

سازوکار مقاومت به دلتامترین در جمعیت‌های مزرعه‌ای مینوز برگ گوجه‌فرنگی

Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae)

مریم ملک‌محمدی

دانشگاه بوعلی‌سینا همدان، همدان، ایران

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: m.malek172@yahoo.com, m.malekmohamadi@basu.ac.ir

چکیده

مینوز برگ گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick) یک تهدید جدی برای تولید گوجه‌فرنگی در شرایط مزرعه و گلخانه محسوب می‌شود. تحقیق حاضر با هدف بررسی حساسیت جمعیت‌های مزرعه‌ای مینوز برگ گوجه‌فرنگی به حشره‌کش دلتامترین و تعیین سازوکار مقاومت با استفاده از سینرژست‌ها انجام شده است. زیست‌سنجی به روش غوطه‌وری برگ در محلول سمی و روی لاروهای سن دوم انجام شد. نرخ مقاومت محاسبه شده بین ۱/۸۸ تا ۲۱/۵۸ برابر در مقایسه با سویه حساس متغیر بود. در آزمون‌های سینرژستی، از PBO، DEF و DEM جهت بررسی احتمال دخالت سیستم‌های آنزیمی در ایجاد مقاومت استفاده شد. برگ‌های آغشته به غلظت‌های مناسب از هر سینرژست به مدت ۱۲ ساعت قبل از شروع زیست‌سنجی با حشره‌کش، جهت تغذیه در اختیار لاروهای سن ۲ قرار داده شد. بالاترین غلظت از هر سینرژست که در جمعیت حساس هیچ گونه تلفاتی را همراه نداشت، برای سینرژست‌های PBO، DEF و DEM به ترتیب عبارت بودند از ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر لیتر. بر خلاف PBO، DEF و DEM، مهارکننده منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی ۴۵۰، به طور معنی‌داری سمیت دلتامترین را در هر سه جمعیت مزرعه‌ای افزایش داد (بالاترین نرخ سینرژسم ۵/۴۴). به نظر می‌رسد که در شرایط موجود، استفاده صرف از ترکیبات پایرترویدی جهت کنترل مینوز برگ گوجه‌فرنگی از جهت گسترش مقاومت به صلاح نباشد.

واژگان کلیدی: جمعیت مزرعه‌ای، دلتامترین، مقاومت به آفت‌کش‌ها، مینوز برگ گوجه‌فرنگی.

Mechanism of deltamethrin resistance in field populations of

Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae)

Maryam Malekmohammadi

Faculty of Agriculture, Bu Ali Sina University, Hamedan, Iran.

*Corresponding author, Email: m.malek172@yahoo.com, m.malekmohamadi@basu.ac.ir

Abstract

The tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) may pose a threat to both greenhouse and open-field tomato production. The aims of this study were: 1) to assess the susceptibility to deltamethrin of seven field populations of *T. absoluta* in Hamedan province, in comparison with susceptible strain. 2) to investigate the effects of synergists for testing possible mechanisms involved in resistance. Bioassays were done by leaf dipping method to determine the resistance level. Resistance ratios calculated varied from 1.9- to 21.6-times (compared with the susceptible population). In synergism tests, PBO, DEF, and DEM were used to determine whether metabolism was involved in deltamethrin resistance. Tomato leaves treated with appropriate concentration of each synergist were fed to second instar larvae for 12 h. The concentrations of PBO, DEF, and DEM were 100, 100 and 120 mgL⁻¹, respectively. These were the highest concentrations that caused no mortality in susceptible strain in preliminary tests. The cytochrome P450-dependent monooxygenase-inhibitor PBO significantly synergized the activity of deltamethrin in the three greenhouse populations (with the highest synergism ratio of 5.4). No significant synergism of deltamethrin toxicity was observed when larvae were pretreated with the esterase-inhibitor DEF, and the glutathione depletor DEM, as indicated by the overlap in the 95% CL for treatment with deltamethrin alone or with deltamethrin +DEF/ DEM.

Key words: deltamethrin, field population, resistant to pesticides, tomato leaf miner

Received: 8 July 2017, Accepted: 28 November 2017

مقدمه

مینوز برگ گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta* (Meyrich) (Lepidoptera: Gelechiidae) یکی از مهمترین آفات اقتصادی گوجه‌فرنگی در سراسر جهان به شمار می‌آید (Desneux *et al.*, 2010; Guedes & Picanco, 2012). این حشره برای اولین بار در سال ۱۳۸۹ از استان آذربایجان غربی و سپس بوشهر، کردستان و ایلام گزارش گردید. نتایج ردیابی‌ها، حکایت از آلودگی اکثر مناطق کشت گلخانه‌ای و مزرعه‌ای گوجه‌فرنگی به این آفت دارد (Baniameri & Cheraghian, 2011). پتانسیل تولید مثلی بالا (تا ۱۲ نسل در سال) مینوز برگ گوجه‌فرنگی را به حشره خطرناکی تبدیل نموده است. بوته‌های گوجه‌فرنگی در تمامی مراحل رشد، از مرحله‌ی نشاء تا گیاه کامل ممکن است مورد حمله این آفت قرار گیرند. لاروهای آفت علاوه بر تغذیه از برگ‌های گیاه گوجه‌فرنگی، به گل‌ها، میوه و ساقه‌های گیاه نیز خسارت وارد می‌سازند. خسارت مینوز برگ گوجه‌فرنگی می‌تواند ۴۰ تا ۱۰۰ درصد محصول را شامل شود (Oliveira *et al.*, 2009). روش اصلی مبارزه علیه *T. absoluta*، استفاده از ترکیبات حشره‌کش است. کارایی ترکیبات حشره‌کش در مبارزه علیه این آفت تحت تأثیر دو عامل، رفتار تغذیه‌ای لاروها و نیز ناکارآمدی روش‌های سم‌پاشی، ممکن است کاهش یابد (Lietti *et al.*, 2005). در بعضی از کشورهای منطقه آمریکای جنوبی، به بیش از ۳۰ نوبت سم‌پاشی جهت کنترل این آفت نیاز است (Guedes & Picanco, 2012; Zlof & Suffert 2012). متأسفانه پیامد عملی چنین رویکردی، گسترش مقاومت در بین جمعیت‌های آفت به طیف گسترده‌ای از حشره‌کش‌های مصرفی از جمله کاربامات‌ها، نئونیکوتینوئیدها، ترکیبات آلی کلره، ترکیبات آلی فسفره و پایرتروئیدها بوده است (Silva *et al.*, 2011; Roiditakis *et al.*, 2013). البته بررسی‌ها در خصوص سازوکار مقاومت شب‌پره مینوز برگ گوجه‌فرنگی به ترکیبات حشره‌کش تنها محدود به سال‌های اخیر بوده است (Haddi *et al.*, 2012; Reyes *et al.*, 2012). سازوکارهای مقاومت نسبت به حشره‌کش‌ها شامل کاهش جذب کوبیکولی، افزایش دفع، افزایش تجزیه آنزیمی و نیز تغییر ساختاری جایگاه هدف می‌باشد. در بین سازوکارهای مقاومت به حشره‌کش‌ها، تغییر در حساسیت جایگاه هدف، نسبتاً اختصاصی است در صورتی که مقاومت متابولیکی در نتیجه فعالیت آنزیم‌های اکسیداز چندکاره، استرازاها و گلوکاتایون اس- ترانسفرازها، عمومی‌تر بوده و برای طیف گسترده‌ای از ترکیبات حشره‌کش گزارش شده است (Mohan & Gujar, 2003). امروزه مشخص شده است که در بیشتر موارد عامل به وجودآورنده مقاومت، فعالیت آنزیم‌های سم‌زدا در جمعیت‌های مقاوم بوده است (Kang *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2010). با کمک سینرژست‌ها می‌توان در خصوص نقش هر یک از گروه‌های آنزیمی در مقاومت گونه‌های آفت به ترکیبات آفت‌کش، به شواهدی ارزشمندی دست یافت (Ahmad *et al.*, 2007; Malekmohammadi *et al.*, 2010; Ishtiaq *et al.*, 2012; Afzal & Shad 2015; Askari- Saryazdi *et al.*, 2015). نرخ سینرژسم نشان دهنده دخالت نسبی گروه‌های آنزیمی گلوکاتایون اس- ترانسفرازها، استرازاها و مونواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ در پیدایش جمعیت‌های مقاوم به ترکیبات آفت‌کش است. بزرگتر بودن نرخ سینرژسم یک سویه مزرعه‌ای در مقایسه با یک سویه حساس مرجع، می‌تواند معیاری برای دخالت موثر سازوکارهای سم‌زدایی متابولیکی آفت‌کش باشد. در اکثر موارد بهترین انتخاب جهت تشخیص سازوکار مقاومت، بررسی مقایسه‌ای داده‌های حاصل از آزمایش‌های سینرژستی در کنار داده‌های بدست آمده از الگوی مقاومت تقاطعی آفت‌کش مورد نظر با سایر ترکیبات آفت‌کش است. نکته کلیدی در استفاده از سینرژست‌ها، استفاده از ترکیبات اختصاصی جهت مهار گروه‌های آنزیمی درگیر در ایجاد مقاومت است. البته رعایت این اصل همیشه امکان‌پذیر نیست، PBO سینرژستی است که طبق بررسی‌های انجام

