نامه انجمن حشره‌شناسی ایران ۲۱۲-۱۹۵ ,(۲)۳۹ ,۱۳۹۸
JOURNAL OF ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF IRAN
2019, 39 (2), 195-212
DOI: 10.22117/JESI.2019.122396.1238

# اولین گزارش مقاومت کرم غوزهٔ پنبه، *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) به تیودیکارب در ایران

هادی مصلی نژاد [۱و*] و زهرا غلامی [۲]

۱- موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی تهران، ایران و ۲- گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hmosalla@gmail.com

**چکیده**

کرم غوزهٔ پنبه، *Helicoverpa armigera* (Hübner) از آفات مهم گیاهان زراعی در ایران و جهان می‌باشد. این آفت یکی از آفات مستعد برای بروز مقاومت به حشره‌کش‌ها می‌باشد. در این تحقیق حساسیت جمعیت‌هایی از این آفت از مناطق گرگان، مغان و ورامین به ایندوکساکارب (۱۵٪SC)، پروفنفوس (۵۰٪EC)، تیودیکارب (۸۰٪DF) و کلرپیریفوس (۴۰/۸٪EC) بررسی شد. آزمون زیست سنجی برای پروفنوفوس و کلرپیریفوس به روش قطره گذاری موضعی روی لاروهای سن سه و برای تیودیکارب و ایندوکساکارب از طریق اضافه کردن به غذای مصنوعی انجام شد. نتایج حاکی از بروز مقاومت بالا به تیودیکارب در جمعیت گرگان می‌باشد، به طوری که فاکتور مقاومت (RF) در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ به ترتیب ۲۶۷ و ۲۶۲ محاسبه شد. این فاکتور طی دو سال در جمعیت‌های مغان ۸/۷۵ و ۱۰/۹ و ورامین ۳/۴ و ۶/۹ محاسبه شد که اگرچه قابل توجه نیستند ولی نشانگر روند صعودی کاهش حساسیت آفت است. در مورد ایندوکساکارب نیز اگرچه RF در همه مناطق کمتر از ده برابر محاسبه شد، اما در گرگان روند صعودی کاهش حساسیت (۱۳۹۵=۷/۴۴ و ۱۳۹۶=۱۰/۳۴) قابل توجه بود. در مورد کلرپیریفوس، RF در همه جمعیت‌ها، طی ۲ سال کمتر از ۱۰ بود. فقط در جمعیت مغان، روند صعودی RF به کلرپیریفوس (۱۳۹۵=۵/۱۳ و ۱۳۹۶=۱۰/۸۶) قابل توجه بود. حساسیت آفت به پروفنوفوس در هیچ یک از مناطق اختلاف معنی‌داری طی دو سال نداشت و RF در همه موارد کمتر از ۱۰ بود. اندازه‌گیری آنزیم‌های سم زدا (استرازها، گلوتاتیون اس ترانسفرازها و مونواکسیژنازها) در جمعیت گرگان نشان داد که سطح هیچ کدام از آنها در جمعیت مقاوم و حساس، تفاوت معنی‌دار آماری ندارد. احتمالا مکانیسم‌های دیگری (غیر حساس شدن نقطه هدف)، علت بروز مقاومت می‌باشد. به منظور مدیریت مقاومت، ضروری است ضمن توقف استفاده از تیودیکارب، از حشره کش‌هایی با نحوه عمل متفاوت استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** مقاومت به حشره‌کش‌ها، کرم غوزه پنبه، تیودیکارب، ایندوکساکارب، پروفنوفوس، کلرپیریفوس

# First report of thiodicarb resistance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Iran

Hadi Mosallanejad[1,*] & Zahra Golami[2]

1. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran & 2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran
*Corresponding author, E-mail: hmosalla@gmail.com

**Abstract**

The cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) is one of the most destructive pests in Iran, attacking to a wide range of important crops such as cotton, tomato, soya and corn which causes serious

دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۴، پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۶.
دبیر تخصصی : میرجلیل حجازی

loss of production. Biological characteristics, such as polyphagous nature, migration ability, high rate of reproduction and facultative diapause has caused this pest as one of the potential pest to develop resistant to insecticides. In this research we studied the resistance status of some cotton bollworm populations from Gorgan, Moghan and Varamin against indoxacarb, thiodicarb, profenofos and chlorpyrifos. Topical application of insecticides was used as bioassay method for profenofos and chlorpyrifos and diet-incorporation method for indoxacarb and thiodicarb. The results indicated that Gorgan population has developed high resistance against thiodicarb with resistance factor (RF) of 267 and 262 in 2016 and 2017, respectively. RF against thiodicarb for Moghan was 8.75 and 10.9 in two years, while this value was 3.4 and 6.9 for Varamin. In the case of indoxacarb, RF was less than 10 in all populations, however in Gorgan population increased trend was observed (7.44 in 2016 and 10.34 in 2017). In the case of chlorpyrifos, increased RF (5.13 in 2016 and 10.86 in 2017) was only observed in Moghan population and in other populations, significant change within two years was not observed. The susceptibility of the pest against profenofos was not changed during two years and RF was calculated less than 10 in all populations. As the RF was high against thiodicarb in the Gorgan population, the detoxification enzymes (esterases, glutathione S-transferases and mono-oxygenases) were measured to know if the metabolic resistance was involved. There was no significant difference between resistant and susceptible populations, indicating that other resistance mechanisms (such as target site insensitivity) likely is the cause of the resistance, which must be investigated in further researches.
**Key words:** insecticide resistance, *Helicoverpa armigera*, indoxacarb, thiodicarb, profenofos, chlorpyrifos

## مقدمه

کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) یکی از آفات کلیدی و مهم در ایران و جهان می‌باشد که پراکنش جهانی داشته و در همه قاره‌ها بجز آمریکای شمالی وجود دارد (Fitt, 1989; Kriticos *et al*., 2015). این آفت به طیف وسیعی از محصولات مهم زراعی شامل پنبه، گوجه فرنگی، سویا، ذرت، آفتابگردان، سورگوم، بادام زمینی و نخود (۷۰ گونه میزبان برای آن ذکر شده است) خسارت وارد می‌کنند (Zalucki *et al*., 1986; Cunningham, 2014). ویژگی‌های زیست شناسی این آفت نظیر پلی‌فاژ بودن، دارا بودن قدرت مهاجرت، تعداد نسل‌های متعدد، باروری زیاد و داشتن دیاپوز اختیاری، این آفت را در زمره آفات مهم و کلیدی قرار داده است (McCaffery, 1998). از این رو خسارت‌های وارده توسط این آفت اهمیت اقتصادی زیادی داشته به طوری که در بسیاری از کشورهای پنبه خیز مثل هندوستان، استرالیا و پاکستان به عنوان یکی از عوامل مهم کاهش عملکرد پنبه شناخته شده است (Karim, 2000; Ahmad, 2007; Wilson *et al*., 2018).

اگرچه برای این آفت، مدیریت تلفیقی (IPM) شامل روش‌های مختلف نظیر اختلال در جفت‌گیری با فرمون جنسی (Toyoshima *et al*., 2001)، مهار زیستی با به کارگیری زنبورهای پارازیتوئید (Lu *et al*., 2017) در کنار استفاده از آفت‌کش‌ها توصیه می شود، اما متاسفانه در بسیاری از مناطق ایران و جهان، تنها به استفاده از آفت کش ها پرداخته و سایر روش‌ها را نادیده می‌گیرند.

مدیریت تلفیقی این آفت بر پایه‌ی روش‌های مختلف مدیریتی نظیر اختلال در جفتگیری با فرمون جنسی (Toyoshima *et al*., 2001)، مهار زیستی با به کارگیری زنبورهای پارازیتوئید (Lu *et al*., 2017) در کنار استفاده از آفت‌کش‌ها می‌باشد. متاسفانه در بسیاری از مناطق ایران و جهان، استفاده از حشره‌کش‌ها به روش کنترل غالب این آفت تبدیل شده است. شدت مصرف آفت‌کش‌ها برای مدیریت این آفت در دنیا به حدی است که طبق برآوردهای انجام شده تقریبا ۳۰ درصد حشره‌کش‌های مصرفی در دنیا در مزارع پنبه، علیه این آفت استفاده می‌شود (Ahmad, 2007). گزارش دیگری از هندوستان حاکی از آن است که اگرچه پنبه فقط ۵ درصد سطح قابل کشت در این کشور را به خود اختصاص می‌دهد، اما بیش از ۵۵ درصد حشره‌کش‌های مصرفی آن کشور، در این محصول مصرف شده است (Puri, 1995).

یکی از اثرات زیان بار مصرف بی‌رویه حشره‌کش‌ها، بروز پدیده مقاومت آفات و کاهش کارائی حشره‌کش‌ها روی آفات هدف می‌باشد. کرم غوزه پنبه یکی از حشرات مستعد بروز مقاومت به حشره‌کش‌هاست به طوری که

مقاومت به گروه‌های مختلف حشره‌کش نظیر پایرتروئیدها، بازدارنده‌های استیل کلین استراز (ترکیبات فسفره و کاربامات‌ها)، از بیشتر کشورهای پنبه خیز مثل پاکستان، هندوستان و استرالیا گزارش شده است (McCaffery, 1998; Kranthi *et al*., 2001; Ahmad, 2007). کرم غوزه پنبه در ایران در اکثر مناطق کشور وجود دارد (Matov *et al*., 2008). نحوه خسارت آن به این صورت است که لاروها پس از خروج از تخم ابتدا از پارانشیم برگ تغذیه نموده و رگبرگ‌ها را باقی می‌گذارند. سپس به غنچه، گل و غوزه حمله کرده و با سوراخ کردن آنها و ورود به داخل غوزه، به الیاف پنبه آسیب می‌رسانند (Heravi, 2015).

