مجله دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۳، شماره ۲، ۱۳۹۱ (۳۵۶-۳۴۵)

ارزیابی حساسیت سه جمعیت‌عسلک پنبه *Bemisia tabaci* (Hom.: Aleyrodidae) به حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و آمیتراز

مهدی بهلول‌زاده[۱]، خلیل طالبی‌جهرمی[۲*] و وحید حسینی‌نوه[۳]
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد، استاد و دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/٤ – تاریخ تصویب: ۹۰/۱۲/۲)

چکیده

عسلک پنبه (*Bemisia tabaci*) یکی از آفات مهم گیاهان زراعی، زینتی، مرتعی و گلخانه‌ای در سرتاسر جهان می‌باشد. دوره زندگی کوتاه، تعداد نسل زیاد، چندخواری و روش تولیدمثل هاپلودیپلوئید همراه با کاربرد مکرر حشره‌کش‌ها برای پایین نگه داشتن جمعیت این آفت زیر آستانه اقتصادی، توانایی این حشره در گسترش مقاومت به حشره‌کش‌ها را آسان نموده است. در این تحقیق حساسیت سه جمعیت عسلک پنبه به حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و آمیتراز مورد ارزیابی قرار گرفت. زیست‌سنجی به روش غوطه‌ورسازی برگ در محلول سمی و با استفاده از ماده فرموله شده حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و آمیتراز انجام شد. نتایج آزمون‌های زیست‌سنجی نشان داد که LC_{50} ایمیداکلوپرید روی جمعیت‌های گرگان، قم و تبریز به ترتیب ۳۱/۵۹۱، ۳۲/٦۳۱ و ۱۲/۱۳٦ پی پی ام بود. از نظر آماری LC_{50} جمعیت‌های گرگان و قم اختلاف معنی‌داری با جمعیت تبریز در سطح ۹۵٪ نشان دادند و جمعیت‌های گرگان و قم به ترتیب ۲/٦ و ۲/٦۸ برابر متحمل‌تر از جمعیت تبریز بودند. LC_{50} آمیتراز روی جمعیت‌های گرگان، قم و تبریز به ترتیب ۱۱۰۳/۹۲۲، ۱۰۸٤/۹۵۹ و ۱۵۹۸/۸۰۸ پی پی ام بدست آمد. جمعیت تبریز نسبت به جمعیت‌های گرگان و قم به ترتیب ۱/٤٤ و ۱/٤۷ برابر متحمل‌تر بود. اندازه‌گیری فعالیت استرازی نشان داد که میزان فعالیت استرازی در جمعیت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند و میزان فعالیت استرازها در جمعیت‌های گرگان و قم به‌ترتیب ۱/۳۷ و ۰/۸۵ برابر جمعیت تبریز می‌باشد. در این پژوهش فعالیت استرازها بااستفاده از روش الکتروفورز نیز مورد بررسی قرار گرفت و الگوهای باندی متفاوتی در جمعیت‌های گرگان، قم و تبریز به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: عسلک پنبه، مقاومت، ایمیداکلوپرید، آمیتراز، فعالیت استرازی.

مقدمه

عسلک پنبه *Bemisia tabaci* (Gennadius) یکی از آفات مهم گیاهان زراعی، زینتی، مرتعی و گلخانه‌ای در ایران و بیشتر نقاط جهان بوده و تاکنون از روی بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی گزارش شده است. این حشره چندخوار، خسارت اقتصادی فراوانی به گیاهان زراعی و گلخانه‌ای در سرتاسر جهان وارد می‌نماید و در برخی مناطق نیمه‌گرمسیری و گرمسیری خسارت آن به ۱۰۰٪ نیز می‌رسد. خسارت مستقیم این آفت با تغذیه از شیره گیاهی می‌باشد که این خسارت موجب به وجود آمدن تغییرات فیزیولوژیکی مانند نقره‌ای شدن برگ‌ها در کدوئیان، رسیدن غیر یکنواخت در گوجه‌فرنگی و بدشکلی بخش‌های هوایی گیاه در گیاهان زینتی می‌شود. خسارت غیرمستقیم عسلک پنبه از طریق

* نویسنده مسئول: خلیل طالبی جهرمی تلفن: ۰۹۱۲۳۶۳۴۰۰۱ E-mail: khtalebi@ut.ac.ir

انتقال ویروس‌های‌گیاهی و ترشح عسلک می‌باشد. این آفت ناقل بیش از ۱۰۰ نوع ویروس بیماریزای گیاهی می‌باشد. ترشح عسلک نیز به نوبه خود باعث کاهش فتوسنتز و خسارت به بخش‌های قابل برداشت‌محصول می‌شود (Mc Auslane, 2007). در ایران به‌دلیل استفاده مداوم از حشره‌کش‌ها به عنوان اصلی‌ترین راه‌حل در کنترل این آفت و عدم وجود ابزارهای مدیریتی مناسب مثل پایش جمعیت، تعریف آستانه اقتصادی و تلفیق روش‌های کنترل شیمیایی با کنترل بیولوژیکی، امکان بروز مقاومت دور از انتظار نیست. ویژگی‌هایی مانند توانایی تولیدمثل بالا، طول دوره رشدی کوتاه و روش تولیدمثل هاپلودیپلوئید به همراه استفاده مکرر از آفت‌کش‌ها برای کنترل این آفت، منجر به ایجاد مقاومت به آفت‌کش‌ها می‌گردد. مقاومت به حشره‌کش‌ها به عنوان یکی از عوامل اصلی طغیان عسلک پنبه بوده‌است. در دهه ۱۹۸۰ مقاومت عسلک پنبه نسبت به حشره‌کش‌های فسفره آلی (Perry, 1985) و پایریتروئیدها (Horowitz, 1988) گزارش شد که این مساله با خسارت‌های شدید اقتصادی همراه بود.

