

Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίπεδα ανθεκτικότητας του φυτοφάγου ακάρεος
Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae)
από την Αττική και την Πελοπόννησο
σε ακαρεοκτόνα σκευάσματα»**

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ

ΔΡ. ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΤΣΑΓΚΚΑΡΑΚΟΥ

ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ

ΜΠΙΡΟΥΡΑΚΗ ΑΘΑΝΑΣΙΑ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΜΑΡΤΙΟΣ, 2008.

Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίπεδα ανθεκτικότητας του φυτοφάγου ακάρεος
Tetranychus urticae (Acari: Tetranychidae)
από την Αττική και την Πελοπόννησο
σε ακαρεοκτόνα σκευάσματα»**

ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ

Μπιρουράκη Αθανασία

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ

Δρ. Αναστασία Τσαγκαράκου

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Δρ. Μαρία Παπαδάκη

Δρ. Εμμανουήλ Ροδιτάκης

ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΜΑΡΤΙΟΣ, 2008.

**Στην οικογένεια
μου**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά την καθηγήτρια Δρ. Αναστασία Τσαγκαράκου για την ανάθεση του θέματος και την επιστημονική καθοδήγησή της, καθ' όλη την διάρκεια εκπόνησης της μελέτης αυτής.

Ευχαριστώ τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής καθηγητές Δρ. Μαρία Παπαδάκη, Δρ. Εμμανουήλ Ροδιτάκη και Δρ. Αναστασία Τσαγκαράκου, για την εξέταση της πτυχιακής εργασίας.

Ευχαριστώ θερμά τον ερευνητή Δρ. Ν. Ροδιτάκη προϊστάμενο του εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Ινστιτούτου Προστασίας Φυτών Ηρακλείου (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.), στο οποίο πραγματοποιήθηκε το πειραματικό μέρος της μελέτης.

Ιδιαίτερα ευχαριστώ τις συμφοιτήτριες μου Μαρία Γρίσπου και Ειρήνη Δέτση για τη βοήθειά τους κατά το πειραματικό μέρος της πτυχιακής.

Ευχαριστώ θερμά την Δρ. Κυριακή Βαρίκου και το προσωπικό του εργαστηρίου εντομολογίας του Ινστιτούτου Υποτροπικών και Ελιάς Χανίων για τις συμβουλές και την στήριξή τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την στήριξή τους και την υπομονή τους σε αυτήν την προσπάθειά μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εξετάστηκε η ύπαρξη ανθεκτικότητας πληθυσμών του *Tetranychus urticae* Koch από υπό κάλυψη καλλιέργειες τριανταφυλλιάς και γαρυφαλλιάς που συλλέχθηκαν από τη Αττική και τη Πελοπόννησο αντίστοιχα, στις δραστικές ουσίες pirimiphos-methyl, bifenthrin, fenbutatin oxide, abamectin, pyridaben, fenazaquin και spirodiclofen.

Με τις απαραίτητες βιοδοκιμές προέκυψε ότι και οι δυο πληθυσμοί είναι ανθεκτικοί σε όλα τα δοκιμαζόμενα σκευάσματα. Με RR (Resistance Ratio) στο LC₅₀ που κυμαίνονταν από 10,38 – 5660 για τον πληθυσμό από την Αττική και 12,83 – 196 για τον πληθυσμό από την Πελοπόννησο. Εξαίρεση αποτελεί το pirimiphos-methyl όπου και οι δυο πληθυσμοί είναι ευαίσθητοι, εφόσον τα όρια εμπιστοσύνης του RR περιλάμβαναν την μονάδα. Ομοίως στο abamectin μόνο για τον πληθυσμό από την Πελοπόννησο. Γενικά, ο πληθυσμός από την Αττική παρουσίασε υψηλότερα επίπεδα από τον άλλο πληθυσμό.

Ακόμα στα πλαίσια της πτυχιακής έγινε έναρξη της μελέτης των μηχανισμών ανθεκτικότητας στην δραστική ουσία bifenthrin με επιλογές σε διαδοχικές γενεές σε πληθυσμό από την Κρήτη. Μελέτη που αποτέλεσε μέρος πτυχιακής άλλου φοιτητή.

Τέλος πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικά πειράματα διασταυρώσεων διπλής κατεύθυνσης, ανθεκτικού με ευαίσθητου πληθυσμού, και ανάδρομες διασταυρώσεις (backcrosses). Οι διασταυρώσεις έδειξαν την ύπαρξη αναπαραγωγικού ασυμβίβαστου μεταξύ των πληθυσμών γεγονός που απέτρεψε την μελέτη της γενετικής βάσης της ανθεκτικότητας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1. <i>Tetranychus urticae</i> Koch	8
2. Ακαρεοκτόνα σκευάσματα	10
3. Ανθεκτικότητα, παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξή της και τρόποι αντιμετώπισης	12
4. Ανθεκτικότητα του <i>T. urticae</i> Koch.....	14
5. Άξονες για την μελέτη της ανθεκτικότητας.....	15
5.1. Επίπεδα ανθεκτικότητας	15
5.2. Μηχανισμοί ανθεκτικότητας.....	16
5.3. Γενετική βάση της ανθεκτικότητας.....	17
6. Στόχος της πτυχιακής εργασίας	18
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	19
1. Πληθυσμοί <i>Tetranychus urticae</i>	19
2. Πειραματικές εγκαταστάσεις	20
3. Εκτροφές πληθυσμών	20
4. Δοκιμαζόμενα σκευάσματα	22
5. Βιοδοκιμές	22
6. Επιλογές	25
7. Επίδραση συνεργιστών στα επίπεδα ανθεκτικότητας	26
8. Διασταυρώσεις.....	26
9. Ανάλυση αποτελεσμάτων	27
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	28
1. Επίπεδα ανθεκτικότητας.....	28
1.1. Ανθεκτικότητα στο pirimiphos-methyl.....	29
1.2. Ανθεκτικότητα στο bifenthrin	30
1.3. Ανθεκτικότητα στο fenazaquin	30
1.4. Ανθεκτικότητα στο pyridaben	31

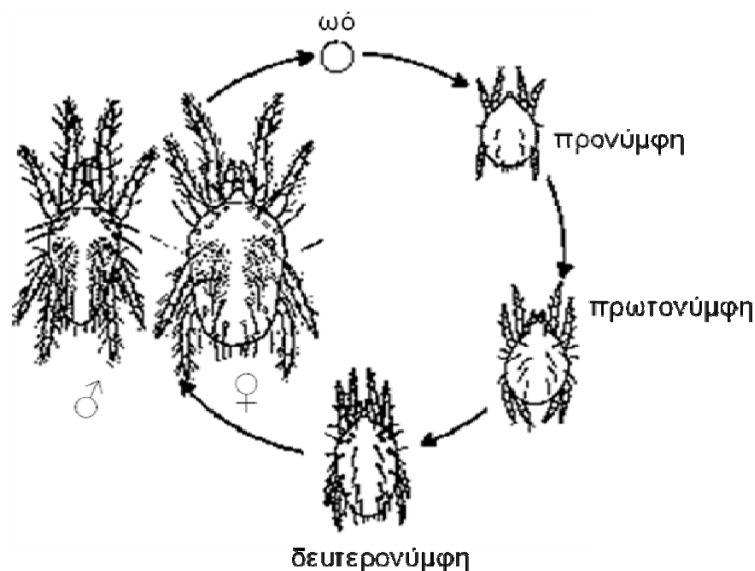
1.5. Ανθεκτικότητα στο fenbutatin oxide.....	32
1.6. Ανθεκτικότητα στο abamectin	32
1.7. Ανθεκτικότητα στο spiroadiclofen	33
2. Γενετική βάση της ανθεκτικότητας	34
ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	36
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	39
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	43
1.Probit ανάλυση για το pirimiphos methyl	43
2. Probit ανάλυση για το bifenthrin	47
3.Probit ανάλυση για το fenazaquin.....	51
4.Probit ανάλυση για το pyridaben.....	55
5.Probit ανάλυση για το fenbutatin oxide	59
6. Probit ανάλυση για το abamectin.....	63
7. Probit ανάλυση για το spiroadiclofen.....	67

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. *Tetranychus urticae* Koch

Ο *T. urticae* Koch ανήκει στο φύλο Arthropoda, στην κλάση Arachnida, στην τάξη Acari και στην οικογένεια Tetranychidae. Είναι ένα κοσμοπολίτικο, πολυφάγο άκαρι. Στην διεθνή βιβλιογραφία απαντάται με ποικίλη και διαφορετική κοινή ονομασία, με επικρατέστερη ως δύστηκτο άκαρι (two spotted spider mite). Στη χώρα μας συναντάται σε οπωροφόρα, εσπεριδοειδή, αμπελώνες, βιομηχανικά φυτά, λαχανικά, αγροστώδη, ψυχανθή, καλλωπιστικά και ανθοκομικά φυτά (Παπαϊωάννου – Σουλιώτη 1994).

Ο τετράνυχος για την ολοκλήρωση του βιολογικού του κύκλου διανύει 3 στάδια (Εικόνα 1). Αρχικά από το αυγό θα προκύψει η προνύμφη. Ακολουθεί η πρωτονύμφη, δευτερονύμφη και τέλος το ακμαίο (Σταμόπουλος 1999). Στα κινητά στάδια παρεμβάλλονται και στάδια ηρεμίας (χρυσαλίδα), καθένα από τα οποία διαρκεί 1-1,5 ημέρα. Για την μετάβαση από το ένα στάδιο στο άλλο τα ακάρεα υφίστανται εκδύσεις (Παπαδάκη 2002). Συγκεκριμένα το άκαρι ονομάζεται νυμφοχρυσαλίδα από την έκδυση της προνύμφης σε πρωτονύμφη. Δευτεροχρυσαλίδα από την μετάβαση της πρωτονύμφης σε δευτερονύμφη και τελειοχρυσαλίδα σε ακμαίο άτομο (Bonnetmaison 1964).



Εικόνα 1. Στάδια ανάπτυξης του *T. urticae*

Το αβγό είναι σφαιρικό, λείο, χωρίς μίσχο, με χρώμα υποκίτρινο έως υπέρυθρο και διάμετρο περίπου 0.14 mm (Εικόνα 2). Η προνύμφη φέρει τρία ζεύγη ποδιών και έχει ανοιχτό κίτρινο, πράσινο ή ερυθρό χρώμα, ανάλογα τον ξενιστή, την ηλικία και την εποχή. Τα υπόλοιπα στάδια έχουν τέσσερα ζεύγη ποδιών και έντονο πράσινο ή ερυθρό χρώμα. Στα πλευρικά μέρη του ιδιοσώματος φέρει δυο χαρακτηριστικές σκοτεινόχρωμες κηλίδες. Το σώμα των θηλυκών είναι σφαιρικό ή ωοειδές και το μέγεθος είναι περίπου 0,5 mm (Εικόνα 2). Ενώ το αρσενικό έχει σχήμα απιοειδές και μέγεθος εμφανώς μικρότερο από το θηλυκό.



Εικόνα 2. Ακμαίο θηλυκό άτομο και αβγό.

Τα αρσενικά προσελκύονται από τα θηλυκά με φερομόνες ήδη από το στάδιο της δευτερονύμφης. Μια σύζευξη αρκεί για την γονιμοποίηση όλων των αβγών και 36 ώρες μετά τα εναποθέτουν, συνήθως στην κάτω επιφάνεια των φύλλων κοντά στις νευρώσεις. Τα θηλυκά γεννούν 7 περίπου αβγά ημερησίως σε θερμοκρασία 20⁰C και συνολικά γύρω στα 60-150 αβγά κατά την διάρκεια της ζωής τους. Η αναλογία θηλυκών προς αρσενικά άτομα είναι 3:1. Τα θηλυκά προέρχονται από γονιμοποιημένα διπλοειδή αβγά, ενώ τα αρσενικά από αγονιμοποίητα απλοειδή αβγά (αρρενότοκο παρθενογένεση). Η διάρκεια εκκόλαψης ποικίλλει από 3 ημέρες στους 32⁰C έως 28 ημέρες στους 10⁰C (Malais and Ravensberg 1992, Παπαϊωάννου – Σουλιώτη 1994, Σταμόπουλος 1999, Παπαδάκη 2002).

Ο βιολογικό κύκλος ολοκληρώνεται σε μικρό χρονικό διάστημα κατά τους θερινούς μήνες που οι θερμοκρασίες είναι αρκετά υψηλές και η φωτοπερίοδος μεγάλη (Παπαϊωάννου 1994, Σταμόπουλος 1999). Διαπιστώθηκε ότι στους 30-32⁰C διαρκεί 6-8 ημέρες και στους 20-25⁰C 11-21 ημέρες. Γενικά καθ' όλη την διάρκεια του έτους έχουν 7-10 γενεές (Παπαϊωάννου – Σουλιώτη 1994, Παπαδάκη 2002).

Το φθινόπωρο το γονιμοποιημένο θηλυκό διαχειμάζει σε διάπαυση σε προφυλαγμένες θέσεις, όπως κάτω από το ρυτίδωμα του φλοιού, σε ζιζάνια και στο έδαφος. Οι παράγοντες που οδηγούν σε διάπαυση είναι το μικρό μήκος της ημέρας, χαμηλές θερμοκρασίες και φτωχή διατροφή (παλιά μαραμένα φύλλα). Σ' αυτή τη φάση παρατηρείται η αλλαγή του χρώματος σε

σκουρότερο, σταματούν να τρέφονται και γίνονται φωτοτροπικώς αρνητικά και γεωτακτικώς θετικά (Παπαδάκη 2002). Με την άνοδο της θερμοκρασίας την άνοιξη, τα θηλυκά ωοτοκούν στη νέα βλάστηση. Αντίθετα, στα θερμοκήπια που οι συνθήκες είναι ευνοϊκές, οι προσβολές είναι έντονες και κατά την διάρκεια του χειμώνα (Παπαϊωάννου – Σουλιώτη 1994).

Τα ακάρεα συνήθως ζουν στην κάτω επιφάνεια των φύλλων, δημιουργώντας αποικίες. Οι τετράνυχοι υφαίνουν ιστό, κυρίως στην κάτω επιφάνεια των φύλλων, μέτρο προστασίας για όλα τα στάδια από τον άνεμο, την βροχή, τα αρπακτικά (Bonhemaison 1964). Απομυζούν χυμούς από το δρυφρακτοειδές παρέγχυμα της φυλλικής επιφάνειας με την βοήθεια των στυλέτων που διαθέτουν, με αποτέλεσμα την μείωση της διαδικασίας της φωτοσύνθεσης και της διαπνοής, προκαλώντας αρχικά υπόλευκα στίγματα στα φύλλα. Στη συνέχεια τα φύλλα παρουσιάζουν χλωρώσεις, συστρέφονται, ξηραίνονται και σχίζονται (Σταμόπουλος 1999). Σε έντονες προσβολές παρατηρείται φυλλόπτωση, ανθόρροια, πρόωρη ωρίμανση καρπών, αλλοίωση σχήματος φύλλων και καρπών (Παπαϊωάννου 1994) καθώς και ολοκληρωτική ξήρανση των φυτών (Bonhemaison 1964). Ο *T. urticae* διανύει μικρές αποστάσεις περπατώντας ή μεταφέρεται παθητικά με την βοήθεια του ανέμου σε μεγάλες αποστάσεις, προκαλώντας νέες προσβολές (Σταμόπουλος 1999).

Οι τρόποι αντιμετώπισης είναι με αρπακτικά ακάρεα ή με ακαρεοκτόνα σκευάσματα. Φυσικοί εχθροί του *T. urticae* είναι κυρίως αρπακτικά ακάρεα της οικογένειας Phytoseiidae αλλά και έντομα των οικογενειών Miridae, Syrphidae και Coccinelidae. Πολλά από αυτά παράγονται εμπορικά και χρησιμοποιούνται στην βιολογική αντιμετώπιση των τετρανύχων. Τέτοια εμπορικά προϊόντα είναι τα Spidend (*Feltiella acarisuga*), Spidex (*Phytoseiulus persimilis*), Spidex hot-spot (*Phytoseiulus persimilis*) και Mirical-N (*Macrolophus caliginosus*) (<http://www.koppert.com/>). Παρ' όλο που η βιολογική καταπολέμηση κερδίζει όλο και πιο πολύ έδαφος, η χρήση χημικών σκευασμάτων παραμένει ο κύριος τρόπος αντιμετώπισης του *T. urticae*.

2. Ακαρεοκτόνα σκευάσματα

Τα ακαρεοκτόνα σκευάσματα διακρίνονται ανάλογα με τις βιολογικές και φυσικοχημικές ιδιότητες που φέρουν. Οι βιολογικές αφορούν κυρίως την αποτελεσματικότητα και τις τυχόν δυσμενείς παρενέργειες που δύνανται να προκύψουν από την εφαρμογή τους. Όσον αφορά τις φυσικοχημικές ιδιότητες, τα ακαρεοκτόνα χωρίζονται σε πολλές ομάδες όπως οργανοθειούχες ενώσεις, οργανοκασιπερούχες, οργανοχλωριωμένες, τετραζίνες, σουλφίδια, φορμαδίνες και ακαρεοκτόνες ουσίες νέας γενιάς ή νεότερες ουσίες ή πολυδύναμα ακαρεοκτόνα (παρεμποδιστές μεταφοράς ηλεκτρονίων στα μιτοχόνδρια).

Όμως υπάρχουν και εντομοκτόνα με ακαρεοκτόνο δράση όπως ορυκτέλαια, οργανοφωσφορικές ενώσεις, καρβαμιδικές, χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες, πυρεθρίνες, αβερμικτίνες, Neems και εντομοκτόνα νέας γενιάς. Εκτός από τα εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνο δράση έχουν και διάφορα μυκητοκτόνα, όπως θείο, θειασβέστιο, θειούχες ενώσεις, διθειοκαρβαμιδικά και κινόξαλίνες (Σουλιώτη 2001).

Οι οργανοκασσιτερούχες ενώσεις είναι ακαρεοκτόνα επαφής και στομάχου εναντίον όλων των κινητών σταδίων των ακάρεων και δρουν ως παρεμποδιστές της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (Σουλιώτη 2001).

Οι παρεμποδιστές μεταφοράς ηλεκτρονίων (METI, mitochondrial electron transport inhibitor) στα μιτοχόνδρια, ανήκουν στη νέα γενιά των χημικών οικογενειών εξ' επαφής και στομάχου και δρουν εκλύοντας την τοξική ουσία φωσφίνη. Αποτελούν εκλεκτικά ακαρεοκτόνα που δρουν σε όλα τα βιολογικά στάδια των ακάρεων, με μεγάλη υπολειμματική διάρκεια, περίπου 50 ημέρες (Γιαννοπολίτης 2005).

Οι οργανοφωσφορικές ενώσεις περιλαμβάνουν μεγάλη ποικιλία οργανικών ενώσεων, παραγώγων του φωσφορικού οξέος και χρησιμοποιούνται συχνά για την καταπολέμηση των ακάρεων. Δρουν δια της επαφής και του στομάχου, με αποτελεσματικότητα κυρίως στις κινητές μορφές. Οι ενώσεις αυτές παρεμβαίνουν στη δράση του ενζύμου ακετυλοχολινεστεράση που βρίσκεται στις χολινεργικές συνάψεις του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η ακετυλοχολινεστεράση καταλύει τη μετατροπή της ακετυλοχολίνης σε χολίνη προκαλώντας τον τερματισμό του νευρικού ερεθίσματος, μετά το πέρασμά του από το ένα νεύρο στο άλλο. Τα σκευάσματα που εμποδίζουν τη δράση της προκαλούν συνεχή διέγερση των νεύρων με αποτέλεσμα σπασμούς, αδυναμία ελέγχου των κινήσεων και θάνατο (Γιαννοπολίτης 2005).

Οι πυρεθρίνες διακρίνονται σε φυσικές και συνθετικές. Οι φυσικές είναι τοξικές ουσίες που απομονώνονται κυρίως από τα φυτά του γένους *Chrysanthemum*, για την παραγωγή του πύρεθρου. Ενώ οι συνθετικές είναι χημικές ενώσεις παρόμοιες με εκείνες των φυσικών πύρεθρων και αποτελεσματικότερες (Σουλιώτη 2001). Οι ενώσεις αυτές παρεμποδίζουν τα κανάλια νατρίου, πρωτεΐνες που βρίσκονται κατά μήκος των νεύρων. Με το άνοιγμα και κλείσιμό τους ρυθμίζεται η έναρξη και ο τερματισμό της μετάδοσης νευρικών ερεθισμάτων μέσω της ροής ιόντων νατρίου και καλίου. Οι πυρεθρίνες που δρουν στη θέση αυτή εμποδίζουν το κλείσιμο των καναλιών, προκαλώντας συνεχή μετάδοση ερεθισμάτων, υπερδιέγερση του νευρικού συστήματος, σπασμούς και θάνατο (Γιαννοπολίτης 2005).

Οι αβερμικτίνες είναι ένα μείγμα φυσικών τοξικών ουσιών (μακροκυκλικές λακτόνες) που παράγονται με την διαδικασία της ζύμωσης από τον ακτινομύκητα εδάφους *Streptomyces avermitilis*. Οι ουσίες αυτές ενεργοποιούν την ροή ιόντων χλωρίου στο νευρικό σύστημα. Συγκεκριμένα υποκαθιστούν το γ-αμινοβουτυρικό οξύ (GABA, gamma aminobutyric acid)

στους υποδοχείς, προκαλώντας ανεξέλεγκτη ροή ιόντων χλωρίου, υπερδιέγερση, παράλυση και θάνατο (Γιαννοπολίτης 2005).