در زمینه مقاومت این آفت به حشره‌کش‌ها در ایران ، تاکنون هیچ گونه گزارشی منتشر نشده است. بنابراین با توجه به اهمیت موضوع، هدف از این تحقیق، ارزیابی حساسیت جمعیت آفت در مناطقی از کشور (گرگان، مغان، ورامین) نسبت به حشره‌کش‌های ثبت شده شامل ایندوکساکارب (SC٪۱۵ ) (ثبت در سال ۱۳۸۰)، پروفنوفوس (EC50%) (ثبت در سال ۱۳۵۸) و تیودیکارب ( DF٪۸۰) (ثبت در سال ۱۳٦٦) و همچنین حشره کش کلرپیریفوس (EC 40.8%) که برای کنترل این آفت توصیه شده است، می‌باشد (Noorbaksh, 2018). بنابراین از ثبت و مصرف این ترکیبات در کشور بین ١٦ تا ۳۸ سال می‌گذرد که برای بروز مقاومت، زمانی کافی به حساب می‌آید. یکی از حشره‌کش‌های مورد استفاده در این پژوهش تیودیکارب (DF٪۸۰) می باشد. استن حشره کش، یک حشره‌کش کاربامات است که بیشتر خاصیت گوارشی داشته (Sousa *et al*., 1977) و نحوه عمل آن بازدارندگی آنزیم استیل کلین استراز می‌باشد و طیف وسیعی از آفات را کنترل می‌کند. متومیل، دیگر حشره‌کش کاربامات (مورد استفاده برای کنترل مگس‌های دامی)، یکی از مشتقات تیودیکارب می‌باشد. در حقیقت تیودیکارب، از دو مولکول متومیل درست شده که توسط باند سولفوری به یکدیگر متصل می شوند (Rahman *et al*., 2017). متومیل و تیودیکارب هر دو از پر مصرف ترین حشره کش‌های کاربامات هستند که درمزارع پنبه دنیا مصرف می شوند. تیودیکارب در ایران با نام تجاری لاروین با فرمولاسیون DF80%، در سال ۱۳٦٦/۱۲/۳ علیه کرم قوزه پنبه به ثبت رسید (Meschi, 2007). حشره کش دوم پروفنوفوس (EC50%) می‌باشد، که یک حشره‌کش فسفره بوده و بیشتر خاصیت تماسی داشته و نحوه عمل آن بازدارندگی و مهار آنزیم استیل کلین استراز می‌باشد (Kushwaha *et al*., 2016). پروفنوفوس اولین بار در آمریکا (سال ۱۹۸۲) برای مقابله با آفات مقاوم به کلرپیریفوس و دیگر ترکیبات فسفره به ثبت رسید (Anonymous, 2000). این ترکیب خاصیت تخم‌کشی هم دارد (Dick & Moore, 1989). این ترکیب برای اولین بار در تاریخ ۱۳۵۸/۵/۲۹ با نام تجاری کوراکرون و فرمولاسیون EC40% برای کرم غوزه پنبه در ایران به ثبت رسید (Meschi, 2007). سومین حشره کش مورد بررسی در این پژوهش کلرپیریفوس(EC40.8%)می باشد. این ترکیب هم یک حشره‌کش فسفره است که بیشتر خاصیت تماسی داشته و نحوه عمل آن نیز بازدارندگی و مهار آنزیم استیل کلین استراز می‌باشد. این ترکیب برای اولین بار در تاریخ ۱۳۵۵/۷/۱۹ با نام تجاری دورسبان با فرمولاسیون EC40.8% در کشور ما برای آفات درختان میوه (سپردارها، شپشک‌ها) به ثبت رسید (Meschi, 2007) اما از حشره‌کش‌های پرمصرفی است که توسط کشاورزان علیه این آفت استفاده می شود و آخرین حشره کش ایندوکساکارب (SC٪15) می‌باشد. اگرچه اسم این ترکیب به "کارب" ختم می شود، اما از گروه کاربامات‌ها نیست. ایندوکساکارب (Indoxacarb) حشره‌کشی است که از لحاظ ساختمان شیمیایی از گروه اگزادیازون‌هاست که بیشتر خاصیت گوارشی دارد. این ترکیب در حقیقت، پیش مولکولی است که در بدن حشرات هدف، توسط آنزیم‌های گروه استراز به شکل فعال خود در می‌آید و خاصیت حشره‌کشی خود را انجام می‌دهد (Wing *et al*., 2000). نحوه عمل آن بازدارنگی کانال سدیم در سیستم عصبی حشرات است (Lapied *et al*., 2001) که باعث اختلال در سیستم عصبی حشرات

شـــده که در نهایت منجر به فلج و مرگ خواهد شـــد. نام تجاری این ترکیب در ایران آوانت (Avaunt®) و فرمولاسیون آن 15% SC می‌باشد. این ترکیب برای اولین بار در تاریخ ۱۳۸۰/٦/۹ علیه کرم غوزه پنبه در کشور ما به ثبت رسید (Meschi, 2007).

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری جمعیت‌ها از مزارع و پرورش آزمایشگاهی

در این تحقیق، با جمع‌آوری جمعیت‌های کرم غوزه از استان‌های گلستان (گرگان، منطقه خان ببین)، اردبیل (پارس‌آباد مغان، منطقه اولتان)، و تهران (ورامین، مزارع مرکز تحقیقات کشاورزی) حساسیت آنها نسبت به حشره‌کش‌های ایندوکساکارب (SC15% indoxacarb)، پروفنوفوس (EC50% profenofos)، تیودیکارب (DF80% thiodicarb) و کلرپیریفوس (EC40.8%) ارزیابی شد. از جمعیت حساسی که در بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک موسسه تحقیقات گیاه پزشکی، بدون فشار هیچگونه حشره‌کشی پرورش داده می‌شد به عنوان جمعیت حساس استفاده شد. حداقل ۲۰۰-۳۰۰ عدد لارو سنین ۵ و ٦ برای ایجاد کلنی آزمایشگاهی از مزارع جمع آوری شد و پس از انتقال به آزمایشگاه، پرورش آنها با استفاده از غذای مصنوعی، در اتاقک رشد در دمای ۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۵ درصد) انجام شد. این غذای مصنوعی بر پایه آگار بوده و شامل مواد زیر می باشد (Ahmed *et al.*, 1998):

لوبیا چشم بلبلی (٢٤ ساعت خیس خورده در آب)=۲۰۵ گرم؛ مخمر نانوایی=۳۵ گرم؛ پودر جوانه گندم=۳۰ گرم؛ اسید سوربیک=۱/۱ گرم؛ اسید اسکوربیک (ویتامین سی) = ۳/۵ گرم؛ متیل پاراهیدروکسی بنزوآت (نیپاژین)=۲/۲ گرم؛ پودر آگار=١٤ گرم؛ روغن آفتابگردان=٤ میلی‌لیتر و آب مقطر ۷۰۰ میلی‌لیتر.

پس از ورود به مرحله شفیرگی، تغذیه شب پره‌های بالغ در جعبه‌هایی از جنس طلق با عسل ۲۰ درصد انجام شد. همینطور از پارچه‌های تنظیف نخی، برای بستر تخمریزی حشرات بالغ استفاده شد. پس از اتمام تخمریزی، این پارچه‌ها در ظروف پلاستیکی همراه با رطوبت کافی قرار داده شد تا تخم‌ها تفریخ شوند. پرورش لاروها تا انتهای سن اول، به صورت گروهی و از سن دوم به بعد به صورت انفرادی (به علت جلوگیری از پدیده همخواری) و در ظروف پلاستیکی کوچک (سس خوری) انجام شد. لاروهای سن سوم (کمتر از ٢٤ ساعته) با وزن تقریبی ۳۰ تا ٤۰ میلی‌گرم (از اولین نسل آزمایشگاهی، $F_1$) برای انجام زیست سنجی‌ها استفاده شدند.

### تهیه مواد تکنیکال

از ماده تکنیکال حشره کش‌ها (درصد خلوص بین ۹۵ تا ۹۷ درصد) برای زیست‌سنجی استفاده شد. ماده تکنیکال تیودیکارب و ایندوکساکارب (ساخت چین) از شرکت کاووش کیمیای کرمان، کلرپیریفوس از شرکت گیاه و پروفنوفوس از شرکت گل سم گرگان (هر دو ساخت چین) تهیه شد. از استون برای تهیه محلول‌های سمی استفاده شد.

