

HENRYK MALINOWSKI

## Badania nad odpornością owadów na insektycydy z grupy pyretroidów stosowane w ochronie lasu

Studies on Insect Resistance to Pyrethroid Insecticides Used  
in Forest Protection

### Wstęp

**Z**jawisko odporności szkodliwych owadów na insektycydy jest jednym z najważniejszych problemów ochrony roślin. Pierwszy przypadek odporności na insektycydy został opisany w 1914 r. (18). W 1980 r. liczba gatunków owadów i roztoczy, u których stwierdzono szczepy odporne niemal na wszystkie znane grupy insektycydów wynosiła 428 (8). Obecnie wiadomo, że insektycydy stanowiąc czynnik selekcji koncentrują w zwalczanej populacji owadów geny warunkujące odporność. Insektycydy mogą być rozpatrywane jako dodatkowy czynnik selekcji naturalnej, która ma miejsce od początku istnienia życia (24). Stosowanie tych samych insektycydów przez wiele lat powoduje wykształcenie się odporności u zwalczanych owadów, które nie mogą być dostatecznie zredukowane za ich pomocą.

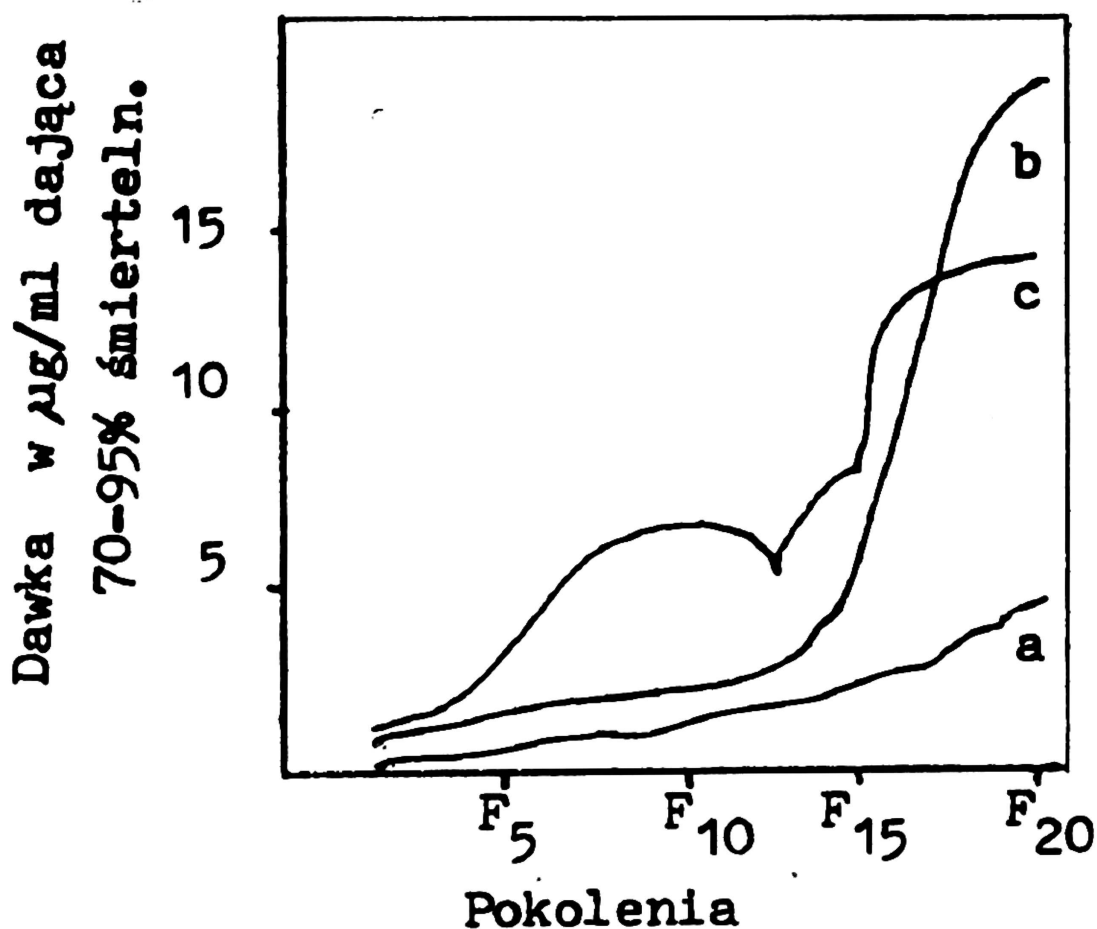
Insektycydy z grupy pyretroidów (zawierające jako substancje aktywne: deltametrynę, cypermetrynę, fenwalerat, alfametrynę i inne), wprowadzone w Polsce do ochrony lasu we wczesnych latach osiemdziesiątych, są obecnie stosowane na znaczną skalę każdego roku. Na przykład w 1983 r. podczas zwalczania gradacji brudnicy mniszki (*Lymantria monacha* L.) stosowano 78,2 ton Decisu 2,5 EC (substancja aktywna-deltametryna), a w okresie 1984–1987 odpowiednio 18,7; 27,7; 9,3; 13,1 ton tego produktu. W następnych latach insektycydy pyretroidowe były stosowane do zwalczania strzygoni choinówki (*Panolis flammea* Schif.), barczatki sosnówki (*Dendrolimus pini* L.) oraz boreczników (*Diprionidae*) w wielu nadleśnictwach. Badania (9) wykazały, że wrażliwość larw strzygoni choinówki pochodzących z różnych miejscowości na deltametrynę była różna. Ta zróżnicowana wrażliwość strzygoni choinówki na deltametrynę może być pierwszym sygnałem rozwoju odpornych populacji szkodliwych owadów leśnych w związku z wieloletnim stosowaniem

