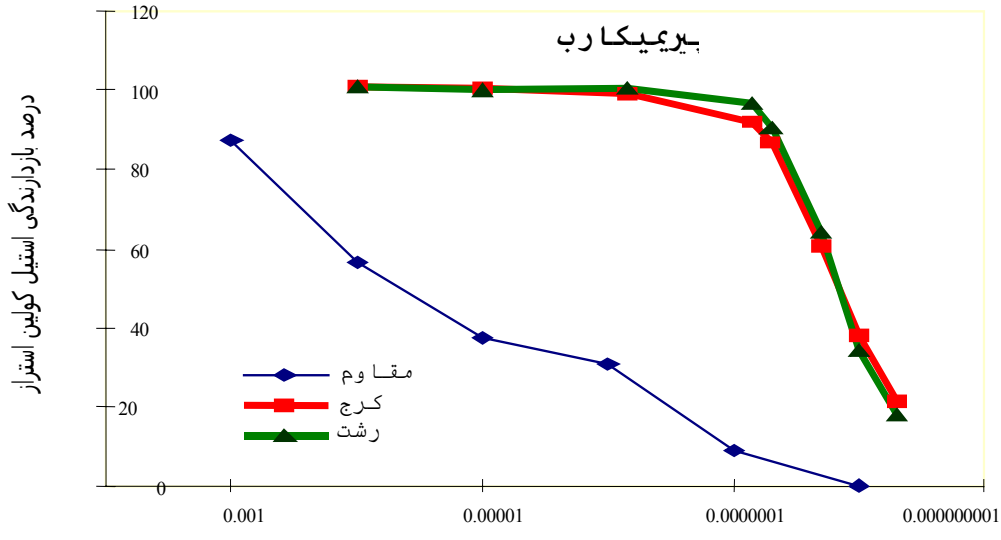
استفاده از ترکيبات ضد مقاومت (يعني مواد شيميايي که روي استرين مقاوم فعال‌تر از استرين حساس مي‌باشند). بنابراين بايستي مطالعاتي در زمينه مقاومت تقاطعي منفي نيز صورت گيرد. چون به مدت چندين دهه است که اين راهکار توسط محققين مورد بررسي قرار گرفته است.

در نهايت تغيير استيل کولين استراز در جمعيت مقاوم شته سبز هلو باعث کاهش چشمگير گيرايي[1] استيل کولين استراز نسبت به حشره‌کش‌ها مي‌شود. اختلافات در خواص بازدارندگي بين استيل کولين استراز جمعيت مقاوم و حساس شته سبز هلو نشان می‌دهد که تغييرات کيفي در مرکز کاتاليتيکي آنزيم يا نزديک به مرکز، ممکن است منجر به پاسخ‌هاي متفاوت استيل کولين استراز مقاوم به بازدارنده‌ها شود. چنين تغيير ساختماني در استيل کولين استراز مرتبط با مقاومت به ترکيبات آلي فسفره، در سوسک کلرادو مقاوم به اثبات رسيده است (۲٤).