شده توانایی مهار هر دو گروه آنزیمی منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ (اکسیدازها) و استرازها را دارا می‌باشد (Young et al., 2006; Gunning et al., 1999). از DEF، به عنوان مهارکننده مطرح گروه آنزیمی استرازها استفاده می‌شود (Sanchez-Arroyo et al., 2001). تاکنون برای گلوکاتایون اس- ترانسفراز، مهارکننده اختصاصی که قادر به جدا سازی سریع گلوکاتایون باشد، گزارش نشده است البته در بررسی‌ها به طور معمول جهت مهار فعالیت گلوکاتایون اس- ترانسفرازها از DEM استفاده می‌شود. استرازها، گلوکاتایون اس- ترانسفرازها و منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ می‌توانند از طریق افزایش متابولیسم یا کاهش نفوذ کوتیکولی زمینه‌ی مقاومت جمعیت‌های آفات به آفت‌کش‌های مصرفی را فراهم سازند (Riskallah, 1983; Ishaaya, 1993). در برخی از موارد پیش‌تیمار جمعیت‌های مقاوم با سینرژست PBO کاهش معنی‌دار سمیت ترکیبات حشره‌کش را در پی داشته است، دلیل چنین کاهش‌ی ممانعت از نفوذ کوتیکولی و در نتیجه کاهش غلظت حشره‌کش‌ها در داخل بدن گونه‌های آفت، عنوان شده است. نتایج بررسی انجام شده توسط (Martin et al., 1997) در خصوص تأثیر پیش‌تیمار جمعیت‌های مقاوم *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) با PBO در حضور سیپرترین نشاندار (radiolabeled cypermethrin)، کاهش معنی‌دار نفوذ سیپرترین از کوتیکول را تأیید نموده است. نتایج تحقیق انجام شده توسط (Aizoun et al., 2014) نیز در تأیید داده‌های تحقیق فوق، حاکی از کاهش معنی‌دار نفوذ سیپرترین نشان‌دار به واسطه پیش‌تیمار لاروهای سن پنج *Anopheles gambiae* با PBO بوده است. بنابراین در تفسیر نتایج آزمون‌های سینرژیسمی باید به این نکته نیز توجه نمود. از آنجایی که سینرژست‌ها می‌توانند روی نفوذ حشره‌کش‌ها به داخل بدن موثر باشند، توصیه می‌شود که در آزمون‌های سینرژیسمی، محل قرارگیری موضعی حشره‌کش و سینرژست روی سطح بدن حشره متفاوت باشد. در این صورت اثرات غیرمتابولیکی سینرژست‌ها به حداقل خواهد رسید (Aizoun et al., 2014). اثرات سینرژست‌ها به ویژه Piperonyl butoxide (PBO)، روی میزان نفوذ آفت‌کش‌ها، استفاده از آنها در شرایط مزرعه را با محدودیت مواجه ساخته است (Thomas et al., 1996; Martin et al., 1997).

ترکیبات پایرترویدی از طریق مداخله در کانال ولتاژ سدیم و تغییر عملکرد کیتیکی آن، باعث مرگ گونه‌های آفت می‌گردند (Goldin, 2003; Soderlund & Knipple, 2003). دلتمترین یک ترکیب پایرترویدی طیف وسیع، با اثر مهارکنندگی روی کانال‌های ولتاژ حساس به سدیم در آکسون نرون‌های موجودات هدف است. نتیجه چنین فرایندی، نفوذپذیری طولانی مدت سلول عصبی نسبت به یون‌های سدیم و به دنبال آن ایجاد جریان عصبی تکرار شونده و در نهایت مرگ موجود زنده خواهد بود. اولین گزارش‌ها در خصوص مقاومت مینوز برگ گوجه‌فرنگی به ارگانوفسفات‌ها و پایرترویدها از شیلی، برزیل و سپس آرانتین بوده است (Lietti et al., 2005; Siqueira et al., 2000 a,b; Siqueira et al., 2001; Reyes et al., 2012). ترکیبات پایرترویدی به دلیل دارا بودن خصوصیتی همچون اثر سریع، خاصیت حشره‌کشی بالا و سمیت کم برای پستانداران، به طور گسترده علیه گروه‌های مختلف آفات از جمله *Tuta absoluta* استفاده می‌شود (Gontijo et al., 2013; Reyes et al., 2012; Rinkevich et al., 2013; Silva et al., 2011). پایرترویدی در برزیل، جهت کاربرد علیه *T. absoluta* به سال ۱۹۸۰ میلادی برمی‌گردد. گزارش اولین مورد مقاومت به پایرترویدها در بین جمعیت‌های برزیلی مینوز برگ گوجه‌فرنگی مربوط به سال ۲۰۰۰ میلادی بوده است (Siqueira et al., 2000a). از آن زمان تاکنون روند مقاوم شدن جمعیت‌های برزیلی *T. absoluta* به این گروه از حشره‌کش‌ها رو به گسترش بوده است، به گونه‌ای که در حال حاضر استفاده از سه ترکیب پرمترین، دلتمترین و آلفا- سیپرترین در غلظت توصیه شده روی جمعیت‌های برزیلی این آفت فاقد هرگونه اثر کنترلی است (Gontijo et al., 2013; Silva et al., 2011). گزارش‌های تأیید شده از کشورهای واقع در جنوب آمریکا،

شمال آفریقا و اروپا مبنی بر مقاومت جمعیت‌های مینوز برگ گوجه‌فرنگی به ترکیبات پایرترویدی (Silva et al., 2015; Haddi et al., 2012)، نشان دهنده استفاده گسترده از این گروه از حشره‌کش‌ها علیه *T. absoluta* در مناطق یاد شده می‌باشد. در سال‌های اخیر و همزمان با آزادسازی قیمت نهاده سم، کنترل و نظارت بر نحوه توزیع و مصرف ترکیبات آفت‌کش با کاهش مواجهه بوده است. به گونه‌ای که در شرایط فعلی شناسنامه دقیق، مستند و قابل اعتمادی در مورد تاریخچه استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی علیه آفات در ایران وجود ندارد. بررسی‌ها در خصوص ردیابی و شناسایی مقاومت‌های احتمالی بر علیه آفت‌کش‌های پر مصرف نیز محدود بوده است. در همین راستا و در شروع بررسی‌ها در خصوص امکان مقاومت *T. absoluta* به دلتامترین، از آزمون‌های سینرژسمی جهت شناسایی سازوکار مقاومت احتمالی به دلتامترین استفاده شد.