تا سال ۲۰۰۲ میلادی بیش از ۵۰۰ گونه بندپا به آفت‌کش‌ها مقاوم شده‌اند. اکنون تعداد گونه‌های مقاوم به آفت‌کش‌ها در حال گسترش می‌باشد (Denholm *et al*., 2002). گزارش شده است که عسلک پنبه به آفت‌کش‌های فوزالن، اندوسولفان (Perry, 1985)، بیفنترین، متومیل، بوپروفزین، پایری‌پروکسی‌فن، استامی‌پراید (Horowitz, 1999)، اسفات، پرمترین (Omer *et al*., 1993)، آلفا-سایپرمترین، پریمیفوس‌متیل، ایمیداکلوپرید (Roditakis *et al*., 2006)، دلتامترین، کلرپایریفوس (Assad *et al*., 2006)، تریازوفوس (Amit *et al*., 2003)، دیمتوات، مونوکروتوفوس (Ahmad *et al*., 2008)، فن‌پروپاترین و فورموتیون (Erdogan *et al*., 2008) مقاوم شده است. مدارکی مبنی بر مستعد بودن شدید این آفت برای مقاومت در برابر نیکوتینوئیدها در شرایط آزمایشگاهی وجود دارد. کاهش حساسیت عسلک پنبه نسبت به ایمیداکلوپرید برای اولین‌بار در سال ۱۹۹۶ از منطقه آلمریای جنوب اسپانیا گزارش شد (Cahill *et al*. 1996) ولی بررسی‌های مزرعه‌ای در منطقه حاکی از این بود که هیچ کاهش حساسیتی نسبت به این حشره‌کش در شرایط معمول رشدی در مزرعه اتفاق نیفتاده است (Elbert *et al*., 1997). در مراحل بعد، بررسی جمعیت‌هایی از این منطقه در سال‌های ۱۹۹۴، ۱۹۹۶ و ۱۹۹۸ نشانگر کاهش تدریجی حساسیت این حشره نسبت به ایمیداکلوپرید بود (Elbert and Nauen, 2000) . در آریزونا که ایمیداکلوپرید از سال ۱۹۹۳ مورد استفاده قرار می‌گرفته است، پایش جمعیت‌های عسلک پنبه حاکی از کاهش حساسیت این حشره نسبت به ایمیداکلوپرید از سال ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۸ بود (Dennehy *et al*. 1999). مطالعات بعدی نشان داد که این جمعیت‌ها به حالت حساس برگشته و در سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰ در سطوح حساسیتی مشابه با سال ۱۹۹۷ قرار داشته‌اند (Li *et al*., 2001). به‌دنبال استفاده گسترده از حشره‌کش‌های پایریتروئیدی و فسفره برای کنترل عسلک پنبه، سطوح بالایی از مقاومت در برابر این ترکیبات در این حشره بروز کرد. برای غلبه بر این مشکل، استفاده از حشره‌کش‌های با نحوه‌اثر متفاوت مورد توجه قرار گرفت که ترکیب آمیتراز یکی از این حشره‌کش‌ها بود. در زمینه مقاومت عسلک پنبه نسبت به حشره‌کش آمیتراز در مقایسه با سایر حشره‌کش‌ها تحقیقات کمتری صورت‌گرفته است و بیشتر مطالعات روی ترکیبات پایریتروئیدی و نیکوتینوئیدی متمرکز بوده‌است. تحقیقاتی که بین سال‌های ۱۹۹۵ تا ۱۹۹۶ در آریزونا در مورد حساسیت عسلک پنبه در برابر آمیتراز صورت گرفت حاکی از کاهش حساسیت این حشره در طول این مدت نسبت به این حشره‌کش بود. در این منطقه آمیتراز در قالب یک برنامه مدیریت مقاومت و در تناوب با حشره‌کش‌های پایریتروئیدی، نیکوتینوئیدی و فسفره بین سال‌های ۱۹۹۴ تا ۱۹۹۶ مورد استفاده قرار گرفته بود (Dennehy *et al*., 1998). برای درک نقش آنزیم‌های سم‌زدا در سازوکارهای مقاومت، Raush & Nauen (2003) یک سری مطالعات بیوشیمیایی روی تاثیر آنزیم‌ها در مقاومت به نئونیکوتینوئیدها انجام دادند. نتایج نشانگر این بود که فعالیت مونواکسیژنازها در نژادهای نسبتاً مقاوم عسلک پنبه ۲ تا ۳ برابر (در نژادهایی با RF حدود ۳۰) و در نژادهای بسیار مقاوم (RF حدود ۱۰۰۰) ۵ تا ۶ برابر

افزایش یافته است. فعالیت مونواکسیژناز مرتبط با مقاومت به ایمیداکلوپرید، تیامتوکسام و استامی پرید بود. بنابراین به نظر می‌رسد که این سیستم آنزیمی عامل مقاومت به نئونیکوتینوئیدها دراین نژادها بوده است. از سوی دیگر Byrne *et al.* (2003) عدم وجود متابولیسم وابسته به NADPH ایمیداکلوپرید را در بروز مقاومت در عسلک پنبه به‌اثبات رسانده‌اند. نحوه‌اثر حشره‌کش آمیتراز و سازوکارهای مقاومت به آن هنوز به‌خوبی مشخص‌نشده است. پیشنهاد شده است که آمیتراز و سایر حشره‌کش‌های فرامیدینی اثر سمی خود را با پیوند شدن به گیرنده‌های اکتوپامین موجود در سیستم عصبی مرکزی و هم‌چنین احتمالاً با مهار مونوآمین اکسیدازها روی گونه‌های آفت اعمال می‌کنند. اثرات سنیرژیستی فرامیدین‌ها روی حشره‌کش‌های پاپرتیروئیدی در کرم قوزه پنبه و مگس خانگی گزارش شده‌است. تصور می‌شود تشدید اثر پاپریتروئیدها توسط کلردایمفرم که یک ترکیب فرامیدنی است در کرم قوزه پنبه، در اثر جذب افزایش یافته پایریتروئیدها در نتیجه ترکیب با کلرودایمفرم بوده است. چنین سازوکاری در مورد مگس خانگی نیز مشاهده شده‌است (Li *et al.*, 2007). هدف از این تحقیق مشخص نمودن میزان LC_{50} حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و آمیتراز روی سه جمعیت از عسلک پنبه می‌باشد. در این تحقیق همچنین با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی میزان فعالیت آنزیم‌های استراز در جمعیت‌های حساس و متحمل به ایمیداکلوپرید مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری جمعیت‌ها

جمعیت قم از مزارع پنبه روستای جعفریه قم جمع‌آوری شد که در این منطقه سابقه طولانی از مصرف آفت‌کش‌های مختلف برای کنترل عسلک پنبه وجود داشت و بدین منظور از حشره‌کش‌های آمیتراز، پریمیفوس‌متیل، پرمترین، دلتامترین و ایمیداکلوپرید استفاده می‌شده است. جمعیت گرگان از مزارع پنبه گرگان جمع‌آوری شد که در این منطقه نیز سابقه طولانی از مصرف آفت‌کش‌های مختلف مانند آمیتراز، دلتامترین، تیودان، پریمیفوس‌متیل، پرمترین و ایمیداکلوپرید، برای کنترل عسلک پنبه وجود داشت. جمعیت تبریز از گیاهان زینتی (درختچه‌های شاه‌پسند) در شهرستان تبریز جمع‌آوری شد که این جمعیت سابقه‌ای از مواجهه با حشره‌کش‌ها نداشت. این جمعیت‌ها به آزمایشگاه منتقل شده و روی گیاه گوجه‌فرنگی رقم CALJN3 در شرایط دمای ۲ ± ۲۸ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ٪۱۰ ± ۶۰ و دوره نوری ۱۶ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش یافتند.