### زیست سنجی

### حشره‌کش‌های گوارشی

تیودیکارب و ایندوکساکارب چون ترکیبات گوارشی هستند، بنابراین بایستی غلظت‌های حشره‌کش همراه با غذای مصنوعی به بدن حشره وارد شوند تا تاثیر خود را داشته باشند (Gunning *et al.*, 1992; Bird, 2015). بدین منظور غلظت‌های مختلف این دو ترکیب (۵ غلظت)، ساخته شده سپس یک میلی‌لیتر از حشره‌کش با ۹ میلی‌لیتر غذای مصنوعی مخلوط شده (Saber *et al.*, 2013) و پس از خرد کردن به قطعات کوچک در اختیار لاروهای

سن سوم قرار گرفت. در نهایت این غلظت‌ها قادر بودند بین ۱۰ تا ۹۰ درصد تلفات ایجاد کنند. در تیمار شاهد به جای حشره‌کش، از استون استفاده شد. برای هر غلظت ٤ تکرار و در هر تکرار ۱۰ لارو مورد استفاده قرار گرفت. پس از ٤٨ ساعت مرگ و میر حساب شده و با نرم افزار پولو پلاس، $LC_{50}$ بر حسب میلی‌گرم بر لیتر(mg/L) محاسبه و گزارش شد. معیار مرده بودن لاروها، عدم حرکت هماهنگ و درست آنها و یا فلج و رعشه در پاهای جلویی (paralysis of prolegs) در صورت تحریک لارو با قلم مو، بود (Bird, 2015).

**حشره‌کش‌های تماسی**

پروفنوفوس و کلرپیریفوس چون تماسی هستند، بنابراین زیست‌سنجی به روش قطره گذاری موضعی ( topical application) (قراردادن غلظت حشره‌کش روی قفسه سینه لاروها) انجام شد (Mironidis *et al.*, 2013). بدین منظور یک میکرولیتر از غلظت‌های مختلف (۵ غلظت) که بین۱۰ تا ۹۰ درصد ایجاد تلفات می‌کردند، توسط سرنگ هامیلتون (Hamilton syringe) بر روی قفسه سینه لاروهای سن سوم قرار داده شد. در تیمار شاهد به جای حشره‌کش از استون استفاده شد. برای هر غلظت ۳ تکرار و در هر تکرار ۱۰ لارو مورد استفاده قرار گرفت. پس از ٤٨ ساعت مرگ و میر حساب شده و با نرم افزار پولو پلاس، عدد $LD_{50}$ بر حسب میکروگرم بر لارو (µg/larva) محاسبه و گزارش شد.

**تعیین فاکتور (شدت) مقاومت**

برای این منظور $LD_{50}$ و یا $LC_{50}$ هر جمعیت مزرعه‌ای بر اعداد جمعیت حساس تقسیم شده و عدد حاصل به عنوان فاکتور مقاومت (رResistance Factor) تعیین شد. در پژوهش‌های مربوط به مقاومت آفات به حشره‌کش‌ها، اگر شدت مقاومت که از طریق آزمایش‌های زیست سنجی محاسبه می‌شود، کمتر از ۱۰ باشد، معمولاً مقاومت محسوب نشده و در حقیقت اختلاف‌های طبیعی بین جمعیت‌های مختلف جغرافیایی از لحاظ حساسیت به حشره‌کش‌ها (natural variation in susceptibility) و در بعضی منابع تحمل (tolerance) قلمداد می‌شود و اگر بیش از ۱۰ و کمتر از ۳۰ محاسبه شود در زمره مقاومت متوسط (۱۱–۳۰)، بین ۳۱ تا ۱۰۰، مقاومت زیاد و فاکتور مقاومت بالای ۱۰۰ در زمره مقاومت خیلی زیاد (شدید) طبقه بندی می‌شود ( Valles *et al.*, 1997; Torres-Vila *et al.*, 2002). در این تحقیق نیز از این رویه، پیروی شد.

**آزمون‌های بیوشیمیایی**

در جمعیت‌هایی که فاکتور مقاومت بیش از ۱۰ تعیین شد، به منظور بررسی مکانیسم متابولیکی مقاومت، یعنی امکان دخالت آنزیم‌های سم زدا در مقاومت، فعالیت کمی آنزیم‌های استراز، گلوتاتیون اس ترانسفرازها (GST) و مونواکسیژنازها(MO) به شرح زیر اندازه‌گیری شد. همه آزمایش‌های بیوشیمیایی سه بار تکرار شد. قبل از آن مقدار پروتئین نمونه‌ها به روش بردفورد (Bradford, 1976) اندازه‌گیری شد که در آن از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد استفاده می‌شود. مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیمی بین جمعیت حساس و مقاوم، با استفاده از نرم افزار SPSS ver. 22 و با آزمون t - student انجام شد.

**اندازه‌گیری فعالیت استرازها**

برای این منظور از روش (Van Asperen, 1962) استفاده شد که در آن آلفا نفتیل استات و بتا نفتیل استات به عنوان سوبسترا (با غلظت ۰/۳ میلی‌مولار) استفاده می‌شوند. در این آزمایش در هر چاهک پلیت الیزا، از محلول رونشین و سوبسترا هر کدام ۱۲/۵ میکرولیتر (µl)، به همراه ۱۱۲/۵ میکرولیتر محلول بافر، ریخته شده و پلیت را در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه نگه داشته شد. پس از سپری شدن این زمان، با افزودن ۵۰

میکرولیتر محلول Fast blue RR به همراه SDS ۵ درصد واکنش را متوقف کرده و در نهایت، جذب نمونه‌ها در ٤٠٥ نانومتر برای آلفا استرازها و در٤٩٢ نانومتر برای بتا استرازها خوانده شد. اندازه‌گیری فعالیت استرازی با استفاده از منحنی استاندارد آلفانفتول و بتا نفتول که محصولات واکنش هستند به صورت نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه و گزارش شد.

**اندازه گیری فعالیت گلوتاتیون اس ترانسفرازها (GST)**

برای این منظور روش (Habig *et al.*, 1974) به کار گرفته شد. ۱۰ میکرولیتر از نمونه، ۲۵ میکرولیتر گلوتاتیون احیا شده (۱۰۰ میلی‌مولار)، ۱۰ میکرولیتر از سوبسترای (1-chloro-2,4-dinitrobenzeneCDNB) (۵۰ میلی‌مولار) و ۲۲۰ میکرولیتر فسفات بافر در هر چاهک پلیت الیزا ریخته شد و جذب در طول موج ۳٤٠ نانومتر به صورت پیوسته و به فاصله زمانی ۳۰ ثانیه به مدت ۵ دقیقه (دمای ۲۵ درجه سلسیوس) خوانده شد و فعالیت بر حسب نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

**اندازه گیری فعالیت مونواکسیژنازها (MO)**

فعالیت آنزیم MO به روش heme-peroxidase با استفاده از سوبسترای TMBZ (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) در حضور ۳ درصد پراکسید هیدروژن ($H_2O_2$) به روش (Brogdon *et al.*, 1997) که در آن میزان کل پروتئین حاوی آهن اندازه‌گیری می‌شود، انجام شد.

۲۰ میکرولیتر از نمونه، ۸۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات (۰/٦۲۵ مولار و اسیدیته ۷/۲)، ۲۰۰ میکرولیتر از سوبسترا (TMBZ) و ۲۵ میکرولیتر از پراکسید هیدروژن در هر چاهک پلیت الیزا ریخته شد. بعد از دو ساعت نگهداری در تاریکی، جذب در طول موج ٤٥٠ نانومتر خوانده شد. در این روش از سیتوکروم سی خالص به عنوان استاندارد استفاده شد و در نهایت فعالیت بر حسب واحد سیتوکروم ٤٥٠ بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد.

## نتایج

### حشره کش تیودیکارب

نتایج حاصل از زیست سنجی تیودیکارب در جمعیت‌های مورد مطالعه طی دو سال پیاپی در جدول ۱ ارائه شده است. طبق این نتایج، در سال ۱۳۹۵، $LC_{50}$ تیودیکارب در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۸۰۸۹، ۲٦٤/٥۱ و ۱۰۲/٦۷ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد که با توجه به اینکه عدد یاد شده در جمعیت حساس معادل ۳۰/۲۳ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد، بنابراین فاکتور مقاومت در سال ۱۳۹۵ برای جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین ۲٦۷/۵۸، ۸/۷۵ و ۳/۹٦ محاسبه شد که نشان دهنده بروز مقاومت بالا به تیودیکارب در جمعیت گرگان بوده است (جدول ۱).

در سال ۱۳۹٦ نیز $LC_{50}$ تیودیکارب در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۷۹۲۱، ۳۳۰/۳ و ۲۰۸/٤ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد که فاکتور مقاومت در این جمعیت‌ها به ترتیب ۲٦۲، ۱۰/۹ و ٦/۸۹ تعیین شد که نشان دهنده بروز مقاومت بالای کرم غوزه به تیودیکارب در جمعیت گرگان بود (جدول ۱). در مورد جمعیت‌های مغان و ورامین اگرچه فاکتور مقاومت پایین تر از ۱۰ (مغان) و یا کمی بیشتر از ده (ورامین) محاسبه شد، اما روند صعودی آن قابل تامل و توجه است (مغان از ۸/۷۵ به ۱۰/۹ و ورامین از ۳/٤ به ٦/۹).