Τέλος οι ρυθμιστές ανάπτυξης παρεμβάνουν σε πιο εξειδικευμένες λειτουργίες όπως το νεο ακαρεοκτονο spirodiclofen που είναι παρεμποδιστής της σύνθεσης λιπιδίων (TETR, tetronic acid derivatives) και δρα σ' όλα τα στάδια του τετράνυχου (Rauch and Nauen 2002).

3. Ανθεκτικότητα, παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξή της και τρόποι αντιμετώπισης

Στην εφαρμοσμένη εντομολογία ορίζεται ως ανθεκτικότητα (resistance) των εντόμων στα εντομοκτόνα, η μετεξέλιξη του πληθυσμού από ευπαθή σε ανθεκτικό με την πάροδο των γενεών, με επιλογή των ανθεκτικών στο εντομοκτόνο γονιδίων που ο πληθυσμός ήδη έχει. Παράγοντας επιλογής θεωρείται το εντομοκτόνο, που με την εφαρμογή του επιλέγονται τα ανθεκτικά γονίδια, ενώ τα ευαίσθητα άτομα θανατώνονται. Η ανθεκτικότητα ενός εντόμου σ' ένα εντομοκτόνο, όπως και κάθε οργανισμού σε μια τοξική γι' αυτόν ουσία, ποικίλλει από άτομο σε άτομο ενός πληθυσμού (Τζανακάκης 1995).

Σ' έναν ευπαθή πληθυσμό, τα άτομα που έχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε εντομοκτόνο είναι σπάνια, της τάξεως του 10^{-5} με 10^{-8} (Georgiou 1987). Η συνεχής εφαρμογή του φαρμάκου σε διαδοχικές γενεές του παρασίτου προκαλεί συνεχή επιλογή, με συνέπεια την δημιουργία πληθυσμών στους οποίους τα περισσότερα ή τελικά και όλα τα μέλη είναι ανθεκτικά σ' αυτό. Η διακοπή της εφαρμογής μπορεί να προκαλέσει ή όχι παλινδρόμηση της σύνθεσης του πληθυσμού προς μεγαλύτερα ποσοστά μη ανθεκτικών μελών (Καπετανάκης 2003).

Η ανθεκτικότητα χαρακτηρίζεται ως διασταυρούμενη (cross resistance) ή πολλαπλή ανθεκτικότητα (multiresistance). Η διασταυρούμενη αναφέρεται στην ικανότητα ενός μηχανισμού να δίνει ανθεκτικότητα σε μια σειρά εντομοκτόνων, συνήθως της ίδιας χημικής ομάδας. Αντίθετα ως πολλαπλή ορίζεται η παρουσία στο έντομο δυο ή περισσότερων μηχανισμών, ο καθένας με συγκεκριμένο τύπο διασταυρούμενης ανθεκτικότητας (Denholm and Jespersen 1999).

Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα αποτελεί σημαντικό γεγονός στην καταπολέμηση των εχθρών των καλλιεργειών, αφού ανθεκτικοί πληθυσμοί έχουν αναφερθεί για τους περισσότερους εχθρούς οικονομικής σημασίας (Georgiou 1994). Έτσι τα τελευταία χρόνια έχουν δημιουργηθεί ανθεκτικοί σε εντομοκτόνα και ακαρεοκτόνα πληθυσμοί αρθρόποδων, εξαιτίας της εντατικής χρήσης χημικών ουσιών για την καταπολέμησή τους (Τζανακάκης 1995). Οι πρώτες ενδείξεις της ανάπτυξης ανθεκτικότητας υπολογίζονται γύρω στο 1910. Μέχρι το Β' Παγκόσμιο πόλεμο οι ουσίες που

χρησιμοποιούνταν για την καταπολέμηση των αρθρόποδων στη γεωργία ήταν λίγες και πολλές από αυτές ήταν φυσικής προέλευσης (πύρεθρο, ρετενόνη, θείο, υδροκυάνιο για καπνισμούς, φθοριοπυριτικό νάτριο κ.α.). Όμως η μεγάλη αύξηση των ανθεκτικών ειδών έχει παρατηρηθεί μετά την ανακάλυψη και υπερβολική χρήση των συνθετικών οργανικών εντομοκτόνων, με πρώτο το DDT (Καπετανάκης 2003). Μέχρι το 1988 υπήρχαν πάνω από 500 είδη αρθρόποδων στα οποία αναφέρθηκε ανθεκτικότητα σε μια ή περισσότερες κατηγορίες τοξικών ουσιών (Brattsten 1989). Απ' αυτά, τα 246 είναι γεωργικού ενδιαφέροντος, τα 171 είδη υγειονομικού ενδιαφέροντος και τα 12 είναι ωφέλιμα έντομα. Περίπου το 88% είναι έντομα (Insecta) και το 12% ακάρεα και αραχνίδια (Arachnida) (Georgiou 1986).

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία ανάπτυξης ανθεκτικότητας των αρθρόποδων διακρίνονται σε γενετικούς, βιολογικούς, λειτουργικούς και οικολογικούς. Οι γενετικοί καθώς και οι βιολογικοί είναι κληρονομήσιμα χαρακτηριστικά των ειδών χωρίς να μπορούμε να επέμβουμε. Οι βιολογικοί παράγοντες αφορούν τον τρόπο αναπαραγωγής, το αναπαραγωγικό δυναμικό και τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου. Απ' την άλλη πλευρά οι λειτουργικοί παράγοντες είναι άμεσα ελεγχόμενοι και συμπεριλαμβάνουν τον τύπο του χημικού σκευάσματος, τις συγκεντρώσεις που εφαρμόζονται, τη συχνότητα της επέμβασης και τον χώρο. Οι οικολογικοί παράγοντες αφορούν την μετανάστευση, το εποχικό δυναμικό του πληθυσμού των ακάρεων και τις εναλλαγές των δραστικών ουσιών.

Η αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας εστιάζεται στον περιορισμό της επιλεκτικής πίεσης των εντομοκτόνων. Αυτό επιτυγχάνεται με τη ρύθμιση της δόσης εντομοκτόνου-αριθμού επεμβάσεων για την διατήρηση των ευαίσθητων αλληλομόρφων, τη χρήση εντομοκτόνων χαμηλής υπολειμματικής διάρκειας, τη χρήση συνεργιστικών (ενζυμικοί παρεμποδιστές που απενεργοποιούν ομάδες της βιοχημικής άμυνας), την εφαρμογή τοπικών επεμβάσεων και τη διατήρηση καταφυγίων για τα έντομα στόχο και τη σωστή και με επιστημονική βάση εναλλαγή εντομοκτόνων. Σε σπανιότερες περιπτώσεις, όταν αυτό επιβάλλεται, μπορεί να ακολουθείται η στρατηγική της εξάλειψης ανθεκτικών πληθυσμών – αλληλομόρφων ανθεκτικότητας, που επιτυγχάνεται με τη χρήση πολύ υψηλών δόσεων εντομοκτόνων ή μιγμάτων εντομοκτόνων, με σκοπό την παράκαμψη των συνήθως εξειδικευμένων μηχανισμών ανθεκτικότητας. Η στρατηγική αυτή της εξάλειψης προϋποθέτει προσεκτική ανάλυση των περιβαλλοντικών παραμέτρων, έχει πάντως χρησιμοποιηθεί με σχετική επιτυχία (αλλά και περιβαλλοντικό κόστος) στο παρελθόν στον έλεγχο εντόμων υγειονομικής σημασίας (εξάλειψη ανωφελούς κουνουπιού με χρήση DDT), ή εχθρών καλλιεργειών (όπως σε περιπτώσεις έξαρσης ανθεκτικών πληθυσμών του *Nilaparvata lugens* σε καλλιέργειες ρυζιού στην Ασία) (Vontas *et al.* 2007).

4. Ανθεκτικότητα του *T. urticae* Koch

Οι τετράνυχτοι έχουν παρουσιάσει ανθεκτικότητα σε μεγάλο αριθμό ακαρεοκτόνων ουσιών. Η ανθεκτικότητα υψηλού επιπέδου σε πολλά φυτοφάρμακα μπορεί να αναπτυχθεί σε ένα έως τέσσερα χρόνια εφαρμογής τους, ενώ συχνά παρατηρείται και διασταυρωμένη ανθεκτικότητα υψηλού βαθμού (Grantham and Helle 1985). Στον *T. urticae* Koch υπάρχουν 331 δημοσιεύσεις για ανθεκτικότητα παγκοσμίως σε 86 διαφορετικά σκευάσματα (<http://www.pesticideresistance.org/>).

Ήδη από την δεκαετία του 1930 έχει αναφερθεί ανθεκτικότητα στον *T. urticae* Koch στην διασυστηματική ουσία ammonium potassium selenosulfide (Selecide[®]) (Compton and Kearns 1937). Ενώ το 1949-50 δημοσιεύτηκε η πρώτη αποτυχημένη χημική καταπολέμηση λόγω ανθεκτικότητας σε οργανοφωσφορικά σε καλλιέργειες θερμοκηπίου, σε πολλές Ευρωπαϊκές χώρες και στις ΗΠΑ. Επίσης στη δεκαετία του 1950 παρατηρήθηκε ανθεκτικότητα στο parathion και σε άλλα οργανοφωσφορικά σε οπωροφόρα και εσπεριδοειδή. Κατά την δεκαετία αυτή αναπτύχθηκαν τα δινιτροφαινολικά παράγωγα (dinocap, binaparacryl, dinobuton) ως μυκητοκτόνα αλλά είχαν αποτελεσματικότητα στην συγκράτηση των πληθυσμών των τετρανύχτων. Την επόμενη δεκαετία (1960) αναπτύχθηκε ανθεκτικότητα στις ουσίες αυτές (Καπετανάκης 1999).

Ο *T. urticae* Koch παρουσίασε ανθεκτικότητα κατά την δεκαετία 1960 στο dicofol και το chlorobenzilate (Cranham and Helle 1985). Στο τέλος του 1970 αναφέρθηκε ανθεκτικότητα στα οργανοκασιπερούχα (Hoyt *et al.* 1985, Croft *et al.* 1987) και το 1974 στο pirimiphos – methyl (Lakocy 1974). Ενώ στην Αυστραλία στο fenbutatin oxide, στο clofentezine και διασταυρούμενη ανθεκτικότητα στο hexythiazox (Edge *et al.* 1987). Πρόσφατες δημοσιεύσεις περιγράφουν ανθεκτικότητα στο abamectin (Campos *et al.* 1996, Marcic and Seculic 1998) στο tebufenpyrad με διασταυρούμενη ανθεκτικότητα στα pyridaben, fenpyroximate και chlorfenapyr (Herron and Rophail 1998), στα fenazaquin και fenpyroximate (Devine *et al.* 2001), στα acequinocyl και chlorfenapyr στο Βέλγιο (Leeuwen *et al.* 2006) και etoxazol στη Κορέα (Kisu *et al.* 2004). Την επόμενη χρονιά παρουσιάστηκε ανθεκτικότητα στα σκευάσματα chlorpyrifos και deltamethrin στην Αμερική και Γερμανία (Nauen *et al.* 2001). Κατά το έτος 2002 στις ΗΠΑ παρατηρήθηκε στο bifenthrin (Yang *et al.* 2002). Το 2004 στην Κορέα παρουσιάστηκε στα acrinathrin, benzoximate και fenpropathrin (Kim *et al.* 2004). Τέλος, το 2005 αναφέρθηκε ανθεκτικότητα στα bifenazate και flucycloxuron στο Βέλγιο (Leeuwen *et al.* 2005) (<http://www.pesticideresistance.org/>).

Στην Ελλάδα έχει μελετηθεί η ανθεκτικότητα πληθυσμών του *T. urticae* που προέρχονταν από την Αττική και το Αίγιο στα οργανοφωσφορικά methyl parathion και methidathion, και στο καρβαμιδικό methomyl (Tsagkarakou *et al.* 1996). Τα αποτελέσματα έδειξαν την παρουσία γονιδίων ανθεκτικότητας των

πληθυσμών στα παραπάνω σκευάσματα και την ύπαρξη μιας μεταλλαγμένης ακέτυλοχολινεστεράσης σαν μηχανισμό ανθεκτικότητας στα οργανοφωσφωρικά εντομοκτόνα (Tsagkarakou *et al.* 2002). Πρόσφατες μελέτες αναφέρουν ανθεκτικότητα στις δραστικές ουσίες spirodiclofen, fenbutatin oxide, fenazaquin, bifenthrin και pyridaben σε πληθυσμούς από την Κρήτη και την Πελοπόννησο (Μπιρουράκη *κ.α.* 2007, Τσαγκαράκου *κ.α.* 2007).

5. Άξονες για την μελέτη της ανθεκτικότητας

Οι άξονες για την μελέτη της ανθεκτικότητας περιλαμβάνουν: α) αξιολόγηση των επιπέδων ανθεκτικότητας με βιοδοκιμές β) μελέτη των μηχανισμών ανθεκτικότητας, με πειράματα *in vitro* και *in vivo* και γ) μελέτη της γενετικής βάσης της ανθεκτικότητας. Απαραίτητα στοιχεία για την ανάπτυξη ενός προγράμματος διαχείρισης της ανθεκτικότητας συλλέγονται και από την αξιολόγηση του fitness cost δηλαδή των επιπτώσεων των γονιδίων της ανθεκτικότητας στη βιολογία των ανθεκτικών ατόμων και τη μελέτη της κατανομής του πολυμορφισμού ουδέτερων επιλεκτικά γενετικών τόπων, δηλαδή τη γνώση του μεγέθους της γενετικής διαφοροποίησης των πληθυσμών ενός είδους.

5.1. Επίπεδα ανθεκτικότητας

Η διαπίστωση και μέτρηση της ανθεκτικότητας γίνεται αρχικά με βιοδοκιμές, που όμως απαιτούν πολύ χρόνο και συχνά αποτυγχάνουν να προσδιορίσουν με ασφάλεια το πρόβλημα. Στις περιπτώσεις που οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας έχουν χαρακτηριστεί σε βιοχημικό ή μοριακό επίπεδο, αναπτύσσονται απλές τεχνικές (διαγνωστικά τεστ ενζυμικής δραστηριότητας ή διαγνωστικό PCR), που αναγνωρίζουν με ταχύτητα και ασφάλεια τις μεταλλαγές ανθεκτικότητας, ακόμη κι αν αυτές είναι σε πολύ μικρές συχνότητες, με αποτέλεσμα τη δυνατότητα εφαρμογής διορθωτικών κινήσεων στην στρατηγική φυτοπροστασίας (Βόντας *κ.α.* 2007). Όταν ωστόσο οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας δεν είναι γνωστοί, με τις κατάλληλες βιοδοκιμές, μπορεί να εξακριβωθεί και να προσδιοριστεί ο βαθμός της ανθεκτικότητας ενός πληθυσμού, δηλαδή η θνησιμότητα ενός πληθυσμού σε σύγκριση με την θνησιμότητα ενός ευαίσθητου πληθυσμού αναφοράς. Οι πληθυσμοί που χρησιμοποιούνται είναι από εργαστηριακή εκτροφή του ακάρεος με άτομα της ίδιας ηλικίας. Ως μέτρο σύγκρισης τοξικότητας λαμβάνεται η τιμή LC₅₀ που είναι η συγκέντρωση της τοξικής ουσίας που σκοτώνει το 50% του πληθυσμού και ονομάζεται θανατηφόρος συγκέντρωση (lethal concentration), ή η τιμή

LD₅₀ που είναι η δόση που σκοτώνει το 50% του πληθυσμού και χαρακτηρίζεται μέση θανατηφόρο δόση (*dosis letalis*). Οι τιμές αυτές είναι διεθνώς δεκτές ως βάση σύγκρισης της σχετικής τοξικότητας ουσιών.

Για την εύρεση των θανατηφόρων συγκεντρώσεων κατασκευάζεται καμπύλη συγκέντρωσης-θνησιμότητας, όπου οι συγκεντρώσεις τοποθετούνται στον άξονα των X και η αντίστοιχη διορθωμένη θνησιμότητα στον άξονα των Y. Η καμπύλη αυτή είναι κατά κανόνα ασύμμετρη και οφείλεται στο ότι το εύρος της παραλλακτικότητας είναι πολύ μεγαλύτερο στα ανθεκτικά άτομα απ' ότι στα ευαίσθητα.

Η ασύμμετρη καμπύλη μπορεί να γίνει συμμετρική αν η κλίμακα των συγκεντρώσεων γίνει λογαριθμική. Αυτό συμβαίνει διότι η αύξηση της θνησιμότητας είναι ανάλογη με το λογάριθμο της συγκέντρωσης της τοξικής ουσίας. Η καμπύλη μπορεί να γίνει ευθεία αν η κλίμακα θνησιμότητας από αριθμητική μετατραπεί σε κλίμακα μονάδων probits και κάθε μονάδα probit αντιστοιχεί σε μια τυπική απόκλιση (Τζανακάκης 1995).

5.2. Μηχανισμοί ανθεκτικότητας

Οι σημαντικότεροι μηχανισμοί ανθεκτικότητας σχετίζονται με την ικανότητα των εντόμων να αποικοδομούν ή να μειώνουν την ευαισθησία του στόχου δράσης των σκευασμάτων (Soderlund and Bloomquist 1990, Field *et al.* 1997). Έχουν αναφερθεί και κάποιοι πιθανοί μηχανισμοί που αφορούν την μειωμένη διείσδυση των φυτοφαρμάκων μέσω της επιδερμίδας και την ιδιαιτερότητα συμπεριφοράς που καθιστούν ικανούς τους εχθρούς, ώστε να μειώνουν ή να αποφεύγουν την έκθεση σε τοξίνες (Denholm and Jespersen 1999).

Τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά εντομοκτόνα δεσμεύονται στο ενεργό κέντρο της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE) αναστέλλοντας την λειτουργία της. Η AChE είναι ένα βασικό ένζυμο του κεντρικού νευρικού συστήματος των αρθρόποδων εντόμων και ακάρεων. Η μείωση της ευαισθησίας οφείλεται στην αλλαγή της στερεοδομής της AChE και αποτελεί κύριο μηχανισμό ανθεκτικότητας του *T. urticae* στα οργανοφωσφορικά (Tsagkarakou *et al.* 2002). Επίσης η τροποποίηση του στόχου προκαλείται και στην λεγόμενη Kdr ανθεκτικότητα (Knockdown resistance). Προκαλεί ανθεκτικότητα στο DDT και στις πυρεθρίνες, γιατί έχει σχέση με το στόχο όπου δρουν τα εντομοκτόνα αυτά. Συγκεκριμένα στα μέρη του νευρικού άξονα που γίνεται η ανταλλαγή των ιόντων K και Na (sodium channels). Η μελέτη του μηχανισμού αυτού δεν έχει μελετηθεί στα φυτοφάγα ακάρεα.

Μια άλλη κατηγορία μηχανισμών ανθεκτικότητας είναι οι ενζυματικοί μηχανισμοί. Τα έντομα φέρουν κάποια ένζυμα που έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν τα εντομοκτόνα σε λιγότερο τοξικά παράγωγα ή να επιταχύνουν την αποικοδόμηση, πριν προλάβει το εντομοκτόνο να φτάσει στο στόχο

δράσης, ή τα ένζυμα αυτά μπορεί να απομονώσουν την τοξική ουσία (sequestration). Συνήθως τα ένζυμα υπάρχουν και στα ευαίσθητα άτομα αλλά σε μικρότερες ποσότητες. Τα ένζυμα που συμμετέχουν στην αποικοδόμηση είναι οι υδρολάσες, οξειδάσες και η γλουταθειόνη S-τρανσφεράσες.

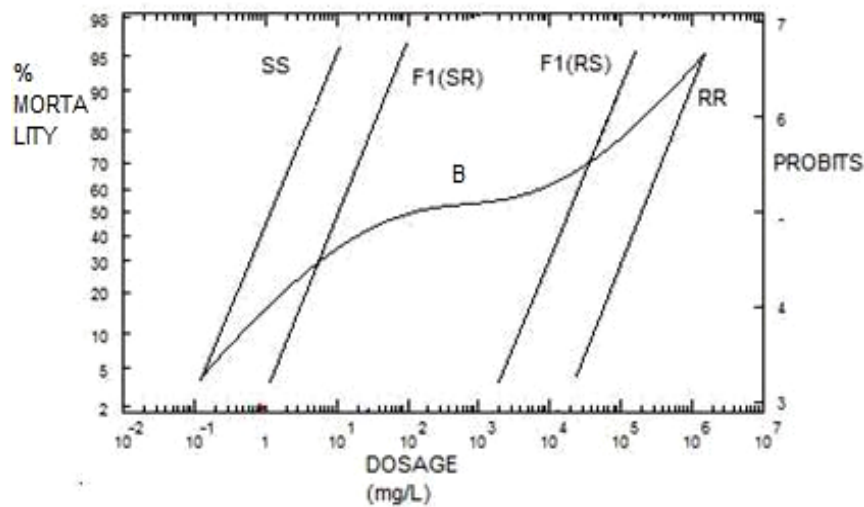
Όταν ο στόχος της δραστικής ουσίας είναι γνωστός, απομόνωση του γονιδίου και σύγκριση μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων καθώς και ο χαρακτηρισμός τυχόν μεταλλαγών επιτρέπει την ανάπτυξη μοριακών δοκιμών για την έγκαιρη διάγνωση της ανθεκτικότητας.