pyretroidów. Drugim szkodnikiem u którego stwierdzono mniejszą wrażliwość na deltametrynę był szeliniak sosnowiec (*Hylobius abietis* L.) (17).

Biorąc to pod uwagę, wydaje się celowe przedstawienie podsumowania wyników badań nad odpornością owadów na insektycydy pyretroidowe, wykonanych na modelowym bioindykatorze — musze domowej (*Musca domestica* L.), zaakceptowanym przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) do badania odporności na insektycydy stosowane w ochronie roślin (23). Badania na owadach modelowych dają podstawowe informacje na temat szybkości rozwoju odporności, spektrum odporności krzyżowej (odporności na inne insektycydy) oraz mechanizmów odporności. Poznanie tych zagadnień może być pomocne przy zapobieganiu lub opóźnieniu wystąpienia tego zjawiska w praktycznym stosowaniu insektycydów.

## Rozwój odporności

Rozwój odporności na insektycydy u owadów zależy od współdziałania kompleksu czynników genetycznych, biologicznych i operacyjnych (6, 7), które wyznaczają stopień nacisku selekcyjnego w konkretnej sytuacji i jest trudny do przewidzenia w praktycznym zwalczaniu szkodników. W celu prześledzenia szybkości rozwoju odporności na deltametrynę, cypermetrynę i fenwalerat, populację muchy domowej (szczep IPO) hodowaną w laboratorium podzielono na 4 grupy:



RYC. Przebieg selekcji owadów insektycydami z grupy pyretroidów: a) deltametryną, b) cypermetryną, c) fenwaleratem

- a) nie selekcyonowana (wyjściowa, IPO),
- b) selekcyonowana deltametryną (IPO/DE)
- c) selekcyonowana cypermetryną (IPO/CY)
- d) selekcyonowana fenwaleratem (IPO/FE)

1–2 dniowe imagines (mieszanej płci) poddawano selekcji odpowiednimi pyretroidami przez 20 kolejnych pokoleń. Stosowano dawkę selekcyjną dającą śmiertelność na poziomie 70–95%. 1000–2000 owadów z każdej kolejnej generacji selekcyonowano metodą zanurzania (13). Przebieg selekcji (ryc.) wskazuje, że rozwój odporności szczególnie na deltametrynę i cypermetrynę był powolny w ciągu 10–12 selekcyonowanych pokoleń. Dalsza selekcja prowadziła do szybkiego wzrostu odporności.