زیست‌سنجی

هم‌سن سازی حشرات

یکی از شرایط لازم و اولیه برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی و محاسبه LC_{50} ایجاد جمعیتی هم‌سن و یکنواخت از حشرات است. برای هم‌سن نمودن حشرات از بوته‌های گوجه‌فرنگی استفاده شد. بدین‌ترتیب که بوته‌های سالم گوجه‌فرنگی به مدت ۲۴ ساعت در داخل قفس‌های پرورش حشرات قرار داده شدند تا حشرات کامل ماده روی آنها تخمریزی نمایند. پس از این مدت، حشرات کامل از روی بوته‌ها حذف شده و بوته‌ها در قفس‌های جداگانه تا زمان تبدیل تخم‌ها به حشرات کامل و استفاده از آن‌ها برای آزمایش‌های زیست‌سنجی، نگهداری شدند.

حشره‌کش‌های مورد استفاده

حشره‌کش آمیتراز مورد استفاده در این تحقیق به صورت ماده غلیظ امولسیون‌شونده (EC 20%) از شرکت کاوش کیمیای کرمان تهیه‌گردید. حشره‌کش ایمیداکلوپرید نیز به صورت سوسپانسیون غلیظ (SC 35%) محصول شرکت بایر در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت.

آزمون مقدماتی برای تعیین دامنه غلظت حشره‌کش‌های مصرفی

ابتدا آزمون‌های مقدماتی برای تعیین محدوده غلظت‌های موثر حشره‌کش‌ها روی حشره انجام گرفت و غلظت‌هایی که ما بین ۱۰ تا ۹۰ درصد تلفات ایجاد می‌کردند در آزمون نهایی مورد استفاده قرارگرفتند.

آزمون نهایی

برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی از حشرات کامل و روش غوطه‌ور سازی برگ (Cahill *et al.*, 1995) استفاده‌شد. در این آزمون تعداد پنج غلظت از

ماده فرموله‌شده هرکدام از حشره‌کش‌های آمیتراز و ایمیداکلوپرید تهیه‌شد و حشرات کامل به روش بالا در معرض حشره‌کش قرارگرفتند. هر یک از غلظت‌های تهیه شده، حاوی تریتون X-۱۰۰ یک‌دهم درصد بودند. یک تیمار شاهد نیز که تنها حاوی ماده رقیق کننده محلول‌های سمی مورد استفاده در این آزمایش‌ها (آب مقطر+ تریتون X-۱۰۰ یک دهم در صد) بود، در نظر گرفته شد. غلظت‌های مورد استفاده حشره‌کش ایمیداکلوپرید شامل ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰ و ۲۵ پی‌پی‌ام برای جمعیت تبریز، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۶۰ پی‌پی‌ام برای جمعیت قم و ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ پی‌پی‌ام برای جمعیت گرگان بودند. غلظت‌های مورد استفاده حشره‌کش آمیتراز شامل ۸۰۰، ۱۶۰۰، ۲۴۰۰، ۳۲۰۰ و ۳۶۰۰ پی‌پی‌ام برای جمعیت تبریز، ۴۰۰، ۱۲۰۰، ۲۰۰۰، ۲۸۰۰ و ۳۲۰۰ پی‌پی‌ام برای جمعیت قم و۴۰۰، ۱۲۰۰، ۲۰۰۰، ۲۸۰۰ و ۳۶۰۰ پی‌پی‌ام برای جمعیت گرگان بودند برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی دیسک‌های برگی به قطر ۳۰ میلی‌متر از برگ‌های گوجه‌فرنگی تهیه و به مدت ۵ ثانیه درون محلول‌های سمی فرو برده شدند. سپس این دیسک‌های برگی در معرض هوا خشک شده و سطح پشتی برگ‌ها درون پتری دیش ۶۰ میلی‌متری، روی بستری از ژل آگار ۱٪ (W/V) قرار داده‌شدند. سپس توسط آسپیراتور، تعداد ۲۰ تا ۳۰ عدد عسلک پنبه بالغ (نر و ماده) از قفس‌های پرورش به روی آن‌ها منتقل شده و به صورت وارونه (به‌منظور شبیه‌سازی حالت طبیعی) درون اتاقک رشد با شرایط دمای ۲ ± ۲۸ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰٪ با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شد. برای هر کدام از تیمارها سه تکرار در نظر گرفته شد. میزان تلفات بعد از ۴۸ ساعت برای حشره کش آمیتراز و ۷۲ ساعت برای حشره کش ایمیداکلوپرید، ثبت شد. بعد از این مدت حشراتی که با تحریک به وسیله نوک قلم مو حرکتی از خود نشان نمی‌دادند، به عنوان حشرات مرده ثبت شدند.

تحلیل و تجزیه داده‌ها

داده‌های به دست آمده از آزمایش‌های زیست‌سنجی با استفاده از نرم‌افزار پولو-پی‌سی و روش تجزیه پروبیت، تحلیل و تجزیه گردیدند.

آزمون‌های بیوشیمیایی

تهیه عصاره‌آنزیمی

تعداد ۵۰ عدد حشره‌کامل در۵۰ میکرولیتر آب مقطر به اضافه ۵۰ میکرولیتر بافر ۰/۱ مولار فسفات با pH ۷ حاوی تریتون X-۱۰۰ (سیگما، امریکا) به نسبت ۰/۱ درصد (V/V)، با استفاده از هموژنایزر، هموژن و در g ۱۱۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول رونشین به میکروتیوب‌های جدید منتقل‌شده و برای انجام آزمون‌های بیوشیمیایی در ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد (Raush & Nauen, 2003)

اندازه‌گیری غلظت پروتئین

اندازه‌گیری غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از روش Lowry *et al.* (1951) و غلظت‌های مختلف آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد صورت گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت استرازها

فعالیت استرازهای عمومی مطابق روش van Asperen (1962) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت استرازها، از سوبستراهای آلفا نفتیل استات و بتا نفتیل استات (سیگما، امریکا) با غلظت ۳×۱۰^{-۴} مولار استفاده گردید. بدین‌ترتیب که درون چاهک‌های میکروپلیت مقدار ۱۵ میکرولیتر از محلول رونشین رقیق شده با ۱۰ میکرولیتر سوبسترا در دمای ۲۳ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه گردید (در تیمارهای شاهد به جای محلول رونشین از ۱۵ میکرولیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار استفاده شد) بعد از گذشت زمان انکوباسیون، ۵۰ میکرولیترمحلول رنگی فست بلو آر آر سالت ۱ (فلوکا، سوئیس) اضافه شد و میکروپلیت در تاریکی به مدت بیست دقیقه نگهداری گردید. بعد از گذشت بیست دقیقه مقدارنفتول تولید شده به وسیله میکروپلیت ریدر مدل ELx 808 در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. آزمایش در سه تکرار انجام گردید.