5.3. Γενετική της ανθεκτικότητας

Οι γενετικοί παράγοντες που επηρεάζουν την επιλογή ανθεκτικότητας σε εντομοκτόνα είναι κληρονομήσιμα χαρακτηριστικά και περιλαμβάνουν την συχνότητα των ανθεκτικών (R) αλληλόμορφων, τον αριθμό και την κυριαρχία των R αλληλόμορφων. Άλλοι γενετικοί παράγοντες αφορούν την έκφραση και την αλληλεπίδραση των R αλληλόμορφων, την προηγούμενη επιλογή σε άλλα εντομοκτόνα, καθώς και την ενσωμάτωση των R γονιδίων και προσαρμογή τους (Georgiou *et al.* 1986).

Για την μελέτη της γενετικής ανθεκτικότητας πραγματοποιείται διασταύρωση διπλής κατεύθυνσης ομοζύγων ανθεκτικών ατόμων με ομοζύγω ευαίσθητο πληθυσμό, για τον καθορισμό του βαθμού κυριαρχίας της ανθεκτικότητας. Η ομοζυγωτία των ανθεκτικών πληθυσμών είναι αποτέλεσμα των συνεχών επιλογών μετά την εφαρμογή ψεκασμών με τοξικές ουσίες. Ακολουθεί διασταύρωση διπλής κατεύθυνσης της F1 γενιάς με το ευαίσθητο στέλεχος αν το γονίδιο της ανθεκτικότητας είναι κυρίαρχο ή με το ανθεκτικό αν το γονίδιο είναι υπολειπόμενο. Με τις ανάδρομες διασταυρώσεις (backcrosses) είναι δυνατόν να καθορισθεί αν η ανθεκτικότητα είναι μονοπαραγοντική ή πολυπαραγοντική, ανάλογα με τον αριθμό των γονιδίων που εμπλέκονται.

Το διάγραμμα συγκέντρωσης-θνησιμότητας που ακολουθεί είναι ένα τυχαίο παράδειγμα (Εικόνα 3). Η ευθεία SS ανήκει σε ομοζύγω ευαίσθητο πληθυσμό και η ευθεία RR σε ομοζύγω ανθεκτικό πληθυσμό. Μετά την διασταύρωση των πληθυσμών, προκύπτουν ετεροζύγωτα άτομα. Στην περίπτωση που η ευθεία της F1 γενιάς βρίσκεται κοντά στην SS ευθεία τότε το γονίδιο της ανθεκτικότητας είναι υπολειπόμενο (SR), ενώ αν η ευθεία βρίσκεται κοντά στην RR ευθεία τότε είναι κυρίαρχο (SR). Η καμπύλη B αντιστοιχεί σε πληθυσμό μετά από backcross στο ενδεχόμενο που η ανθεκτικότητα είναι μονοπαραγοντική με ένα plateau στο 50%. Αν η καμπύλη αποκλίνει από την αναμενόμενη για μονοπαραγοντική τότε είναι πολυπαραγοντική (Granham and Helle 1985).



Εικόνα 3. Διάγραμμα συγκέντρωσης-θνησιμότητας ομοζύγων ευαίσθητου (SS) και ανθεκτικού (RR) πληθυσμών, ετεροζύγους F1 γενιάς (SR, SR) και πληθυσμού μετά από ανάδρομη διασταύρωση (B) σε περίπτωση μονοπαραγοντικής ανθεκτικότητας.

6. Στόχος της πτυχιακής εργασίας

Ο στόχος της πτυχιακής αυτής ήταν να μελετηθούν τα επίπεδα ανθεκτικότητας του *T. urticae* Koch σε πληθυσμούς από καλλιέργειες τριανταφυλλιάς και γαρυφαλλιάς που συλλέχθηκαν από τις περιοχές Αττική και Πελοπόννησο αντίστοιχα, σε δραστικές ουσίες με ακαρεοκτόνο δράση. Συγκεκριμένα δοκιμάστηκαν έξι εμπορικά σκευάσματα για την μελέτη της δράσης τους ως ακμαιοκτόνα, με δραστικές ουσίες τις pirimiphos-methyl, bifenthrin, fenbutatin oxide, abamectin, pyridaben, fenazaquin. Η δραστική spiroticlofen χρησιμοποιήθηκε για τη δράση του ως προνυμφοκτόνο.

Ακόμα έγινε έναρξη της μελέτης των μηχανισμών ανθεκτικότητας στην δραστική ουσία bifenthrin με επιλογές σε διαδοχικές γενεές σε πληθυσμό από την Κρήτη.

Τέλος πραγματοποιήθηκαν προκαταρκτικά πειράματα για την μελέτη της γενετικής της ανθεκτικότητας που αφορούσαν διασταυρώσεις διπλής κατεύθυνσης, ενός ανθεκτικού με ένα ευαίσθητου πληθυσμού, και ανάδρομες διασταυρώσεις.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

1. Πληθυσμοί *T. urticae*

Χρησιμοποιήθηκαν δυο πληθυσμοί του είδους *T. urticae* οι οποίοι συλλέχθηκαν από ανθοκομικές καλλιέργειες από την Αττική (TU7) και από την Πελοπόννησο (TU11) για την αξιολόγηση των επίπεδων ανθεκτικότητας. Η θνησιμότητά τους συγκρίθηκε με την θνησιμότητα ενός ευαίσθητου πληθυσμού αναφοράς (GSS). Επίσης χρησιμοποιήθηκε ένας ανθεκτικός πληθυσμός από την Ιεράπετρα (TU5) για την διασταύρωσή του με τον ευαίσθητο (GSS) και ένας πληθυσμός που προέκυψε μετά την ανάμειξη πληθυσμών από διάφορες περιοχές της Κρήτης (TUmix) για την μελέτη των μηχανισμών ανθεκτικότητας στο bifenthrin (Εικόνα 4). Η επιβεβαίωση του είδους έγινε με μικροσκοπικά παρασκευάσματα και βασίστηκε στο σχήμα του αιδοιαγού αρσενικών ατόμων.



Εικόνα 4. Τόπος συλλογής και φυτά ξενιστές των πληθυσμών *T. urticae*.

Ο πληθυσμός TU7 συλλέχθηκε τον Φεβρουάριο του 2007 από θερμοκήπια καλλιέργειας τριανταφυλλιάς. Σύμφωνα με τους ιδιοκτήτες, η καλλιέργεια ψεκαζόταν κάθε 15 ημέρες με πυρεθροειδή, οργανοφωσφορικά, tamaron με lanate, measurol και confidor. Για την καταπολέμηση των

ακάρεων γινόταν ψεκασμός με vertimec και ventex. Τα σκευάσματα nexter και pride είχαν εφαρμοστεί παλαιότερα, ενώ το spiromesifen σε έκτακτες περιπτώσεις.

Ο πληθυσμός TU11 συλλέχθηκε τον Απρίλιο του 2007 στην περιοχή της Κυπαρισσίας στη Μαραθούπολη σε θερμοκήπιο καλλιέργειας γαρυφαλλιάς. Κάθε 3 - 4 ημέρες η καλλιέργεια ψεκαζόταν με vertimec από τον Οκτώβριο του 2006, ενώ επίσης εφαρμόστηκαν nexter, tamaron, ventex, pride, lanate, rogor, talstar και παλαιότερα το private.

Ο πληθυσμός TU5 συλλέχθηκε από την Ιεράπετρα σε θερμοκήπιο καλλιέργειας τομάτας το καλοκαίρι του 2006 και παρέμεινε σε εργαστηριακές εγκαταστάσεις έξι μήνες περίπου μέχρι να χρησιμοποιηθεί στις διασταυρώσεις.

Ο πληθυσμός TUmix είναι αποτέλεσμα της ανάμιξης 5 πληθυσμών που συλλέχθηκαν στο Τυμπάκι σε θερμοκήπια καλλιέργειας πεπονιού και τομάτας, στην Άρβη σε υπαίθρια καλλιέργεια φασολιού και από στην Ιεράπετρα σε θερμοκήπια με αγγούρι και τομάτα. Οι πληθυσμοί συλλέχθηκαν το καλοκαίρι του 2006 και παρέμειναν σε εργαστηριακές εγκαταστάσεις έξι μήνες περίπου μέχρι και την ανάμιξή τους.

Ο ευαίσθητος πληθυσμός αναφοράς GSS (German Susceptible Strain) κατάγεται από την Γερμανία και εκτρέφεται απουσία ακαρεοκτόνων από το 1965.

2. Πειραματικές εγκαταστάσεις

Οι εκτροφές των πληθυσμών και οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν στο Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.) στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Ινστιτούτου Προστασίας Φυτών Ηρακλείου.

3. Εκτροφές πληθυσμών

Φύλλα φασολιού της ποικιλίας ασπροκόλια χρησιμοποιήθηκαν τόσο για τις εκτροφές των πληθυσμών όσο και για τα πειράματα. Σπόροι φυτεύονταν σε βρεγμένη τύρφη σε γλαστράκια και παρέμειναν σε δωμάτιο θερμοκρασίας 25⁰C μέχρι το φύτευμά τους (Εικόνα 5). Με την εμφάνιση του βλαστίδιου τα φυτά μεταφέρονταν σε θάλαμο με ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας (25⁰C) (Εικόνα 6). Τα πρώτα φύλλα των κοτυληδόνων χρησιμοποιήθηκαν στις εκτροφές και βιοδοκιμές. Απαιτούνταν περίπου 10 ημέρες από την φύτευση μέχρι και την εμφάνιση των πρώτων κοτυληδόνων.



Εικόνα 5. Σπορία φασολιού.



Εικόνα 6. Φυτά φασολιού σε θάλαμο με ελεγχόμενες συνθήκες.

Η εκτροφή του πληθυσμού TU7 ξεκίνησε στις 28/02/07 με 900 περίπου ενήλικα θηλυκά και του TU11 στις 02/04/07 με 500 περίπου άτομα.

Μέσα σε μεταλλικά κεσεδάκια με διάτρητο πυθμένα τοποθετήθηκε βρεγμένο βαμβάκι και πάνω σ' αυτό το φύλλο φασολιού με την κάτω επιφάνεια προς τα κάτω. Ο μίσχος καλυπτόταν με το βαμβάκι για καλύτερη ενυδάτωση του φύλλου. Τα φύλλα κάθε πληθυσμού τοποθετούνταν σε διαφορετική λεκάνη με νερό. Το νερό λειτουργεί ως μέσο ενυδάτωσης των φύλλων αλλά και για την αποφυγή επιμόλυνσης των πληθυσμών. Κάθε εκτροφή περιλάμβανε 15 περίπου φύλλα. Οι λεκάνες παρέμειναν σε θαλάμους με ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας (25°C) (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Εκτροφές *T. urticae* σε θάλαμο.

Για την συντήρηση των εκτροφών οι λεκάνες και τα κεσεδάκια πλένονταν κάθε 5 μέρες περίπου, καθώς επίσης αλλάζονταν το παλιό βαμβάκι με νέο. Τα παλιά φύλλα αντικαθιστούνταν από νέα. Τα νέα φύλλα ελέγχονταν προσεκτικά στο στερεοσκόπιο για την αποφυγή ενδεχόμενων προσβολών από έντομα και ακάρεα. Πάνω στα νέα φύλλα αφήνονταν κομμάτια παλιών φύλλων, με τέτοιο τρόπο ώστε να γίνει όσο το δυνατόν ομοιόμορφη η ανάμειξή τους (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Εκτροφή *T. urticae* μετά από αλλαγή.

4. Δοκιμαζόμενα σκευάσματα

Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν έξι εμπορικά σκευάσματα για την μελέτη της δράσης τους ως ακμαιοκτόνα, με δραστικές ουσίες τις pirimiphos-methyl (actellic 50EC), bifenthrin (talstar 10EC), fenbutatin oxide (TNT 55SC), abamectin (vertimec 1.8EC), pyridaben (nexter 20EC) και fenazaquin (pride 20EC). Η δραστική spiroticlofen (τεχνική κατηγορία) χρησιμοποιήθηκε για τη δράση της ως προνουμφοκτόνο. Το stock διάλυμα αποτελείτο από 100mg δραστικής ουσίας, που διαλύθηκαν σε 1ml μίγμα με αναλογία 3:1 (v/v) από N,N-dimethylformamide και alkylaryl polyglycoether (Rauch and Nauen 2002).

Το pirimiphos-methyl ανήκει στην ομάδα των οργανοφωσφορικών, το bifenthrin στα πυρεθροειδή, το fenbutatin oxide είναι ένα οργανοκασσιτερούχο ακαρεοκτόνο, το abamectin ανήκει στις αβερμικτίνες, ενώ τα pyridaben και fenazaquin δρουν ως παρεμποδιστές της μιτοχονδριακής μεταφοράς ηλεκτρονίων (αναπνοή). Τέλος το spiroticlofen δρα ως παρεμποδιστής της σύνθεσης των λιπιδίων (Rauch and Nauen 2002).

5. Βιοδοκιμές

Τα παραπάνω ακμαιοκτόνα σκευάσματα δοκιμάστηκαν σε τουλάχιστον 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις, επί 4 επαναλήψεις η κάθε συγκέντρωση και ένας μάρτυρας για κάθε επανάληψη. Ενώ το προνουμφοκτόνο δοκιμάστηκε σε 5 συγκεντρώσεις, επί 3 επαναλήψεις και ένας μάρτυρας για κάθε επανάληψη (Πίνακες 1 και 2). Οι μάρτυρες ψεκάζονταν με απιονισμένο νερό.

Πίνακας 1. Συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν στον πληθυσμό TU7 για κάθε δραστική ουσία.

ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ (ppm*)					
	1	2	3	4	5	6
Pirimiphos-methyl	700	1000	3000	7000		
Bifenthrin	3000	10000	30000	50000		
Fenbutatin oxide	1000	3000	10000	30000	100000	
Abamectin	10	100	300	1000		
Pyridaben	30	100	300	1000	3000	
Fenazaquin	10	30	100	300	1000	3000
Spirodiclofen	1	3	10	30	100	

* parts per million, μέρη στο εκατομύριο.

Πίνακας 2. Συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν στον πληθυσμό TU11 για κάθε δραστική ουσία.

ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ (ppm)						
	1	2	3	4	5	6	7
Pirimiphos-methyl	10	100	1000	3000			
Bifenthrin	30	100	300	1000	3000		
Fenbutatin oxide	30	100	300	1000	3000	10000	
Abamectin	0.03	0.1	0.3	0.7	1		
Pyridaben	3	10	30	100	300	1000	3000
Fenazaquin	30	100	300	1000	3000		
Spirodiclofen	0.3	1	3	10	100		

Για την προετοιμασία των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκε ο τύπος $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$ και ακολουθήθηκε η διαδικασία των διαδοχικών αραιώσεων.

Στα ακμαιοκτόνα σκευάσματα ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία. Κομμένα φύλλα φασολιού τοποθετήθηκαν σε τριβλία με βρεγμένο βαμβάκι. Ο μίσχος καλύπτονταν με το βαμβάκι για την καλύτερη ενυδάτωση του φύλλου. Σε κάθε φύλλο σχηματίστηκε κύκλος ακτίνας 3 – 4 cm με εντομολογική κόλλα (Εικόνα 9). Μέσα σ' αυτόν αφέθηκαν 25 ακμαία θηλυκά. Επομένως, για κάθε μεταχείριση απαιτήθηκαν τουλάχιστον 20 φύλλα και 500 ακμαία θηλυκά άτομα.



Εικόνα 9. Προετοιμασία φύλλων φασολιού με θηλυκά ακμαία ακάρεα για τον ψεκασμό.

Όσον αφορά το προνυμφοκτόνο σκεύασμα πραγματοποιήθηκαν τα ακόλουθα. Σε άκοπα φύλλα φασολιού σχηματίστηκε κύκλος ακτίνας 3-4 cm με εντομολογική κόλλα. Μέσα σ' αυτόν αφήθηκαν 15 ακμαία θηλυκά άτομα για 24 ώρες ώστε να γεννήσουν αυγά. Για κάθε μεταχείριση χρειάστηκαν 18 φύλλα και 270 ακμαία θηλυκά. Τα φυτά παρέμειναν σε δωμάτιο θερμοκρασίας 25⁰C, φωτοπεριόδου 16:8 και ποτίζονταν όποτε ήταν αναγκαίο. Μετά την εκκόλαψη των αυγών (3-4 ημέρες), τα φύλλα ήταν έτοιμα για ψεκασμό. Τα φύλλα κόβονταν και τοποθετούνταν σε τριβλία με βρεγμένο βαμβάκι, όπως και στην περίπτωση των ακμαιοκτόνων.

Στη συνέχεια γινόταν ο ψεκασμός των φύλλων στο rotter tower από την μικρότερη στη μεγαλύτερη συγκέντρωση με 1ml διαλύματος για τα ακμαιοκτόνα σκευάσματα και 2ml για το spirodiclofen (Εικόνα 10). Το rotter tower είναι μια συσκευή ψεκασμού ακριβείας που συντελεί στην ομοιόμορφη κατανομή του ψεκαστικού υγρού με την μορφή μικροσταγονιδίων και πίεση 15 lb/in². Μια ώρα μετά τον ψεκασμό ακολουθούσε η μέτρηση θνησιμότητας χειρισμού, για την καταγραφή της θνησιμότητας και των ατόμων που κόλλησαν στην εντομολογική κόλλα. Η μέτρηση χειρισμού δεν συνυπολογίζεται στην τελική μέτρηση.



Εικόνα 10. Συσκευή Potter tower.

Η τελική μέτρηση γίνεται 48 ώρες μετά για τις δραστικές, pirimiphos-methyl, bifenthrin, fenbutatin oxide και abamectin. Ενώ για τις pyridaben και fenazaquin που έχουν ταχύ τρόπο δράσης, 24 ώρες μετά. Αντίθετα για το spiroticlofen 5-6 ημέρες μετά, όσο χρειάζεται για την μετάβαση των προνυμφών σε ακμαία άτομα. Στην τελική μέτρηση καταγράφεται το ποσοστό θνησιμότητας χωρίς να συμπεριλαμβάνονται τα κολλημένα άτομα. Νεκρά θεωρούνται τα άτομα που αδυνατούν να διανύσουν απόσταση ίση με τρεις φορές το μήκος τους.

Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος οι δίσκοι εμπεριείχαν νερό για την αποφυγή μαρασμού των φύλλων και παρέμειναν σε δωμάτιο θερμοκρασίας 25°C με ελεγχόμενο φωτισμό.

6. Επιλογές

Για την μελέτη του μηχανισμού ανθεκτικότητας απαιτείται ένας ομοιόμορφος ανθεκτικός πληθυσμός. Για την δημιουργία ενός τέτοιου πληθυσμού πραγματοποιήθηκαν επιλογές στον πληθυσμό TUmix με την δραστική ουσία bifenthrin (Πίνακας 3). Ο πληθυσμός TUmix είναι αποτέλεσμα της ανάμειξης 5 κρητικών πληθυσμών των οποίων το Resistance ratio στο LC₅₀ κυμαίνονταν από 3 έως 230 για το bifenthrin. Στα πλαίσια της πτυχιακής πραγματοποιήθηκαν 5 επιλογές, οι οποίες συνεχίστηκαν μετά το πέρας αυτής. Σε κάθε μεταχείριση χρησιμοποιήθηκαν όσο το δυνατόν περισσότερα ακμαία άτομα σε φύλλα φασολιού όπως την περίπτωση των βιοδοκιμών, χωρίς την χρήση εντομολογικής κόλλας και ψεκάστηκαν στο rotter tower. Μετά από 48 ώρες καταμετρήθηκε η θνησιμότητα και τα ζωντανά άτομα τοποθετήθηκαν σε φύλλα φασολιού για την δημιουργία νέας γενιάς. Δυο εβδομάδες αργότερα η F1 γενιά χρησιμοποιήθηκε για την επόμενη επιλογή με μεγαλύτερη συγκέντρωση. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε για τις υπόλοιπες επιλογές.

Πίνακας 3. Συγκεντρώσεις, αριθμός ακμαίων ατόμων και θνησιμότητα των διαδοχικών επιλογών του TUmix με bifenthrin.

ΕΠΙΛΟΓΕΣ Αριθμός γενεών	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ (ppm)	n	ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑ %
1	4000	547	44%
2	5000	455	38%
3	6000	635	11%
4	10000	1259	30%
5	20000	378	63%

n: Αριθμός ακμαίων θηλυκών

7. Επίδραση συνεργιστών στα επίπεδα ανθεκτικότητας

Για την μελέτη των βιοχημικών μηχανισμών ανθεκτικότητας γίνεται χρήση συνεργιστών. Οι συνεργιστές είναι ουσίες που απενεργοποιούν ομάδες ενζύμων που εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα. Οι συνεργιστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη των μηχανισμών ανθεκτικότητας στο bifenthrin ήταν το DEF και το PB. Το DEF (S,S,S-tributyl phosphorotrithioate) λειτουργεί ως παρεμποδιστής στην ομάδα ενζύμων καρβοξυλεστεράσες και μεταφοράσες της γλουταθειόνης. Το PB (pireperonyl butoxide) δρα στις μικτής λειτουργίας P450 οξειδάσες και στις καρβοξυλεστεράσες. Η χρήση των συνεργιστών στην μελέτη των μηχανισμών ανθεκτικότητας έγκειται στο ότι εάν τα επίπεδα ανθεκτικότητας σε μία δραστική μειωθούν στην περίπτωση που έχει προηγηθεί επαφή με τον ένα ή τον άλλο συνεργιστή τότε αυτό σημαίνει ότι τα ένζυμα που αυτός παρεμποδίζει εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα.