مواد و روش‌ها

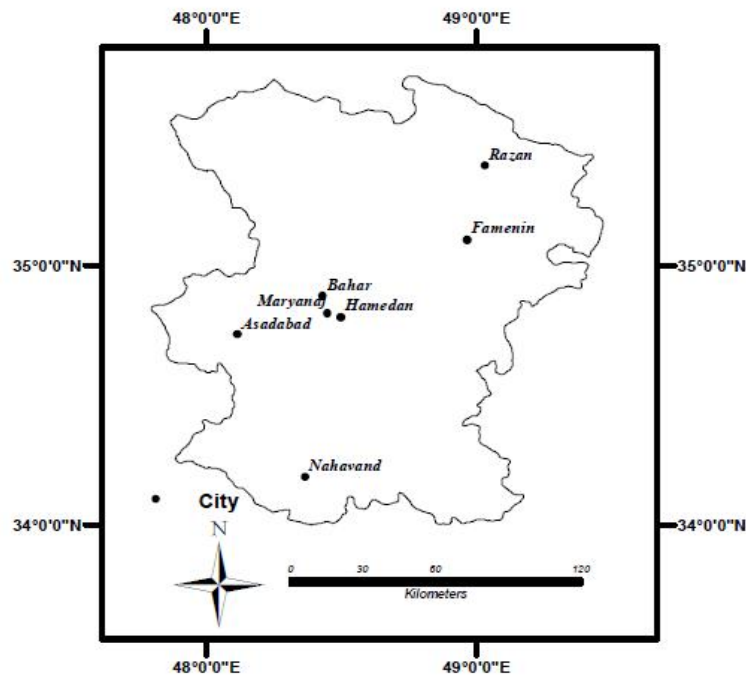
جمع‌آوری حشرات و پرورش کلنی

در تحقیق حاضر جهت پرورش انبوه *T. absoluta* و انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی از گوجه‌فرنگی رقم ازمیر استفاده شد. جمعیت‌های مزرعه‌ای مینوز برگ گوجه‌فرنگی از مزارع استان همدان جمع‌آوری شده (جدول ۱، شکل ۱) و پس از انتقال به آزمایشگاه گروه گیاهپزشکی دانشگاه بوعلی‌سینا، درون اتاقک رشد با شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سلسیوس، دوره نوری ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی) و رطوبت نسبی 65 ± 5 روی گیاه گوجه‌فرنگی پرورش داده شد. پس از گذشت سه نسل، آزمایش‌های زیست‌سنجی روی جمعیت‌های جمع‌آوری شده انجام گردید. از جمعیت موجود در گلخانه گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا، که به مدت پنج سال از هر گونه تماس با ترکیبات حشره‌کش به دور بوده است، به عنوان مبنا و شاخصی برای مقایسه داده‌های آزمایش‌های زیست‌سنجی، استفاده گردید.

جدول ۱- محل جمع‌آوری و مختصات جغرافیایی جمعیت‌های *T. absoluta*

Table 1. Collection sites and map coordinates of the *T. absoluta* assayed populations.

Population	Location	Crop	Coordinate
Field population 1	Hamedan-Asadabad	Tomato/ field	E 48° 07'. N34° 44'
Field population 2	Hamedan-Bahar	Tomato/ field	E 48° 26'. N34° 53'
Field population 3	Hamedan-Famenin	Tomato/ field	E 48° 58'. N35° 06'
Field population 4	Hamedan-Hamedan	Tomato/ field	E 48° 30'. N34° 48'
Field population 5	Hamedan-Maryanaj	Tomato/ field	E 48° 27'. N34° 49'
Field population 6	Hamedan-Nahavand	Tomato/ field	E 48° 22'. N34° 11'
Field population 7	Hamedan-Razan	Tomato/ field	E 49° 02'. N35° 23'



شکل ۱- نقشه محل نمونه‌برداری جمعیت‌های *T. absoluta*

Fig. 1. Map showing collection sites for tomato leaf miner, *T. absoluta* populations.

زیست‌سنجی

برای انجام زیست‌سنجی‌ها از لاروهای سن دوم (۴۸ - ۲۴ ساعته) استفاده شد. لاروهای سن اول داخل ژرمیناتور به صورت روزانه و هر ۲۴ ساعت یکبار، مورد بازرسی قرار گرفته و با وارد شدن به سن دوم، به ظروف مخصوص جهت انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی منتقل گردیدند. زیست‌سنجی‌ها با هدف بررسی سمیت تماسی - گوارشی دلتامترین روی مرحله لارو سن دوم (۴۸-۲۴ ساعته) انجام شد. همه آزمایش‌ها در شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۸ : ۱۶ صورت گرفت. زیست‌سنجی به روش توصیه شده IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) (IRAC method) (No. 022)، انجام گردید (Roditakis et al., 2013; Silva et al., 2011). از دلتامترین بایر آلمان (۲/۵٪ EC) در زیست‌سنجی‌ها استفاده گردید. براساس نتایج حاصل از آزمون مقدماتی، غلظت‌های به وجود آورنده تلفات بین ۱۰ و ۹۰ درصد (Robertson et al., 2007) جهت زیست‌سنجی انتخاب شدند. هر تیمار شامل ۶ غلظت و یک تیمار شاهد با حداقل ۸ تکرار و تعداد ۳۰-۲۵ عدد لارو در هر تکرار بود. دامنه غلظت‌های مورد استفاده در زیست‌سنجی‌ها از ۱۸۶۰-۳۲ پی‌پی‌ام متغیر بود. برای تهیه هر غلظت حجم کافی از حشره‌کش دلتامترین با آب مقطر مخلوط شده و برگ‌ها به مدت یک دقیقه در محلول سمی به صورت غوطه‌ور قرار گرفتند. برگ‌ها سپس به مدت تقریباً یک ساعت، روی حوله‌های کاغذی در شرایط اتاق نگهداری شدند تا سطح آنها کاملاً خشک گردد. جهت حفظ شادابی برگ‌ها در طول انجام زیست‌سنجی، قسمت انتهایی برگ توسط پنبه مرطوب پوشانده شد. برای تیمار شاهد، تنها از آب جهت غوطه‌وری برگ‌ها استفاده گردید. آزمایشات زیست‌سنجی درون ظروف پلاستیکی شفاف دارای تهویه مناسب و به حجم تقریبی ۱ لیتر انجام گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع آزمایش، تلفات مرحله لاروی ثبت گردید. لاروهایی که ۲۴ ساعت پس از تیمار، قادر به حرکت پاها و شکم خود در اثر تحریک با نوک سوزن نبودند، مرده به شمار آمدند. در صورت بالا بودن میزان تلفات در تیمار

شاهد (بیش از ۱۰ درصد) تکرار مورد نظر حذف شده و در صورت وجود تلفات احتمالی در تیمار شاهد (کمتر از ۱۰ درصد) میزان مرگ‌ومیر مشاهده شده به کمک فرمول ابوت تصحیح گردید (Abbott, 1925).

آزمون‌های سینرژست‌ها

براساس داده‌های حاصل از زیست‌سنجی، در نهایت سه جمعیت مزرعه‌ای با کمترین میزان تلفات در مقایسه با سایر جمعیت‌ها، جهت انجام آزمون‌های سینرژسمی انتخاب گردید. در آزمون‌های سینرژسمی، از Piperonyl butoxide (PBO)، مهارکننده مونواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ (Cytochrome P-450 monooxygenase enzyme)، DEF), S,S,S-tributyl phosphorotrithioate (DEF), مهارکننده آنزیم‌های گروه استرازاها (esterase enzyme) و Diethyl maleate (DEM)، مهارکننده گلوکوتایون اس-ترانسفرازها (S-transferase enzyme) جهت بررسی احتمال دخالت سیستم‌های آنزیمی در ایجاد مقاومت استفاده شد. بالاترین غلظت از هر سینرژست که در جمعیت حساس تلفاتی به دنبال نداشته باشد، به عنوان غلظت مبنا در آزمون‌های سینرژسمی انتخاب شد. بر این اساس، غلظت‌های انتخابی برای سینرژست‌های DEF, PBO و DEM به ترتیب شامل ۱۰۰، ۱۰۰ و ۱۲۰ میلی‌گرم بر لیتر بودند. برگ‌های آغشته به غلظت‌های مناسب از هر سینرژست به مدت ۱۲ ساعت قبل از شروع زیست‌سنجی با حشره‌کش، جهت تغذیه در اختیار لاروهای سن دوم قرار داده شد و سپس زیست‌سنجی با دلتامترین در محدوده غلظت‌های ۱۸۶۰-۳۲ پی‌پی‌ام، به روش توضیح داده شده در قسمت‌های قبلی انجام گردید (Sang *et al.*, 2016).