آنالیز زایموگرام استرازها

در این آزمایش از روش نیتیو پیج (Kono & Tomita, 1992) استفاده شد. در این روش از ژل اکریل آمید ۷/۵ درصد استفاده شد. در هر چاهک، برای هر جمعیت یک حجم بافر نمونه 5x (۸ میکرولیتر) و ۴ حجم نمونه آنزیمی (۳۲ میکرولیتر) استفاده شد. در

جریان الکتریکی ثابت ۸۵ ولت، شدت جریان روی ۱۵ میلی‌آمپر تنظیم شد و قبل‌از رسیدن رنگ به انتهای ژل، جریان قطع شد. برای رنگ‌آمیزی ژل، مقدار ۳۰ میلی‌گرم معرف فست بلو آرآر سالت۱، در ۶۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH برابر ۷ حل شده و صاف شد. مقدار ۱۲ میلی‌گرم آلفا نفتیل استات و ۱۲ میلی‌گرم بتا نفتیل استات در ۱ میلی‌لیتر استون حل شده و به محلول بالا اضافه شد. ژل پایین در سوبسترای بالا به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد تا باندهای مربوط به استرازها مشخص شوند.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی

نتایج حاصل از زیست‌سنجی حشره‌کش‌های ایمیداکلوپرید و آمیتراز روی حشرات کامل در جداول ۱ و ۲ آمده است. یکی از ویژگی‌های نرم‌افزار پولو- پی‌سی این است که می‌تواند خطوط دز-پاسخ را باهم مقایسه‌کرده و در نهایت یکسان بودن و موازی بودن آن‌ها را مشخص نماید. با وارد کردن هم‌زمان داده‌ها، خطوط دز-پاسخ جمعیت‌های مختلف مورد بررسی قرارگرفت.

حشره‌کش ایمیداکلوپرید

نتایج نشان داد که در تیمار ایمیداکلوپرید، میزان محدوده اطمینان ۹۵ درصد محاسبه شده برای جمعیت‌های گرگان و قم همپوشانی دارند (جدول ۱) و هم‌چنین خطوط دز-پاسخ تقریبا موازی می‌باشند (شکل ۱). چون در مقایسه این دو جمعیت با یکدیگر محدوده‌اطمینان سمیت نسبی برای دو جمعیت مختلف، دربرگیرنده مقدار عددی یک می‌شود، این جمعیت‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. در مقایسه جمعیت گرگان با جمعیت تبریز محدوده‌اطمینان سمیت نسبی برای دو جمعیت مختلف، دربرگیرنده مقدار عددی یک نمی‌شود (جدول ۱) که این امر نشانگر این است که این جمعیت‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند. در مقایسه جمعیت قم با جمعیت تبریز محدوده اطمینان سمیت نسبی برای دو جمعیت مختلف، دربرگیرنده مقدار عددی یک نمی‌شود (جدول ۱) که این امر بیانگر این نکته است که این جمعیت‌ها نیز اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند و جمعیت‌های گرگان و قم در مقایسه با جمعیت تبریز از مقاومت بیشتری نسبت به حشره‌کش ایمیداکلوپرید برخوردار هستند.

جدول ۱- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد جمعیت، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط غلظت-پاسخ حشرات کامل جمعیت‌های مختلف عسلک پنبه به حشره‌کش ایمیداکلوپرید

جمعیت	تعداد حشره مورد بررسی	تعداد غلظت	LC_{50}[a]	محدوده اطمینان ۹۵٪	شیب منحنی ± SE
گرگان*	٤٤٦	٦	۳۱/۵۹۱	۲٤/۳۹۷ – ۳۹/۲۷۲	۱/ ٦۲۹ ± ۰/۱۹۱
قم*	٤٨٠	٦	۳۲/٦۳۱	۲٦/۳۳۰ – ۳۹/۷٤۷	۱/٦٦۹ ± ۰/۱۷۷
تبریز	٤٤٨	٦	۱۲/۱۳٦	۹/۷٤۲ – ۱٤/٤۵۳	۲/٦٤۳ ± ۰/۳۳۳

a ماده فرموله شده بر حسب ppm

* از نظر LC_{50} و عدم همپوشانی محدوده اطمینان ۹۵٪ با جمعیت تبریز اختلاف معنی‌داری دارد.

سطح مقاومت به حشره‌کش ایمیداکلوپرید در استرین‌های مقاوم گرگان و قم در مقایسه با استرین حساس تبریز به ترتیب ۲/۶ و ۲/۶۸ برابر بود. نسبت مقاومت گزارش شده برای حشره‌کش ایمیداکلوپرید توسط Karunker et al. (2008) برای استرین‌های مقاوم عسلک پنبه، MEX-03، JMB-03، UK-05، ALM-99، ISR-02، JAP-05 و ESP-00 به ترتیب ۳، ۴۰، ۵، ۶، ۲۳، ۳۵ و ۳۸ برابر بود. این محققین نیز از روش غوطه‌ور سازی برگ برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده کرده‌بودند. در آزمایش‌های زیست‌سنجی Kang et al. (2006) با روش لوله‌آزمایش، نسبت مقاومت برای استرین مقاوم برابر ۸ بود. در آزمایش‌های زیست‌سنجی Schuster et al. (2003) با روش فروبردن دمبرگ در محلول سمی، نسبت مقاومت برای استرین‌های مقاوم بین ۲ تا ۳۵ برابر گزارش شد. Ma et al. (2007) نسبت مقاومت ۴ تا ۱۵ برابر را برای

جمعیت‌های مختلف عسلک پنبه در مقایسه با یک جمعیت حساس پایه، گزارش نمودند. ایمیداکلوپرید یک حشره‌کش تماسی و گوارشی است که به طور وسیع برای کنترل آفات مکنده روی گیاهان زینتی، پنبه، درختان میوه و در گلخانه‌ها استفاده می‌شود. تاکنون مقاومت به این حشره‌کش علاوه بر عسلک پنبه در گونه‌های زیادی از حشرات از جمله سوسک کلرادو، زنجرک قهوه‌ای برنج، سفیدبالک‌گلخانه و تریپس گل گزارش شده است..Prabhaker et al طی ۵ نسل سلکسیون آزمایشگاهی زیر فشار حشره‌کش ایمیداکلوپرید، نسبت مقاومت ۹ را برای عسلک پنبه نسبت به این حشره‌کش گزارش نمودند که این نسبت در نسل ۲۴ به بیش از ۸۰ برابر افزایش‌یافت. Horowitz .et al (1999) نسبت مقاومت ۵ تا ۱۰ برابری عسلک پنبه را نسبت به ایمیداکلوپرید پس‌از ۳ سال استفاده از این ترکیب در گلخانه گزارش کرده‌اند.