Προηγήθηκαν προκαταρκτικές βιοδοκιμές με τους συνεργιστές DEF και PB για την εύρεση της κατάλληλης συγκέντρωσης για ψεκασμό του πληθυσμού TUmix μετά από επιλογή και του GSS. Η κατάλληλη συγκέντρωση είναι η μεγαλύτερη συγκέντρωση που προκαλεί μηδενική θνησιμότητα. Η προετοιμασία των προκαταρκτικών πειραμάτων ήταν ίδια με αυτή των ακμαιοκτόνων σκευασμάτων. Ο ψεκασμός των φύλλων με τις συνεργιστικές ουσίες πραγματοποιήθηκε στο rotter tower. Ο μάρτυρας ψεκάστηκε με απιονισμένο νερό. Τέσσερις ώρες αργότερα ψεκάστηκαν με το bifenthrin. Ενώ μια ώρα μετά πραγματοποιήθηκε η μέτρηση θνησιμότητας χειρισμού. Η τελική μέτρηση έγινε μετά από 48 ώρες. Μετά τις προκαταρκτικές βιοδοκιμές οι κατάλληλες συγκεντρώσεις των συνεργιστικών ουσιών ήταν 100 ppm για το DEF και 30 ppm για το PB για τις οποίες η θνησιμότητα των πληθυσμών δεν διέφερε από τον μάρτυρα.

8. Διασταυρώσεις

Για την μελέτη της γενετικής βάσης της ανθεκτικότητας πραγματοποιήθηκαν διασταυρώσεις διπλής κατεύθυνσης θηλυκών και αρσενικών ατόμων μεταξύ των πληθυσμών TU5 και GSS. Ο πληθυσμός από την Ιεράπετρα (TU5) ήταν ανθεκτικός σε διάφορες δραστικές (fenazaquin, pyridaben, fenbutatin oxide) και η μελέτη των επιπέδων ανθεκτικότητάς του ήταν το αντικείμενο πτυχιακής μελέτης άλλου φοιτητή.

Πάνω σε φύλλα φασολιού αφέθηκαν 12 θηλυκές τελειοχρυσασπίδες του πληθυσμού TU5 και 5 ακμαία αρσενικά του GSS επί δυο επαναλήψεις για 3 ημέρες σε θάλαμο με ελεγχόμενες συνθήκες. Τα θηλυκά μεταφέρθηκαν στο στάδιο της τελειοχρυσασπίδας για να εξασφαλιστεί το ότι δεν είχαν γονιμοποιηθεί από αρσενικά του ίδιου πληθυσμού. Ομοίως και για την

διασταύρωση θηλυκών GSS με αρσενικά TU5. Οι απόγονοί τους (F1 γενιά) διασταυρώθηκαν με άτομα των πληθυσμών TU5 και GSS (ανάδρομες διασταυρώσεις). Μετά την ωτοκία καταμετρήθηκαν τα αβγά, ο αριθμός αβγών που εκκολάφτηκαν και το φύλο των ακάρεων.

9. Ανάλυση αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα των επίπεδων ανθεκτικότητας «διορθώθηκαν» λαμβάνοντας υπόψη τη θνησιμότητα που δεν οφείλεται στη δράση των σκευασμάτων (θνησιμότητα μάρτυρα), χρησιμοποιώντας τον τύπο του Abbot. $\Delta\Theta = 100 * (1 - \Theta E / \Theta M)$ όπου $\Delta\Theta$ = διορθωμένη θνησιμότητα, ΘE = Θνησιμότητα επέμβασης, και ΘM = Θνησιμότητα μάρτυρα. Μια Probit ανάλυση κατά Finney (Probit analysis, 1971 Cambridge Univ. Press) πραγματοποιήθηκε για την ανάλυση της % θνησιμότητας χρησιμοποιώντας το λογισμικό Probit 3.3 (Praxeme Version 3.3, Licence 193019) (Raymond *et al.* 1993). Το λογισμικό αυτό δίνει την δυνατότητα να δοκιμάσουμε κατά πόσον η καμπύλη απόκρισης θνησιμότητας-συγκεντρώσεις αντιστοιχεί σε ευθεία γραμμή (δοκιμή χ^2), την κλίση της ευθείας (slope), τις θανατηφόρες συγκεντρώσεις (lethal concentrations LC), τα όρια εμπιστοσύνης κάθε μίας και τον συντελεστή ανθεκτικότητας RR (Resistance Ratio).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Επίπεδα ανθεκτικότητας

Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών με τους πληθυσμούς TU7 και TU11 στα δοκιμαζόμενα σκευάσματα (pirimiphos-methyl, bifenthrin, fenazaquin, pyridaben, fenbutatin oxide, abamectin, spiroadiclofen) αναλύθηκαν στο Probit analysis για την εύρεση των επιπέδων ανθεκτικότητας συγκριτικά με τον ευαίσθητο πληθυσμό αναφοράς GSS.

Πίνακας 4. Αποτελέσματα ανάλυσης θνησιμότητας και επίπεδα ανθεκτικότητας των πληθυσμών στα δοκιμαζόμενα σκευάσματα.

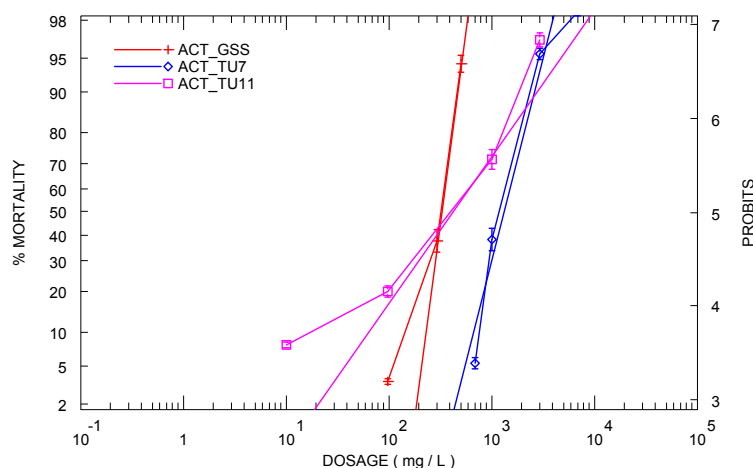
Πληθυσμοί	n	Slope ± SE	LC ₅₀	LC ₅₀ Range	X ²	RR	RR 95%
Pirimiphos-methyl							
TU7	395	4,3±0,1	1332	907,72-1959	21,39***	4,02	0,16-98,03
TU11	658	1,5±0,5	417,03	157,66-1104	25,46***	1,26	0,05-30,31
GSS	415	8,1±17	330,88	118,06-803,85	155***	-	-
Bifenthrin							
TU7	485	3,9±0,1	75093,68	15144-390580	19***	5659,79	841,39-38071
TU11	313	2,5±0,3	168,11	130,33-219,83	0,18	12,83	3,52-46,70
GSS	257	1,7±0,9	13,26	4,37-40,73	18***	-	-
Fenazaquin							
TU7	581	1,9±0,1	179,22	145,96-218,88	5,51	10,38	7,69-14,01
TU11	478	1,9±0,2	447,60	323,83-619,56	8,45*	25,93	17,05-39,42
GSS	281	4,4±0,6	17,26	14,41-21,59	1,35	-	-
Pyridaben							
TU7	395	2,5±0,2	220,58	176,94-268,91	7,59	49,45	39,08-62,58
TU11	829	1±0,07	247,84	192,69-320,82	1,81	55,56	45,96-67,17
GSS	376	3,1±0,3	4,46	3,73-5,25	3,48	-	-
Fenbutatin oxide							
TU7	565	0,9±0,1	35784	25332-54932	2,62	1997	1610-2477
TU11	566	0,7±0,1	3511	2118-7327	8,19	196	155-247
GSS	356	2,7±0,3	17,91	14,45-22,28	3,36	-	-
Abamectin							
TU7	394	2,1±0,3	94,66	66,23-121,95	0,39	252	75,19-846
TU11	558	4,2±0,4	0,20	0,18-0,23	3,97	1,05	0,31-3,51
GSS	542	3,7±1,4	0,18	0,11-0,31	107***	-	-
Spiroadiclofen							
TU7	931	3,2±0,6	27,20	19,05-38,85	47,98***	164,90	21,66-1254,87
TU11	1519	2,2±0,1	8,68	7,68-9,93	3,23	59,44	7,53-469,23
GSS	851	4,6±3,8	0,16	0,05-0,48	107***	-	-

n: αριθμός ακάρεων, LC₅₀ (Lethal concentration for 50% mortality): συγκέντρωση που σκοτώνει το 50% του πληθυσμού, RR (Resistance Ratio): συντελεστής ανθεκτικότητας, Slope και SE: κλίση ευθείας και απόκλιση, X² δοκιμής καλής αντιπροσώπευσης από ευθεία *P<0.03, **P<0.01, ***P<0.001.

Ο πίνακας 4 παρουσιάζει τα συγκεντρωτικά αποτελέσματα της ανάλυσης της θνησιμότητας και των επιπέδων ανθεκτικότητας των πληθυσμών TU7 και TU11 συγκριτικά με τον ευαίσθητο πληθυσμό αναφοράς GSS στα δοκιμαζόμενα σκευάσματα. Με εξαίρεση το pirimiphos-methyl ο TU7 παρουσίασε ανθεκτικότητα σε όλα τα σκευάσματα με συντελεστή ανθεκτικότητας RR που κυμαίνονταν από 10,38 στο fenazaquin έως 5660 στο bifenthrin. Ο TU11 παρουσίασε ανθεκτικότητα σε όλα τα σκευάσματα με RR 12,83 στο bifenthrin έως 196 στο fenbutatin oxide, εκτός από τα σκευάσματα pirimiphos-methyl και abamectin για τα οποία όπως φαίνεται στον πίνακα 4 τα όρια εμπιστοσύνης του RR περιλαμβάνουν την μονάδα.

1.1. Ανθεκτικότητα στο pirimiphos-methyl

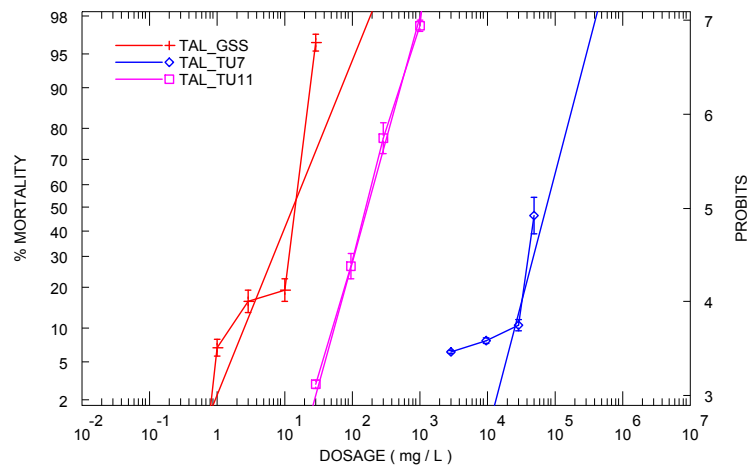
Στο διάγραμμα 1 παρουσιάζεται η θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* για τους πληθυσμούς TU7, TU11 και GSS σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας pirimiphos-methyl. Τα LC₅₀ των πληθυσμών TU7 και TU11 είναι μεγαλύτερα από του ευαίσθητου πληθυσμού αναφοράς. Όμως δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά, εφόσον το εύρος του RR περιλαμβάνει την μονάδα (πίνακας 4).



Διάγραμμα 1. Θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής pirimiphos-methyl.

1.2. Ανθεκτικότητα στο bifenthrin

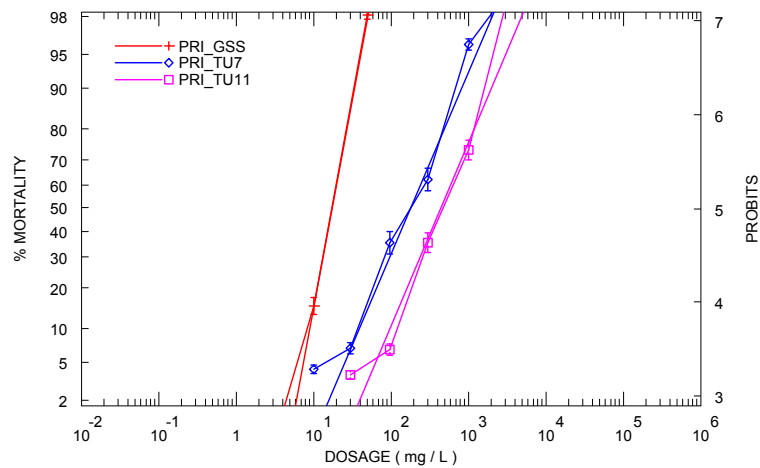
Στο διάγραμμα 2 παρουσιάζεται η θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* για τους πληθυσμούς TU7, TU11 και GSS σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας bifenthrin. Ο TU11 έχει RR 12,83 με εύρος 3,52 - 46,70. Ο TU7 παρουσίασε υψηλότερη ανθεκτικότητα από τον TU11 με RR 5659,79 με εύρος 841,39 - 38071 (πίνακας 4).



Διάγραμμα 2. Θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής bifenthrin.

1.3. Ανθεκτικότητα στο fenazaquin

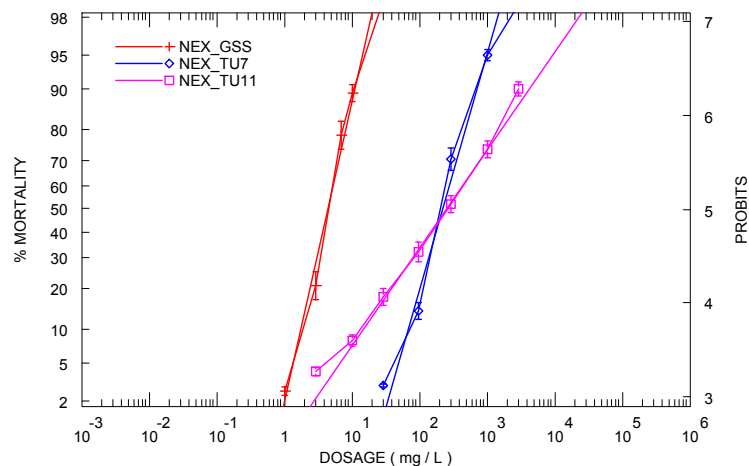
Στο διάγραμμα 3 παρουσιάζεται η θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* για τους πληθυσμούς TU7, TU11 και GSS σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας fenazaquin. Τα LC₅₀ των πληθυσμών TU7 και TU11 είναι υψηλότερα από του ευαίσθητου πληθυσμού αναφοράς. Ο TU11 παρουσίασε μεγαλύτερα επίπεδα ανθεκτικότητας με RR 25,93 σε σχέση με τον TU7 με RR 10,38 (πίνακας 4).



Διάγραμμα 3. Θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής fenazaquin.

1.4. Ανθεκτικότητα στο pyridaben

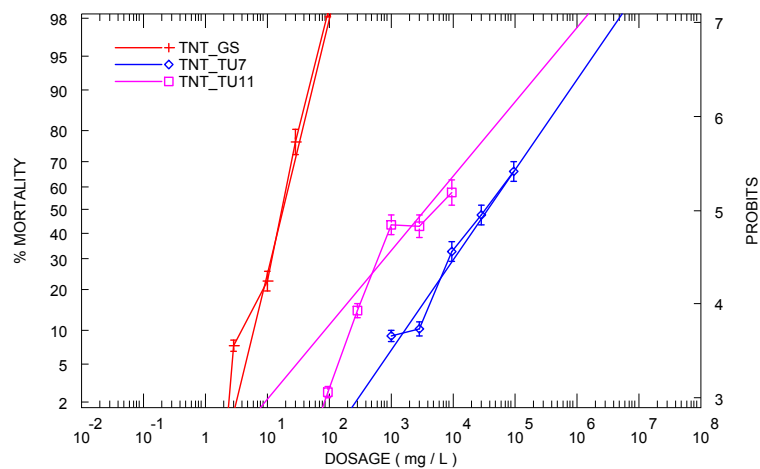
Στο διάγραμμα 4 παρουσιάζεται η θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* για τους πληθυσμούς TU7, TU11 και GSS σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας pyridaben. Οι πληθυσμοί TU7 και TU11 εμφάνισαν παραπλήσια LC_{50} και παρουσίασαν ανθεκτικότητα με RR 49,45 και 55,56 για τον TU7 και τον TU11 αντίστοιχα (πίνακας 4).



Διάγραμμα 4. Θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής pyridaben.

1.5. Ανθεκτικότητα στο fenbutatin oxide

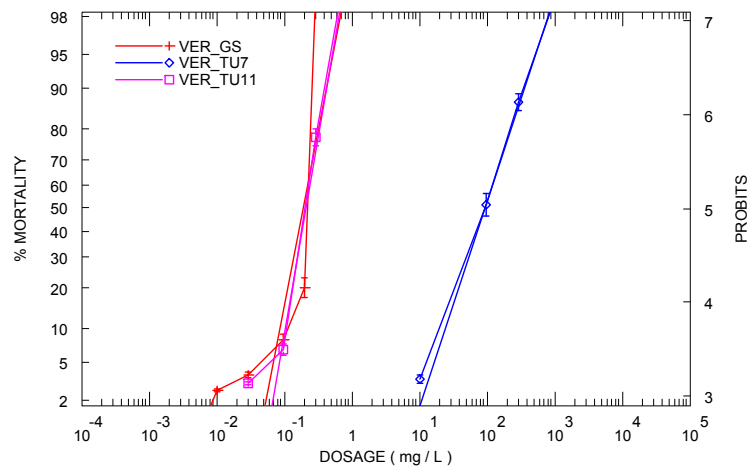
Στο διάγραμμα 5 παρουσιάζεται η θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* για τους πληθυσμούς TU7, TU11 και GSS σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας fenbutatin oxide. Ο TU7 με RR 1997 και εύρος 1610 - 2477 εμφάνισε μεγαλύτερη ανθεκτικότητα από τον TU11 με RR 196 και εύρος 155 - 247 (πίνακας 4).



Διάγραμμα 5. Θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής fenbutatin oxide.

1.6. Ανθεκτικότητα στο abamectin

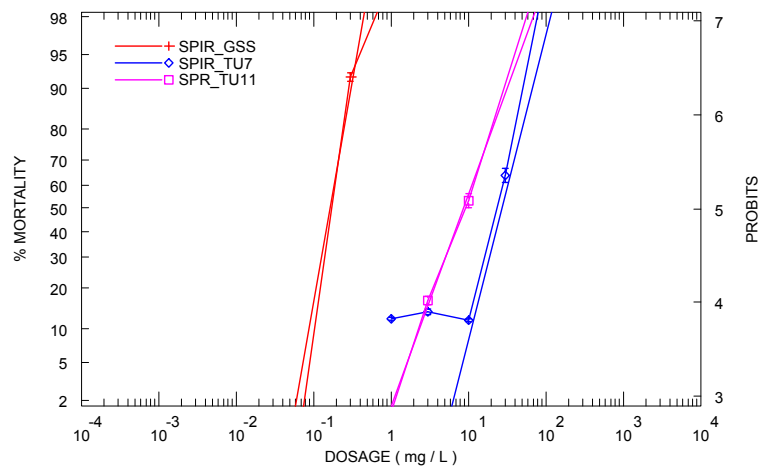
Στο διάγραμμα 6 παρουσιάζεται η θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* για τους πληθυσμούς TU7, TU11 και GSS σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας abamectin. Το LC₅₀ του TU11 δεν διέφερε στατιστικά από αυτό του GSS (πίνακας 4). Ενώ ο TU7 είναι ανθεκτικός στο abamectin με RR 252 και εύρος 75,19 - 846.



Διάγραμμα 6. Θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής abamectin.

1.7. Ανθεκτικότητα στο spiroadiclofen

Στο διάγραμμα 7 παρουσιάζεται η θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* για τους πληθυσμούς TU7, TU11 και GSS σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής ουσίας spiroadiclofen. Στο LC₅₀ ο TU7 με RR 164,90 και εύρος 21,66 - 1254,87 παρουσίασε υψηλότερη ανθεκτικότητα από τον TU11 με RR 59,44 και εύρος 7,53 - 469,23 (πίνακας 4).



Διάγραμμα 7. Θνησιμότητα ακμαίων θηλυκών *T. urticae* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση της δραστικής spiroadiclofen.