تجزیه تحلیل داده‌ها

تجزیه پروبیت داده‌های حاصل از زیست‌سنجی با استفاده از نرم‌افزار POLO-Plus انجام شد. فواصل اطمینان در سطح احتمال ۹۵٪ برای غلظت کشنده ۵۰ درصد محاسبه گردید. نرخ مقاومت به همراه فواصل اطمینان ۹۵٪ برای هر یک از جمعیت‌های مورد بررسی، با استفاده از روش Robertson & Preisler (1992) محاسبه شد. نبود هم‌پوشانی بین محدوده‌های اطمینان ۹۵٪، نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین مقادیر LC₅₀ جمعیت‌های مورد بررسی بوده است. به منظور تعیین نرخ سینرژسم، مقدار غلظت کشنده ۵۰٪ برای تیمار بدون سینرژست به مقدار غلظت کشنده محاسبه شده برای همان جمعیت برای تیمار سینرژست به همراه دلتامترین تقسیم شد. عدم پوشش عدد یک در محدوده اطمینان ۹۵٪ نرخ‌های سینرژسم بدست آمده، دلیلی بر معنی‌داری نرخ‌های سینرژسم بوده است. گروه‌بندی جمعیت‌های جمع‌آوری شده از نظر سطح مقاومت طبق معیار ارایه شده توسط Lai *et al.* (2011) انجام گرفت. براساس این معیار، جمعیت‌های دارای نرخ‌های مقاومت ۳ تا ۵، ۵ تا ۱۰ برابر، ۱۰ تا ۴۰ برابر، ۴۰ تا ۱۶۰ و بیش از ۱۶۰ برابر به ترتیب در گروه‌های حساسیت کاهش یافته، مقاومت پایین، مقاومت متوسط، مقاومت بالا و مقاومت بسیار بالا قرار می‌گیرند.

نتایج و بحث

آزمایش‌های زیست‌سنجی

نتایج حاصل از زیست‌سنجی با فرمولاسیون تجاری دلتامترین روی لارو سن ۲ مینوز برگ گوجه‌فرنگی در جدول ۲ آمده است. در بین جمعیت‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر، جمعیت شماره ۷ با LC₅₀ معادل

۱۵۳۶/۴۷ پی‌پی‌ام به عنوان مقاومترین و جمعیت شماره ۱ با LC_{50} معادل ۱۳۴/۳۸ پی‌پی‌ام، به عنوان حساس‌ترین جمعیت مزرعه‌ای شناخته شد (جدول ۲).

بررسی میزان حساسیت جمعیت‌های مزرعه‌ای گونه‌های مختلف آفت به ترکیبات حشره‌کش از جهت معرفی استراتژی‌های مدیریت مفید آفات و نیز مدیریت موثر مقاومت به آفت‌کش‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. نبود آلل‌های مقاوم در میان جمعیت‌های آفت برای کشاورزان و کارشناسان مدیریت آفات، نوید بخش بوده و نشان می‌دهد که امکان استفاده موثر از حشره‌کش‌های مورد استفاده هنوز وجود دارد. ردیابی جهش(های) عامل مقاومت در بین افراد یک جمعیت، به عنوان راه‌کاری مفید در تشخیص جمعیت‌های مقاوم شناخته می‌شود. در استفاده از این روش، توجه به سازوکار پدید آورنده مقاومت، یک ضرورت است، چنانچه عامل پدید آورنده مقاومت کاهش نفوذ یا دخالت گروه‌های آنزیمی باشد، دیگر روش‌های مولکولی در تشخیص مقاومت موثر نخواهند بود. در چنین شرایطی راه‌کار مناسب، زیست‌سنجی جمعیت‌ها در همراهی با آزمون‌های سینرژسمی خواهد بود (Malekmohammadi *et al.*, 2010). نرخ مقاومت برآورد شده برای جمعیت‌ها از ۱/۸۸ تا ۲۱/۶ برابر متغیر بود، دلیل چنین تفاوتی می‌تواند تاریخچه متفاوت سم‌پاشی و نیز تفاوت الگوی مقاومت تقاطعی جمعیت‌ها به ترکیبات حشره‌کش باشد. گروه‌بندی جمعیت‌های جمع‌آوری شده از نظر سطح مقاومت طبق معیار ارایه شده توسط Lai *et al.* (2011) بوده است. به این ترتیب جمعیت‌های مزرعه‌ای در تحقیق حاضر از نظر میزان مقاومت به حشره‌کش دلتامترین در گروه‌های حساس (جمعیت مزرعه‌ای شماره ۲)، گروه‌های دارای مقاومت کم (جمعیت‌های مزرعه‌ای ۳ و ۴) و گروه‌های دارای مقاومت متوسط (جمعیت‌های ۵ و ۶ و ۷) قرار گرفتند.

جدول ۲- سمیت دلتامترین علیه لاروهای سن دوم جمعیت‌های آزمایشگاهی حساس و مزرعه‌ای

T. absoluta

Table 2. Toxicity of deltamethrin to second instar larvae of laboratory susceptible and field populations of *T. absoluta*.

Population	n ^a	df ^b	Slope (SE)	LC ₅₀ (95% CL ^c) (ppm)	χ ^{2d}	RR ^e (95% CL ^c)
Susceptible	250	4	3.08 (0.28)	70.27 (64.09-79.96)	1.75	-
Field population 1	250	4	4.47 (0.30)	134.38 (122.36- 148.02)	4.26	1.88 (1.73- 2.06)
Field population 2	250	4	4.30 (0.25)	220.92 (199.10- 247.00)	5.85	3.11 (2.85- 3.39)
Field population 3	250	4	5.76 (0.33)	431.74 (399.61- 469.14)	3.87	6.07 (5.59- 6.59)
Field population 4	250	4	7.86 (0.57)	723.23 (693.80- 755.68)	4.76	10.16 (9.38- 11)
Field population 5	250	4	8.25 (0.48)	1226.81 (1199.91- 1255.88)	4.50	17.23 (1.73- 2.06)
Field population 6	250	4	10.59 (0.61)	1495.144 (1431.91- 1565.84)	5.74	21.06 (19.47- 22.77)
Field population 7	250	4	3.91 (0.30)	1536.47 (1507.30- 1567.93)	4.24	21.58 (19.94- 23.35)

^a The number of larvae used in each bioassay.

^b Degree of freedom.

^c CL, confidence interval limit.

^d χ² represents Chi-square goodness-of-fit test.

RR^e, Resistance Ratio, LC₅₀ of resistant population/ LC₅₀ of susceptible strain.

آزمون سینرژسمت‌ها

در آزمون‌های سینرژسمی، با هدف بررسی نقش سیستم‌های آنزیمی در مقاومت به دلتامترین، از جمعیت مزرعه‌ای شماره ۵، ۶ و ۷ به ترتیب با نرخ‌های مقاومت ۱۷/۲۳، ۲۱/۰۶ و ۲۱/۵۸ استفاده شد (جدول ۳).

سینرژیست PBO به صورت معنی‌داری توانست نرخ مقاومت را در جمعیت‌های مزرعه‌ای ۵، ۶ و ۷ به ترتیب از ۱۷/۲۳ به ۳/۲۱ برابر (نرخ سینرژیسم معادل ۵/۴۴)، از ۲۱/۰۶ به ۴/۷۲ برابر (نرخ سینرژیسم معادل ۴/۵۱) و از ۲۱/۵۸ به ۸/۰۵ برابر (نرخ سینرژیسم معادل ۲/۷۲) کاهش دهد. حال آنکه افزایش تلفات مشاهده شده در جمعیت حساس در حدود ۱/۰۴ برابر و از نظر آماری بی‌معنی بوده است. بزرگتر بودن نرخ سینرژیسم بدست آمده برای جمعیت‌های مزرعه‌ای ۵، ۶ و ۷ در مقایسه با جمعیت حساس در صورت پیش‌تیمار با PBO، می‌تواند نشان‌دهنده نقش موثر مونواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ در سمیت‌زدایی دلتامترین باشد.

جدول ۳- سمیت دلتامترین علیه لاروهای سن دوم جمعیت‌های آزمایشگاهی حساس و مزرعه‌ای *T. absoluta* در حضور و عدم حضور سینرژیست‌ها.

Table 3. Toxicity of deltamethrin to second instar larvae of laboratory susceptible and field populations of *T. absoluta* with and without synergists.