**جدول ۱**- نتایج آزمون زیست سنجی تیودیکارب (روش مخلوط کردن با غذای مصنوعی) روی جمعیت‌های مختلف کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶

**Table 1.** Results from bioassay (diet-incorporation method) on different populations of the cotton boll-worm, *Helicoverpa armigera* against thiodicarb, during the years 2016-2017

| Year | Region | $LC_{50}$ (95% CL) mg/L | n | Slope ± SE | $\chi^2$ (df) | RF |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2016 | S | 30.23 (23.91-51.67 ) | 200 | 3.61 ± 0.26 | 2.76 (3) | - |
| | Gorgan | 8089 (7324.1-9012.01 ) | 200 | 2.63 ± 0.19 | 5.78 (3) | 267.58 (258.8-74.54) |
| | Moghan | 264.5 (223.85-290.45) | 200 | 1.6 ± 0.30 | 6.32 (3) | 8.75 (8.31-9.25) |
| | Varamin | 102.67 (82.58-130.45) | 200 | 2.12 ± 0.27 | 3.96 (3) | 3.96 (3.26-4.64) |
| 2017 | Gorgan | 7921 (5251.0-8844.0) | 200 | 1.08 ± 0.45 | 5.46 (3) | 262 (251.51-274.64) |
| | Moghan | 330.3 (291.8-361.5) | 200 | 2.32 ± 0.19 | 3.10 (3) | 10.9 (9.86-11.68) |
| | Varamin | 208.4 (165.4-228.5) | 200 | 3.62 ± 0.29 | 7.60 (3) | 6.89 (6.56-7.14) |

n = number of insects tested, df = degrees of freedom; $X^2$ = chi-square value; RF = resistance factor; S = susceptible strain

## حشره‌کش کلرپیریفوس

نتایج حاصل از زیست سنجی کلرپیریفوس در جمعیت‌های مورد مطالعه طی دو سال پیاپی در جدول شماره ۲ آمده است. طبق این نتایج، در سال ۱۳۹۵، $LD_{50}$ کلرپیریفوس در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۲/۶۳، ۱/۸٤ و ۰/۷۷ میکروگرم بر لارو بود که با توجه به اینکه عدد یاد شده در جمعیت حساس معادل ۰/۳٦ میکروگرم بر لارو محاسبه شد، بنابراین فاکتور مقاومت در سال ۱۳۹۵ برای جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۷/۳۰، ۵/۱۲ و ۲/۱٤ محاسبه شد که به دلیل اینکه کمتر از ۱۰ می باشند، بنابر این شدت مقاومت، قابل توجه محسوب نمی‌شود.

در سال ۱۳۹٦ نیز $LD_{50}$ کلرپیریفوس در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۳/۱۲، ۳/۹۱ و ۱/۰۱ میکروگرم بر لارو محاسبه شد که فاکتور مقاومت در این جمعیت ها به ترتیب ۸/٦۷، ۱۰/۸٦ و ۲/۸ تعیین شد. نکته قابل توجه روند افزایشی فاکتور مقاومت به کلرپیریفوس در همه جمعیت‌هاست؛ گرگان (۷/۳۰ در سال ۹۵ به ۸/٦۷ در سال ۹٦)، ورامین (۲/۱٤ در سال ۹۵ به ۲/۸ در سال ۹٦) و مغان (۵/۱۲ در سال ۹۵ به ۱۰/۸٦ در سال ۹٦).

**جدول ۲**- نتایج آزمون زیست‌سنجی (روش قرار دادن موضعی) کلرپیریفوس روی جمعیت‌های مختلف کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦

**Table 2.** Results from bioassay (topical application) on different populations of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* against chlorpyrifos, during the years 2016-2017

| Year | Region | $LD_{50}$ (95% CL) µg/Larva | n | Slope ± SE | $\chi^2$ (df) | RF |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2016 | S | 0.36 (0.26-0.60) | 150 | 2.70 ± 0.43 | 6.23(3) | - |
| | Gorgan | 2.63 (1.98-3.22) | 150 | 1.51 ± 0.13 | 5.28(3) | 7.30 (6.85-8.41) |
| | Moghan | 1.84 (0.95-2.63) | 150 | 1.76 ± 0.30 | 2.04(3) | 5.12 (4.9-5.62) |
| | Varamin | 0.77 (0.58-0.98) | 150 | 0.67 ± 0.36 | 2.35(3) | 2.14 (1.98-2.46) |
| 2017 | Gorgan | 3.12 (3.02-4.24) | 150 | 2.09 ± 0.80 | 3.28(3) | 8.67 (8.37-8.85) |
| | Moghan | 3.91 (2.48-4.96) | 150 | 1.19 ± 0.63 | 5.00(3) | 10.86 (10.3-11.2) |
| | Varamin | 1.01(0.61-1.85) | 150 | 0.46 ± 0.30 | 4.86(3) | 2.8 (2.20-3.12) |

n = number of insects tested, df = degrees of freedom; $\chi 2$ = chi-square value; RF = resistance factor; S = susceptible strain

## حشره‌کش پروفنوفوس

نتایج حاصل از زیست‌سنجی پروفنوفوس در جمعیت‌های مورد مطالعه طی دو سال پیاپی در جدول شماره ۳ آمده است. طبق این نتایج، در سال ۱۳۹۵، $LD_{50}$ پروفنوفوس در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب

۵۹/۳۹، ۷۳/۹۱و ۲۷/۹۷ میکروگرم بر لارو بود که با توجه به اینکه عدد یاد شده در جمعیت حساس، معادل ۱۲/۵۰ میکروگرم بر لارو محاسبه شد، بنابراین فاکتور مقاومت در سال ۱۳۹۵ برای جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین ٤/۷۵، ۵/۹۱ و ۲/۲۳ محاسبه شد که چون همه کمتر از ده هستند، بیانگر این است که شدت مقاومت، قابل توجه نیست. در سال ۱۳۹٦ نیز $LD_{50}$ پروفنوفوس در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۵۵/۲۱، ۷۵/۸۱ و ۳۰/٦۷ میکروگرم بر لارو محاسبه شد که فاکتور مقاومت در این جمعیت‌ها به ترتیب ٤/٤۲، ٦/۰٦ و ۲/٤۵ تعیین شد که چون همه این اعداد کمتر از ده هستند، بنابراین شدت مقاومت، قابل توجه نیست.

**جدول ۳**- نتایج آزمون زیست‌سنجی (روش قرار دادن موضعی) پروفنوفوس روی جمعیت‌های مختلف کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦

**Table 3.** Results from bioassay (topical application) on different populations of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* against profenofos, during the years 2016-2017.

| Year | region | $LD_{50}$ (95% CL) µg/ Larva | n | Slope ± SE | $\chi^2$ (df) | RF |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2016 | S | 12.50 (7.14-14.52) | 150 | 4.12 ± 0.25 | 8.36 (3) | - |
| | Gorgan | 59.39 (44.63-75.87) | 150 | 2.01 ± 0.27 | 2.44 (3) | 4.75 (2.87-5.26) |
| | Moghan | 73.91(60.09-88.63) | 150 | 1.68 ± 0.16 | 6.19 (3) | 5.91 (4.74-6.44) |
| | Varamin | 27.97 (20.11-40.96) | 150 | 1.09 ± 0.44 | 4.55 (3) | 2.23 (1.79-3.53) |
| 2017 | Gorgan | 55.21(45.61-71.89) | 150 | 2.27 ± 0.15 | 2.97 (3) | 4.42 (3.27-4.84) |
| | Moghan | 75.81(59.00-90.21) | 150 | 1.63 ± 0.14 | 4.71 (3) | 6.06 (5.43-7.68) |
| | Varamin | 30.67(19.89-48.66) | 150 | 1.11 ± 0.24 | 3.68 (3) | 2.45 (1.85-3.67) |

N = number of insects tested, df = degrees of freedom; χ 2 = chi-square value; RF = resistance factor; S = susceptible strain

## حشره‌کش ایندوکساکارب

نتایج حاصل از زیست‌سنجی ایندوکساکارب در جمعیت‌های مورد مطالعه طی دو سال پیاپی در جدول شماره ٤ آمده است. طبق این نتایج، در سال ۱۳۹۵، $LC_{50}$ ایندوکساکارب در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۸/۹۲، ٦/٦۷و ۳/۳۹ میلی‌گرم بر لیتر بود که با توجه به اینکه عدد یاد شده در جمعیت حساس برابر با ۱/۲ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد، بنابراین فاکتور مقاومت در سال ۱۳۹۵ برای جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۷/٤٤، ۵/۵٦ و۲/۸۲ محاسبه شد که بیانگر این است که شدت مقاومت قابل توجه نیست (همه اعداد کمتر از ده هستند). در سال ۱۳۹٦ نیز $LC_{50}$ ایندوکساکارب در جمعیت‌های گرگان، مغان و ورامین به ترتیب ۱۲/٤، ۵/۸۸ و ۲/۵۰ میلی‌گرم بر لیتر محاسبه شد که فاکتور مقاومت در این جمعیت‌ها به ترتیب ۱۰/۳٤، ٤/۹۰ و ۲/۰۹ تعیین شد که شدت مقاومت فقط در جمعیت گرگان، کمی قابل توجه است. نکته قابل توجه دیگر روند صعودی شدت مقاومت (۱۳۹۵=۷/٤٤ و ۱۳۹٦=۱۰/۳٤) به ایندوکساکارب طی دو سال در جمعیت گرگان می‌باشد.