2. Γενετική βάση της ανθεκτικότητας

Η μελέτη της γενετικής της ανθεκτικότητας περιλαμβάνει διασταυρώσεις διπλής κατεύθυνσης και ανάδρομες διασταυρώσεις (backcrosses). Οι πίνακες 4 και 5 παρουσιάζουν τα αποτελέσματα προκαταρκτικών διασταυρώσεων που πραγματοποιήθηκαν για να διερευνηθεί η δυνατότητα μελέτης της γενετικής βάσης της ανθεκτικότητας. Ο πίνακας 4 παρουσιάζει τα αποτελέσματα διασταυρώσεων διπλής κατεύθυνσης μεταξύ του ευαίσθητου πληθυσμού GSS και του ανθεκτικού TU5 και ο πίνακας 5 τα backcrosses με αρσενικά άτομα των πληθυσμών GSS και TU5.

Πίνακας 4. Διασταυρώσεις διπλής κατεύθυνσης του ευαίσθητου πληθυσμού GSS με τον ανθεκτικό TU5.

Διασταυρώσεις (♀ x ♂)	Αβγά	Θηλυκά	Αρσενικά	Παρατηρήσεις
1 TU5xGSS	138	17	83	
2 TU5xGSS	104	19	71	
3 GSSxTU5	160	21	92	♀ 1 ακμαίο χρώματος κόκκινου
4 GSSxTU5	189	20	98	♀ 1 ακμαίο χρώματος κόκκινου

Πίνακας 5. Backcrosses της F1 γενιάς των διασταυρώσεων διπλής κατεύθυνσης με αρσενικά άτομα των πληθυσμών GSS και TU5.

Backcrosses (♀ x ♂)	Αβγά	Θηλυκά	Αρσενικά	Παρατηρήσεις
1 TU5GSSxTU5	0	0	0	
2 TU5GSSxGSS	0	0	0	
3 GSSTU5xTU5	75	24	8	91 αυγά
4 GSSTU5xGSS	10	5	5	♀ ακμαία χρώματος κόκκινου, 0 αυγά

Οι διασταυρώσεις αυτές έδειξαν την ύπαρξη αναπαραγωγικού ασυμβίβαστου μεταξύ των πληθυσμών TU5 και GSS που εκφράζεται με τον

μικρό αριθμό θηλυκών έναντι των αρσενικών ατόμων, ενώ στη φύση το sex ratio είναι 3:1. Γεγονός που αποδεικνύεται από το ότι τα περισσότερα ωά δεν ήταν γονιμοποιημένα (περισσότεροι αρσενικοί απόγονοι), καθώς και από τον μικρό αριθμό ωών που προέκυψαν από την F1 γενιά. Παρατηρήθηκε επίσης κόκκινος χρωματισμός μερικών θηλυκών ακμαίων ατόμων της F1 γενιάς, παρ' όλο που οι γονείς είναι πράσινου χρώματος. Η συσχέτιση του κόκκινου χρώματος με την στειρότητα των θηλυκών έχει παρατηρηθεί και άλλες φορές (Helle 1962, Tsagkarakou 1997).

Το φαινόμενο του αναπαραγωγικού ασυμβίβαστου είναι αρκετά συχνό ανάμεσα σε πληθυσμούς *T. urticae* που μπορεί να χωρίζονται από μεγάλη ή και μικρή γεωγραφική απόσταση ή βρίσκονται σε διαφορετικά είδη φυτών ξενιστών (Navajas *et al.* 2000). Κάποια απ' αυτά τα αναπαραγωγικά ασυμβίβαστα μπορεί να οφείλονται στην ύπαρξη του ενδοσυμβιωτικού βακτηρίου *Wolbachia* (Vala *et al.* 2000). Η ύπαρξη αναπαραγωγικού ασυμβίβαστου μεταξύ του GSS και του κρητικού πληθυσμού TU5 απέτρεψε την μελέτη της γενετικής βάσης της ανθεκτικότητας.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η διαπίστωση και η μέτρηση της ανθεκτικότητας των ελληνικών πληθυσμών *T. urticae* έγινε με βιοδοκιμές και σύγκριση της θνησιμότητας με αυτή ενός ευαίσθητου πληθυσμού αναφοράς (GSS). Οι πληθυσμοί (TU7 και TU11) που μελετήθηκαν, συλλέχθηκαν από θερμοκήπια διαφορετικών περιοχών και καλλιέργειών: ο TU7 συλλέχθηκε από την Αττική σε καλλιέργεια τριανταφυλλιάς και ο TU11 από την Πελοπόννησο σε καλλιέργεια γαρυφαλλιάς. Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε εργαστηριακές εκτροφές με θηλυκά ακμαία ακάρεα για την μελέτη της δράσης έξι εμπορικών σκευασμάτων ως ακμαιοκτόνα και ενός ως προνυμφοκτόνο. Εκτός από το pirimiphos-methyl, ο πληθυσμός TU7 παρουσίασε ανθεκτικότητα σε όλα τ' άλλα δοκιμαζόμενα σκευάσματα με RR στο LC₅₀ που κυμαινόταν από 10,38 στο fenazaquin έως 5659,79 στο bifenthrin. Ο πληθυσμός TU11 παρουσίασε ανθεκτικότητα στις περισσότερες δραστικές ουσίες αλλά σε μικρότερα επίπεδα με RR στο LC₅₀ 12,83 στο bifenthrin έως 196 fenbutatin oxide. Δεν παρουσίασε ανθεκτικότητα στα pirimiphos-methyl και abamectin.

Ο TU7 δεν παρουσίασε ανθεκτικότητα στο pirimiphos-methyl, παρ' όλη την συχνή χρήση (ανά 15 ημέρες) οργανοφωσφορικών σκευασμάτων στο θερμοκήπιο. Απουσία ανθεκτικότητας στο pirimiphos-methyl παρατηρήθηκε και στον TU11, γεγονός που μπορεί να αποδοθεί στη μη χρήση οργανοφωσφορικών στην καλλιέργεια γαρυφαλλιάς απ' όπου έγινε η δειγματοληψία του πληθυσμού.

Μελέτες που έγιναν το 2007 σε εννιά πληθυσμούς από την Κρήτη και την Πελοπόννησο σε υπαίθριες ή υπό κάλυψη καλλιέργειες και αυτοφυή φυτά (κηπευτικά, λεμονιά, malvaceae) εξετάζουν τα επίπεδα ανθεκτικότητας διαφορετικών πληθυσμών (Μπιρουράκη κ.α. 2007). Στο pirimiphos-methyl κανένας πληθυσμός δεν εμφάνισε ανθεκτικότητα με RR στο LC₅₀ 0,23 - 0,75, όπως και οι πληθυσμοί TU7 και TU11. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε αντίθεση με τα ευρήματα παλαιότερων μελετών όπου ελληνικοί πληθυσμοί ανθεκτικοί στα οργανοφωσφορικά methidathion και parathion methyl είχαν βρεθεί και στην Αττική και στην Πελοπόννησο (Tsagkarakou *et al.* 1996). Από την διεθνή βιβλιογραφία ανθεκτικότητα στο pirimiphos-methyl έχει αναφερθεί στην Πολωνία το 1974 (Lakocy 1974). Πρόσφατη διεθνή βιβλιογραφία που να αναφέρεται στην ανθεκτικότητα πληθυσμών *T. urticae* στο pirimiphos-methyl δεν υπάρχει.

Όσον αφορά το πυρεθρινοειδές σκευάσμα bifenthrin ο TU7 εκδήλωσε την υψηλότερη τιμή ανθεκτικότητας σε σχέση με τα άλλα δοκιμαζόμενα σκευάσματα με RR στο LC₅₀ 5660. Η καλλιέργεια τριανταφυλλιάς ψεκάζονταν με πυρεθροειδή κάθε 15 ημέρες μέχρι την δειγματοληψία με συνέπεια την

δημιουργία υψηλών επιπέδων ανθεκτικότητας. Σαφώς μικρότερα επίπεδα ανθεκτικότητας εμφάνισε ο TU11 (RR στο LC₅₀ 12,83).

Στο bifenthrin εννιά άλλοι ελληνικοί πληθυσμοί παρουσίασαν διάφορα επίπεδα ανθεκτικότητας: από έλλειψη ανθεκτικότητας μέχρι RR = 236 (Τσαγκαράκου κ.α. 2007). Ο πληθυσμός TU7 (παρούσα πτυχιακή) με RR στο LC₅₀ ~5660 έχει δείξει τα υψηλότερα επίπεδα από τους έντεκα συνολικά ελληνικούς πληθυσμούς και μάλιστα από τα υψηλότερα που έχουν βρεθεί διεθνώς. Στην Αυστραλία (Herron *et al.* 2001), στην Αγγλία (Devine *et al.* 2001), στις ΗΠΑ (Yang *et al.* 2002) και στο Βέλγιο (Leeuwen *et al.* 2005) δημοσιεύσεις στο bifenthrin έδειξαν ότι ο *T.urticae* ανέπτυξε ανθεκτικότητα με RR 109, 6, 15 και 1851 αντίστοιχα.

Οι παρεμποδιστές μεταφοράς ηλεκτρονίων αν και δεν είχαν χρησιμοποιηθεί την τελευταία περίοδο στην καλλιέργεια τριανταφυλλιάς απ' όπου συλλέχθηκε ο TU7 τα επίπεδα ανθεκτικότητας παραμένουν υψηλά με RR στο LC₅₀ 10,38 για το fenazaquin και 49,45 για το pyridaben. Επίσης ο TU11 εμφάνισε ανθεκτικότητα και στις δυο δραστικές που είχαν εφαρμοστεί στο θερμοκήπιο με RR στο LC₅₀ 25,93 στο fenazaquin και 55 στο pyridaben.

Στο fenazaquin και στο pyridaben οι TU7 και TU11 είχαν ανθεκτικότητα με επίπεδα της ίδιας τάξης με εκείνα των περισσότερων άλλων ελληνικών πληθυσμών οι οποίοι παρουσίασαν RR στο LC₅₀ ~2 - 32 και 4 - 26 στο fenazaquin και στο pyridaben αντίστοιχα. Εκτός Ελλάδος, μικρά επίπεδα ανθεκτικότητας στο fenazaquin έχουν αναφερθεί στην Κορέα με RR = 7,8 (Choi *et al.* 2005) και υψηλά στην Αγγλία με RR = 168 (Devine *et al.* 2001). Στο pyridaben ανθεκτικοί πληθυσμοί έχουν αναφερθεί στην Κορέα με RR = 86 (Choi *et al.* 2005), και RR = 240 (Kim *et al.* 2006), στην Ιαπωνία με RR 2000 (Nauen *et al.* 2001) και στην Αγγλία με RR = 346 (Devine *et al.* 2001). Επίσης υπάρχουν αναφορές για ανθεκτικότητα από την Γαλλία, Βραζιλία, Γερμανία, Αυστραλία με RR 2000 – 4000 (Nauen *et al.* 2001). Οι πληθυσμοί TU7 (RR = 49,45) και TU11 (RR = 55,56) είναι ανθεκτικοί αλλά με χαμηλότερα επίπεδα ανθεκτικότητας.

Οι βιοδοκιμές απέδειξαν αυξημένη ανθεκτικότητα των πληθυσμών TU7 και TU11 στο fenbutatin oxide με RR στο LC₅₀ 1997 και 196 αντίστοιχα έναντι μόλις RR ~2-9 που βρέθηκαν στους υπόλοιπους ελληνικούς πληθυσμούς (Μπιρουράκη κ.α 2007). Υψηλή ανθεκτικότητα στη δραστική αυτή έχει αναφερθεί και στην Κορέα με RR < 40 (Kim *et al.* 2006) και στο Βέλγιο με RR = 500 (Leeuwen *et al.* 2005).

Το υψηλό RR του πληθυσμού TU7 στην αβερμικτίνη (abamectin) (RR = 250) δικαιολογεί την αποτυχία ελέγχου του πληθυσμού του τετράνυχου στο θερμοκήπιο με την δραστική αυτή. Ο TU11 με RR στο LC₅₀ 1,05, χαρακτηρίζεται ευαίσθητος στην abamectin, αν και το συγκεκριμένο σκεύασμα εφαρμόζονταν κάθε 3-4 ημέρες στην καλλιέργεια γαρυφαλλιάς. Το αποτέλεσμα αυτό είναι σύμφωνο με την μη ανάπτυξη ανθεκτικότητας στην δραστική αυτή σε κανέναν από τους άλλους εννιά ελληνικούς πληθυσμούς (Μπιρουράκη κ.α. 2007).

Πρόσφατες δημοσιεύσεις παρουσιάζουν πληθυσμούς ανθεκτικούς στο abamectin από την Βραζιλία (Sato *et al.* 2005), την Κολομβία και την Ολλανδία (Stumpf *et al.* 2002) με RR στο LC₅₀ 342, 26 και 54 αντίστοιχα. Ενώ στη γειτονική Τουρκία βρέθηκαν πληθυσμοί ευαίσθητοι στην δραστική αυτή (Ay *et al.* 2004).

Παρόλο που η δραστική ουσία spiroadiclofen δεν είχε χρησιμοποιηθεί ποτέ πριν στην Ελλάδα οι TU7 και TU11 παρουσίασαν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας με RR στο LC₅₀ 165 και 60 αντίστοιχα. Αυτό είναι σε αντίθεση με τους υπόλοιπους ελληνικούς πληθυσμούς που παρουσίασαν μικρότερα επίπεδα ανθεκτικότητας (δύο πληθυσμοί από την Πελοπόννησο βρέθηκαν ανθεκτικοί με RR = 30 και 33 αντίστοιχα), έως και καθόλου ανθεκτικότητα (οι περισσότεροι κρητικοί πληθυσμοί αποδείχθηκαν ευαίσθητοι, εκτός από έναν που παρουσίασε RR = 20). Όσον αφορά τη δραστική αυτή δεν υπάρχει διεθνής βιβλιογραφία που να αναφέρει την ύπαρξη ανθεκτικών πληθυσμών *T. urticae* (<http://www.pesticideresistance.org/>).

Συμπερισματικά, τα επίπεδα ανθεκτικότητας των πληθυσμών TU7 και TU11 βρίσκονται σε ακολουθία με το ιστορικό των επεμβάσεων που δέχονταν στα θερμοκήπια. Εξαίρεση αποτελούν τα pirimiphos-methyl, abamectin και spiroadiclofen. Το pirimiphos-methyl παρόλο που εφαρμόζονταν στην καλλιέργεια τριανταφυλλιάς στην Αττική ο πληθυσμός (TU7) δεν ανέπτυξε ανθεκτικότητα, όπως δείχνουν τα αποτελέσματα της παρούσας πτυχιακής. Η αβερμικτίνη παρ' όλο που χρησιμοποιούνταν συχνά στην καλλιέργεια γαρυφαλλιάς, ο πληθυσμός δεν είχε αναπτύξει ανθεκτικότητα. Και οι δυο πληθυσμοί παρ' όλο που δεν είχαν έρθει σε επαφή με το spiroadiclofen έδειξαν ότι ήταν ανθεκτικοί στο σκεύασμα. Η ύπαρξη ανθεκτικότητας ελληνικών πληθυσμών στο spiroadiclofen που δεν έχει χρησιμοποιηθεί προηγουμένως σε καμία καλλιέργεια στην Ελλάδα μας οδηγεί να σκεφτούμε ότι πρόκειται για διασταυρούμενη ανθεκτικότητα. Επιπροσθέτως επειδή δραστική ουσία με τον ίδιο τρόπο δράσης δεν είχε εφαρμοστεί ξανά, το πιθανότερο είναι να υπάρχει μεταβολική ανθεκτικότητα.

Τα υψηλότερα επίπεδα ανθεκτικότητας που βρήκαμε στους TU7 και TU11 σε σύγκριση με τους άλλους ελληνικούς πληθυσμούς (Μπιρουράκη κ.α. 2007, Τσαγκαράκου κ.α. 2007) οφείλονται στην αυξημένη πίεση επιλογής που δέχεται ο τετράνυχος στα θερμοκήπια όπου καλλιεργούνται άνθη, σε αντίθεση με την μικρότερη συχνότητα των επεμβάσεων στα κηπευτικά.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ay R., Sokeli E., Karaca I. and Gurkan O. 2004. Response to Some Acaricides of the Two-spotted Spider Mite (*Tetranychus urticae* Koch) from Protected Vegetables in Isparta. Turk J. Agric For 29 (2005), 165-171.
- Bonnemaison L. 1964. Les enemis animaux des plantes cultivees et des forets. Institut National de la Recherché Agronomique. Editions Paris, 104-119.
- Brattsten B.L. 1989. Insecticide Resistance: Research and Management. Pestic. Sci., 26:329-332.
- Campos F., Krupa D.A. and Dubas R.A. 1996. Susceptibility of populations of Twospotted Spider Mites (Acari: Tetranychidae) from Florida, Holland and the Canary Islands to Abamectin and Characterization of Abamectin Resistance. Journal of Economic Entomology, 89: 594-601.
- Choi B.R., Lee S.W., Park H.M., Kwon D.H. and Lee S.H. 2005. Cross – resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance to *Tetranychus urticae* Koch. Annual meeting. Entomological Society of America.
- Compton C.C. and Kearns W.W. 1937. Improved control of red spider on greenhouse crops with sulphur and cyclohexylamine derivatives. Journal of Economic Entomology,30: 512.
- Cranham J.E. and Helle W. 1985. Pesticide resistance in Tetranychidae, 405-421. In W. Helle and M.W. Sabelis [eds.] Spider mites. Their biology, natural enemies and control, 1A Elsevier, Amsterdam, 458.
- Croft B.A., Hoyt S.C. and Westigard P.H. 1987. Spider Mite Management on Pome Fruits, Revisited: Organotin and Acaracide Resistance Management. Journal of Economic Entomology, 80: 304-311.
- Denholm I. and Jespersen J. 1999. Overview of insecticide resistance. Proceedings of a symposium on Combating insecticide resistance. Thessaloniki (Greece), 26-35.
- Devine G.J., Barber M. and Denholm I. 2001. Incidence and inheritance of resistance to METI-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite. Pest Manag Sci, 57: 443-448.
- Edge V.E., Rophail J. and James D.J. 1987. Acaricide resistance in two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* in Australian horticultural crops, 87-90. In W.G. Thwaite (ed.) Proceedings, Mite control in Horticultural Crops, Orange, N.S.W. Australia, 1987.Agdex 200/622.
- Field L.M., Anderson A.P., Denholm I., Foster S.P., Harling Z.K., Javed N., Martinez-Torres D., Moores G.D., Williamson M.S. and Devonshire A.L.

1997. Use of biochemical and DNA diagnostics for characterizing multiple mechanisms of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* Suzler. *Pesticide Science* 51: 283-289.
- Georgiou G.P. 1986. The magnitude of the resistance problem in pesticide resistance: strategies and tactics for management. National Academy Press, Washington DC.
- Georgiou G.P. 1987. Insecticides and pest resistance: the consequences of abuse. 36 th Annu. Fac. Res. Lecture, Univ. Calif. Riverside, 27.
- Georgiou G.P. and Taylor C.E. 1986. Factors influencing the evolution of resistance. In *Pesticide Resistance: Strategies and Tactics for Management*. National Academy Press. Washington, D.C., 157-169.
- Helle W. 1962. Genetics of Resistance to Organophosphorus Compounds and its Relation to Diapause in *Tetranychus urticae* Koch. Ph.D Thesis, University of Wageningen, 41.
- Herron G.A. and Rophail J. 1998. Tebufenpyrad (Pyranica®) resistance detected in two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) from apples in Western Australia. *Experimental and Applied Acarology* , 22: 633-641.
- Herron G.A., Rophail J. and Wilson L.J. 2001. The development of bifenthrin resistance in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from Australian cotton. *Exp. Appl. Acarol*, 25(4): 301-310.
- Hoyt S.C., Westigard P.H. and Croft B.A. 1985. Cyhexatin resistance in Oregon populations of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 78: 656-659.
- Kim Y.J., Lee S.H., Lee S.W. and Ahn Y.J. 2004. Fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): cross-resistance and biochemical resistance mechanisms. *Pest Management Science*, 60: 1001-1006.
- Kim Y.J., Park H.M., Cho J.R. and Ahn Y.J. 2006. Multiple resistance and biochemical mechanisms of pyridaben resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J Econ Entomol.*, 99 (3): 954-958.
- Kisu A., Gilhah K., Soyong L., Chulsu K. and Sangchul S. 2004. Inheritance and stability of etoxazole resistance in two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, and its cross resistance. *Korean Journal of Applied Entomology*, 43: 43-48.
- Lakocy A. 1974. Communication to FAO.
- Leeuwen T.V., Pottelberge S.V. and Tirry L. 2005. Comparative acaricide susceptibility and detoxifying enzyme activities in field-collected resistant and susceptible strains of *Tetranychus urticae*. *Pest Management Science*, 61: 499-507.
- Leeuwen T.V., Tirry L. and Nauen R. 2006. Complete maternal inheritance of bifentazate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) and its implications in mode of action considerations. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 36: 869-877.