حشره‌کش آمیتراز

در مورد حشره‌کش آمیتراز میزان محدوده اطمینان ۹۵ درصد محاسبه شده برای جمعیت های گرگان و قـم همپوشانی دارند (جدول ۲) و هم‌چنین خطوط دز-پاسخ موازی می‌باشند (شکل ۲). چون در مقایسه این دو جمعیت با یکدیگر محدوده اطمینان سمیت نسبی برای دو جمعیت مختلف، دربرگیرنده مقدار عددی یک می‌شود که این امر بیانگر این نکته است که این جمعیت‌ها اختلاف معنی‌داری ندارند. در مقایسه جمعیت گرگان با جمعیت تبریز محدوده‌اطمینان سمیت نسبی برای دو جمعیت مختلف، دربرگیرنده مقدار عددی یک نمی‌شود (جدول ۲) که این امر بیانگر این نکته است که این جمعیت‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند. در مقایسه جمعیت قم با جمعیت تبریز محدوده اطمینان سمیت نسبی برای دو جمعیت مختلف، دربرگیرنده مقدار عددی یک نمی‌شود (جدول ۲) که این امر بیانگر این نکته است که این جمعیت‌ها نیز اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند و جمعیت‌های گرگان و قم در مقایسه با جمعیت تبریز از حساسیت بیشتری نسبت به حشره‌کش آمیتراز برخوردار هستند. نسبت مقاومت به حشره‌کش آمیتراز در استرین تبریز در مقایسه با استرین های گرگان و قم به ترتیب ۱/۴۴ و ۱/۴۷ برابر بود.

جدول ۲- برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد جمعیت، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط غلظت-پاسخ حشرات کامل های مختلف عسلک پنبه به حشره کش آمیترازجمعیت

جمعیت	تعداد حشره مورد بررسی	تعداد غلظت	LC_{50}[a]	محدوده اطمینان ۹۵٪	شیب منحنی ± SE
گرگان	٤٤٠	٦	۱۱۰۳/۹۲۲	۸۷۳/۲۵۷ –۱۳۲۷/۲۸۱	۱/ ۹٤۷± ۰/۲۳۸
قم	٤۳۰	٦	۱۰۸٤/۹۵۹	۸۳۹/۰۸۰– ۱۳۲۱/۷۰٤	۱/۷۷۱ ± ۰/۲۳۹
تبریز	٤٤٤	٦	۱۵۹۸/۸۰۸	۱۳۷۱/۹۰۸–۱۸۱٤/۱٦۰	۲/۷٤۰ ± ۰/۳۲۳

a ماده فرموله شده بر حسب ppm

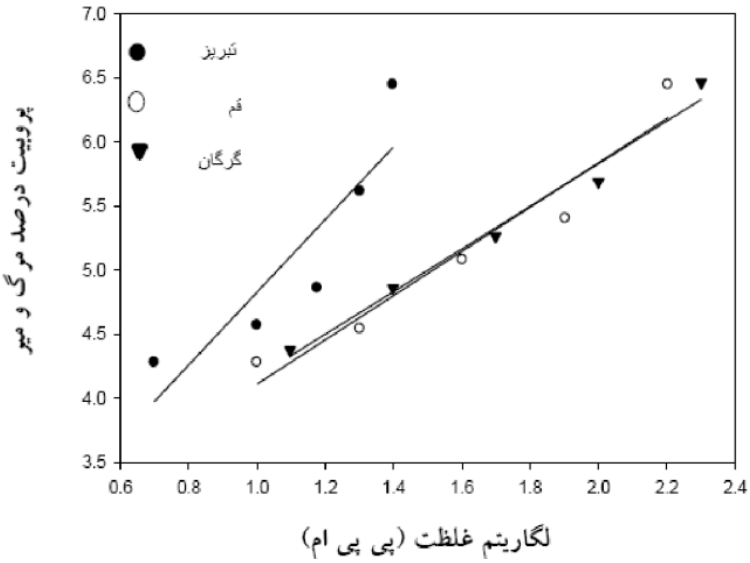
آمیتراز حشره‌کش و کنه‌کشی تماسی- تنفسی است که روی تعداد زیادی از آفات از جمله انواع شپشک‌ها، لارو بالپولکداران، سفیدبالک‌ها و نیز کنه‌ها موثر می‌باشد. مقاومت به این آفت‌کش تاکنون در تعدادی از آفات به ویژه کنه‌ها گزارش شده است(Rodriguez-Vivas, 2003). در زمینه بررسی مقاومت عسلک پنبه نسبت به حشره‌کش آمیتراز در مقایسه با سایر حشره‌کش‌ها، تحقیقات کمتری صورت گرفته است. نسبت مقاومت گزارش شده برای حشره‌کش آمیتراز توسط Ahmad (2008) برای استرین‌های مقاوم عسلک پنبه برابر با ۶ بود. .Dennehy *et al* (1997) گزارش کرده‌اند که مقاومت عسلک پنبه نسبت به حشره‌کش‌های پایریتروئیدی با افزایش حساسیت این حشره نسبت به حشره‌کش آمیتراز همراه است. با مقایسه نسبت‌های مقاومت به دست آمده در این تحقیق برای جمعیت‌های مختلف در مورد حشره‌کش‌های

ایمیداکلوپرید و آمیتراز، می‌توان نتیجه گرفت که بروز مقاومت نسبت به ایمیداکلوپرید در جمعیت‌های گرگان و قم با افزایش حساسیت این جمعیت‌ها نسبت به حشره‌کش آمیتراز همراه بوده است.

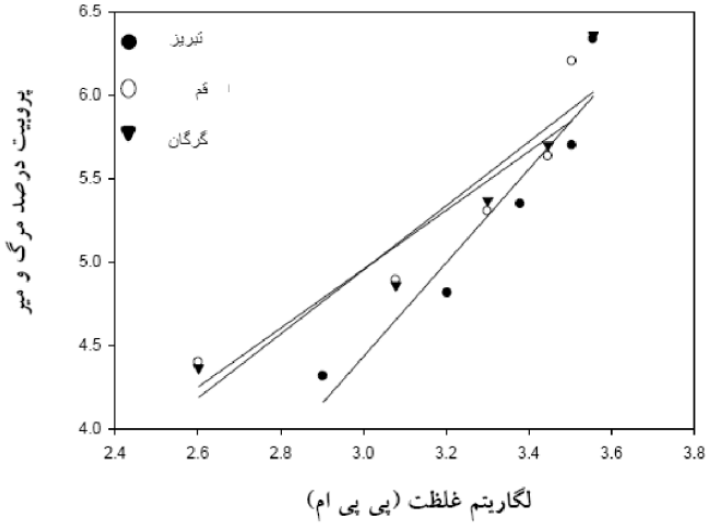
البته با توجه به اینکه نسبت مقاومت به ایمیداکلوپرید در این جمعیت‌ها در سطوح خیلی بالایی قرار نداشت، نمی‌توان به طور یقین این استنباط را از این نتایج نمود.