Population	n ^a	df ^b	Synergist	Slope (SE)	LC ₅₀ (95% CL ^c) (ppm)	χ ^{2d}	SR ^e (95% CL ^c)
Susceptible	250	4	-	3.08 (0.28)	70.27 (64.09-79.96)	1.75	-
	250	4	PBO	2.97 (0.27)	68.61 (64.25- 74.44)	5.18	1.04 (0.93- 1.15)
	250	4	DEF	5.34 (0.30)	56.64 (51.93- 62.28)	4.35	1.25 (1.15- 1.36)
	250	4	DEM	3.21 (0.27)	65.06 (61.41- 69.66)	4.17	1.09 (0.99- 1.21)
Field population 5	250	4	-	8.25 (0.48)	1226.81 (1199.91- 1255.88)	4.50	-
	250	4	PBO	3.78 (0.24)	225.48 (197.50- 261.89)	3.67	5.44 (5.16- 1.36)
	250	4	DEF	6.23 (0.36)	915.62 (838.82- 1014.61)	4.23	1.34 (1.29- 1.39)
	250	4	DEM	8.45 (0.81)	1193.72 (1171.19- 1214.63)	4.07	1.04 (1.01- 1.07)
Field population 6	250	4	-	10.59 (0.61)	1495.144 (1431.91- 1565.84)	5.74	-
	250	4	PBO	4.7 (0.32)	332.05 (300.90- 358.21)	4.43	4.51 (4.30- 4.73)
	250	4	DEF	10.96 (0.36)	1187.88 (1168.14- 1207.59)	3.87	1.26 (1.23- 1.29)
	250	4	DEM	6.37 (0.54)	1418.10 (1378.85- 1456.34)	3.65	1.06 (1- 1.09)
Field population 7	250	4	-	3.91 (0.30)	1536.47 (1507.30- 1567.93)	4.24	-
	250	4	PBO	3.46 (0.31)	565.79 (531.65- 612.35)	3.21	2.72 (2.52- 2.92)
	250	4	DEF	5.46 (0.35)	957.99 (876.46- 1074.08)	3.74	1.60 (1.54- 1.67)
	250	4	DEM	7.49 (0.55)	1509.29 (1443.99- 1584.84)	4.67	1.02 (0.99- 1.05)

^a The number of larvae used in each bioassay.

^b Degree of freedom

^c CL, confidence interval limit.

^d χ² represents Chi-square goodness-of-fit test.

^e SR, Synergist Ratio, LC₅₀ without synergist / LC₅₀ with synergist.

پی‌پرونیل بوتوکساید، به عنوان بازدارنده شناخته شده مونواکسیژنازهای میکروزمی، در متابولیسم و

سم‌زدایی بسیاری از ترکیبات حشره‌کش نقش مؤثری برعهده دارد (Feyereisen, 1999; Hemingway &)

(Ranson, 2000). در مواردی که امکان مقاومت به پایرترویدها وجود دارد، توصیه کارشناسان، اضافه کردن PBO به فرمولاسیون حشره‌کش‌ها با هدف جلوگیری از فعالیت سم‌زدایی منواکسیژنازها و در نتیجه افزایش کارایی آفت‌کش می‌باشد (Romero *et al.*, 2009). تاکنون استفاده از سینرژست‌ها در شرایط مزرعه به دلیل مقاومت جمعیت‌های آفت نسبت به آنها، چندان موفقیت‌آمیز نبوده است. در عین حال از پی‌پرونیل بوتوکساید به عنوان یک ماده کمکی تشدید کننده همراه با حشره‌کش‌های ارگانوفسفات و پایرتروید در مبارزه علیه آفات انباری استفاده می‌شود (Ardley, 1976; Bengston, *et al.*, 1983; Samson *et al.*, 1990; Daghish *et al.*, 1995). مقاومت به آفت‌کش‌ها می‌تواند با تغییر میزان بیان برخی از منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ (Liu & Scott, 1998; Kasai *et al.*, 2000; Pridgeon *et al.*, 2003) و/یا با تغییرات ساختاری و به تبع آن افزایش فعالیت کاتالیتیکی این گروه آنزیمی همراه باشد (Zhu & Snodgrass, 2003). بنابراین، مطالعه اثرات سینرژستی PBO روی حشره‌کش‌ها هم به لحاظ روشن شدن نقش منواکسیژنازهای سیتوکروم پی-۴۵۰ در مقاومت به حشره‌کش‌ها و هم به لحاظ افزایش اثربخشی حشره‌کش‌ها در کنترل گونه‌های آفت به خصوص حشره‌کش‌های گروه ارگانوفسفات و پایرتروید از اهمیت خاصی برخوردار خواهد بود (Kasai *et al.*, 1998; Wu *et al.*, 1998). بررسی‌های قبلی نقش منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ در مقاومت بسیاری از گونه‌های آفت همچون ساس رختخواب، *Cimex lectularius* L. (Romero *et al.*, 2009)، پشه خانگی جنوبی *Aedes aegypti* (L.) (Rodriguez *et al.*, 1991)، پشه تب زرد *Culex quinquefasciatus* Say (Thomas *et al.*, 1991)، سوسک دانه غلات *Rhyzopertha dominica* (F.) (Dittrich *et al.*, 1990; Kumar *et al.*, 2002; 2014)، کرم برگ‌خوار مصری پنبه *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Ahmad *et al.*, 2007)، شپشک آرد آلود پنبه *Phenacoccus solenopsis* (Huebner) (Ishtiaq *et al.*, 2012) *Spodoptera exigua* (Saddiq *et al.*, 2016) و مینوز برگ گوجه‌فرنگی *T. absoluta* (Silva *et al.*, 2015) به دلالت‌ترین را تأیید نموده است. نتایج تحقیق Sauphanor *et al.* (1997) نیز با هدف شناخت سازوکار مقاومت لاروهای سن پنجم کرم سبب *Cydia pomonella* L. به دلالت‌ترین و دیفلوبینزورون ضمن تأیید نقش گروه‌های آنزیمی استرازاها و اکسیدازهای چند کاره در مقاومت *C. pomonella* به دلالت‌ترین، علت وجود تفاوت در اثرات سینرژستی بین کاربرد PBO به تنهایی و کاربرد PBO همراه با DEF در سوبه‌های مقاوم را نتیجه افزایش فعالیت استرازاها و یا هیدرولیز سریع مولکول‌های دلالت‌ترین توسط اکسیدازهای چند کاره معرفی نموده است. در تحقیق حاضر، مقاومت باقی‌مانده پس از تیمار با PBO، ضمن تأیید نقش PBO در مقاومت به دلالت‌ترین، نشان می‌دهد که منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ تنها عامل مقاومت جمعیت‌های مورد بررسی به دلالت‌ترین نبوده است. نتایج حاصل از بررسی‌های قبلی نیز نقش سازوکارهای دیگری غیر از منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ نظیر کاهش حساسیت جایگاه هدف کانال سدیم (decreased target site sensitivity of voltage-gated sodium channel) (*kdr*) یا کاهش نفوذ کوتیکولی (*pen*) در مقاومت به دلالت‌ترین را تأیید نموده است.

سینرژست DEF در فعالیت‌های هیدرولیتیکی بلوکه‌کننده آنزیم‌های استرازی نقش دارد (Jao & Casida, 1974). میزان کاهش نرخ مقاومت جمعیت‌های مزرعه‌ای ۵، ۶ و ۷ در صورت پیش‌تیمار با سینرژست DEF به ترتیب عبارت از ۱۷/۲۳ به ۱۳/۰۳ برابر (نرخ سینرژسیم معادل ۱/۳۴)، از ۲۱/۰۶ به ۱۶/۹ برابر (نرخ سینرژسیم معادل ۱/۲۶) و از ۲۱/۵۸ به ۱۳/۶۳ برابر (نرخ سینرژسیم معادل ۱/۶۰) بود. در جمعیت حساس نیز اثرات DEF در افزایش تلفات مشخص و مشابه جمعیت‌های مقاوم بود (نرخ سینرژسیم ۱/۲۵). بنابراین، به‌رغم نقش تأثیرگذار استرازاها در سم‌زدایی دلالت‌ترین در جمعیت‌های حساس و مقاوم مزرعه‌ای،