- Malais M. and Ravensberg W. 1992. Knowing and recognizing. The biology of glasshouse pests and their natural enemies, 23.
- Markic D. and Seculic D. 1998. Effects of acaricide resistance on life history parameters of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Pesticide*, 13:13-21.
- Nauen R., Stumpf N., Elbert A., Zebitz C. and Kraus W. 2001. Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). *Pest Manag Sci*, 57: 253-261.
- Navajas M., Tsagkarakou A., Lagnel J. and Perrot-Minnot M. 2000. Genetic differentiation in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): polymorphism, host races or sibling species? *Experimental and Applied Acarology*, 24: 365-376.
- Rauch N. and Nauen R. 2002. Spirodiclofen resistance risk assessment in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae): a biochemical approach. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Academic Press, 74: 91-101.
- Raymond M., Prato G. and Ratsira D. 1993. Probit analysis of mortality assays displaying quantal response, Version 33 License 193019.
- Sato M., Silva M., Raga A. and Filho S. 2005. Abamectin Resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Selection, Cross-Resistance and Stability of Resistance. *Neotropical Entomology* , 34 (6): 991-998.
- Soderlund D. and Bloomquist J. 1990. Molecular mechanisms of insecticide resistance. In *Pesticide Resistance in Arthropods* (Eds. R.T. Roush and B.E. Tabashnik), Champan and Hall, New York and London, 58-96.
- Stumpf N. and Nauen R. 2002. Biochemical Markers Linked to Abamectin Resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 72: 11-121.
- Tsagkarakou A. 1997. Structure genetique et mecanismes de la resistance aux insecticides organophosphores chez *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Διδακτορική διατριβή. Universite Montpellier II.
- Tsagkarakou A., Navajas M., Lagnel J., Gutierrez J. and Pasteur N. 1996. Genetic Variability in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece: Insecticide Resistance and Isoenzymes. *Journal of Economic Entomology*, 89: 1354-1358.
- Tsagkarakou A., Pasteur N., Cuany A., Chevillon C. and Navajas M. 2002. Mechanisms of resistance to organophosphates in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 32: 417-424.
- Vala F., Breeuwer J. and Sabelis W. 2000. Wolbachia-induced “hybrid breakdown” in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *The Royal Society*, 267:1931-1937.
- Yang X., Buschman L., Zhu K. and Margolies D. 2002. Susceptibility and detoxifying enzyme activity in two spider mite species (Acari:

- Tetranychidae) after selection with three insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 95(2): 399-406.
- Βόντας Γ., Ροδιτάκης Ε. και Τσαγκαράκου Α. 2007. Η μοριακή βάση της ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα: παραδείγματα εντόμων και ακάρεων ελληνικού γεωπονικού ενδιαφέροντος. *Γεωτεχνικά Επιστημονικά Θέματα* 18(1): 60-68.
- Γιαννοπολίτης Κ.Ν. 2005. Οδηγός γεωργικών φαρμάκων 2005, 195-326.
- Καπετανάκης Ε. 1999. Η ανθεκτικότητα των τετρανύχων στα φυτοφάρμακα. Αντιμετώπιση της Ανθεκτικότητας των Εντόμων στα Εντομοκτόνα. Πρακτικά Επιστημονικού Συμποσίου. 27 Μαΐου 1999 Θεσσαλονίκη, 109-126.
- Καπετανάκης Ε. 2003. Μέθοδοι αντιμετώπισης φυτοπαράσιτων. Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης, 13-61.
- Μπιρουράκη Α., Δέτση Ε., Χαλκιαδάκη Μ., Τσεχελίδου Μ., Γρίσπου Μ., Ηλίας Α., Παρασκευόπουλος Α. και Τσαγκαράκου Α. 2007. Επίπεδα ανθεκτικότητας σε ακαρεοκτόνα σκευάσματα πληθυσμών του *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) από την Κρήτη και την Πελοπόννησο. 12^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο. Πρακτικά Συνεδρίου, 13-16 Νοεμβρίου 2007. Λάρνακα Κύπρος, 403-404.
- Παπαδάκη – Μπουρναζάκη Μ. 2002. Οι ζωικοί εχθροί των κηπευτικών & η αντιμετώπισή τους. ΤΕΙ Κρήτης, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Ηράκλειο, 42-54.
- Παπαϊωάννου-Σουλιώτη Π. 1994. Ολοκληρωμένη καταπολέμηση των ακάρεων και εφαρμογή της βιολογικής καταπολέμησης στις υπό κάλυψη καλλιέργειες. Γεωτεχνικό επιμελητήριο Ελλάδας παράρτημα Κρήτης. Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση Εχθρών και Ασθενειών Κηπευτικών σε Θερμοκήπια, 103-105.
- Σουλιώτη Π. 2001. Ορθολογική χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων για την αντιμετώπιση των ακάρεων των φυτών. *Γεωργία – Κτηνοτροφία*, 5: 72-82.
- Σταμόπουλος Δ.Κ. 1999. Έντομα αποθηκών μεγάλων καλλιεργειών & λαχανικών. Θεσσαλονίκη, 209-212.
- Τζανακάκης Μ.Ε. 1995. Εντομολογία, 203-242.
- Τσαγκαράκου Α., Ηλίας Α., Μόρου Ε., Γρίσπου Μ., Παπαδούλης Γ. και Βόντας Ι. 2007. Διερεύνηση των επιπέδων και των μηχανισμών ανθεκτικότητας του *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) στο bifenthrin. 12^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο. Πρακτικά Συνεδρίου, 13-16 Νοεμβρίου 2007. Λάρνακα Κύπρος, 379-380.

<http://www.pesticideresistance.org/>

<http://www.koppert.com/>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Probit ανάλυση για το pirimiphos methyl

Analyzed file : ACT_GSS.PLD

Date : 7/21/7

Insectide : actellic_GSS_16/01/07 και 30/01/07

% control mortality : 1.40845 (2 / 142)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality
					(1st estimation)
1	8	162	100	5	3.5
2	30	78	300	38.5	37.6
3	33	35	500	94.3	94.2

No convergence at 1000 iterations. Iterations : 1001

Y = -15.5636 + 8.16127 * X. Natural mortality (last estimation) 4 %

$p(X^2 = 155.216, df = 1) = 0.0000$

Point #	Observed dead	Expected dead	X ² Contribution
1	8	5.02	153.8337
2	30	32.96	0.4675
3 *	33	31.22	0.9150

Heterogeneity = 155.216 with 1 degree of freedom.

n	Dose	Mortality corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	100.0000	1.0		3.1855	162	8	5.02 153.8337
2	300.0000	35.9		4.6824	78	30	32.96 0.4675
3	500.0000	94.0		6.5721	35	33	31.22* 0.9150

LC Level of conf. Range

01 = 171.62073	0.95	8.67584 < LC < 3391.47979
02 = 185.34097	0.95	12.79997 < LC < 2681.30334
03 = 194.61178	0.95	16.34584 < LC < 2315.12945
04 = 201.88789	0.95	19.61658 < LC < 2076.18370
05 = 208.01095	0.95	22.73049 < LC < 1902.18056
10 = 230.47608	0.95	37.29292 < LC < 1423.57697
20 = 260.95376	0.95	65.41695 < LC < 1040.57717
30 = 285.40845	0.95	93.19898 < LC < 873.81403
40 = 308.09505	0.95	118.06927 < LC < 803.85819
50 = 330.88155	0.95	135.08341 < LC < 810.47011
60 = 355.35333	0.95	139.71620 < LC < 903.88861
70 = 383.59971	0.95	131.14464 < LC < 1122.26982
80 = 419.54790	0.95	111.64886 < LC < 1577.09955
90 = 475.02805	0.95	82.36012 < LC < 2741.28156
95 = 526.33095	0.95	61.86331 < LC < 4481.09716
96 = 542.29405	0.95	56.71978 < LC < 5188.65121
97 = 562.56925	0.95	50.90399 < LC < 6222.19604
98 = 590.70912	0.95	43.98801 < LC < 7939.41911
99 = 637.93342	0.95	34.81054 < LC < 11702.16893

Regression line : Y = A + slope * (X - M)

A = 5.03291 (SE : 0.12964) -Probit unit-

slope = 8.1613 (SE : 17.7630)

M = 2.5237 in log₁₀(dose) unit and 333.9589 in dose unit

Variance of the LC₅₀ : 0.000252825 in log₁₀(dose) unit

Heterogeneity = 155.216 with 1 df

Analyzed file : ACT_TU7.PLD

Date : 7/21/7

Insectide : actellic_TU7_28/03/07

% control mortality : 0.980392 (1 / 102)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	6	94	700	6.4	5.4
2	28	72	1000	38.9	38.3
3	63	66	3000	95.5	95.5
4	60	61	7000	98.4	98.4

Iterations : 13 $Y = -8.46552 + 4.30945 * X$ Natural mortality (last estimation) 0.9 %

$p(X^2 = 21.3972, df = 2) = 0.0000$

Point #	Observed dead	Expected dead	X^2 Contribution
1	6	11.40	3.0660
2	28	21.69	2.6576
3 *	63	61.78	0.3716
4 *	60	60.94	15.3020

A star (*) after the point number indicates that an eventual high X^2 contribution of the point may be due to a low or high expected dead value. Heterogeneity = 10.6986 with 2 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X^2 contribution		
1	700.0000	5.6		3.3889	94	6	11.40	3.0660
2	1000.0000	38.4		4.7009	72	28	21.69	2.6576
3	3000.0000	95.4		6.6859	66	63	61.78*	0.3716
4	7000.0000	98.3		7.1309	61	60	60.94*	15.3020

LC	Level of conf.	Range	
01	384.36481	0.95	172.98587 < LC < 847.02880
02	444.63122	0.95	218.07490 < LC < 900.14042
03	487.69050	0.95	252.16144 < LC < 937.21612
04	522.79781	0.95	280.93569 < LC < 967.22261
05	553.23247	0.95	306.49324 < LC < 993.23581
10	671.82657	0.95	409.90530 < LC < 1096.85225
20	849.97232	0.95	567.52510 < LC < 1270.39947
30	1007.11736	0.95	696.65995 < LC < 1454.89302
40	1164.09479	0.95	808.33468 < LC < 1677.13868
50	1332.51875	0.95	907.72215 < LC < 1959.00695
60	1525.31069	0.95	1000.26278 < LC < 2331.86561
70	1763.05790	0.95	1092.58896 < LC < 2855.41412
80	2089.01651	0.95	1194.61070 < LC < 3671.35206
90	2642.95326	0.95	1331.29667 < LC < 5282.88683
95	3209.51194	0.95	1444.22619 < LC < 7192.32551
96	3396.35360	0.95	1477.54828 < LC < 7875.94678
97	3640.84648	0.95	1518.87110 < LC < 8809.24045
98	3993.43575	0.95	1574.60041 < LC < 10230.37396
99	4619.58578	0.95	1664.56497 < LC < 12964.87307

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 4.64604 (SE : 0.10563) -Probit unit-slope = 4.3094 (SE : 1.4653)

M = 3.0425 in log10(dose) unit and 1102.8440 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.000673726 in log10(dose) unit

Heterogeneity = 10.6986 with 2 df

Analyzed file : ACT_TU11.PLD

Date : 7/21/7

Insectide : pirimiphos_tu11_30/05/07

% control mortality : 6.81818 (12 / 176)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	25	176	10	14.3	7.9
2	45	177	100	25.5	19.9
3	71	97	1000	73.2	71.3
4	31	32	3000	96.9	96.7

Iterations : 23 $Y = 0.902019 + 1.56405 * X$ Natural mortality (last estimation) 11 %

$p(X^2 = 25.4642, df = 2) = 0.0000$

Point #	Observed dead	Expected dead	X^2 Contribution
1	25	20.10	24.2821
2	45	45.51	0.0107
3	71	73.13	0.2349
4 *	31	29.43	0.9365

A star (*) after the point number indicates that an eventual high X^2 contribution of the point may be due to a low or high expected dead value. Heterogeneity = 12.7321 with 2 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X^2 contribution
1	10.0000	3.7	3.5831	176	25	20.10 24.2821
2	100.0000	16.3		4.1544	177	45 45.51 0.0107
3	1000.0000	69.9		5.5591	97	71 73.13 0.2349
4	3000.0000	96.5		6.8312	32	31 29.43* 0.9365

LC	Level of conf.	Range
01	13.56740	0.95 0.97881 < LC < 183.90566
02	20.26693	0.95 1.92925 < LC < 208.77618
03	26.14558	0.95 2.95795 < LC < 227.01672
04	31.66502	0.95 4.07041 < LC < 242.29416
05	37.00740	0.95 5.26971 < LC < 255.90381
10	63.19723	0.95 12.59383 < LC < 313.41264
20	120.82225	0.95 34.33371 < LC < 422.06542
30	192.81713	0.95 66.26112 < LC < 558.76588
40	287.39401	0.95 108.03965 < LC < 763.40893
50	417.03580	0.95 157.66294 < LC < 1104.35795
60	605.15828	0.95 213.09809 < LC < 1724.88058
70	901.98865	0.95 274.68975 < LC < 2980.90323
80	1439.46048	0.95 347.80938 < LC < 6015.02175
90	2752.00118	0.95 453.12675 < LC < 16950.59022
95	4699.56998	0.95 547.10825 < LC < 41090.60954
96	5492.46084	0.95 576.16053 < LC < 53352.39664
97	6651.94229	0.95 613.06602 < LC < 73641.58052
98	8581.41240	0.95 664.41818 < LC < 113283.65900
99	12818.87516	0.95 751.26442 < LC < 224177.67872

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 4.88760 (SE : 0.09345) -Probit unit-slope = 1.5640 (SE : 0.5927)

M = 2.5482 in log10(dose) unit and 353.3821 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00362805 in log10(dose) unit

Heterogeneity = 12.7321 with 2 df

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\ACTELLC\ACT_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\ACTELLC\ACT_TU7.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	4.02717	0.16543 - 98.03416
10	2.91495	0.00489 - 1738.64896
90	5.56378	0.01109 - 2792.35998

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\ACTELLC\ACT_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\ACTELLC\ACT_TU11.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	1.26037	0.05241 - 30.31122
10	0.27420	0.00045 - 167.80112
90	5.79333	0.01168 - 2874.39136

2. Probit ανάλυση για το bifenthrin

Analyzed file : TAL_GSS.PLD

Date : 7/21/7

Insectide : bifenthrin_GSS_20/02/07

% control mortality : 0 (0 / 68)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality
1	0	54	0.3	0	0
2	2	30	1	6.7	6.7
3	6	38	3	15.8	15.8
4	8	42	10	19.1	19.1
5	24	25	30	96	96

Iterations : 10 $Y = 2.99413 + 1.78656 * Xp(X^2 = 18.0897, df = 2) = 0.0001$

Point #	Observed dead	Expected dead	X ² Contribution
1	0	0.00	---
2 *	2	0.67	2.6762
3 *	6	4.73	0.3924
4	8	17.35	8.5931
5	24	18.42	6.4280

A star (*) after the point number indicates that an eventual high X² contribution of the point may be due to a low or high expected dead value.

Heterogeneity = 9.04484 with 2 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	0.3000	0.0	---	54	0	0.00*
2	1.0000	6.7	3.4987	30	2	0.67*
3	3.0000	15.8	3.997	38	6	4.73*
4	10.0000	19.0	4.1241	42	8	17.35
5	30.0000	96.0	6.7512	25	24	18.42

LC	Level	Range
01	= 0.661330.95	0.03992 < LC < 10.27557
02	= 0.939730.95	0.07951 < LC < 10.50924
03	= 1.174460.95	0.12258 < LC < 10.70812
04	= 1.388860.95	0.16923 < LC < 10.89333
05	= 1.591970.95	0.21950 < LC < 11.07309
10	= 2.543300.95	0.52347 < LC < 11.99299
20	= 4.485320.95	1.37072 < LC < 14.45251
30	= 6.753200.95	2.42797 < LC < 18.69014
40	= 9.577530.95	3.48485 < LC < 26.42586
50	= 13.26816	0.95 4.37533 < LC < 40.73097
60	= 18.38093	0.95 5.06689 < LC < 68.06398
70	= 26.06824	0.95 5.59998 < LC < 124.97701
80	= 39.24890	0.95 6.02607 < LC < 266.03886
90	= 69.21860	0.95 6.39702 < LC < 790.81447
95	= 110.58251	0.95 6.58833 < LC < 1983.31505
96	= 126.75420	0.95 6.63099 < LC < 2598.07596
97	= 149.89387	0.95 6.67706 < LC < 3623.63686
98	= 187.33461	0.95 6.72901 < LC < 5648.27360
99	= 266.19613	0.95 6.79325 < LC < 11398.49124

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$ A = 4.62770 (SE : 0.13065) -Probit unit-slope = 1.7866 (SE : 0.9235) M = 0.9144 in log₁₀(dose) unit and 8.2105 in dose unit
Variance of the LC₅₀ : 0.00663095 in log₁₀(dose) unit Heterogeneity = 9.04484 with 2 df

Analyzed file : TAL_TU7.PLD

Date : 7/21/7

Insectide : bifenthrin_tu7_20/03/07 και 25/04/07

% control mortality : 2.5974 (2 / 77)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	13	150	3000	8.7	6.2
2	15	146	10000	10.3	7.8
3	7	55	30000	12.8	10.4
4	13	27	50000	48.2	46.8

Iterations : 10001 $Y = -8.57615 + 2.78453 * X$

Natural mortality (last estimation) 8.5 %

$p(X^2 = 19.0574, df = 2) = 0.0001$

Point #	Observed dead	Expected dead	X ² Contribution
1	13	12.09	12.9004
2	15	13.90	0.5224
3	7	11.89	3.4486
4	13	9.50	2.1860

Heterogeneity = 9.52869 with 2 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution		
1	3000.0000	0.3		3.4562	150	13	12.09	12.9004
2	10000.0000	2.0		3.5803	146	15	13.90	0.5224
3	30000.0000	4.7		3.7357	55	7	11.89	3.4486
4	50000.0000	43.4		4.9178	27	13	9.50	2.1860

LC	Level	Range
01	= 10964.41932	0.95 1735.16996 < LC < 65569.22642
02	= 13736.74336	0.95 2983.26832 < LC < 60587.09635
03	= 15849.40040	0.95 4157.86357 < LC < 58315.23461
04	= 17649.61843	0.95 5287.57927 < LC < 57192.40180
05	= 19264.90714	0.95 6378.25702 < LC < 56753.12122
10	= 26020.14758	0.95 11087.98340 < LC < 60520.74760
20	= 37445.33048	0.95 15847.86478 < LC < 89415.74870
30	= 48687.85479	0.95 16642.66467 < LC < 145983.59059
40	= 60922.83392	0.95 16110.17706 < LC < 238974.07203
50	= 75093.68806	0.95 15144.10278 < LC < 390580.04565
60	= 92560.73009	0.95 13995.74817 < LC < 649321.79953
70	= 115820.71157	0.95 12716.63065 < LC < 1132421.84677
80	= 150594.53112	0.95 11262.78122 < LC < 2192182.86300
90	= 216719.06240	0.95 9424.77917 < LC < 5531961.72229
95	= 292711.61011	0.95 8092.42267 < LC < 11943644.69804
96	= 319500.50412	0.95 7736.10032 < LC < 14955119.27428
97	= 355790.24103	0.95 7317.46989 < LC < 19719413.51271
98	= 410509.37904	0.95 6792.50596 < LC < 28497365.71776
99	= 514305.57551	0.95 6035.21053 < LC < 50953344.60869

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 3.91957 (SE : 0.15890) -Probit unit-
slope = 2.7845 (SE : 2.1807)

M = 4.4876 in log₁₀(dose) unit and 30729.5983 in dose unit

Variance of the LC₅₀ : 0.0129487 in log₁₀(dose) unit

Heterogeneity = 9.52869 with 2 df

Analyzed file : TAL_TU11.PLD

Date : 5/31/7

Insectide : bifenthrin_tu11_08/05/07

% control mortality : 3.65854 (3 / 82)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	5	76	30	6.6	3
2	15	51	100	29.5	26.7
3	21	27	300	77.8	77
4	38	39	1000	97.5	97.4
5	38	38	3000	100	100

Iterations : 7

Y = -0.779815 + 2.59704 * X

Natural mortality (last estimation) 3.8 %

p(X² = 0.186664, df = 2) = 0.9109

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution	
1	30.0000	2.9	3.1086	76	5	4.77* 0.0283	
2	100.0000	26.6		4.3772	51	15	15.62 0.0372
3	300.0000	76.9		5.7357	27	21	20.33 0.0874
4	1000.0000	97.3		6.9331	39	38	38.17* 0.0338
5	3000.0000	100.0		---	38	38	37.98* ---

LC Level of conf. Range

01 = 21.36176	0.95	9.49992 < LC < 34.63195
02 = 27.20213	0.95	13.17600 < LC < 42.13963
03 = 31.71153	0.95	16.20125 < LC < 47.77081
04 = 35.58876	0.95	18.91471 < LC < 52.52679
05 = 39.09220	0.95	21.44613 < LC < 56.77074
10 = 53.95818	0.95	32.87326 < LC < 74.42091
20 = 79.71833	0.95	54.41445 < LC < 104.67320
30 = 105.63625	0.95	77.04628 < LC < 135.99105
40 = 134.33872	0.95	102.01605 < LC < 172.83042
50 = 168.10531	0.95	130.33195 < LC < 219.83175
60 = 210.35928	0.95	163.73506 < LC < 284.34938
70 = 267.51608	0.95	205.80936 < LC < 380.67604
80 = 354.49053	0.95	264.99604 < LC < 543.86798
90 = 523.72771	0.95	370.06145 < LC < 906.71548
95 = 722.89097	0.95	483.54472 < LC < 1394.35206
96 = 794.05403	0.95	522.25978 < LC < 1582.03282
97 = 891.13935	0.95	573.84600 < LC < 1848.31584
98 = 1038.86717	0.95	650.01950 < LC < 2274.47960
99 = 1322.89638	0.95	790.18053 < LC < 3157.61678