فعالیت استرازی والگوی فعالیت استرازها در ژل

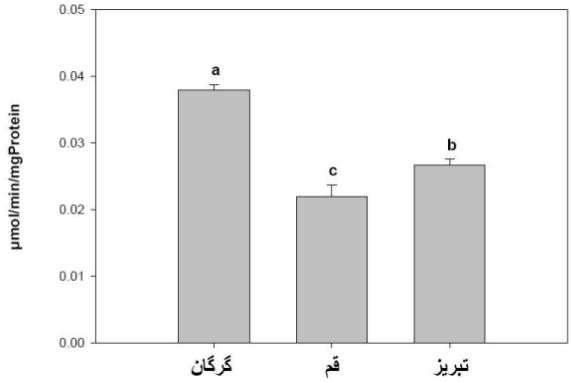
نتایج آزمون فعالیت استرازی با استفاده از سوبسترای بتا نفتیل استات (شکل ۳) نشانگر این بود که فعالیت استرازی جمعیت‌های مختلف اختلاف معنی‌داری دارند و فعالیت استرازی جمعیت‌های مقاوم نسبت به حشره‌کش ایمیداکلوپرید گرگان و قم به ترتیب ۱/۳۷ و ۰/۸۵ برابر جمعیت حساس تبریز می‌باشد. نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه جمعیت‌های گرگان و تبریز نشانگر این است که یکی از سازوکارهای مقاومت عسلک پنبه مقاوم بررسی‌شده نسبت به حشره‌کش ایمیداکلوپرید، می‌تواند افزایش فعالیت استرازهای سم‌زدا باشد ولی مقایسه جمعیت‌های قم و تبریز این نتایج را تائید نمی‌کند.



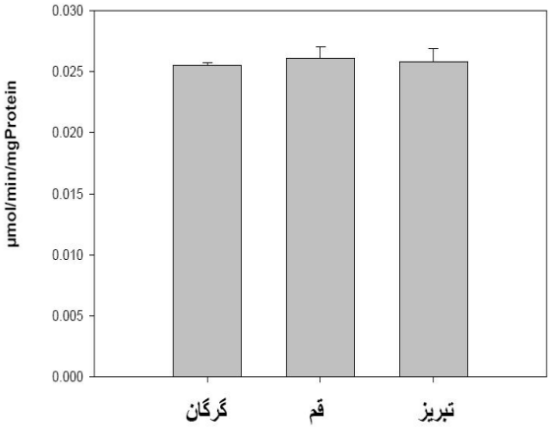
شکل ۱- خطوط دز–پاسخ جمعیت‌های مختلف عسلک پنبه در برابر حشره‌کش ایمیداکلوپرید



شکل ۲- خطوط دز–پاسخ جمعیت‌های مختلف عسلک پنبه در برابر حشره‌کش آمیتراز



شکل ۳- میزان فعالیت استرازی در جمعیت‌های مختلف با استفاده از سوبسترای بتا نفتیل استات



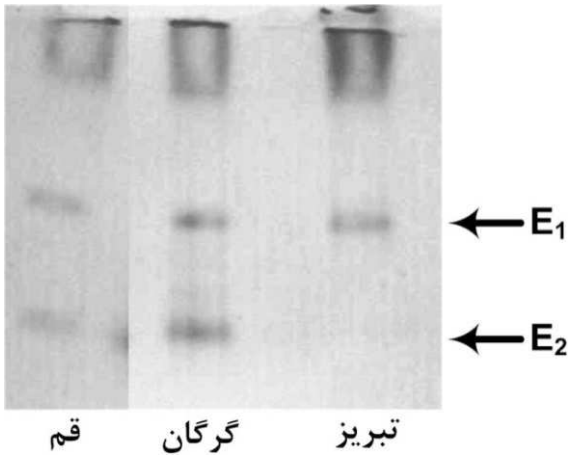
شکل ۴- میزان فعالیت استرازی در جمعیت‌های مختلف با استفاده از سوبسترای آلفا نفتیل استات

Zhaou *et al.* (2000) در بررسی مقاومت سوسک کلرادو نسبت به حشره‌کش ایمیداکلوپرید گزارش کرده‌اند که سم‌زدایی توسط سیستم MFO[1] عامل مقاومت به ایمیداکلوپرید می‌باشد. ایشان در مطالعات سینرژیستی توسط DEF[2]، سم‌زدایی توسط استرازها را به‌عنوان یک عامل احتمالی دیگر در مقاومت سوسک کلرادو نسبت به ایمیداکلوپرید، برشمرده‌اند. در الکتروفورز ژل پروتئین کل بدن عسلک پنبه، تعداد دو باند با فعالیت استرازی (ایزوزایم‌های E_1 و E_2) در جمعیت‌های مقاوم نسبت به حشره‌کش ایمیداکلوپرید (گرگان و قم) و تنها یک باند با فعالیت استرازی (ایزوزایم E_1) در جمعیت حساس به این حشره‌کش (تبریز) ثبت‌گردید (شکل ۴).

نتایج به دست آمده از الکتروفورز ژل هموژنانت کل بدن عسلک پنبه نشان داد که استرازهای جمعیت‌های مقاوم به حشره‌کش ایمیداکلوپرید (گرگان و قم) الگوی آنزیمی متفاوتی با جمعیت حساس به این حشره‌کش (تبریز) داشتند. این موضوع نشانگر این است که کمیت و کیفیت فعالیت استرازی در جمعیت حساس به ایمیداکلوپرید با جمعیت‌های مقاوم به این حشره‌کش متفاوت می‌باشد. شدت باندهای با فعالیت استرازی در جمعیت قم به‌طور قابل‌توجهی کمتر از جمعیت گرگان بود که این امر نشان دهنده فعالیت استرازی کمتر در این جمعیت در مقایسه با جمعیت گرگان است و از این‌نظر با نتایج به دست آمده از آزمایش‌های سنجش آنزیمی مطابقت دارد. شدت باند استرازی ظاهرشده روی ژل در مورد جمعیت تبریز، تفاوت قابل ملاحظه‌ای با الگوی باندهای استرازی جمعیت قم دارد و به نظر می‌رسد که تنها استراز موجود در جمعیت تبریز (E_1)، به

1. Mixed Function Oxidase
2. s,s,s- tributyl phosphorothioate

تنهایی فعالیت بیشتری از مجموع استرازهای (E_1 و E_2) موجود در جمعیت قم، از خود نشان می‌دهد. با مقایسه نتایج موجود در شکل ۳ و شکل ۵ به نظر می‌رسد چنانچه مقاومت مربوط به استرازها باشد، E_2 مسئول مقاومت ایجاد شده در جمعیت گرگان است به طوریکه فعالیتی از این استراز در جمعیت تبریز مشاهده نمی‌شود و در جمعیت قم فعالیت کمی از این استراز مشاهده می‌گردد. از آنجایی که LC_{50} جمعیت‌های قم و گرگان تفاوتی نشان نمی‌دهند، نمی‌توان از این نتایج به طور قاطع نتیجه‌گیری نمود که استرازها تنها سیستم دخیل در مقاومت به ایمیداکلوپرید هستند، اما می‌توان نتیجه گرفت که استرازها در این مقاومت دخیل باشند.