**جدول ٤**- نتایج آزمون زیست سنجی ایندوکساکارب (روش مخلوط کردن با غذای مصنوعی) روی جمعیت های مختلف کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦

**Table 4.** Results from bioassay (diet-incorporation method) on different populations of the cotton boll-worm, *Helicoverpa armigera* against indoxacarb, during the years 2016-2017

| Year | Region | $LC_{50}$ (95% CL) mg/L | n | Slope ± SE | $\chi^2$ (df) | RF |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2016 | S | 1.2 (0.43-2.12 ) | 200 | 1.27 ± 0.17 | 4.39 (3) | - |
| | Gorgan | 8.92 (3.15-14.75 ) | 200 | 1.04 ± 0.25 | 5.63 (3) | 7.4 (6.38-8.56) |
| | Moghan | 6.67 (5.21-8.54 ) | 200 | 0.89 ± 0.37 | 3.04 (3) | 5.56 (4.67-6.84) |
| | Varamin | 3.39 (2.45-4.07 ) | 200 | 0.36 ± 0.39 | 7.58 (3) | 2.82 (2.54-2.96) |
| 2017 | S | 12.4 (10.94-13.96) | 200 | 0.76 ± 0.51 | 5.58 (3) | 10.34 (9.32-11.12) |
| | Gorgan | 5.88 (3.85-7.93) | 200 | 0.77 ± 0.91 | 6.93 (3) | 4.90 (4.01-5.68) |
| | Moghan | 2.50 (1.82-3.09) | 200 | 0.63 ± 0.21 | 6.05 (3) | 2.09 (1.75-2.83) |

n = number of insects tested, df = degrees of freedom; χ 2 = chi-square value; RF = resistance factor; S = susceptible strain

## نتایج آزمون بیوشیمیایی

به منظور بررسی دخالت آنزیم‌های سم زدا (مقاومت متابولیک) در جمعیت‌هایی که شدت مقاومت بیش از ۱۰ تعیین شد (جمعیت گرگان)، اندازه‌گیری سطح آنزیم‌های سم زدا یعنی استرازها، گلوتاتیون اس ترانسفرازها و مونواکسیژنازها اندازه‌گیری شد که نتایج آن به شرح زیر است.

### استرازها

این آنزیم با دو سوبسترای آلفانفتیل استات و آلفانفتیل استات در جمعیت گرگان اندازه‌گیری شد که طبق نتایج حاصله در هر دو سال، تفاوت معنی‌داری بین فعالیت استرازی جمعیت مقاوم و حساس دیده نشد (جدول ۵). در سال ۱۳۹۵ و با دو سوبسترای آلفانفتیل استات و بتانفتیل استات، فعالیت جمعیت مقاوم به ترتیب ۱۷۰/۳٦ و ۱۱۷/۱۱ نانومولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بود که با فعالیت جمعیت حساس که ۱٦۱/٥٤ و ۱۱۰/۹۳ نانومولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بود، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P>0.05). در سال ۱۳۹٦ نیز با دو سوبسترای آلفانفتیل استات و بتانفتیل استات فعالیت جمعیت مقاوم به ترتیب ۱۷۵/۳۲ و ۱۲۰/۸۳ نانومولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بود که با فعالیت جمعیت حساس که ۱٦۹/۱۱ و ۱۱۵/۳۹ نانومولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بودند، اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P>0.05).

**جدول ۵**- فعالیت آنزیم‌های استرازی (نانومولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) جمعیت حساس و مقاوم (گرگان) کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* با استفاده از سوبستراهای آلفانفتیل استات و بتا نفتیل استات

**Table 5.** Esterase enzyme activity (nmol/ min/mg protein) of susceptible and resistance population (Gorgan) of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* using *alpha* and *beta naphthyl acetate* as substrate

| substrate/ year | susceptible | resistant (Gorgan) | Student's t test |
|---|---|---|---|
| *α-naphthyl acetate*/2016 | 161.54 ± 9.4 | 170.36 ± 4.7 | P > 0.05* |
| *α-naphthyl acetate*/2017 | 169.11 ± 8.1 | 175.32 ± 7.2 | P > 0.05* |
| *β-naphthyl acetate*/2016 | 110.93 ± 7.1 | 117.11 ± 6.5 | P > 0.05* |
| *β-naphthyl acetate*/2017 | 115.39 ± 6.8 | 120.83 ± 4.9 | P > 0.05* |

### گلوتاتیون اس ترانسفرازها (GST)

با اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم‌ها در دو سال اجرای آزمایش در جمعیت مقاوم گرگان، تفاوت معنی‌داری با جمعیت حساس مشاهده نشد (جدول ٦). در سال ۱۳۹۵ میانگین فعالیت این آنزیم در جمعیت مقاوم ۷۲/۳٦ نانومولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین اندازه گیری شد که با جمعیت حساس (۷٤/٥٤) اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P>0.05) (جدول ٦). در سال ۱۳۹٦ نیز میانگین فعالیت در جمعیت مقاوم ۷۱/۹۳ و در جمعیت حساس ٦۸/۱۹ اندازه گیری شد که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند (P>0.05).

**جدول ٦-** فعالیت آنزیم‌های گلوتاتیون اس ترانسفراز (نانومولار بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) جمعیت حساس و مقاوم (گرگان) کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* با استفاده از سوبسترای CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene)

**Table 6.** Gluthathion S-transferase enzyme activity (nmol/ min/mg protein) of susceptible and resistance population (Gorgan) of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* using CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene) as substrate

| year | susceptible | Resistant (Gorgan) | Student's t test |
|---|---|---|---|
| 2016 | 74.54 ± 3.4 | 72.36 ± 4.1 | P > 0.05* |
| 2017 | 68.19 ± 4.1 | 71.93 ± 3.2 | P > 0.05* |

## آنزیم مونواکسیژنازها (MO)

با اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم‌ها در دو سال اجرای آزمایش، از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری بین جمعیت مقاوم گرگان با جمعیت حساس مشاهده نشد (جدول ۷). در سال ۱۳۹۵ میانگین فعالیت این آنزیم در جمعیت مقاوم ۰/۰۰۹±۰/۰۷۱ (واحد سیتوکروم p450 بر میلی‌گرم پروتئین) اندازه‌گیری شد که با جمعیت حساس (۰/۰۰٤±۰/۰٦) اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (P>0.05) (جدول ۷). در سال ۱۳۹٦ نیز میانگین فعالیت در جمعیت مقاوم ۰/۰۰۲±۰/۰۷٦ و در جمعیت حساس ۰/۰۰۳±۰/۰۸ اندازه گیری شد که اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند (P>0.05).

**جدول ۷-** فعالیت آنزیم‌های مونواکسیژناز (واحد سیتوکروم p450 بر میلی‌گرم پروتئین) جمعیت حساس و مقاوم (گرگان) کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* با استفاده از سوبسترای (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) TMBZ

**Table 7.** Mono-oxygenase enzyme activity (unit of cytochrome p450/mg protein) of susceptible and resistance population (Gorgan) of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, using TMBZ (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine) as substrate

| year | susceptible | Resistant (Gorgan) | Student's t test |
|---|---|---|---|
| 2016 | 0.06 ± 0.004 | 0.071 ± 0.009 | P > 0.05* |
| 2017 | 0.08 ± 0.003 | 0.076 ± 0.002 | P > 0.05* |

## بحث

پژوهش حاضر به منظور پایش جمعیت‌های مقاوم کرم غوزه پنبه به حشره‌کش‌ها، برای اولین بار در کشور انجام گرفت. در این تحقیق، فاکتور مقاومت به تیودیکارب در جمعیت گرگان در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹٦ به ترتیب ۲٦۷ و ۲٦۲ محاسبه شد که نشان دهنده بروز شدید مقاومت است. تیودیکارب در ایران اولین بار با نام تجاری لاروین با فرمولاسیون DF80%، در سال ۱۳٦٦ علیه کرم غوزه پنبه به ثبت رسید (Meschi, 2007). بنابراین سابقه مصرف این ترکیب در کشور حدود ۳۰ سال است که برای بروز مقاومت کافی به نظر می‌رسد. بر اساس اظهارات کارشناسان محلی (منطقه نمونه برداری یعنی خان ببین گرگان) تیودیکارب سال‌هاست در آن منطقه استفاده می‌شود و در سال‌های اخیر تاثیر این ترکیب روی کرم غوزه به شدت کاهش پیدا کرده است. بنابراین با توجه به عدم کارایی تیودیکارب در گرگان، ضروری است هر چه سریع تر این ترکیب از برنامه مبارزه شیمیایی در این منطقه حذف و از ترکیبات جایگزین استفاده شود.

فاکتور مقاومت به تیودیکارب طی دو سال در جمعیت‌های کرم غوزه مغان ۸/۷۵ و ۱۰/۹ و ورامین ۳/٤ و ٦/۹ محاسبه شد که اگرچه قابل توجه نیستند ولی نشانگر روند صعودی کم شدن حساسیت آفت به این ترکیب است. بنابراین به منظور پیشگیری از بروز شدید مقاومت در آینده، بایستی برنامه‌ریزی برای مدیریت مقاومت انجام شود، یعنی کمتر مصرف شود یا به به صورت متناوب با سایر حشره‌کش‌هایی که نحوه عمل متفاوت دارند، استفاده شود. مقاومت این آفت به تیودیکارب از کشورهای مختلف گزارش شده است. پایش ٦ ساله جمعیت‌های کرم غوزه (۱۹۹٤ تا ۱۹۹۹) در پاکستان نشان داد که مقاومت به تیودیکارب با شدت ضعیفی (حدود ۸) وجود دارد (Ahmad *et al.*, 2001). در گزارش جدیدتری از پاکستان (Hussain *et al.*, 2015) مقاومت به تیودیکارب طی ۳ سال متوالی بین ۵/٦ تا ۱۱/۵ محاسبه شد. از هندوستان (منطقه آندهرا پرادش) نیز مقاومت شدید به تیودیکارب گزارش شده است (Armes *et al.*, 1992; Armes *et al.*, 1996). پایش ٤ ساله (۱۹۹۵ تا ۱۹۹۹) در

اسپانیا نیز نشان داد که مقاومت به حشره‌کش‌های کارباماتی (متومیل، کاربارایل و تیودیکارب) در جمعیت‌ها با شدتی بین ۱۱ تا ۱۸ وجود داشت (Torres-Vila *et al.*, 2002).