Regression line : Y = A + slope * (X - M)

A = 4.90614 (SE : 0.14366) -Probit unit-
slope = 2.5970 (SE : 0.3654)

M = 2.1894 in log10(dose) unit and 154.6690 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00308604 in log10(dose) unit

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\TALSTAR\TAL_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\TALSTAR\TAL_TU7.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	5659.79993	841.39888 - 38071.52135
10	10230.99902	2463.35258 - 42492.22856
90	3131.00756	70.47682 - 139098.32768

Line of: TAL_GSS.PA TAL_TU11.PA Range Confidence

LC50	13.14918	168.79136		
Resistance ratio	12.83664		(3.52843 - 46.70044)	0.95
or (inverse)	0.07790		(0.02141 - 0.28341)	0.95File 1 :

3.Probit ανάλυση για το fenazaquin

Analyzed file : PRI_GSS.PLD

Date : 7/21/7

Insectide : PRIDE GSS 5/2/07

% control mortality : 1.47059 (1 / 68)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	2	94	3	2.2	0.6
2	11	68	10	16.2	14.9
3	50	51	50	98.1	98.1

Iterations : 8

$Y = -0.49501 + 4.44197 * X$

Natural mortality (last estimation) 1.9 %

$p(X^2 = 1.35027, df = 1) = 0.2455$

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	3.0000	0.3	2.467	94	2	1.78*
2	10.0000	14.6	3.9567	68	11	11.02
3	50.0000	98.0	7.0559	51	50	49.99*

LC	Level of conf.	Range
01 = 5.16733	0.95	3.33143 < LC < 6.75490
02 = 5.95163	0.95	4.02944 < LC < 7.59702
03 = 6.51002	0.95	4.54160 < LC < 8.19388
04 = 6.96420	0.95	4.96577 < LC < 8.67944
05 = 7.35719	0.95	5.33733 < LC < 9.10059
10 = 8.88270	0.95	6.80583 < LC < 10.75754
20 = 11.15951	0.95	9.00743 < LC < 13.35961
30 = 13.15595	0.95	10.87436 < LC < 15.83580
40 = 15.14097	0.95	12.63441 < LC < 18.50936
50 = 17.26187	0.95	14.40704 < LC < 21.59492
60 = 19.67986	0.95	16.31308 < LC < 25.37293
70 = 22.64923	0.95	18.52542 < LC < 30.34177
80 = 26.70120	0.95	21.37971 < LC < 37.62326
90 = 33.54524	0.95	25.90828 < LC < 51.02941
95 = 40.50083	0.95	30.25268 < LC < 65.87116
96 = 42.78630	0.95	31.63676 < LC < 70.98766
97 = 45.77133	0.95	33.41705 < LC < 77.83702
98 = 50.06568	0.95	35.92923 < LC < 88.00692
99 = 57.66460	0.95	40.25223 < LC < 106.85935

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 4.53114 (SE : 0.17678) -Probit unit-

slope = 4.4420 (SE : 0.6461)

M = 1.1315 in log₁₀(dose) unit and 13.5367 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00181962 in log₁₀(dose) unit

Analyzed file : PRI_TU7.PLD

Date : 4/18/7

Insectide : fenazaquin_tu7_12/04/07

% control mortality : 1.07527 (1 / 93)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	5	93	10	5.4	4.3
2	6	76	30	7.9	6.8
3	28	77	100	36.4	35.7
4	50	80	300	62.5	62.1
5	72	75	1000	96	96
6	86	87	3000	98.9	98.9

Iterations : 29

Y = 0.62081 + 1.94342 * X

Natural mortality (last estimation) 3.3 %

p(X² = 5.51299, df = 4) = 0.2387

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution		
1	10.0000	2.2	3.2774	93	5	3.66*	2.6322	
2	30.0000	4.8	3.5089	76	6	7.28	0.3484	
3	100.0000	34.3		4.6316	77	28	25.67	0.3292
4	300.0000	61.3		5.3066	80	50	54.31	1.0459
5	1000.0000	95.9		6.7457	75	72	69.67	1.0616
6	3000.0000	98.8		7.2696	87	86	86.27*	0.0956

LC	Level of conf.	Range
01 = 11.37950	0.95	6.28477 < LC < 17.66017
02 = 15.71778	0.95	9.19680 < LC < 23.42918
03 = 19.29344	0.95	11.70359 < LC < 28.04901
04 = 22.50886	0.95	14.02433 < LC < 32.12599
05 = 25.51791	0.95	16.24470 < LC < 35.88824
10 = 39.25424	0.95	26.83726 < LC < 52.61467
20 = 66.12939	0.95	48.90499 < LC < 84.28242
30 = 96.33106	0.95	74.70663 < LC < 119.47997
40 = 132.81977	0.95	106.24078 < LC < 162.51264
50 = 179.22318	0.95	145.96904 < LC < 218.88012
60 = 241.83860	0.95	198.15479 < LC < 298.36727
70 = 333.44330	0.95	271.44607 < LC < 421.30476
80 = 485.72877	0.95	387.09063 < LC < 639.78101
90 = 818.27972	0.95	623.07882 < LC < 1160.23532
95 = 1258.76087	0.95	915.52260 < LC < 1912.49912
96 = 1427.03562	0.95	1023.22031 < LC < 2214.24828
97 = 1664.86364	0.95	1172.53067 < LC < 2651.99844
98 = 2043.60529	0.95	1404.50535 < LC < 3373.00409
99 = 2822.70334	0.95	1864.56199 < LC < 4932.56648

Regression line : Y = A + slope * (X - M)

A = 5.08366 (SE : 0.08565) -Probit unit-
slope = 1.9434 (SE : 0.1605)

M = 2.2964 in log10(dose) unit and 197.8739 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00195476 in log10(dose) unit

Analyzed file : PRI_TU11.PLD

Date : 7/21/7

Insectide : fenazaquin_tu11_10/05/07

% control mortality : 0 (0 / 88)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality
1	3	80	30	3.8	3.8
2	5	77	100	6.5	6.5
3	29	82	300	35.4	35.4
4	65	89	1000	73.1	73.1
5	61	62	3000	98.4	98.4

Iterations : 7 Y = -0.191258 + 1.95834 * X

p(X² = 8.4582, df = 3) = 0.0375

Point #	Observed dead	Expected dead	X ² Contribution
1 *	3	0.86	5.3694
2	5	7.79	1.1148
3	29	30.08	0.0614
4	65	67.01	0.2444
5 *	61	58.73	1.6682

A star (*) after the point number indicates that an eventual high X² contribution of the point may be due to a low or high expected dead value. Heterogeneity = 2.8194 with 3 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	30.0000	3.7	3.2192	80	3	0.86* 5.3694
2	100.0000	6.5		3.4852	77	5 7.79 1.1148
3	300.0000	35.4		4.6251	82	29 30.08 0.0614
4	1000.0000	73.0		5.6136	89	65 67.01 0.2444
5	3000.0000	98.4		7.1417	62	61 58.73* 1.6682

LC	Level of conf.	Range
01 = 29.02340	0.95	12.51027 < LC < 63.89677
02 = 39.98967	0.95	18.76513 < LC < 81.38248
03 = 49.01036	0.95	24.24548 < LC < 94.98819
04 = 57.11126	0.95	29.37731 < LC < 106.77333
05 = 64.68420	0.95	34.32844 < LC < 117.49979
10 = 99.17783	0.95	58.31222 < LC < 163.98923
20 = 166.41669	0.95	109.03996 < LC < 249.44509
30 = 241.72637	0.95	168.08610 < LC < 343.93151
40 = 332.47396	0.95	238.52765 < LC < 461.37606
50 = 447.60780	0.95	323.83628 < LC < 619.56709
60 = 602.61184	0.95	430.47775 < LC < 849.73438
70 = 828.84108	0.95	572.29399 < LC < 1216.75949
80 = 1203.92217	0.95	783.31045 < LC < 1889.44015
90 = 2020.13631	0.95	1184.57853 < LC < 3553.76679
95 = 3097.39867	0.95	1648.90793 < LC < 6052.57373
96 = 3508.11266	0.95	1813.55893 < LC < 7076.54524
97 = 4087.96683	0.95	2037.38419 < LC < 8579.34956
98 = 5010.11285	0.95	2376.48019 < LC < 11092.02725
99 = 6903.14612	0.95	3024.47055 < LC < 16650.71044

Regression line : Y = A + slope * (X - M) A = 4.93851 (SE : 0.08312) -Probit unit-slope = 1.9583 (SE : 0.2775) M = 2.6194 in log10(dose) unit and 416.3411 in dose unit Variance of the LC50 : 0.00180852 in log10(dose) unit Heterogeneity = 2.8194 with 3 df

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\PRIDE\PRI_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\PRIDE\PRI_TU7.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	10.38250	7.69304 - 14.01219
10	4.41914	3.05808 - 6.38596
90	24.39306	15.02046 - 39.61407

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\PRIDE\PRI_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\PRIDE\PRI_TU11.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	25.93028	17.05580 - 39.42233
10	11.16523	6.46018 - 19.29703
90	60.22081	30.11097 - 120.43936

4. Probit ανάλυση για το pyridaben

Analyzed file : NEX_GSS.PLD

Date : 2/9/7

Insectide : nex_GSS 6/12/06

% control mortality : 0 (0 / 91)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality
1	2	77	1	2.6	2.6
2	7	34	3	20.6	20.6
3	25	32	7	78.2	78.2
4	58	65	10	89.3	89.3
5	76	77	30	98.8	98.8

Iterations : 7

$Y = 2.93887 + 3.17424 * X$

$p(X^2 = 3.48518, df = 3) = 0.3229$

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution	
1	1.0000	2.6	3.0561	77	2	1.51*	0.1601
2	3.0000	20.6	4.1795	34	7	9.94	1.2278
3	7.0000	78.1	5.7763	32	25	23.45	0.3831
4	10.0000	89.2	6.2391	65	58	56.37	0.3566
5	30.0000	98.7	7.2271	77	76	76.67*	1.3575

LC	Level of conf.	Range
01 = 0.82478	0.95	0.50360 < LC < 1.16139
02 = 1.00512	0.95	0.64188 < LC < 1.37510
03 = 1.13951	0.95	0.74841 < LC < 1.53134
04 = 1.25229	0.95	0.83979 < LC < 1.66087
05 = 1.35228	0.95	0.92217 < LC < 1.77470
10 = 1.76028	0.95	1.26933 < LC < 2.23191
20 = 2.42248	0.95	1.85934 < LC < 2.96139
30 = 3.04989	0.95	2.43462 < LC < 3.65243
40 = 3.71271	0.95	3.04672 < LC < 4.39458
50 = 4.46030	0.95	3.73075 < LC < 5.25725
60 = 5.35842	0.95	4.53268 < LC < 6.33878
70 = 6.52293	0.95	5.53313 < LC < 7.81857
80 = 8.21234	0.95	6.91208 < LC < 10.10758
90 = 11.30176	0.95	9.27416 < LC < 14.64145
95 = 14.71167	0.95	11.72684 < LC < 20.04445
96 = 15.88635	0.95	12.54512 < LC < 21.98519
97 = 17.45864	0.95	13.62308 < LC < 24.63912
98 = 19.79301	0.95	15.19190 < LC < 28.68865
99 = 24.12074	0.95	18.01794 < LC < 36.50380

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 5.24176 (SE : 0.11542) -Probit unit-

slope = 3.1742 (SE : 0.3191)

M = 0.7255 in log₁₀(dose) unit and 5.3149 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00138079 in log₁₀(dose) unit

Analyzed file : NEX_TU7.PLD

Date : 4/20/7

Insectide : pyridaben_tu7_03/04/07

% control mortality : 4.34783 (2 / 46)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	2	67	30	3	3
2	11	63	100	17.5	13.7
3	47	66	300	71.3	69.9
4	79	83	1000	95.2	95
5	69	70	3000	98.6	98.6

Iterations : 19

$$Y = -0.866041 + 2.50306 * X$$

Natural mortality (last estimation) 3 %

$$p(X^2 = 7.59649, df = 3) = 0.0552$$

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	30.0000	0.0	3.1167	67	2	2.95*
2	100.0000	15.0		3.9024	63	11
3	300.0000	70.3		5.5204	66	47
4	1000.0000	95.0		6.6411	83	79
5	3000.0000	98.5		7.1719	70	69

4.5011

LC	Level of conf.	Range
01 = 25.94202	0.95	13.12719 < LC < 40.88285
02 = 33.33576	0.95	17.98169 < LC < 50.47464
03 = 39.08640	0.95	21.94589 < LC < 57.72542
04 = 44.05568	0.95	25.48536 < LC < 63.87559
05 = 48.56351	0.95	28.77749 < LC < 69.37782
10 = 67.84724	0.95	43.58221 < LC < 92.30957
20 = 101.71773	0.95	71.59874 < LC < 131.26163
30 = 136.22011	0.95	101.68543 < LC < 170.43574
40 = 174.80285	0.95	136.11143 < LC < 214.71382
50 = 220.58943	0.95	176.94746 < LC < 268.91216
60 = 278.36902	0.95	227.29747 < LC < 340.84767
70 = 357.21376	0.95	292.98768 < LC < 445.90340
80 = 478.37971	0.95	387.75970 < LC < 621.30332
90 = 717.19499	0.95	559.95001 < LC < 1005.08847
95 = 1001.98056	0.95	750.27180 < LC < 1511.53183
96 = 1104.50441	0.95	816.09105 < LC < 1704.29661
97 = 1244.92665	0.95	904.42899 < LC < 1976.12667
98 = 1459.68475	0.95	1036.10329 < LC < 2407.70262
99 = 1875.70969	0.95	1281.81682 < LC < 3291.32507

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 5.25528 (SE : 0.10959) -Probit unit-

slope = 2.5031 (SE : 0.2719)

M = 2.4455 in log₁₀(dose) unit and 278.9539 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00203962 in log₁₀(dose) unit

Analyzed file : NEX_TU11.PLD

Date : 5/31/7

Insectide : pyridaben_tu11_23/05/07

% control mortality : 1.33333 (2 / 150)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	4	72	3	5.6	4.2
2	9	96	10	9.4	8.1
3	16	86	30	18.7	17.5
4	32	97	100	33	32.1
5	67	128	300	52.4	51.7
6	89	120	1000	74.2	73.8
7	72	80	3000	90	89.9

Iterations : 14

$$Y = 2.49352 + 1.04695 * X$$

Natural mortality (last estimation) 1.8 %

$p(X^2 = 1.81672, df = 5) = 0.8739$

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution		
1	3.0000	3.9	3.2698	72	4	2.82*	0.8866	
2	10.0000	7.8	3.5986	96	9	8.46	0.0454	
3	30.0000	17.2	4.0625	86	16	15.72	0.0065	
4	100.0000	31.8		4.5333	97	32	34.07	0.1975
5	300.0000	51.5		5.0414	128	67	69.46	0.1893
6	1000.0000	73.7		5.6367	120	89	88.99	0.0000
7	3000.0000	89.8		6.2736	80	72	69.90	0.4914

LC	Level of conf.	Range
01 = 1.48499	0.95	0.60691 < LC < 2.92253
02 = 2.70457	0.95	1.21843 < LC < 4.95720
03 = 3.95677	0.95	1.89478 < LC < 6.93741
04 = 5.26753	0.95	2.63969 < LC < 8.93673
05 = 6.64903	0.95	3.45617 < LC < 10.98672
10 = 14.78966	0.95	8.68539 < LC < 22.40164
20 = 38.94206	0.95	26.17404 < LC < 53.76911
30 = 78.28555	0.95	56.99854 < LC < 102.88364
40 = 142.11012	0.95	108.45190 < LC < 182.89408
50 = 247.84748	0.95	192.69260 < LC < 320.82598
60 = 432.25897	0.95	333.48072 < LC < 577.77878
70 = 784.67064	0.95	586.40269 < LC < 1111.38151
80 = 1577.43010	0.95	1113.50073 < LC < 2438.79337
90 = 4153.46690	0.95	2658.73560 < LC < 7387.96917
95 = 9238.69760	0.95	5409.59897 < LC < 18605.45358
96 = 11661.70372	0.95	6647.67944 < LC < 24370.67376
97 = 15524.87395	0.95	8559.73075 < LC < 33966.57117
98 = 22712.78802	0.95	11973.29462 < LC < 52846.88803
99 = 41366.28953	0.95	20297.63147 < LC < 106155.56133

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 4.93399 (SE : 0.05819) -Probit unit- slope = 1.0469 (SE : 0.0781)

M = 2.3310 in log₁₀(dose) unit and 214.3063 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00311085 in log₁₀(dose) unit

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\NEXTER\NEX_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\NEXTER\NEX_TU7.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	49.45677	39.08248 - 62.58489
10	38.54410	25.86333 - 57.44226
90	63.45906	46.17292 - 87.21675

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\NEXTER\NEX_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\NEXTER\NEX_TU11.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	55.56748	45.96777 - 67.17195
10	8.40189	6.11963 - 11.53529
90	367.50617	277.77100 - 486.23070

5.Probit ανάλυση για το fenbutatin oxide

Analyzed file : TNT_GS.PLD

Date : 2/10/7

Insectide : tnt 23/01/07 gss

% control mortality : 1.47059 (1 / 68)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	0	63	1	0	0
2	6	69	3	8.7	7.3
3	14	60	10	23.4	22.2
4	30	39	30	77	76.6
5	56	57	100	98.3	98.3

Iterations : 99

$Y = 1.59047 + 2.72072 * X$

Natural mortality (last estimation) 4.6 %

$p(X^2 = 3.36637, df = 2) = 0.1861$

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	1.0000	0.0	---	63	0	0.00*
2	3.0000	4.3	3.5416	69	6	4.29*
3	10.0000	19.7	4.2318	60	14	16.79
4	30.0000	75.8	5.7241	39	30	28.91
5	100.0000	98.2		7.1015	57	56
						55.85*

LC	Level of conf.	Range
01 = 2.50031	0.95	1.30882 < LC < 3.79449
02 = 3.14910	0.95	1.76083 < LC < 4.59825
03 = 3.64563	0.95	2.12409 < LC < 5.19823
04 = 4.06997	0.95	2.44473 < LC < 5.70307
05 = 4.45158	0.95	2.74020 < LC < 6.15210
10 = 6.05506	0.95	4.04132 < LC < 8.00470
20 = 8.78848	0.95	6.40511 < LC < 11.12068
30 = 11.49769	0.95	8.82540 < LC < 14.26152
40 = 14.46282	0.95	11.46592 < LC < 17.84846
50 = 17.91457	0.95	14.45238 < LC < 22.28472
60 = 22.19011	0.95	17.97987 < LC < 28.19011
70 = 27.91271	0.95	22.42952 < LC < 36.74286
80 = 36.51732	0.95	28.68739 < LC < 50.76259
90 = 53.00221	0.95	39.76768 < LC < 80.62964
95 = 72.09383	0.95	51.69094 < LC < 119.03464
96 = 78.85360	0.95	55.74906 < LC < 133.44924
97 = 88.03182	0.95	61.14959 < LC < 153.62816
98 = 101.91208	0.95	69.11124 < LC < 185.36739
99 = 128.35700	0.95	83.72546 < LC < 249.46067

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 4.96493 (SE : 0.12654) -Probit unit-

slope = 2.7207 (SE : 0.3280)

M = 1.2403 in log₁₀(dose) unit and 17.3892 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.00216544 in log₁₀(dose) unit

Analyzed file : TNT_TU7.PLD

Date : 5/11/7

Insectide : fenbutatin_tu7_02/05/07

% control mortality : 3.84615 (4 / 104)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	12	96	1000	12.5	9
2	13	94	3000	13.9	10.3
3	32	90	10000	35.6	33
4	46	92	30000	50	48
5	63	94	100000	67.1	65.7

Iterations : 7 $Y = 0.627997 + 0.960122 * X$

Natural mortality (last estimation) 4 %

$p(X^2 = 2.62184, df = 3) = 0.4538$

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution	
1	1000.0000	8.9		3.6533	96	10.08	0.6075
2	3000.0000	10.3		3.7347	94	17.34	1.5661
3	10000.0000	32.9		4.5581	90	29.29	0.3894
4	30000.0000	47.9		4.9487	92	45.25	0.0249
5	100000.0000	65.7		5.403	94	63.84	0.0340

LC Level

LC	Level	Range
01	= 134.97519	0.95 30.66772 < LC < 348.37038
02	= 259.52329	0.95 71.07199 < LC < 597.38692
03	= 392.97222	0.95 121.01128 < LC < 842.20590
04	= 536.86554	0.95 180.41714 < LC < 1091.32264
05	= 692.09236	0.95 249.56116 < LC < 1348.47899
10	= 1654.86262	0.95 754.89043 < LC < 2806.63413
20	= 4756.04058	0.95 2803.77365 < LC < 7014.19536
30	= 10184.33886	0.95 6891.02589 < LC < 14235.34215
40	= 19511.60149	0.95 13951.21895 < LC < 27731.52664
50	= 35784.67360	0.95 25332.96729 < LC < 54932.15411
60	= 65629.81854	0.95 44052.13622 < LC < 113624.62884
70	= 125736.47462	0.95 77617.57813 < LC < 254339.31952
80	= 269245.57146	0.95 148037.18343 < LC < 665171.69964
90	= 773806.14501	0.95 356950.04182 < LC < 2560638.22632
95	= 1850248.50905	0.95 733487.51645 < LC < 7845334.75581
96	= 2385220.83902	0.95 904120.39068 < LC < 10878478.32774
97	= 3258609.11882	0.95 1168643.98904 < LC < 16259194.38899
98	= 4934211.75512	0.95 1643227.28948 < LC < 27757066.63416
99	= 9487245.99893	0.95 2809146.62787 < LC < 64525035.39029

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 4.68640 (SE : 0.07065) -Probit unit-

slope = 0.9601 (SE : 0.1119)

M = 4.2270 in log₁₀(dose) unit and 16864.3808 in dose unit

Variance of the LC₅₀ : 0.00686457 in log₁₀(dose) unit

Analyzed file : TNT_TU11.PLD

Date : 7/20/7

Insectide : fenbutatin_tu11_15/05/07

% control mortality : 16.6667 (7 / 42)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	12	71	30	17	0.2
2	21	111	100	19	2.6
3	29	102	300	28.5	14.1
4	52	98	1000	53.1	43.7
5	45	86	3000	52.4	42.8
6	36	56	10000	64.3	57.1

Iterations : 33

Y = 2.17682 + 0.796305 * X

Natural mortality (last estimation) 13.5 %

p(X² = 8.19859, df = 4) = 0.0847

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution		
1	30.0000	4.0	2.0556	71	12	12.62	0.1149	
2	100.0000	6.3		3.0542	111	21	25.44	1.8272
3	300.0000	17.3		3.9204	102	29	31.17	0.2908
4	1000.0000	45.8		4.8395	98	52	41.36	5.2114
5	3000.0000	44.9		4.817	86	45	47.18	0.2213
6	10000.0000	58.7		5.1784	56	36	38.62	0.5329

LC Level Range
of conf.