TABELA 1

Poziom odporności na insektycydy u szczepów owadów selekcyonowanych deltametryną (IPO/DE), cypermetryną (IPO/CY) i fenwaleratem (IPO/FE) przez 20 pokoleń wyrażony wartościami LD<sub>50</sub> (dawka dająca 50% śmiertelności populacji) oraz współczynnikiem odporności (LD<sub>50</sub> szczepu selekcyonowanego/LD<sub>50</sub> szczepu wyjściowego)

Szczep	LD <sub>50</sub> (Przedz. ufności, P=0,95) µg samicę	Współczynnik odporności
DELTAMETRYNA		
Wyjściowy (IPO)	0,00055(0,00049–0,00061)	1,0
IPO/DE	0,023(0,019–0,027)	41,8
CYPERMETRYNA		
Wyjściowy (IPO)	0,0031(0,0027–0,0036)	1,0
IPO/CY	0,11(0,091–0,13)	35,5
FENWALERAT		
Wyjściowy (IPO)	0,012(0,011–0,014)	1,0
IPO/FE	0,28(0,24–0,33)	23,3

Po 20 pokoleniach selekcji określano poziom odporności owadów dorosłych stosując technikę indywidualnego dawkowania insektycydów na owady. Dla badanych insektycydów określono na szczepach selekcyonowanych i wyjściowym, tzw. LD<sub>50</sub> (dawkę powodującą 50% śmiertelności) metodą logarytmiczno-probitową (13). Poziom odporności szczepów selekcyonowanych (w porównaniu do odporności szczepu wyjściowego) (tab. 1) wynosił: na deltametrynę około 42-krotny, na cypermetrynę około 36-krotny, na fenwalerat około 23-krotny. Larwy szczepów selekcyonowanych były również bardziej odporne na insektycydy selekcyonujące niż larwy szczepu wyjściowego (13). Uzyskany poziom odporności (ponad 20-krotny) na badane pyretroidy spowodowałby w praktyce nieskuteczność zabiegów wykonanych tymi insektycydami (22).

## Spektrum krzyżowej odporności

Odporność na dany insektycyd, wywołana długotrwałym jego stosowaniem, jest zazwyczaj związana z krzyżową odpornością na inne środki z tej samej grupy chemicznej, a nawet na preparaty z innych grup (25). Wynika to z faktu, że wyselekcjonowane mechanizmy obronne owada na insektycyd selekcjonujący są również efektywne w odniesieniu do innych związków. Praktycznym celem badań krzyżowej odporności jest rozpoznanie, jakie środki mogą być użyte w przypadku wykształcenia się odporności na insektycyd obecnie stosowany. Szczepy muchy domowej selekcjonowane deltametryną, cypermetryną lub fenwaleratem były więc badane pod kątem odporności krzyżowej na insektycydy z grupy pyretroidów (inne niż insektycyd użyty do selekcji), naturalne pyretryny, chlorowane węglowodory (DDT, metoksychlor, lindan), karbaminiany (propoksury) oraz insektycydy fosforoorganiczne (malation, trichlorfon, fenitrothion, chlorfenwinfos, bromfenwinfos). Dla porównania włączono również badania spektrum odporności krzyżowej szczepu owadów selekcjonowanych za pomocą DDT.

Wyniki tych badań (12, 14) uogólnione w tabeli 2 wykazały, że selekcja jakimkolwiek z badanych pyretroidów wywołała krzyżową odporność na wszystkie testowane pyretroidy, naturalne pyretryny, DDT i metoksychlor. Krzyżowa odporność nie obejmowała lindanu, propoksury i badanych insektycydów fosforoorganicznych. Insektycydy z tych grup mogłyby więc być stosowane w przypadku wystąpienia odporności na pyretroidy.