شکل ۵- الگوهای پراکنش باندهای استرازی در جمعیت‌های مختلف تبریز، گرگان و قم (الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۷/۵ درصد با ولتاژ ۸۵ ، رنگ‌آمیزی شده با فست بلو)

تولید بیش از اندازه استرازها یکی از سازوکارهای مقاومت به حشره‌کش‌هاست. استرازها حشره‌کش‌های دارای پیوند استری را قبل‌از رسیدن به محل تاثیر (سیستم عصبی) تجزیه نموده و یا منزوی می‌کنند (Devonshire & Moores, 1982). در شته سبز هلو تولید زیاد این آنزیم‌ها عامل مقاومت بالایی به حشره‌کش‌های فسفره و پایریتروئیدها و مقاومت پایین‌تر نسبت به کاربامات‌ها هستند (Field *et al.*, 1988). Zhao *et al.* (2000) در بررسی مقاومت سوسک کلرادو نسبت به حشره‌کش ایمیداکلوپرید، سم‌زدایی توسط استرازها را به عنوان یک عامل احتمالی برشمرده‌اند. Kandil *et al.* (2008) در مطالعات سینرژیستی با DEF، سم‌زدایی توسط استرازها را به عنوان یکی از عوامل دخیل در مقاومت عسلک پنبه نسبت به تیامتوکسام برشمرده‌اند. Phillipou *et al.* (2009) با روش PAGE نشان دادند که فعالیت بیشتر استرازها در استرین‌مقاوم شته سبز هلو منجر به مقاومت ۴ برابری نسبت به ایمیداکلوپرید می‌شود. با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش به نظر می‌رسد آنزیم‌های استراز می‌توانند در تجزیه کردن یا منزوی نمودن حشره‌کش ایمیداکلوپرید در عسلک پنبه نقش داشته باشند.

سپاسگزاری

هزینه این پژوهش از محل طرح شماره ۸۶۰۹۵/۴۰ صندوق حمایت از پژوهشگران کشور تامین شده است که بدین وسیله تشکر و قدردانی می شود.

REFERENCES

1. Ahmad, M., Arif, M. I., Ahmad, Z., Denholm, I. (2008) Cotton whitefly (*Bemisia tabaci*) resistance to organophosphate and pyrethroid insecticides in Pakistan. *Pest Management Science*, 58(2), 203-208.

2. Amit, S., Pawan, K., Jawala, J., Beant, S., Baljinder, S. (2003) Monitoring insecticide resistance in whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn) in Indian cotton ecosystems. *Resistant Pest Management*, 13, 52-55.
3. Assad, Y. O. H., Bashir, N. H. H., Eltoum, E. M. A. (2006) Evaluation of various insecticides on the cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn.); population control and development of resistance in Sudan Gerira. *Resistant Pest Management*, 15, 7–12.
4. Byrne, F. J., Castle, S., Prabhaker, N., Toscano, N. C. (2003) Biochemical study of resistance to imidacloprid in B biotype *Bemisia tabaci* from Guatemala. *Pest Management Science*, 59,347–352.
5. Byrne, F. J., Devonshire, A. L. (1993) Insensitive acetylcholinesterase and esterase polymorphism in susceptible and resistant populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Genn.). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 45,34–42.
6. Byrne, F. J., Gorman, K., Cahill, M., Denholm, I., Devonshire, A. L. (2000) The role of B-type esterases in conferring insecticide resistance in the tobacco whitefly, *Bemisia tabaci* (Genn). *Pest Management Science*, 56 (10), 867–874.
7. Cahill, M., Byrne, F. J., Gorman, K., Denholm, I., Devonshire, .A. L. (1995) Pyrethroid and organophosphate resistance in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletine of Entomological Research*, 85, 181–187.
8. Cahill, M., Denholm, I., Byrne, F. J., Devonshire, A. L. (1996a) Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* current status and implications for management. In: *Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases*. British Crop Protection Council, Brighton, UK, pp. 75–80.
9. Cahill, M., Gorman, K., Day, S., Denholm, I., Elbert, A., Nauen, R. (1996b) Baseline determination and detection of resistance to imidacloprid in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Bulletine of Entomological Research*, 86, 343–349.
10. Denholm, I., Devine, G. J. & Williamson, M. S. (2002) Insecticide resistance on the move. *Science*, 297, 2222-2223.
11. Dennehy, T.J., Williams, L. (1997) Management of resistance in *Bemisia tabaci* in Arizona cotton. *Pesticide Science*, 51, 398–406.
12. Dennehy, T. J., Denholm, I. (1998) Goals, achievements and future challenges of the Arizona whitefly resistance management program. In: Dugger, P., Richter, D. (Eds.), *Proceedings Beltwide Cotton Conferences*. National Cotton Council, Memphis, TN, pp. 68–72.
13. Dennehy, T. J., Wigert, M., Li, X., Williams, L.III (1999) Arizona whitefly susceptibility to insect growth regulators and chloronicotinyl insecticides: 1998 season summary. In: Silvertooth, J.C. (Ed.), Cotton, A College of Agriculture Report, Series P-116. University of Arizona, College of Agriculture, Tucson, AZ, pp. 376–391.
14. Devonshire, A. L., Moores, G. D. (1982) A carboxylesterase with broad substrate specificity causes organophosphorus, carbamate, pyrethroid resistance in peach potato aphid (*Myzus persicae*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 18, 235-246.
15. Dittrich, V., Ernst, G. H., Ruesch, O., Uk, S. (1990) Resistance mechanisms in sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Sudan, Turkey, Guatemala, and Nicaragua. *Journal of Economic Entomology*, 83 (5), 1665–1670.
16. Elbert, A., Nauen, R. (2000) Resistance of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides in southern spain with special reference to neonicotinoids. *Pest Management Science*, 56, 60–64.
17. Elbert, A., Overbeck, H., Iwaya, H., Tsuboi, S. (1990) Imidacloprid, a novel systemic nitromethylene analogue insecticide for crop protection. In: *Proceedings, Brighton Crop Protection Conference: Pests and Diseases*. Brighton, England, pp. 21–28.
18. Elbert, A., Cahill, M., Nauen, R., Steffens, R. (1997) From monitoring to implementation: a stepwise approach to resistance management with imidacloprid. *Resistant Pest Management*, 9, 14–16.
19. Ellsworth, P. C., Diehl, J. W., Husman, S. E. (1996) Development of integrated pest management infrastructure: a community-based action program for whitefly management. In: Gerling, D. (Ed.), Bemisia 1995: Taxonomy, Biology, Damage, Control and Management. Intercept, Andover, pp. 681–693.
20. Erdogan, C., Moores, G. D., Gurkan, M. O., Gorman, K. J., Denholm, I. (2008) Insecticide resistance and biotype status of populations of the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Turkey. *Crop Protection*, 27, 600–605.
21. Fishpool, L. D. C., Burban, C. (1994) *Bemisia tabaci* the whitefly vector of African cassava mosaic geminivirus. *Tropical Science*, 34, 55-72.
22. Field, L. M., Devonshire, A. L., Forde, B. G. (1988) Molecular evidence that insecticide resistance in peach potato aphid *Myzus persicae* (Sulz) results from ampilification of an esterase gene. *Biochemical Journal*, 251, 309-315.