01 = 4.20222	0.95	0.29530 < LC < 17.33509
02 = 9.24294	0.95	0.92223 < LC < 31.89522
03 = 15.24277	0.95	1.89662 < LC < 47.04441
04 = 22.20462	0.95	3.25802 < LC < 63.08867
05 = 30.16009	0.95	5.05594 < LC < 80.18764
10 = 86.28117	0.95	22.62010 < LC < 184.50675
20 = 308.11960	0.95	132.54693 < LC < 530.14704
30 = 771.67764	0.95	433.94613 < LC < 1241.03971
40 = 1689.98703	0.95	1048.27969 < LC < 2923.77503
50 = 3511.35925	0.95	2118.29340 < LC < 7327.15102
60 = 7295.70319	0.95	3992.48642 < LC < 19686.92747
70 = 15977.71297	0.95	7591.86826 < LC < 58921.30461
80 = 40015.77257	0.95	15757.56812 < LC < 217564.13763
90 = 142900.74476	0.95	42582.76442 < LC < 1355507.35587
95 = 408806.59789	0.95	96015.05862 < LC < 6188614.73359
96 = 555273.75468	0.95	121580.44326 < LC < 9639916.75405
97 = 808884.96679	0.95	162426.31996 < LC < 16622579.69508
98 = 1333952.03430	0.95	238615.81492 < LC < 34322536.90095
99 = 2934076.08676	0.95	437008.69256 < LC < 107687845.46015

Regression line : Y = A + slope * (X - M)

A = 4.63536 (SE : 0.08369) -Probit unit-
slope = 0.7963 (SE : 0.1272)

M = 3.0874 in log10(dose) unit and 1223.0154 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.0164017 in log10(dose) unit

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\TNT_GS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\TNT_TU7.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	1997.53011	1610.34211 - 2477.81296
10	273.30390	194.14838 - 384.73164
90	14599.59581	9693.04112 - 21989.81675

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\TNT\TNT_GS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\TNT\TNT_TU11.PA

LC	Res. Ratio	95% Range
50	196.00345	155.06820 - 247.74489
10	14.24922	9.81140 - 20.69434
90	2696.10149	1645.49165 - 4417.50238

6. Probit ανάλυση για το abamectin

Analyzed file : VER_GS.PLD

Date : 5/17/7

Insectide : vertimec 31/1/07 gss

% control mortality : 1.35135 (1 / 74)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	1	77	0.007	1.3	1.3
2	3	76	0.01	4	2.6
3	4	78	0.03	5.2	3.8
4	7	76	0.1	9.3	7.9
5	13	62	0.2	21	19.9
6	98	99	0.3	99	99

Iterations : 6001 Y = 7.70338 + 3.72865 * X Natural mortality (last estimation) 4 %

p(X² = 107.743, df = 4) = 0.0000

Point #	Observed dead	Expected dead	X ² Contribution
1 *	1	1.93	16.9217
2 *	3	2.02	5.8433
3 *	4	4.87	0.2584
4	7	22.94	16.4328
5	13	34.58	30.3186
6	98	69.86	37.9686

A star (*) after the point number indicates that an eventual high X² contribution of the point may be due to a low or high expected dead value. Heterogeneity = 26.9359 with 4 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution	
1	0.0070	0.0	2.7731	77	1	1.93*	16.9217
2	0.0100	0.0	3.0453	76	3	2.02*	5.8433
3	0.0300	1.2	3.2169	78	4	4.87*	0.2584
4	0.1000	5.5	3.5862	76	7	22.94	16.4328
5	0.2000	17.7	4.1516	62	13	34.58	30.3186
6	0.3000	98.9	7.3176	99	98	69.86	37.9686

LC	Level	Range
01 = 0.04477	0.95	0.01424 < LC < 0.14047
02 = 0.05298	0.95	0.01890 < LC < 0.14820
03 = 0.05895	0.95	0.02258 < LC < 0.15366
04 = 0.06388	0.95	0.02577 < LC < 0.15810
05 = 0.06820	0.95	0.02867 < LC < 0.16199
10 = 0.08536	0.95	0.04096 < LC < 0.17771
20 = 0.11202	0.95	0.06124 < LC < 0.20478
30 = 0.13629	0.95	0.07922 < LC < 0.23438
40 = 0.16113	0.95	0.09573 < LC < 0.27119
50 = 0.18836	0.95	0.11097 < LC < 0.31981
60 = 0.22020	0.95	0.12525 < LC < 0.38733
70 = 0.26033	0.95	0.13916 < LC < 0.48737
80 = 0.31673	0.95	0.15380 < LC < 0.65295
90 = 0.41566	0.95	0.17203 < LC < 1.00589
95 = 0.52027	0.95	0.18606 < LC < 1.45758
96 = 0.55543	0.95	0.19006 < LC < 1.62650
97 = 0.60190	0.95	0.19493 < LC < 1.86248
98 = 0.66976	0.95	0.20139 < LC < 2.23264
99 = 0.79256	0.95	0.21155 < LC < 2.97707

Regression line : Y = A + slope * (X - M) A = 4.79617 (SE : 0.08262) -Probit unit-

slope = 3.7287 (SE : 1.4759) M = -0.7797 in log₁₀(dose) unit and 0.1661 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.000508396 in log₁₀(dose) unit Heterogeneity = 26.9359 with 4 df

Analyzed file : ABAM_TU7.PLD

Date : 4/21/7

Insectide : abamectin_tu7_19/04/07

% control mortality : 7.69231 (5 / 65)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	10	92	10	10.9	3.4
2	42	76	100	55.3	51.5
3	67	76	300	88.2	87.2
4	84	85	1000	98.9	98.8

Iterations : 12

$Y = 0.6711 + 2.19059 * X$

Natural mortality (last estimation) 8.7 %

$p(X^2 = 0.392804, df = 2) = 0.8217$

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution		
1	10.0000	2.5	3.1663	92	10	9.29	0.3406	
2	100.0000	51.0		5.0372	76	42	42.72	0.0275
3	300.0000	87.0		6.134	76	67	66.54	0.0237
4	1000.0000	98.7		7.234	85	84	84.03*	0.0010

LC Level of conf. Range

01 = 8.203490.95	2.41895	< LC < 16.51100
02 = 10.92546	0.95	3.59170 < LC < 20.71533
03 = 13.10430	0.95	4.61426 < LC < 23.93105
04 = 15.02464	0.95	5.56968 < LC < 26.67985
05 = 16.79373	0.95	6.49065 < LC < 29.15342
10 = 24.60843	0.95	10.95989 < LC < 39.57850
20 = 39.08715	0.95	20.57951 < LC < 57.56260
30 = 54.57225	0.95	32.24919 < LC < 75.81424
40 = 72.56517	0.95	47.03159 < LC < 96.51264
50 = 94.66215	0.95	66.28929 < LC < 121.95386
60 = 123.48792	0.95	92.13888 < LC < 156.26477
70 = 164.20292	0.95	128.09462 < LC < 208.67831
80 = 229.25495	0.95	181.39943 < LC < 304.13508
90 = 364.14033	0.95	278.16084 < LC < 541.64697
95 = 533.58733	0.95	385.59990 < LC < 895.70105
96 = 596.41501	0.95	423.06278 < LC < 1039.58337
97 = 683.81535	0.95	473.62224 < LC < 1249.63258
98 = 820.18696	0.95	549.57763 < LC < 1598.29357
99 = 1092.33033	0.95	693.10796 < LC < 2360.88972

Regression line : $Y = A + \text{slope} * (X - M)$

A = 5.57212 (SE : 0.11326) -Probit unit-

slope = 2.1906 (SE : 0.3133)

M = 2.2373 in log₁₀(dose) unit and 172.7035 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.0040683 in log₁₀(dose) unit

Analyzed file : ABM_TU11.PLD

Date : 5/17/7

Insectide : abamectin_tu11_07/05/07

% control mortality : 3.44828 (3 / 87)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	3	97	0.03	3.1	3.1
2	9	92	0.1	9.8	6.5
3	72	92	0.3	78.3	77.5
4	90	91	0.7	99	98.9
5	98	99	1	99	99

Iterations : 14

Y = 7.86893 + 4.22339 * X

Natural mortality (last estimation) 3.1 %

p(X² = 3.97841, df = 3) = 0.2639

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution	
1	0.0300	0.0	3.1324	97	3	2.99*	0.0015
2	0.1000	6.9	3.4828	92	9	10.65	0.3710
3	0.3000	77.6	5.754	92	72	69.31	0.4144
4	0.7000	98.9	7.2775	91	90	89.82*	0.0273
5	1.0000	99.0	7.3095	99	98	98.80*	3.1643

LC Level of conf.

01 = 0.05886	0.95	0.04065 < LC < 0.07626
02 = 0.06829	0.95	0.04873 < LC < 0.08661
03 = 0.07504	0.95	0.05466 < LC < 0.09393
04 = 0.08056	0.95	0.05958 < LC < 0.09985
05 = 0.08535	0.95	0.06389 < LC < 0.10496
10 = 0.10405	0.95	0.08115 < LC < 0.12470
20 = 0.13228	0.95	0.10804 < LC < 0.15418
30 = 0.15727	0.95	0.13232 < LC < 0.18034
40 = 0.18233	0.95	0.15672 < LC < 0.20696
50 = 0.20928	0.95	0.18272 < LC < 0.23635
60 = 0.24022	0.95	0.21190 < LC < 0.27137
70 = 0.27848	0.95	0.24672 < LC < 0.31680
80 = 0.33111	0.95	0.29236 < LC < 0.38297
90 = 0.42093	0.95	0.36566 < LC < 0.50401
95 = 0.51318	0.95	0.43691 < LC < 0.63656
96 = 0.54369	0.95	0.45983 < LC < 0.68188
97 = 0.58365	0.95	0.48945 < LC < 0.74226
98 = 0.64138	0.95	0.53155 < LC < 0.83135
99 = 0.74415	0.95	0.60478 < LC < 0.99484

Regression line : Y = A + slope * (X - M)

A = 5.33715 (SE : 0.11310) -Probit unit-
slope = 4.2234 (SE : 0.4128)

M = -0.5995 in log10(dose) unit and 0.2515 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.000777999 in log10(dose) unit

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

Line of:	VER_GS.PA	VER_TU7.PA	Range
Confidence			
LC50	0.19429	49.00283	
Resistance ratio	252.21575	(75.19012 - 846.02578)	0.95
or (inverse)	0.00396	(0.00118 - 0.01330)	0.95

Line of:	VER_GS.PA	VER_TU11.PA	Range
Confidence			
LC50	0.19910	0.21049	
Resistance ratio	1.05721	(0.31759 - 3.51928)	0.95
or (inverse)	0.94589	(0.28415 - 3.14871)	0.95

7. Probit ανάλυση για το spirodiclofen

Analyzed file : SPIR_GSS.PLD

Date : 1/15/7

Insectide : Spirodiclofen 17/12/06

% control mortality : 1.82927 (3 / 164)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	5	167	0.07	3	1.1
2	217	236	0.3	92	91.8
3	282	284	1	99.3	99.3

Iterations : 32

Y = 8.64806 + 4.6614 * X

Natural mortality (last estimation) 1.4 %

p(X² = 107.401, df = 1) = 0.0000

Point #	Observed dead	Expected dead	X ² Contribution
1	5	9.03	2.4535
2	217	209.69	2.2617
3 *	282	283.96	102.6856

Heterogeneity = 107.401 with 1 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	0.0700	1.7	2.7043	167	5 9.03	2.4535
2	0.3000	91.8	6.3915	236	217 209.69	2.2617
3	1.0000	99.3	7.4486	284	282 283.96*	102.6856

LC Level of conf.

01 = 0.05227	0.95	0.00422 < LC < 0.64633
02 = 0.05980	0.95	0.00589 < LC < 0.60670
03 = 0.06514	0.95	0.00726 < LC < 0.58386
04 = 0.06946	0.95	0.00849 < LC < 0.56786
05 = 0.07319	0.95	0.00964 < LC < 0.55560
10 = 0.08759	0.95	0.01478 < LC < 0.51892
20 = 0.10886	0.95	0.02432 < LC < 0.48708
30 = 0.12735	0.95	0.03414 < LC < 0.47491
40 = 0.14560	0.95	0.04469 < LC < 0.47432
50 = 0.16497	0.95	0.05610 < LC < 0.48507
60 = 0.18692	0.95	0.06835 < LC < 0.51114
70 = 0.21371	0.95	0.08109 < LC < 0.56319
80 = 0.25000	0.95	0.09333 < LC < 0.66967
90 = 0.31072	0.95	0.10276 < LC < 0.93970
95 = 0.37184	0.95	0.10424 < LC < 1.32664
96 = 0.39181	0.95	0.10386 < LC < 1.47850
97 = 0.41781	0.95	0.10299 < LC < 1.69552
98 = 0.45509	0.95	0.10128 < LC < 2.04549
99 = 0.52068	0.95	0.09765 < LC < 2.77732

Regression line : Y = A + slope * (X - M)

A = 5.60293 (SE : 0.09620) -Probit unit-

slope = 4.6614 (SE : 3.8087)

M = -0.6533 in log₁₀(dose) unit and 0.2222 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.000529893 in log₁₀(dose) unit

Heterogeneity = 107.401 with 1 df

Analyzed file : SPIR_TU7.PLD

Date : 5/18/7

Insectide : spiroadiclofen_TU7_27/03/07

% control mortality : 0.793651 (1 / 126)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality (1st estimation)
1	19	152	1	12.5	11.8
2	20	140	3	14.3	13.6
3	23	188	10	12.3	11.5
4	121	190	30	63.7	63.4
5	134	135	100	99.3	99.3

Iterations : 10001 Y = 0.361021 + 3.23363 * X

Natural mortality (last estimation) 13 %

p(X² = 47.9845, df = 3) = 0.0000

Point #	Observed dead	Expected dead	X ² Contribution
1	19	18.05	8.8278
2	20	18.65	0.7746
3	23	51.67	29.9290
4	121	117.25	0.3017
5	134	124.66	8.1514

Heterogeneity = 15.9948 with 3 degree of freedom.

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution
1	1.0000	0.0	3.8104	152	19 18.05	8.8278
2	3.0000	1.5	3.8976	140	20 18.65	0.7746
3	10.0000	0.0	3.7967	188	23 51.67	29.9290
4	30.0000	58.3	5.341	190	121 117.25	0.3017
5	100.0000	99.1		7.4342	135 134 124.66	8.1514

LC	Level	Range
01 = 5.18886	0.95	2.60248 < LC < 10.32666
02 = 6.30047	0.95	3.37195 < LC < 11.75364
03 = 7.12645	0.95	3.96846 < LC < 12.77900
04 = 7.81820	0.95	4.48135 < LC < 13.62154
05 = 8.43056	0.95	4.94392 < LC < 14.35831
10 = 10.92115	0.95	6.88404 < LC < 17.30982
20 = 14.94171	0.95	10.09133 < LC < 22.11145
30 = 18.73212	0.95	13.05050 < LC < 26.88017
40 = 22.72085	0.95	15.99347 < LC < 32.27704
50 = 27.20406	0.95	19.05091 < LC < 38.85390
60 = 32.57190	0.95	22.38468 < LC < 47.41473
70 = 39.50760	0.95	26.26519 < LC < 59.46498
80 = 49.52990	0.95	31.25825 < LC < 78.55439
90 = 67.76402	0.95	39.15390 < LC < 117.43288
95 = 87.78320	0.95	46.73171 < LC < 165.16374
96 = 94.65879	0.95	49.15101 < LC < 182.61356
97 = 103.84709	0.95	52.26776 < LC < 206.70329
98 = 117.46123	0.95	56.67643 < LC < 243.91836
99 = 142.62511	0.95	64.29465 < LC < 317.08666

Regression line : Y = A + slope * (X - M) A = 4.78077 (SE : 0.06275) -Probit unit-slope = 3.2336 (SE : 0.6505) M = 1.3668 in log10(dose) unit and 23.2705 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.000388241 in log10(dose) unit Heterogeneity = 15.9948 with 3 df

Analyzed file : SPR_TU11.PLD

Date : 5/11/7

Insectide : spiroticlofen_tu11_30/04/07

% control mortality : 0.350877 (1 / 285)

N	Killed	Total	Dose	Observed mortality	Corrected mortality
					(1st estimation)
1	2	272	0.3	0.8	0.3
2	5	260	1	2	1.5
3	47	283	3	16.7	16.3
4	112	211	10	53.1	52.9
5	252	253	100	99.7	99.7

Iterations : 10

Y = 2.86723 + 2.27142 * X

Natural mortality (last estimation) 0.6 %

p(X² = 3.23905, df = 3) = 0.3563

The data are well represented by a line

n	Dose	Mortality probit corr (%)	Total treated	Killed	Killed expected	X ² contribution		
1	0.3000	0.2	2.236	272	2	1.56*	1.5545	
2	1.0000	1.4	2.824	260	5	5.64	0.0969	
3	3.0000	16.2	4.0151	283	47	42.90	0.4725	
4	10.0000	52.8	5.0719	211	112	117.63	0.6086	
5	100.0000	99.6		7.6551	253	252	250.99*	0.5066

LC Level of conf. Range

01 = 0.82153	0.95	0.61498 < LC < 1.03849
02 = 1.08302	0.95	0.83790 < LC < 1.33505
03 = 1.29062	0.95	1.01900 < LC < 1.56673
04 = 1.47257	0.95	1.18008 < LC < 1.76780
05 = 1.63945	0.95	1.32941 < LC < 1.95098
10 = 2.36991	0.95	1.99538 < LC < 2.74460
20 = 3.70281	0.95	3.23166 < LC < 4.18952
30 = 5.10872	0.95	4.52652 < LC < 5.74570
40 = 6.72457	0.95	5.97867 < LC < 7.59603
50 = 8.68970	0.95	7.68976 < LC < 9.93369
60 = 11.22910	0.95	9.82875 < LC < 13.07245
70 = 14.78080	0.95	12.72217 < LC < 17.63510
80 = 20.39288	0.95	17.13536 < LC < 25.15148
90 = 31.86239	0.95	25.77237 < LC < 41.34161
95 = 46.05858	0.95	36.01393 < LC < 62.46913
96 = 51.27828	0.95	39.69049 < LC < 70.47172
97 = 58.50736	0.95	44.71897 < LC < 81.73064
98 = 69.72273	0.95	52.39562 < LC < 99.55552
99 = 91.91526	0.95	67.22792 < LC < 135.90455

Regression line : Y = A + slope * (X - M)

A = 4.59779 (SE : 0.05904) -Probit unit-
slope = 2.2714 (SE : 0.1367)

M = 0.7619 in log₁₀(dose) unit and 5.7794 in dose unit

Variance of the LC50 : 0.000789193 in log₁₀(dose) unit

RESISTANCE RATIO FOR NON PARALLEL LINES

File 1 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\SPIROD~1\SPIR_GSS.PA

File 2 : C:\PROBIT\TU\TU_VER~1\SPIROD~1\SPIR_TU7.PA

LC	Res. Ratio	95% Range		
50	164.90147	21.66948 - 1254.87498		
10	124.68662	4.52848 - 3433.10853		
90	218.08671	25.49593 - 1865.46668		
Line of:	SPIR_GSS.PA	SPR_TU11.PA		Range
Confidence				
LC50	0.15943	9.47706		
Resistance ratio	59.44346	(7.53039 - 469.23504)		0.95
or (inverse)	0.01682	(0.00213 - 0.13280)		0.95