TABELA 2

Spektrum odporności krzyżowej szczepów owadów selekcjonowanych deltametryną (IPO/DE), cypermetryną (IPO/CY), fenwaleratem (IPO/FE) oraz DDT (DDT): "+" odporność występuje, "-" odporność nie występuje

Szczep	Pyretroidy	Naturalne pyretryny	DDT	Metoksychlor	Lindan	Propoksury	Związki fosforoorganiczne
IPO/DE	+	+	+	+	-	-	-
IPO/CY	+	+	+	+	-	-	-
IPO/FE	+	+	+	+	-	-	-
DDT	+	+	+	+	-	-	-

Schemat krzyżowej odporności u owadów selekcjonowanych pyretroidami jest identyczny jak u owadów selekcjonowanych za pomocą DDT. Sugeruje to, że ten sam mechanizm (lub mechanizmy) jest odpowiedzialny za odporność zarówno na pyretroidy jak i DDT w badanych szczepach owadów.

### Mechanizmy odporności

Z literatury (20, 21, 2, 3) wiadomo, że mechanizmy warunkujące odporność zarówno na DDT jak pyretroidy mogą być związane:

- z wolniejszym przenikaniem insektycydów przez kutikulę owadów (mechanizm "pen"),



TABELA 3

Mechanizmy odporności na DDT u szczepów owadów selekcionowanych deltametryną (IPO/DE), cypermetryną (IPO/CY), fenwaleratem (IPO/FE) oraz DDT(DDT): "+" mechanizm występuje, "-" mechanizm nie występuje

Szczep	Zwolnione przenikanie przez kutikulę	Metabolizm oksydacyjny	DDT-dehydrochlorynaza	Odporność na porażenie (kdr)
IPO/DE	-	-	-	+
IPO/CY	-	-	-	+
IPO/FE	-	-	-	+
DDT	-	-	-	+

- ze zwiększonym metabolizmem oksydacyjnym z udziałem systemu oksydaz o funkcjach mieszanych oraz
- ze zmniejszeniem wrażliwości tkanki docelowej (mechanizm kdr).

Oprócz tego znany jest mechanizm odpowiedzialny za odporność na DDT, polegający na rozkładzie tego związku w owadach odpornych przez DDT-dehydrochlorynazę (DDT-azę). Mechanizm odpowiedzialny za odporność na pyretroidy może być również związany z degradacją tych związków przez hydrolityczne esterazy (10, 1). Wykonano więc badania rozeznaniowe mające na celu stwierdzenie, czy wyżej wymienione mechanizmy odporności występują u analizowanych szczepów muchy domowej, selekcionowanych pyretroidami lub DDT. Rezultaty tych badań, dotyczące mechanizmów odporności na DDT ilustruje tab. 3, natomiast mechanizmów odporności na pyretroidy — tabela 4.

TABELA 4

Mechanizmy odporności na pyretroidy u szczepów owadów selekcionowanych deltametryną (IPO/DE), cypermetryną (IPO/CY), fenwaleratem (IPO/FE) oraz DDT(DDT): "+" mechanizm występuje, "-" mechanizm nie występuje

Szczep	Zwolnione przenikanie przez kutikulę	Metabolizm oksydacyjny	Metabolizm hydrolityczny	Odporność na porażenie (kdr)
IPO/DE	-	-	-	+
IPO/CY	-	-	-	+
IPO/FE	-	-	-	+
DDT	-	-	-	+

### Zwolnione przenikanie (pen)

Diagnozę występowania tego mechanizmu oparto na określeniu odporności selekcionowanych szczepów owadów na octan tributyllocynowy (TBTA). W przypadku stwierdzenia odporności na TBTA można wnioskować, że badane szczepy owadów mają mechanizm "pen" (2, 19). Przeprowadzone badania (15) wykazały, że szczepy selekcionowane delta-

metryną, cypermetryną, fenwaleratem lub DDT nie mają mechanizmu zwolnionego przenikania.