یکی از عوامل تاثیرگذار در بروز مقاومت، فشار انتخاب (selection pressure) می‌باشد که در حقیقت همان تعداد دفعات سمپاشی و شدت قرارگرفتن در معرض حشره‌کش می‌باشد (Denholm & Rowland, 1992). هر چه تعداد دفعات سمپاشی بیشتر باشد افراد حساس زودتر از جمعیت حذف می‌شوند و افراد مقاوم فرصت بیشتری برای زادوولد خواهد شد. به نظر می‌رسد در منطقه گرگان چنین الگوی مصرفی، باعث بروز مقاومت به تیودیکارب شده است. اگرچه عواملی مثل اختلاف در ژنتیک جمعیت‌ها (population genetics) نیز می‌تواند در حساسیت آفات به حشره‌کش‌ها نقش داشته باشد (ffrench-Constant *et al.*, 2004)، اما اظهارنظر در این خصوص، نیازمند پژوهش در زمینه ژنتیک جمعیت‌های آفت دارد. از عوامل دیگری که در بروز و توسعه مقاومت کرم غوزه دخالت دارد، قدرت مهاجرت این حشره است چون باعث پخش و انتشار افراد مقاوم و در نتیجه استقرار جمعیت های مقاوم می‌شود. حرکت مهاجرتی این آفت بین کشورهای فرانسه، اسپانیا و استرالیا گزارش شده است (Anglade, 1969; Feng *et al*., 2005; Feng *et al*., 2009). همچنین شدت زیاد مقاومت کرم غوزه به پایریتروئیدها در شبه قاره هند (Armes *et al*., 1996) و مرکز آفریقا (Brévault *et al*., 2008) به این موضوع نسبت داده شده است.

با توجه به قابل توجه بودن فاکتور مقاومت در جمعیت گرگان، اندازه‌گیری آنزیم‌های سم زدا شامل، استرازها، گلوتاتیون اس ترانسفرازها و مونواکسیژنازها، به منظور پی بردن به مکانیسم مقاومت انجام شد که سطح هیچ کدام از آنها در جمعیت مقاوم و حساس از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول‌های ۵ تا ۷). سازوکار متابولیکی مقاومت به تیودیکارب تاکنون در این آفت گزارش نشده است، اما در گونه نزدیک به کرم غوزه پنبه، مثل کرم جوانه خوار تنباکو *Heliothis virescens* (Fabricius)، دخالت آنزیم‌های استرازی در این خصوص گزارش شده است (Goh *et al*., 1995) . اما در مورد جمعیت گرگان احتمالاً مکانیسم‌های دیگری مثل غیر حساس شدن نقطه هدف، علت بروز مقاومت می‌باشد که نیازمند تحقیق بیشتر دارد. به نقل از (Ahmad *et al*., 2001) اعتقاد بر این است که وجود باند سولفوری در مولکول تیودیکارب، سبب می‌شود که این ترکیب آسیب پذیری کمتری در برابر شکسته شدن توسط آنزیم‌های سم زدا، داشته باشد و احتمال بروز مقاومت در اثر غیر حساس شدن نقطه هدف بیشتر است. در تایید این مطلب می‌توان ذکر کرد که غیر حساس شدن آنزیم استیل کولین استراز به عنوان سازوکار مقاومت به تیودیکارب در کرم غوزه از استرالیا (منطقه New South Wales) گزارش شده است (Gunning *et al.*, 1996). این نژاد مقاوم به تیودیکارب (کاربامات) در استرالیا، مقاومت تقاطعی به دو ترکیب فسفره (پروفنفوس و متیل پاراتیون) نشان ندادند (Gunning *et al.*, 1998). به عقیده نویسندگان مقاله اخیر، عدم وجود مقاومت تقاطعی بیانگر این است که در این آفت، دو فرم مختلف از استیل کلین استراز غیر حساس، وجود دارد که هر کدام منجر به نوع خاصی از مقاومت به فسفره‌ها یا کاربامات‌ها می‌شود. در زنجرک قهوه ای برنج *Nilaparvata lugens* (Stål) هم گزارش شده است که نژاد مقاومی که به دو حشره‌کش کارباماتی(کاربوفوران و فنوبوکارب) مقاوم بودند، مقاومت تقاطعی به ترکیب فسفره دیازینون، نشان ندادند (Yoo *et al.*, 2002). در سوسک کلرادو نیز، نژاد مقاوم به ترکیب کارباماتی کاربوفوران، به آزینفوس متیل، مقاومت نداشت (Kim *et al.*, 2007). بر اساس این تحقیقات، نتیجه‌گیری می‌شود که مشابه بودن نحوه عمل این دو گروه از حشره کش‌ها، لزوما به این معنی نیست که مقاومت به یک ترکیب فسفره، حتما منجر به بروز مقاومت به کاربامات‌ها خواهد شد (و برعکس). در ضمن در خصوص سایر سازوکارهای شناخته شده مقاومت به تیودیکارب، گزارش شده است که در کرم

جوانه خوار تنباکو *H. virescens*، پمپ‌های مستقر در غشا سلولی به نام ABC transporter که بیرون راندن مواد سمی به خارج سلول نقش دارند، در مقاومت این آفت به تیودیکارب نقش دارند (Lanning *et al.*, 1996).

کلرپیریفوس و پروفنوفوس: در مورد کلرپیریفوس اگرچه در بیشتر جمعیت‌ها (گرگان و ورامین) فاکتور مقاومت طی دو سال کمتر از ده محاسبه شد، اما روند صعودی فاکتور مقاومت (از ۵/۱۳ در سال ۹۵ به ۱۰/۸٦ در سال ۹٦) در جمعیت مغان قابل توجه بوده که نشان دهنده روند کاهشی حساسیت آفت به کلرپیریفوس می باشد. بنابراین این روند، هشدار دهنده بوده و ضمن اینکه لازم است حساسیت جمعیت به طور مرتب پایش شود، به منظور پیشگیری از بروز شدید مقاومت در آینده، ضروری است کمتر مصرف شود یا به صورت متناوب با سایر حشره‌کش‌هایی که نحوه عمل متفاوت دارند، استفاده شود. در مورد پروفنوفوس هم باید اشاره کرد که فاکتور مقاومت در همه جمعیت‌ها، زیر ده محاسبه شد که با توجه به شاخص استفاده شده در این تحقیق، اختلاف‌های طبیعی بین جمعیت‌ها در پاسخ به حشره‌کش‌ها محسوب می‌شود.

مقاومت به این دو ترکیب، با شدت نسبتاً بالا (بین ۱۱٦–۲٤ برای پروفنوفوس و ۸۷–۲۲ برای کلرپیریفوس)، از پاکستان طی پایش‌های انجام شده طی سال‌های ۲۰۱۱ و ۲۰۱۲ گزارش شده است (Qayyum *et al.*, 2015). در تحقیق دیگری توسط دیگر پژوهشگران پاکستانی، طی سال‌های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۱ نیز مقاومت کرم غوزه به کلرپیریفوس ۳۲۰ برابر و به پروفنوفوس ۱۱۱۰ برابر گزارش شد (Alvi *et al.*, 2012). پایش ٤ ساله (۲۰۰۷ تا ۲۰۱۰) در مناطق پنبه خیز یونان نیز نشان داد که تا سال ۲۰۰۹، مقاومت به کلرپیریفوس با شدت کم (کمتر از ۱۰) وجود داشته اما در سال ۲۰۱۰ با توسعه مقاومت و افزایش شدت مقاومت (به میزان ٤٦)، منجر به طغیان آفت شد (Mironidis *et al.*, 2013). از هندوستان مقاومت به کلرپیریفوس با شدت ۳/٦۵ تا ۸/۲۵ منطقه آیرنج آباد و ۲/۱۵ تا ۷/۵۵ منطقه پاربهانی گزارش شده است (Kranthi, 2005; Nimbalkar *et al.*, 2009). پایش جمعیت‌های این آفت در سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰٤ در اسپانیا نیز نشان داد که مقاومت وجود نداشته و اختلاف‌های طبیعی بین جمعیت‌ها از لحاظ حساسیت به کلرپیریفوس وجود دارد (فاکتور مقاومت بین ۳/۳–۱/۹) (Torres-Vila *et al.*, 2002; Avilla & González-Zamora, 2010). در ضمن طی یک تحقیق در ترکیه، مقاومت به پروفنوفوس گزارش نشد (Ugurlu & Gurkan, 2007). در ایران مقاومت به پروفنوفوس فقط در تریپس پیاز از اصفهان گزارش شده است (Nazemi *et al.*, 2016).