استرازاها نمی‌توانند به عنوان یک عامل موثر در مقاومت *T. absoluta* به حشره‌کش دلتامترین مطرح باشند. بررسی‌ها نشان داده است که افزایش بیان استرازاها در برخی از گونه‌های حشرات سطوح نسبتاً کمی از مقاومت به پایرتروبیدها را می‌تواند به دنبال داشته باشد (Li et al., 2007). کاهش غلظت کشنده ۵۰٪ جمعیت‌های مزرع‌ای تیمار شده با سینترژیست DEM، ناچیز و در بیشترین میزان برای جمعیت مزرع‌ای ۶ از ۱۴۹۵/۱۴۴ به ۱۴۱۸/۱۰ با نرخ سینترژیسم معادل ۱/۰۵ برابری به ثبت رسید. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که نقش سم‌زدایی متابولیکی با دخالت گروه‌های آنزیمی استرازاها و گلوکوتایون‌اس- ترانسفرازها در مقاومت جمعیت‌های مزرع‌ای *T. absoluta* به دلتامترین، ضعیف و بی‌اهمیت بوده است. برخلاف نتایج تحقیق حاضر، در بررسی انجام شده توسط Silva et al. (2015) ارتباط معنی‌دار میزان فعالیت سیستم آنزیمی GST با سطح مقاومت به پرمترین و دلتامترین (مقادیر غلظت کشنده ۵۰٪) در زیست‌سنجی‌های دز- پاسخ تایید گردید. در سایر گونه‌ها، نقش GSTها در متابولیسم مستقیم پایرتروبیدها به اثبات نرسیده است و تصور بر آن است که GSTها، حشره‌کش‌های پایرتروبییدی را تا زمان متابولیزه شدن توسط سایر گروه‌های آنزیمی محصور می‌سازند (Kostaropoulos et al., 2001; Vontaz, et al., 2001). البته جهت روشن شدن نقش هر یک از دو امکان بالا در مقاومت شب‌پره مینوز برگ گوجه‌فرنگی به ترکیبات پایرتروبییدی، به بررسی‌های بیشتری نیاز است.

بررسی‌ها در خصوص نقش گروه‌های آنزیمی در مقاومت مینوز برگ گوجه‌فرنگی به ترکیبات آفت‌کش محدود بوده است. در یک مطالعه با هدف شناخت سازوکار مقاومت احتمالی جمعیت‌های مزرع‌ای *T. absoluta* به حشره‌کش اسپینوزاد، Reyes et al. (2012) ضمن تعیین میزان حساسیت پنج جمعیت مزرع‌ای به همراه یک سویه حساس از لاروهای سن دوم، فعالیت گروه‌های آنزیمی اکسیدازهای چندکاره (mixed function oxidases, MFO)، گلوکوتایون‌اس- ترانسفرازها (glutathione-S-transferase, GST) و استرازاها (esterases, EST) را نیز مورد ارزیابی قرار دادند. آنها بیان کردند تلفات جمعیت‌های مزرع‌ای در مقایسه با سویه حساس به طور معنی‌داری (۹۱/۷٪) کاهش داشته است که می‌تواند به دلیل بالاتر بودن سطح فعالیت هر سه گروه آنزیمی در جمعیت‌های مزرع‌ای مقاوم به اسپینوزاد در مقایسه با سویه حساس باشد. بر این اساس بیشترین و کمترین فعالیت آنزیمی به ترتیب برای اکسیدازهای چندکاره (۴/۶-۱/۸ برابر) و گلوکوتایون‌اس- ترانسفرازها (۲/۷-۰/۵ برابر) بدست آمد. در تحقیق مشابه دیگری، با هدف بررسی سازوکار مقاومت احتمالی شب‌پره مینوز برگ گوجه‌فرنگی به حشره‌کش کلرپایریفوس (Zibae et al., 2016) مقدار غلظت کشنده ۵۰٪ (LC₅₀) جمعیت‌های مزرع‌ای جمع‌آوری شده از شهرستان رشت ۵۰۱۰ میکروگرم بر لارو برآورد گردید. نتایج آزمون‌های سینترژیسمی نیز تأثیر معنی‌دار سینترژیست‌های TPP (triphenylphosphate)، DEM (bydiethyl maleate) و PBO (piperonylbutoxide) روی سمیت کلرپایریفوس را تأیید نمود. به عقیده این محققین، قوی‌تر بودن اثرات سینترژیسمی سینترژیست‌های TPP و DEM در مقایسه با PBO، نشان دهنده نقش تأثیرگذار استرازاها در مقاومت جمعیت‌ها به کلرپایریفوس بوده است. نتایج بررسی‌های انجام شده در خصوص مقاومت سایر گونه‌های آفت به ترکیبات پایرتروبییدی در مقایسه با نتایج بدست آمده از بررسی‌های مشابه روی *T. absoluta* تا حدودی متفاوت بوده و با افزایش کمی مونواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰، کربوکسیل‌استرازاها و گلوکوتایون‌اس- ترانسفرازها همراه بوده است (Ranson et al., 2002; Li et al., 2007; Low et al., 2007). وجود چنین تفاوت‌هایی می‌تواند ناشی از اثرات وابسته به گونه سینترژیست‌ها در مقاومت به حشره‌کش‌ها باشد. Silva et al. (2015) در بررسی احتمال مقاومت جمعیت‌های برزیلی *T. absoluta* به حشره‌کش‌های پایرتروبییدی دلتامترین (Deltamethrin, Decis)، آلفاسیپرمترین (Alphacypermethrin, Fastac) و پرمترین (Permethrin, Valon)، ضمن تعیین میزان فراوانی جهش‌های کانال سدیم M918T و T929I, L1014F،

نقش سم‌زدایی متابولیکی در ایجاد مقاومت را نیز مورد ارزیابی قرار دادند. علی‌رغم عدم اثربخشی حشره‌کش‌های مورد مطالعه در کنترل مینوز برگ گوجه‌فرنگی (عدم کنترل ۹۸-۱۰۰ درصدی تمامی جمعیت‌های آفت)، نرخ مقاومت برآورد شده برای جمعیت‌ها از ۱-۱۱ برابر متغیر بود. نتایج این تحقیق ضمن تأیید همبستگی معنی‌دار فعالیت گروه‌های آنزیمی گلوکاتایون اس- ترانسفراز و منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ با مقاومت به حشره‌کش‌ها، نشان داد که جهش مقاومت به اثر ضربه‌ای (*knockdown resistance (kdr) mutations, L1014F*) در تمامی جمعیت‌ها به طور ثابت وجود دارد و جهش‌های مافوق اثر ضربه‌ای *M918T (super-kdr)* و به ویژه *T929I* نیز در تمامی جمعیت‌ها با فراوانی بالا وجود دارد. نتیجه این تحقیق، ضمن تأیید نقش مهم گروه‌های آنزیمی منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ و گلوکاتایون اس- ترانسفرازها، دلیل اصلی عدم کارایی ترکیبات مورد نظر در کنترل آفت را وجود جهش‌های نامبرده در دامین ۲ کانال سدیم (*domain II of the sodium channel*) معرفی کرده و ادامه مصرف ترکیبات پایرترویدی را به شدت منع می‌کند. در تحقیق مشابه دیگری (*Padonou et al., 2012*)، جهش *L1014F kdr* به عنوان سازوکار اصلی مقاومت به پایرترویدها در جمعیت‌های *A. gambiae* معرفی شد. البته حتی در مواردی که جهش *L1014F kdr* به عنوان تأثیرگذارترین عامل ایجاد کننده مقاومت به دلتامترین در جمعیت‌های *A. gambiae* مطرح بوده است، نقش مقاومت متابولیکی به واسطه فعالیت گروه‌های آنزیمی منواکسیژنازها و استرازاها نیز به اثبات رسیده است (*Aizoun et al., 2014*).