### **Metabolizm oksydacyjny**

Zwiększony metabolizm oksydacyjny z udziałem systemu oksydaz o funkcjach mieszanych może być przyczyną odporności na wiele insektycydów włączając metoksychlor, DDT i pyretroidy (20, 24). Metabolizm ten może być zablokowany związkami metylenodiosyfenylowymi, jak np. butoksylan piperonylu. Zastosowanie w naszych badaniach butoksylanu piperonylu 1-2 godziny przed traktowaniem owadów insektycydami, nie spowodowało obniżenia odporności selekcjonowanych szczepów owadów na metoksychlor, DDT i pyretroidy (15). Wskazuje to na brak omawianego mechanizmu w analizowanych szczepach owadów.

### **DDT - dehydrochlorynaza (DDT-aza)**

Aktywność DDT-azy rozkładającej DDT w owadach odpornych może być zablokowana za pomocą 1,1-bis (4-chlorofenylo) -2,2,2-trifluoroetanolu (FDMC) i związek ten został zastosowany w naszych badaniach do diagnozy tego mechanizmu odporności. Potraktowanie owadów tym związkiem, a następnie insektycydem DDT nie obniżyło istotnie odporności selekcjonowanych szczepów na DDT (15). Może to świadczyć o tym, że DDT-aza nie jest odpowiedzialna za odporność badanych szczepów na DDT.

### **Metabolizm hydrolityczny**

Hydrolityczny metabolizm z udziałem estraz, odpowiedzialny w niektórych przypadkach za odporność na związki fosforoorganiczne i pyretroidy może być zablokowany za pomocą S,S,S-tributylofosforanu (DEF). Zastosowanie tego związku 1-2 godziny przed traktowaniem owadów pyretroidami nie obniżyło odporności szczepów selekcjonowanych pyretroidami lub DDT na pyretroidy (15). Można wnioskować że badane szczepy nie mają tego mechanizmu.

Wyniki omówionych tutaj badań nad mechanizmami odporności na metoksychlor, DDT i pyretroidy wykazały, że ani przenikanie, ani metabolizm nie odgrywają istotnej roli w odporności selekcjonowanych szczepów owadów na wymienione insektycydy. Sugeruje to występowanie u badanych szczepów owadów niemetabolicznego mechanizmu polegającego na zmniejszonej wrażliwości układu nerwowego tzw. mechanizmu kdr.

### **Odporność na porażenie (mechanizm kdr)**

Prawdopodobnie jedyny mechanizm odpowiedzialny za odporność krzyżową na DDT i pyretroidy (21) jest określany symbolem kdr. Obniża on wrażliwość systemu nerwowego owadów na DDT i pyretroidy. Ściślej mówiąc mechanizm ten opóźnia występowanie u owadów objawów porażenia (reakcji knock-down) i zmniejsza śmiertelność przy kontakcie z DDT i pyretroidami. W celu potwierdzenia tego mechanizmu w szczepach owadów selekcjonowanych deltametryną, cypermetryną, fenwaleratem lub DDT zbadano dynamikę porażenia i efekt letalny u samic wymienionych tutaj szczepów eksponowanych w ciągu 30 minut i 24 godzin na 3 różne koncentracje pyretroidów i DDT w porównaniu do szczepu wrażliwego (wyjściowego). Przeprowadzone badania (16) wykazały, że selekcjonowane szczepy ulegały porażeniu przez DDT i pyretroidy znacznie wolniej niż szczep wyjściowy

(nie selekcjonowany). Zbliżoną do szczepu wyjściowego dynamikę porażenia pyretroidami wykazały szczepy selekcjonowane przy ekspozycji na 10–1000-krotnie wyższe koncentracje tych insektycydów. Największe opóźnienie porażenia wystąpiło w przypadku ekspozycji selekcjonowanych szczepów na DDT. Koreluje to z wyższą odpornością badanych szczepów na DDT niż na pyretroidy.