ایندوکساکارب: در مورد این ترکیب نیز اگرچه فاکتور مقاومت در همه مناطق کمتر از ۱۰ محاسبه شد، اما در گرگان طی دو سال بیانگر روند صعودی (۱۳۹۵=۷/٤٤ و ۱۳۹٦=۱۰/۳٤) فاکتور مقاومت است. طبق بررسی‌های میدانی کارشناسان محلی منطقه خان ببین گرگان، دز مصرف این حشره‌کش علیه آفت حداقل به دو برابر افزایش پیدا کرده است که احتمالاً به علت بروز مقاومت می‌باشد. بنابراین روند صعودی فاکتور مقاومت، هشدار دهنده بوده و ضمن اینکه لازم است حساسیت جمعیت به طور مرتب پایش شود، به منظور پیشگیری از بروز شدید مقاومت در آینده، بایستی توصیه‌های مدیریتی را در نظر گرفت. مقاومت به ایندوکساکارب از پاکستان با شدت ۳۸۰ (Alvi *et al.*, 2012) و بین ۲–۲۰ (Qayyum *et al.*, 2015) گزارش شده است. تنها گزارش موجود از ترکیه نیز حاکی از عدم بروز مقاومت نسبت به ایندوکساکارب است (Karaagaç *et al.*, 2013).

مدیریت مقاومت کرم غوزه: اولین اقدام عملی در مدیریت مقاومت به حشره کش‌ها، عدم استفاده از ترکیب مورد نظر و همچنین سایر ترکیبات با نحوه عمل مشابه می‌باشد. در تحقیق حاضر، حذف تیودیکارب از برنامه‌های مبارزه شیمیایی و استفاده از حشره‌کش‌های با نحوه عمل متفاوت در همه مناطق مورد مطالعه ضروری می‌باشد. همان طور که پیش‌تر اشاره شد، نحوه عمل تیودیکارب، بازدارندگی آنزیم کلین استراز می‌باشد. بنابراین به منظور

کم کردن ریسک، استفاده از حشره‌کش‌هایی که نحوه عمل مشابه دارند (مثل حشره‌کش‌های فسفره) نیز توصیه نمی‌شود.

در خصوص معرفی ترکیبات جایگزین که قابلیت استفاده در برنامه‌های کنترل شیمیایی با این آفت را دارند، می توان به حشره کش‌های زیر که نحوه عمل‌شان متفاوت است و به طور رسمی برای این آفت در کشور ثبت شده اند، اشاره کرد. نکته قابل اشاره این است که ترکیبات پیشنهادی صرفاً بر اساس جدیدترین فهرست حشره کش‌های ثبت شده در کشور (Noorbaksh, 2018) بوده و بدون هیچ گونه طرفداری از شرکت‌های فروشنده می‌باشد.

۱- اسپینوزاد (SC 24%) که اولین بار در کشور در سال ۱۳۸۵ برای کرم غوزه پنبه ثبت شده است.

۲- تیاکلوپرید + دلتامترین (پروتئوس OD 11%) که در سال ۱۳۹۱ برای کرم غوزه پنبه ثبت شده است.

۳- پیریدالیل (سومی پلو EC 50%) که در سال ۱۳۹۱ برای کرم غوزه پنبه ثبت شده است.

٤- لوفنورون (EC 5%) که در سال ۱۳۹۵ برای کرم غوزه پنبه ثبت شده است.

قدم بعدی در مدیریت مقاومت، تناوب استفاده از حشره‌کش‌ها و عدم تکیه محض به یک ترکیب می‌باشد که بایستی به صورت یک اصل مهم در برنامه‌های کنترل شیمیایی در نظر گرفته شود.

تجربیات جهانی در زمینه مدیریت مقاومت کرم غوزه متعدد بوده و بر این اساس می‌توان از آنها بهره گرفت. طبق پژوهش‌های عملی در استرالیا (Downes *et al.*, 2017)، مدیریت مقاومت به حشره‌کش‌ها، در این آفت بایستی در سطوح وسیع اجرا شود و اجرای این برنامه‌ها در تک مزرعه و یا سطوح کوچک فایده‌ای نخواهد داشت. (به دلیل پلی فاژ بودن و داشتن قدرت حرکت و مهاجرت). چون در صورتی که برنامه‌های مدیریتی (مثلا حذف تیودیکارب از برنامه سمپاشی) توسط تنها یک فرد انجام شود و بقیه آنرا اجرا نکنند، حشرات مقاوم می‌توانند از مزارع مجاور به راحتی پراکنده شده و ژن مقاومت را پخش کنند. این تجربیات عملی به طور عمده بر پایه مدیریت تلفیقی آفات استوار بوده که تلفیقی از روش‌های بیولوژیک، زراعی و شیمیایی می‌باشد. مثلاً از بین بردن شفیره‌های زمستان گذران (pupa busting) بخشی از برنامه‌هاست که در انجام آن تاکید شده است.

## نتیجه گیری

مهم ترین یافته این تحقیق، شنا سایی مقاومت کرم غوزه پنبه به تیودیکارب در جمعیت گرگان می‌با شد که طی دو سال اجرای پروژه به اثبات رسید. ضروری است که اقدامات مدیریتی به منظور مقابله با این پدیده که در قسمت بحث به آنها اشاره شده است، مورد توجه قرار گیرد.

## سپاسگزاری

این پژوهش در قالب پروژه تحقیقاتی و با حمایت مالی موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور انجام شد که بدین و سیله تشکر و سپا سگزاری می شود. از رئیس و کار شناس مرکز خدمات کشاورزی منطقه خان ببین گرگان (آقایان خادم و مهندس اسماعیل نژاد) به خاطر همکاری صمیمانه در جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر می‌شود. شادروان آقای دکتر نادر گل‌محمدزاده خیابان همکاری صمیمانه‌ای در جمع‌آوری نمونه‌ها از مغان داشتند که برای ایشان علو درجات را از خداوند متعال مسئلت می‌نماییم. از خانم مهندس پریسا هروی و آقای مهندس آزاد (همکاران موسسه تحقیقات پنبه) به خاطر همکاری در جمع‌آوری بخشی از نمونه‌های گرگان نیز تشکر می‌شود.

## References

**Anonymous**, 2000. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs, Interim Reregistration Eligibility Decision (IRED) for profenofos. Washington.

**Ahmed, K. Khalique, F. & Malik, B.A.** (1998) Modified artificial diet for mass rearing of Chickpea Pod borer, *Helicoverpa armigera* (H.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 1, 183-187.

**Ahmad, M.** (2007) Insecticide resistance mechanisms and their management in *Helicoverpa armigera* (Hübner)–A review. *Journal of Agricultural Reseach* 45(4), 319-335.

**Ahmad, M. Arif, M.I. & Ahmad, Z.** (2001) Resistance to carbamate insecticides in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. *Crop Protection* 20(5), 427-432.

**Alvi, A.H. Sayyed, A.H. Naeem, M. & Ali, M.** (2012) Field evolved resistance in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to Bacillus thuringiensis toxin Cry1Ac in Pakistan *PLOS ONE* 7(10), e47309.

**Anglade, P.** (1969) Premieres observations de déplacements orientés de Noctuelles et de Sphingides dans une haute vallée Pyrénéenne par recapture d'insectes marqués. *Bulletin* de la *Société entomologique* de *France* 74, 59-63.

**Armes, N. J., Jadhav, D. R., Bond, G.S. & King, A.** (1992) Insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* in South India. *Pest Management Science* 34(4): 355-364.

**Armes, N. J., Jadhav, D. R. & DeSouza, K. R.** (1996) A survey of insecticide resistance in *Helicoverpa armigera* in the Indian subcontinent. *Bulletin of Entomological Research* 86(5): 499-514.

**Avilla, C. & González-Zamora, J.E.** (2010) Monitoring resistance of *Helicoverpa armigera* to different insecticides used in cotton in Spain. *Crop Protection* 29(1), 100-103.

**Bird, L.J.** (2015) Baseline susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to indoxacarb, emamectin benzoate, and chlorantraniliprole in Australia. *Journal of Economic Entomology* 108(1): 294-300.

**Bradford, M.M.** (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2): 248-254.

**Brévault, T., Achaleke, J., Sougnabe, S. P. & Vaissayre, M.** (2008) Tracking pyrethroid resistance in the polyphagous bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), in the shifting landscape of a cotton-growing area. *Bulletin of Entomological Research* 98(6), 565-573.

**Brogdon, W. G., McAllister, J. C. & Vulule, J.** (1997) Heme peroxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *Journal of the American Mosquito Control Association* 13(3), 233-237.

**Cunningham, J. P., & Zalucki, M. P.** (2014). Understanding heliothine (Lepidoptera: Heliothinae) pests: what is a host plant?. *Journal of Economic Entomology* 107(3), 881-896.

**Denholm, I. & Rowland, M.W.** (1992) Tactics for managing pesticide resistance in arthropods: theory and practice. *Annual Review of Entomology* 37: 91-112.

**Dick, G. L. & Moore, L.** (1989). Profenofos as an Ovicide for *Heliothis spp.* In Short Staple Cotton and Comparison of the Ovicidal and Commercial Efficacy of Profenofos and Two Tank Mixes. Cotton Report College of Agriculture, University of Arizona (Tucson, AZ)

**Downes, S., Kriticos, D., Parry, H., Paull, C., Schellhorn, N., & Zalucki, M. P.** (2017) A perspective on management of *Helicoverpa armigera:* transgenic Bt cotton, IPM, and landscapes**.** *Pest Management Science* 73(3), 485-492.