نتیجه‌گیری

پایرترویدها سموم آکسونی هیجانی (*axonic excitoxins*) هستند که از طریق جلوگیری از بسته شدن کانال‌های ولتاژ سدیم (*voltage-gated sodium channels*) در غشاء آکسونی باعث مسمومیت و در نهایت مرگ می‌گردند. ایجاد تغییرات ساختاری یا عملکردی در این بخش، مهمترین عامل مقاومت به این گروه از حشره‌کش‌ها به شمار می‌رود. مقاومت به پایرترویدهای مصنوعی می‌تواند با افزایش مقدار کمی منواکسیژنازهای وابسته به سیتوکروم پی-۴۵۰ و یا افزایش کارایی آنها همراه باشد. بر اساس نتایج برخی بررسی‌ها، کربوکسیل‌استرازاها نیز می‌توانند در کاهش حساسیت افراد به حشره‌کش‌های پایرترویدی موثر باشند (*Ahmad et al., 2007; Delorme et al., 1988*). براساس یافته‌های این تحقیق استفاده از *PBO* می‌تواند در معکوس‌سازی روند مقاومت و نیز کاهش سطح آن در لاروها مؤثر باشد، اما میزان مقاومت باقی‌مانده به واسطه وجود سازوکارهای ثانوی مقاومت، می‌تواند برنامه‌های مبارزه با آفات را با شکست مواجه سازد. در عین حال به دلیل عدم حذف کامل مقاومت سویه‌های *T. absoluta* در تیمار با *PBO* می‌توان اینطور نتیجه گرفت که سازوکارهای دیگری غیر از سازوکارهای متابولیکی در مقاومت به دلتامترین موثر باشند. در تحقیق حاضر، منواکسیژنازهای سیتوکروم پی-۴۵۰ در سم‌زدایی متابولیکی دلتامترین و در نتیجه مقاومت به آن نقش مهمی برعهده داشته‌اند در صورتی که استرازاها و گلوکاتایون اس- ترانسفرازها فاقد چنین عملکردی بوده‌اند. در گام بعدی می‌بایست بیان کمی (غلظت آنزیمی) یا تفاوت‌های کیفی (ساختار آنزیمی) منواکسیژنازهای سیتوکروم پی-۴۵۰ مورد ارزیابی قرار گیرد. تعیین دقیق سازوکار مقاومت سیستم عصبی با تأکید بر ژن درگیر در مقاومت و نیز بررسی الگوی مقاومت تقاطعی در جمعیت‌های مورد بررسی، به درک درست سازوکار مقاومت *T. absoluta* به دلتامترین و مدیریت آن خواهد انجامید. عدم مقاومت تقاطعی دلتامترین با سایر ترکیبات حشره‌کش، زمینه‌ساز کاربرد گردشی و موزاییکی این ترکیب با دیگر حشره‌کش‌ها خواهد بود.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه بوعلی‌سینا انجام شده است که بدین وسیله از آن معاونت محترم، تشکر و قدردانی می‌گردد. از سرکار خانم دکتر مهرانه خدامرادپور به جهت مساعدت در تهیه نقشه محل‌های نمونه‌برداری، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

References

- Abbott, W. S.** (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265–267.
- Afzal, M. B. S. & Shad S. A.** (2015) Resistance inheritance and mechanism to emamectin benzoate in *Phenacoccus solenopsis* (Homoptera: Pseudococcidae). *Crop Protection* 71, 60–65.
- Ahmad, M., Sayyed, A. H., Crickmore, N. & Saleem, M. A.** (2007) Genetics and mechanism of resistance to deltamethrin in a field population of (*Spodoptera litura*) (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Management Science* 63, 1002–1010.
- Aizoun, N., Aikpon, R., Gnanguenon, V., Azondekon, R., Oke- Agbo, F., Padonou, G. G. & Akogbeto, M.** (2014) Dynamics of insecticide resistance and effect of synergists piperonyl butoxide (PBO), S.S.S-tributylphosphorotrithioate (DEF) and ethacrynic acid (ETAA or EA) on permethrin, deltamethrin and dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) resistance in two *Anopheles gambiae s. l.* populations from Southern Benin, West Africa. *Journal of Parasitology and Vector Biology* 6, 1–10.
- Ardley, J. H.** (1976) Synergized bioresmethrin as a potential grain protectant. *Journal of Stored Products Research* 12, 253–259.
- Askari-Saryazdi G., Hejazi M. J., Ferguson J. S. & Rashidi M. R.** (2015) Selection for chlorpyrifos resistance in *Liriomyza sativae* Blanchard: cross-resistance patterns, stability and biochemical mechanisms. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 124, 86–92.
- Baniameri, V. & Cheraghian, A.** (2011) The current status of *Tuta absoluta* in Iran and initial control strategies. EPPO/IOBC/FAO/NEPPO Joint International Symposium on Management of *Tuta absoluta* (tomato borer, Lepidoptera: Gelechiidae) in collaboration with the IRAC and IBMA. November 16–18, Agadir, Morocco. p: 20.
- Bengston, M., Davies, R. A. H., Desmarchelier, J. M., Henning, R., Murray, W., Simpson, B. W., Snelson, J. T., Sticka, R. & Wallbank, B. E.** (1983) Organophosphorothioates and synergized synthetic pyrethroids as grain protectants on bulk wheat. *Pesticide Science* 14, 373–384.
- Daglish, G.J., Eelkema, M. & Harrison, L.M.** (1995) Chlorpyrifos-methyl plus either methoprene or synergized phenothrin for control of Coleoptera in maize in Queensland, Australia. *Journal of Stored Products Research* 31, 235–241.
- Delorme, R., Fournier, D., Chaufaux, J., Cuany, A., Bride, J. M., Auge, D. & Berge, J. B.** (1988) Esterase metabolism and reduced penetration are causes of resistance to deltamethrin in *Spodoptera exigua* HUB. (Lepidoptera: Noctuidea). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 32, 240–246.
- Desneux N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K. A. G., Burgio, G., Arpaia, S., Narvaez-Vazquez, C. A., Cabrera, J. G., Catalan Ruescas, D., Tabone, E., Frandon, J., Pizzol, J., Poncet, C., Cabello, T. & Urbaneja, A.** (2010) Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science* 83, 197–215.

- Dittrich, V., Ernst, G. H., Ruesh, O. & Uk, S.** (1990) Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Sudan, Turkey, Guatemala, and Nicaragua. *Journal of Economic Entomology* 83, 1665–1670.
- Feyereisen, R.** (1999) Insect P450 enzymes. *Annual Review of Entomology* 44, 507–533.
- Goldin, A. L.** (2003) Mechanisms of sodium channel inactivation. *Current Opinion in Neurobiology* 13, 284–290.
- Gontijo, P. C., Picanco, M. C., Pereira, E. J. G., Martins, J. C., Chediak, M. & Guedes, R. N. C.** (2013) Spatial and temporal variation in the control failure likelihood of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta*. *Annals of Applied Biology*, 162, 50–59.
- Guedes R. N. C., Picanco M. C.** (2012) *Tuta absoluta* in South America: pest status, management and insecticide resistance. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 42, 211–216.
- Gunning, R. V., Moores, G. D. & Devonshire, A. L.** (1999) Esterase Inhibitors Synergise the Toxicity of Pyrethroids in Australian *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 63, 50–62.
- Haddi, K., Berger, M., Bielza, P., Cifuentes, D., Field, L. M., Gorman, K., Rapisarda, C., Williamson, M. S. & Bass, C.** (2012) Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 42, 506–513.
- Hemingway, J. & Ranson, H.** (2000). Insecticide resistance in insect vectors of human diseases. *Annual Review of Entomology* 45, 371–391.
- Ishaaya, I.** (1993) Insect detoxifying enzymes: their importance in pesticide synergism and resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 22, 263–276.
- Ishtiaq, M., Saleem, M. A. & Wright, D. J.** (2012) Stability, cross resistance and effect of synergists, PBO and DEF, on deltamethrin resistant strain of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology* 44, 1677–1682.
- Jao, L.T. & J.E. Casida** (1974) Esterases inhibitors as synergists for (+)-trans-chrysanthemate insecticide chemicals. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 4, 456–464.
- Kang, C. Y., Wu, G. & Miyata, T.** (2006) Synergism of enzyme inhibitors and mechanisms of insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hom., Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology* 130, 377–385.
- Kasai, S., Weerashinghe, I. S. & Shono, T.** (1998) P450 monooxygenases are an important mechanism of permethrin resistance in *Culex quinquefasciatus* Say larvae. *Archive of Insect Biochemistry and Physiology* 37, 47–56.
- Kasai, S., Weerashinghe, I. S., Shono, T. & Yamakawa, M.** (2000) Molecular cloning, nucleotide sequence and gene expression of a cytochrome P450 (CYP6F1) from the pyrethroid-resistant mosquito, *Culex quinquefasciatus* Say. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 30, 163–171.
- Kostaropoulos, I., Papadopoulos, A. I., Metaxakis, A. Boukouvala, E. & Papadopoulou-Mourkidou, E.** (2001) Glutathione S-transferase in the defence against pyrethroids in insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 31, 313–319.
- Kumar, S., Thomas, A., Sahgal, A., Verma, A., Samuel, T. & Pillai, M. K. K.** (2002) Effect of the synergist, piperonyl butoxide, on the development of deltamethrin resistance in yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 50,1–8.
- Lai, T., Li, J. & Su, J.** (2011) Monitoring of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to chlorantraniliprole in China. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 101,198–205.