23. Gennadius, P. (1889) Disease of tobacco plantations in the trikonia. The aleurodid of tobacco. *Ellenike Georgia*, 5, 1–3 (in Greek).
24. Horowitz, A. R., Mendelson, Z., Weintraub, P. G., Ishaaya, I. (1998a) Comparative toxicity of foliar and systemic applications of acetamiprid and imidacloprid against the cotton whitefly, *Bemisia tabac*i (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bulletine of Entomological Researches*, 88, 437–442.
25. Horowitz, A. R., Weintraub, P. G., Ishaaya, I. (1998b) Status of pesticide resistance in arthropod pests in Israel. *Phytoparasitica* 26, 231–240.
26. Horowitz, A. R., Denholm, I., Groman, K., Ishaaya, I. (1999) Insecticide resistance in whiteflies: current status and implication for management. In: Denholm, I., Ioannidis, P. (Eds.), *Proceedings of an ENMARIA Symposium*: Combating Insecticide Resistance, Thessalonikis, Greece, May 1999, pp. 8996–8998.
27. Horowitz, A. R., Toscano, N. C., Youngman, R. R., Georghiou, G. P. (1988) Synergism of insecticides with DEF in sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 81, 110–114.
28. Kandil, M. A., Saleh, A. Y., El Dieb, W. H., Farghaly, S. F. (2008) Resistance mechanisms of whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to thiametoxam and profenofos. *Asian Journal of Biological Sciences*, 1(1), 33-38.
29. 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(6-7), 377–385.
30. Karunker, I., Benting, J., Lueke, B., Ponge, T., Nauen, R., Roditakis, E., Vontas, J., Gorman, K., Denholm, I., Morin, S. (2008) Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38, 634–644.
31. Kono, Y., Tomita, T. (1992) Characteristics of highly active carboxylestrase in insecticide- resistant *Culex pipiens quinquenfasciatus*. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*, 43(4), 297-305.
32. Leora Software. (1987) POLO-PC: A user guide to probit analysis. LeOra Software, Berkeley, California.
33. Li, A. Y., Dennehy, T. J., Li, S., Wigert, M. E., Zarborac, M., Nichols, R. L. (2001) Sustaining Arizona's fragile success in whitefly resistance management, In: Dugger, P. and Richter, D. (Eds.), *Proceedings Beltwide Cotton Conferences*. National Cotton Council, Memphis, TN, pp. 1108–1114.
34. Li, Y. L., Chen, A. C., Miller, R. J., Devay, R. B., George, J. E. (2007) Acaricide resistance and synergysm between permethrin and amitraz against susceptible and resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Pest Management Science*, 63: 882-889.
35. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
36. Ma, D., Gorman, K., Devine, G., Luo, W., Denholm, I. (2007). The biotype and insecticide-resistance status of Whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomus Region, Northwestern China. *Crop Protection*, 26, 612-617.
37. Malumphy, C. (2003) Protocol for the Diagnosis of Quarantine Organism *Bemisia tabaci* (Gennadius). Central Science Laboratory: Sand Hutton- UK.
38. McAuslane, H. J. (2007) Sweetpotato Whitefly B Biotype of Silverleaf Whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius) or *Bemisia argentifolii* Bellows and Perring (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, EENY-129 (IN286), 1-9.
39. Moores, G. D., Devonshire, A. L., Stumpf, N., Nauen, R. (2000) A fluorometric method to detect insensitive acetylcholinesterase in resistant pests. *The BCPC Conference*—Pests and Diseases, vol. 4D-8, pp. 447–452.
40. Nauen, R., Reckmann, U., Armborst, S., Stupp, H. P., Elbert, A. (1999) Whitefly active metabolites of imidacloprid: biological efficacy and translocation in cotton plants. *Pesticide Science*, 55, 265–271.
41. Omer, A. D., Johnson, M. W., Tabashnik B. E., Costa H. S., Ullman,D. E. (1993) Sweetpotato whitefly resistance to insecticides in Hawaii: Intra-island variation is related to insecticide use. *Entomologia Experimentalis et Applicata*.67, 173-182.
42. Perry, A. S. (1985). The relative susceptibility to several insecticides of adult whiteflies (*Bemisia tabaci*) from various cotton-growing areas in Israel. *Phytoparasitica* 13: 77-78.
43. Philippou, D., Field, M., Moores, G. (2009) Metabolic enzyme(s) confer imidacloprid resistance in a clone of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) from Greece. *Pest Management Science*, 2010; 66: 390–395.

44. Prabhaker, N., Toscano, N. C., Coudriet, D. L. (1989) Susceptibility of the immature and adult stages of the sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) to selected insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 82, 983–988.
45. Prabhaker, N., Toscano, N. C., Castle, S. J., Henneberry, T. J. (1997) Selection for imidacloprid resistance in silverleaf whiteflies from the imperial valley and development of a hydroponic bioassay for resistance monitoring. *Pesticide Science*, 51, 419–428.
46. Rauch, N., and R. Nauen. (2003) Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross-resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 54, 165-176.
47. Roditakis, E., Tsagkarakou, A., Vontas, J. (2006) Identification of mutations in the para sodium channel of *Bemisia tabaci* from Crete, associated with resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85, 161-166.
48. Rodriguez-Vivas, I. (2003) Prevalence and potential risk factors for amitraz resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle from the state of Yucatan, Mexico. *V International Seminar in Animal Parasitology: World Situation of Parasite Resistance in Veterinary Medicine*, Merida, Yucatan, Mexico, 1–3October, ed. by Garcia ZV and Fragoso HS. pp. 32–36.
49. Schuster, D. J. (1993) Management of the sweetpotato whitefly and geminivirus on fresh market tomatoes in west-central Florida fall 1991. *Insecticide Acaricide Tests* 18, 180–181.
50. Schuster, D., Thompson, S., Morris II, R. (2003) Monitoring susceptiblity of Bemisia argentifolii to imidacloprid in Florida. *3rd International Bemisia Workshop*, Barcelona *17-20* March, 2003SESSION VI: Chemical control and resistance p122.
51. Scott, J. G. (1995). The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. *Florida Entomologist*, 78, 399-414.
52. Van Asperen, K. (1962) A study of housefly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of insect Physiology*, 8, 401-416.
53. Zhao, J., Bishop, B. A., Grafius, E. J. (2000) Inheritance and synergism of resistance to imidacloprid in the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(5), 1508-1514.