1. Affinity



شکل۱- ميزان بازدارندگي استيل کولين استراز به وسيله اکسي دي متون متيل



شکل۲- میزان بازدارندگي استيل کولين استراز به وسيله پيريميکارب

REFERENCES

1. Clements, K.M., C.E. Sorenson, B.M. Wiegman & M.R. Roe. 2000. Insecticide resistance in the Myzus persicae complex (Homoptera: Aphididae) with emphasis on tobacco pest management. Rev. Toxicol. 3:1-23.
2. Cochran, D. G. 1996. Relevence of resistance ratios to operational control in the German cockroach. J. Econ. Entomol. 88: 1542-1544.
3. Delorme, R., D. Auge, M. T. Bethenod, & F. Villatte. 1999. Insecticide resistance in a strain of Aphis gossypii from southern France. Pestic. Sci. 49:90-96.
4. Devonshire, A.L., L.M. Field, S.P. Foster, G.D. Moores, M.S. Williamson & R.L. Blackman. 1998. The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, Myzus persicae. Phill. Trans. R. Soc. Lond. 53:1667-1684.
5. Devonshire, A.L. 1989. Resistance of aphid to insecticides. pp.123-139. In: Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds,). Aphids, their biology, natural enemies and control. Volume C. Elsevier Science Publishers.
6. Devonshire, A.L. & G.D. Moores.1982. A carboxylesterase with broad substrate specificity causes organophosphorus, carbamate, pyrethroid resistance in peach potato aphid (Myzus persicae). Pestic. Biochem. Physiol. 18:235-246.
7. Field, L.M., R. L. Blackman, C. Tyler-smith, & A.L. Devonshire. 1999. Relationship between amount of esterase and gene copy number in insecticide resistance Myzus persicae (Sulzer). Biochem J. 399:737-742.
8. Field, L.M.& S.P. Foster. 2002. Amplified esterase gen and their relationship with other insecticide resistance mechanisms in English field populations of the aphid, Myzus persicae (Sulzer). Pest Manag. Sci. 58: 889-894.
9. Foster, S.P., I. Denholm, & A.L. Devonshire. 2000. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (Myzus persicae) in the UK. Crop Prot. 19: 873-879.
10. LeOra Software. 1987. POLO-PC: A user guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley, California.
11. Martinez-Torres D., S. P. Foster, L. M. Field, M. S. Williamson, & A. L. Devonshire. 1999. A sodium channel mutation is associated with knockdown resistance (kdr) to DDT and pyrethroids in the peach-potato aphid, Myzus persicae (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Insect Molec. Biol. 8(3): 339-346.

12. Mazzoni, E. & P. Cravedi. 2002. Analysis of insecticide-resistant Myzus persicae (Sulzer) populations collected in Italian peach orchards. Pest Manag. Sci. 58:975-980.
13. Mishigan State University, IRAC and USDA. 2006. Rsistant Pest Newsletter, resistant arthropods database. Available at: http://whalonlab.msu.edu/rpmnews/
14. Moores, G.D., I. Denholm, F. J. Byrne, A. L. Kennedy, & A.L. Dovonshire. 1988. Characterising acetylcholinesterase genotypes in resistant insect populations. Proc. Br. Crop Prot. Conf. 1:451.
15. Moores, G.D., G. J. Devine, & A.L. Devonshire. 1994. Insecticide-insensitive acetylcholinesterase can enhance esterase-based resistance in Myzus persicae and Myzus nicotianae. Pest. Biochem. Physiol. 4:114-120.
16. Moores, G. D., X. Gao, I. Denholm, & A. Devonshire. 1996. Characterization of insensitive acethylcholinesterase cotton aphid, Aphis gossypii Glover (Homoptera: Aphididae). Pestic. Biochem. Physiol. 56: 102-110.
17. Nabeshima, T., T. Kozaki, T. Tomita, & Y. Kono. 2003. An amino acid substitution on the second acetylcholinesterase in the pirimicarb-resistance strains of the potato aphid, Myzus persicae. Biochem. & Biophys. Res. Comun. 307:15-22.
18. Nauen, R. & A. Elbert. 2003. European monitoring of resistance to insecticides in Myzus persicae and Aphis gossypii (Hemiptera: Aphididae) with special reference to imidaclopride. Bull. Entomol. Res. 93:47-54.
19. Needham, P.H. & R.M. Sawicki. 1971. Diagnosis of resistance to organophosphorus insecticides in Myzus persicae. Nature.230:125-126.
20. Schepers, A. 1989. Control of aphid. pp.89-122. In: Minks, A.K. & P. Harrewijn (eds). Aphids their biology, natural enemies and control. Volume C. Elsevier Science Publishers.
21. Vasquez, B.L. 1995. Resistant to most insecticides. In: T. J. Walker (ed.). The University of Florida Book of Insect Records. pp.34-36. available at: http://ufbir.ifas.ufl.edu/chap15.pdf
22. Villate, F., D. Auge, P. Touton, R. Delorme, & D. Fournier. 1999. Negative cross-insensitivity in insecticide- resistance cotton aphid Aphis gossypii Glover. Pest. Biochem. Physiol. 65: 55-61.
23. Zhu, K. Y. & J. R. Gao. 1999. Increased activity associated with reduced sensitivity of acetylcholinesterase in organophosphate-resistant greenbug, Schizaphis graminum (Homoptera: Aphididae). Pestic. Sci. 55: 11-17.
24. Zhu, K. Y., S. H. Lee, & J. M. Clark. 1996. A point mutation of acetylcholinesterase associated with azinphosmethyl resistance and reduced fitness in Colorado potato beetle. Pestic Biochem. Physiol. 55: 100-108.