- Li, X. C., Schuler, M. A. & Berenbaum, M. R.** (2007) Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annual Review of Entomology* 52, 231–253.
- Lietti, M. M. M., Botto, E. & Alzogaray, R. A.** (2005) Insecticide resistance in Argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*, 34, 113–119.
- Liu, N. & Scott, J. G.** (1998) Increased transcription of *CYP6D1* causes cytochrome P450-mediated insecticide resistance in house fly. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 28, 531–535.
- Low, W. Y., Ng, H. L., Morton, C. J., Parker, M.W., Batterham, P. & Robin, C.** (2007) Molecular evolution of glutathione S-transferases in the genus *Drosophila*. *Genetics* 177, 1363–1375.
- Malekmohammadi, M., Mossadegh, M. S., Hejazi, M. J., Goodarzi, M. T., Khanjani, M. & 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.
- Martin, S. H., Ottea, J. A., Leonard, B. R., Graves, J. B., Burris, E., Micinski, S. & Church, G. E.** (1997). Effects of selected synergists and insecticide toxicity in tobacco budworms (Lepidoptera: Noctuidae) in laboratory and field studies. *Journal of Economic Entomology* 3, 723–721.
- Mohan, M. & Gujar, G.T.** (2003) Local variation in susceptibility of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Linnaeus), to insecticides and role of detoxification enzymes. *Crop Protection* 22, 495–504.
- Oliveira, F. A., da Silva, D. J. H., Leite, G. L. D., Jham, G. N. & Picanco, M.** (2009) Resistance of 57 greenhouse-grown accessions of *Lycopersicon esculentum* and three cultivars to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Scientia Horticulturae*, 119, 182–187.
- Padonou, G. G., Sezonlin, M., Osse, R., Aizoun, N., Oke-Agbo, F., Oussou, O., Gbedjissi, G. & Akogbeto, M.** (2012). Impact of three years of large scale Indoor Residual Spraying (IRS) and Insecticide Treated Nets (ITNs) interventions on insecticide resistance in *Anopheles gambiae* s.l. in Benin. *Parasites and Vectors* 5, 1–11.
- Pridgeon, J. W., Zhang, L. & Liu, N.** (2003) Overexpression of CYP4G19 associated with a pyrethroid-resistant strain of the German cockroach, *Blattella germanica* (L.). *Gene* 314, 157–163.
- Reyes, M., Rocha, K., Alarcon, L., Siegwart, M. & Sauphanor, B.** (2012) Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to spinosad. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 102, 45–50.
- Rinkevich, F. D., Du, Y. & Dong, K.** (2013) Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 106, 93–100.
- Riskallah, M. R.** (1983) Esterases and resistance to synthetic pyrethroids in the Egyptian cotton leaf worm. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 19, 184–189.
- Robertson, J. L., Russel, R. M., Preisler, H. K. & Savin, N. E.** (2007) Bioassays with Arthropods. 2nd ed. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL.
- Robertson, J. L. & Preisler, H. K.** (1992) Pesticide Bioassays with Arthropods. 1st ed. CRC Press, Inc, Boca Raton, FL.
- Rodriguez, M. M., Hurtado, D., Severson, D. W. & Bisset, J. A.** (2014) Inheritance of resistance to deltamethrin in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Journal of Medical Entomology* 51, 1213–1219.

- Roditakis, E., Skarmoutsou, C. & Staurakaki, M.** (2013). Toxicity of insecticides to populations of tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) from Greece. *Pest Management Science* 69, 834–840.
- Romero, A., Potter, M. F. & Haynes, K. F.** (2009) Evaluation of piperonyl butoxide as a deltamethrin synergist for pyrethroid-resistant bed bugs. *Journal of Economic Entomology* 102, 2310–2315.
- Saddiq, B., Shahzad Afzal, M. B. & Shad, S. A. J.** (2016) Studies on genetics, stability and possible mechanism of deltamethrin resistance in *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Homoptera: Pseudococcidae) from Pakistan. *Journal of Genetics* 95, 1009–1016.
- Samson, P. R., Parker, R.J. & Hall, E.A.** (1990) Synergised deltamethrin as a protectant against *Sitophilus zeamais* Motsch. and *S. oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) on stored maize. *Journal of Stored Products Research*, 26, 155–161.
- Sanchez-Arroyo, H., Koehler, P. G. & Valles, S. M.** (2001) Effects of the synergists piperonyl butoxide and S,S,S-tributyl phosphorothioate on propoxur pharmacokinetics in *Blattella germanica* (Blattodea :Blatellidae). *Journal of Economic Entomology* 94, 209–216.
- Sang, S., Shu, B., Yi, X., Liu, J., Hu, M. & Zhong, G.** (2016) Cross-resistance and baseline susceptibility of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) to cyantraniliprole in the south of China. *Pest Management Science* 72, 922–928.
- Sauphanor, B., Cuany, A., Bouvier, J.C., Brosse, V., Amichot, M. & Berge, J. B.** (1997). Mechanism of resistance to deltamethrin in *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 58, 109–117.
- Silva, W. M., Berger, M., Bass, C., Balbino, V. Q., Amaral, M. H. B., Campos, M. R. & Siqueira, H. A. A.** (2015) Status of pyrethroid resistance and mechanisms in Brazilian populations of *Tuta absoluta*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 122, 8–14.
- Silva, G. A., Picanco, M. C., Bacci, L., Crespo, A. L. B & Rosado, J. F.** (2011) Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *Pest Management Science* 67, 913–920.
- Siqueira, H. A. A., Guedes, R. N. C., Fragoso D. B. & Magalhaes, L.C.** (2001) Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *International Journal of Pest Management* 47, 247–251.
- Siqueira, H. A. A., Guedes, R. N. C. & Picanco, M. C.** (2000a) Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agriculture and Forest Entomology* 2, 147–153.
- Siqueira, H. A. A., Guedes, R. N. C., Picanco, M. C.** (2000b) Cartap resistance and synergism in populations of *Tuta absoluta* (Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology* 124, 233–238.
- Soderlund, D. M. & Knipple, D. C.** (2003) The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 33, 563–577.
- Thomas, A., Kumar, S. & Pillai, M. K. K.** (1991) Piperonyl butoxide as a countermeasure for deltamethrin-resistance in *Culex quinquefasciatus* Say. *Entomon* 16, 1–10.
- Thomas, J. D., Ottea, J. A., Boethel, D. J. & Ibrahim, S. A.** (1996) Factors influencing pyrethroid resistance in a permethrin-selected strain of the soybean looper, *Pseudoplusia includens* (Walker). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 55, 1–9.
- Vontas, J. G., Small, G. J. & Hemingway, J.** (2001) Glutathione S-transferases as antioxidant defence agents confer pyrethroid resistance in *Nilaparvata lugens*. *Biochemical Journal* 357, 65–72.

- Wang, L., Zhang, Y., Han, Z., Liu, Y. & Fang, J.** (2010) Cross-resistance and possible mechanisms of chlorpyrifos resistance in *Laodelphax striatellus* (Fallén). *Pest Management Science* 66, 1096–1100.
- Wu, D., Scharf, M. E., Neal, J. J., Suiter, D. R. & Bennett, G. W.** (1998) Mechanisms of fenvalerate resistance in the German cockroach, *Blattella germanica* (L.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 61, 53–62.
- Young, S. J., Gunning, R. V. & Moores, G. D.** (2006) Effect of pretreatment with piperonyl butoxide on pyrethroid efficacy against insecticide-resistance *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae). *Pest management Science* 62, 114–119.
- Zhu, Y. C. & Snodgrass, G. L.** (2003) Cytochrome P450 CYP6X1 cDNAs and mRNA expression levels in three strains of the tarnished plant bug *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae) having different susceptibilities to pyrethroid insecticide. *Insect Molecular Biology* 12, 39–49.
- Zibae, I., Bandani, A. L. & Sabahi, G.** (2016) The expression profile of detoxifying enzyme of tomato leaf miner, *Tuta absoluta* Meyrik (Lepidoptera: Gelechiidae) to chlorpyrifos. *Arthropods* 5, 77–86.
- Zlof, V. & Suffert, M.** (2012) Report of the EPPO/FAO/ IOBC/NEPPO Joint International Symposium on management of *Tuta absoluta* (tomato borer). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 42, 203–204.
-