Trzydziestominutowa ekspozycja na pyretroidy wywołała mniejszą śmiertelność szczepów selekcjonowanych niż szczepu wyjściowego, niezależnie od użytego stężenia. Natomiast dwudziestoczerogodzinna ekspozycja na pyretroidy wywołała mniejszą śmiertelność szczepów selekcjonowanych tylko w najniższym stężeniu.

Trzydziestominutowa ekspozycja na DDT prowadziła do bardzo niskiej śmiertelności (5–9%) szczepów selekcjonowanych tylko przy najwyższym stężeniu (10%) DDT. Dwudziestoczerogodzinna ekspozycja na DDT dała 34 do 89% śmiertelności szczepów selekcjonowanych przy dwóch wyższych stężeniach (1 i 10%), ale przy najniższym stężeniu (0,1%) nie obserwowano śmiertelności. Wyniki opisanych badań potwierdzają uprzednio wysuniętą hipotezę o występowaniu u selekcjonowanych pyretroidami i DDT szczepów owadów obniżonej wrażliwości układu nerwowego na DDT i pyretroidy.

## Dyskusja i wnioski

Najważniejszym z praktycznego punktu widzenia stwierdzeniem tej pracy jest to, że stosowanie przez dłuższy czas jakiegokolwiek insektycydu z grupy pyretroidów może wykształcić u zwalczanych gatunków odporność na wszystkie insektycydy z tej grupy. Obecnie do ochrony lasu przed szkodliwymi owadami jest zarejestrowanych 16 preparatów handlowych opartych na 9 substancjach aktywnych z grupy pyretroidów. Wszystkie te preparaty mogą selekcjonować w zwalczanych populacjach owadów ten sam mechanizm odporności (kdr). Biorąc to pod uwagę można oczekiwać w najbliższej przyszłości wyselekcjonowania populacji szkodliwych owadów leśnych odpornych na tę grupę insektycydów.

Mechanizm odporności zwany kdr był selekcjonowany w przeszłości w populacjach owadów stosowaniem DDT. Może on przetrwać w naturalnych populacjach owadów przez długi okres. W Danii, 17 lat po zaprzestaniu stosowania DDT wykryto ten mechanizm odporności w naturalnych populacjach much (11). Może on występować w owadzich populacjach w małej częstotliwości i może być bardzo łatwo selekcjonowany jakimkolwiek insektycydem z grupy pyretroidów. Z tego względu intensywne stosowanie tych insektycydów w ochronie roślin nie jest wskazane. W celu opóźnienia wyselekcjonowania populacji owadów odpornych na pyretroidy należy stosować rotację z insektycydami z innych grup chemicznych. Z badań wynika, że insektycydy fosforoorganiczne i karbaminiany mogą być odpowiednie do przemiennego stosowania z pyretroidami. Insektycydy z wymienionych grup mogą być użyte w przypadku wystąpienia odporności na pyretroidy. Jednakże charakteryzują się one małą selektywnością działania. Lepszym rozwiązaniem wydaje się użycie do przemiennego stosowania selektywnie działających insektycydów z grupy inhibitorów biosyntezy chityny (Dimilin, Nomolt) lub biopreparatów *Bacillus thuringiensis* (np. Foray), mimo że koszt zabiegu tymi preparatami jest większy.