**Feng, H. Q., Wu, K. M., Ni, Y. X., Cheng, D. F. & Guo, Y.Y.** (2005) High-altitude windborne transport of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in mid-summer in northern China. *Journal of Insect Behavior* 18(3), 335-349.

**Feng, H., Xianfu, W., Wu, B. & Wu, K.** (2009) Seasonal migration of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) over the Bohai sea. *Journal of Economic Entomology* 102(1), 95-104.

**ffrench-Constant, R.H., Daborn, P.J. & Le Goff, G.** (2004) The genetics and genomics of insecticide resistance. *Trends in Genetics* 20(3), 163-170.

**Fitt, G. P.** (1989) The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Annual Review of Entomology* 34(1), 17-53.

**Goh, D. K., Anspaugh, D. D., Motoyama, N., Rock, G. C., Roe, R. M.** (1995) Isolation and characterization of an insecticide-resistance-associated esterase in the tobacco budworm *Heliothis virescens* (F.). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 51, 192-204.

**Gunning, R., Balfe, M. & Easton, C.** (1992) Carbamate resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. *Australian Journal of Entomology 31*(2), 97-103.

**Gunning, R.V., Moores, G.D. & Devonshire, A.L.** (1996) Insensitive Acetylcholinesterase and Resistance to Thiodicarb in Australian *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 55(1), 21-28.

**Gunning, R. V., Moores, G. D. & Devonshire, A. L.** (1998) Insensitive Acetylcholinesterase and Resistance to Organophosphates in Australian *Helicoverpa armigera. Pesticide Biochemistry and Physiology* 62(3), 147-151.

**Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B**. (1974) Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry* 249 (22), 7130-7139.

**Heravi, P.** (2015) Handbook of advances in cotton IPM. 60 pp. Cotton Research Institute of Iran publication. [In Persian]

**Hussain, D., Saleem, M., Ghouse, G. & Abbas, M.** (2015) Insecticide Resistance in Field Populations of *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomological Science* 50(2), 119-128.

**Karaagaç, S.U., Konus, M. & Büyük, M.** (2013) Determination of Susceptibility levels of *Helicoverpa armigera* (Hübner)(Noctuidae: Lepidoptera) strains collected from different regions to some insecticides in Turkey. *Journal of the Entomological Research Society* 15(1), 37-45.

**Karim, S.** (2000) Management of *Helicoverpa armigera:* a review and prospectus for Pakistan. *Pakistam Journal of Biological Sciences* 3(8), 1213-1222.

**Kim, H.J., Yoon, K.S. & Clark, J.M.** (2007) Functional analysis of mutations in expressed acetylcholinesterase that result in azinphosmethyl and carbofuran resistance in Colorado potato beetle. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 88, 181-190.

**Kranthi, K., Jadhav, D., Wanjari, R., Ali, S.S. & Russell, D.** (2001) Carbamate and organophosphate resistance in cotton pests in India, 1995 to 1999. *Bulletin of Entomological Research* 91(1), 37-46.

**Kranthi, K.R.** (2005) *Insecticide Resistance Monitoring, Mechanism and Management* Manual, 135pp. Central Institute for Cotton Research, Nagpur, India.

**Kriticos, D.J., Ota, N., Hutchison, W.D., Beddow, J., Walsh, T., Tay, W.T., Borchert, D.M., Paula-Moreas, S.V., Czepak, C. & Zalucki, M.P.** (2015) The potential distribution of invading *Helicoverpa armigera* in North America: is it just a matter of time? *PLOS ONE* 10(3): e0119618.

**Kushwaha, M., Verma, S. & Chatterjee, S.** (2016). Profenofos, an acetylcholinesterase-inhibiting organophosphorus pesticide: a short review of its usage, toxicity, and biodegradation. *Journal of Environmental Quality* 45(5), 1478-1489.

**Lanning, C. L., Fine, R. L., Corcoran, J. J., Ayad, H. M., Rose, R. L. & Abou-Donia, M. B.** (1996). Tobacco budworm P-glycoprotein: biochemical characterization and its involvement in pesticide resistance. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1291(2), 155-162.

**Lapied, B., Grolleau, F. & Sattelle, D. B.** (2001) Indoxacarb, an oxadiazine insecticide, blocks insect neuronal sodium channels. *British journal of pharmacology*, 132(2), 587-595.

**Lu, Z., Li, Z., Lu, Z., Li, J., Yang, Y., Zhang, Q. & Liu, X.** (2017) Interaction between endoparasitoid *Microplitis mediator* (Hymenoptera: Braconidae) and nucleopolyhedrovirus in larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Control* 115, 152-156.

**Matov, A., Zahiri, R. & Holloway, J.D.** (2008) The Heliothinae of Iran (Lepidoptera: Noctuidae). *Zootaxa* 1(37), 1-37.

**McCaffery, A.R.** (1998) Resistance to insecticides in heliothine Lepidoptera: a global view. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 353(1376), 1735-1750.

**Meschi, M.** (2007) List of the registered pesticides of Iran. 273 pp. Plant Protection Organization publication [In Persian]

**Mironidis, G. K., Kapantaidaki, D., Bentila, M., Morou, E., Savopoulou-Soultani, M. & Vontas, J.** (2013) Resurgence of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in northern Greece associated with insecticide resistance. *Insect Science* 20(4), 505-512.

**Nazemi, A., Khajehali, J. & Van Leeuwen, T.** (2016) Incidence and characterization of resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides in *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) in onion fields in Isfahan, Iran. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 129, 28-35.

**Nimbalkar, R., Shinde, S., Tawar, D. & Muley, S.** (2009) Response of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner)(Lepidoptera: Noctuidae) to different insecticides in Maharashtra, India. *World Journal of Agricultural Sciences* 5(2), 250-255.

**Noorbaksh, S.** (2018) list of important pests, diseases and weed of major crops and their recommended pesticides for their control in Iran. 206 pp. Plant Protection Organization publication. [In Persian]

**Puri, S.** (1995) Present status of IPM in India, National Seminar on Integrated Pest Management in Agriculture pp. 29-30.

**Qayyum, M. A., Wakil, W., Arif, M. J., Sahi, S. T., Saeed, N. A. & Russell, D. A.** (2015) Multiple resistances against formulated organophosphates, pyrethroids, and newer-chemistry insecticides in populations of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. *Journal of Economic Entomology* 108(1), 286-293.

**Rahman, M. M., El-Aty, A. A., Kim, S. W., Lee, Y. J., Na, T. W., Park, J. S. & Shim, J. H.** (2017) Simultaneous determination and identity confirmation of thiodicarb and its degradation product methomyl in animal-derived foodstuffs using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B* 1040, 97-104.

**Saber, M., Parsaeyan, E., Vojoudi, S., Bagheri, M., Mehrvar, A. & Kamita, S. G.** (2013) Acute toxicity and sublethal effects of methoxyfenozide and thiodicarb on survival, development and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Protection* 43, 14-17.

**Sousa, A. A., Frazee, J. R., Weiden, M. H. J. & D'Silva, T. D. J.** (1977). DC 51762, a New Carbamate Insecticide. *Journal of Economic Entomology* 70 (6), 803-807.

**Torres-Vila, L., Rodrıguez-Molina, M., Lacasa-Plasencia, A. & Bielza-Lino, P.** (2002) Insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* to endosulfan, carbamates and organophosphates: the Spanish case. *Crop Protection* 21(10): 1003-1013.

**Toyoshima, G., Kobayashi, S. & Yoshihama, T.** (2001) Control of *Helicoverpa armigera* (Huebner) by mating disruption using diamolure in lettuce fields. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* (*Japan*) 45(4), 183-183.

**Ugurlu, S. & Gurkan, M.O.** (2007) Insecticide resistance in Helicoverpa armigera from cotton-growing areas in Turkey. *Phytoparasitica* 35(4), 376-379.

**Valles, S.M., Koehler, P.G. & Brenner, R.J.** (1997) Antagonism of fipronil toxicity by piperonyl butoxide and S, S, S-tributyl phosphorotrithioate in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology* 90(5), 1254-1258.

**Van Asperen, K.** (1962) A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of insect physiology* 8(4), 401-416.

**Wilson, L.J., Whitehouse, M.E. & Herron, G.A.** (2018) The Management of Insect Pests in Australian Cotton: An Evolving Story. *Annual Review of Entomology* 63(1), 215-237.

**Wing, K. D., Sacher, M., Kagaya, Y., Tsurubuchi, Y., Mulderig, L., Connair, M. & Schnee, M.** (2000). Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection* 19(8-10), 537-545.

**Yoo, J.-K., Lee, S.-W., Ahn, Y.-J., Nagata, T. & Shono, T.** (2002). Altered acetylcholinesterase as a resistance mechanism in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae),. *Applied Entomology and Zoology* 37, 37-41.

**Zalucki, M., Daglish, G., Firempong, S. & Twine, P.** (1986) The biology and ecology of *Heliothis armigera* (Hubner) and *Heliothis punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia-what do we know. *Australian Journal of Zoology* 34(6), 779-814.