## Literatura

1. **Casida J.E., Ruzo L.O.** 1980. Metabolic chemistry of pyrethroid insecticides. *Pestic. Sci.* 11: 257–269.
2. **Farnham A.W.**, 1973. Genetics of resistance of housefly (*Musca domestica* L.) to pyrethroids. I. Knock down resistance. *Pestic. Sci.* 7: 278–282.
3. **Farnham A.W.** 1977. Genetic of resistance of pyrethroid-selected houseflies, *Musca domestica* L. *Pestic. Sci.* 4: 513–520.
4. **Finney D.J.** 1952. Probit analysis. Cambridge Univ. Press.
5. **Georghiou G.P.** 1983. Management of resistance in Arthropods. W: Pest resistance to pesticides (G.P. Georghiou, T. Saito eds), Plenum press, New York, 769–792.
6. **Georghiou G.P., Taylor C.E.** 1977 a. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 319–323.
7. **Georghiou G.P., Taylor C.E.** 1977 b. Operational influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.* 70: 653–658.
8. **Georghiou G.P., Mellon R.B.** 1983. Pest resistance in time and space. W: Pest resistance to pesticides (G.P. Georghiou, T. Saito eds), Plenum press. New York, 1–46.
9. **Głowacka B., Malinowski H.** 1991. The toxicity of deltamethrin to pine beauty moth, *Panolis flammea* Schiff., and its parasitoids, *Barichneumon bilunulatus* Grav., and *Rictichneumon pachymerus* Katz. *Pestic. Sci.*, 32: 413–417.
10. **Jao L.T., Casida J.E.** 1974. Insect pyrethroid-hydrolysing esterases. *Pestic. Biochem. Physiol.* 4: 465–472.
11. **Keiding J.**, 1976. Development of resistance to pyrethroids in field populations of Danish houseflies. *Pestic. Sci.* 7: 283–291.
12. **Malinowski H.**, 1980. Spektrum odporności muchy domowej — *Musca domestica* L. (*Diptera, Muscidae*) selekcyjonowanej DDT. *Pol. Pismo Entomol.* 50: 559–567.
13. **Malinowski H.** 1984. Rozwój odporności owadów na fotostabilne pyretroidy. *Roczn. Nauk Roln. Seria E.* 14 (1–2): 19–30.
14. **Malinowski H.** 1987 a. Spektrum odporności krzyżowej owadów selekcyjonowanych fotostabilnymi pyretroidami na przykładzie muchy domowej (*Musca domestica* L.). *Roczn. Nauk Roln. Seria E.* 17(1): 119–132.
15. **Malinowski H.**, 1987 b. Mechanizmy oporności owadów selekcyjonowanych fotostabilnymi pyretroidami lub DDT na przykładzie muchy domowej (*Musca domestica* L.) I. Zwolnione przenikanie i metabolizm detoksykacyjny. *Roczn. Nauk Roln. Seria E.* 17(2): 255–278.
16. **Malinowski H.**, 1988. Mechanizmy oporności owadów selekcyjonowanych fotostabilnymi pyretroidami lub DDT na przykładzie muchy domowej (*Musca domestica* L.). II. Odporność na porażenie. *Roczn. Nauk Roln. Seria E.* 18(2): 277–286.

17. **Malinowski H., Głowacka B., Sysiak J., Woreta D.** 1992. Działanie niektórych insektycydów z grupy pyretroidów na szeliniaka sosnowca (*Hylobius abietis* L.). Prace IBL, Seria B, 14, 84–92.
18. **Melander A.L.** 1914. Can insects become resistant to spray. *J. Econ. Entomol.* 7: 167.
19. **Nicholson R.A., Sawicki R.M.** 1982. Genetic and biochemical studies on resistance to permethrin in a pyrethroid -resistant strain of the housefly (*Musca domestica* L.). *Pestic. Sci.* 13: 357–366.
20. **Sawicki R.M.** 1973. Recent advances in the study of the genetic of resistance in the housefly. *Musca domestica* L. *Pestic. Sci.* 4: 501–512.
21. **Sawicki R.M.**, 1985. Resistance to pyrethroid insecticides in arthropods. W: *Insecticides* (D.H. Hutson, T.R. Roberts eds), John Wiley and Sons, Chichester, 143–192.
22. **Taylor R.N.** 1982. Insecticide resistance in houseflies from the Middle East and North Africa with notes of the use of various bioassay techniques. *Pest. Sci.* 13: 415–425.
23. WHO. 1976. Resistance of vectors and reservoirs to pesticides. 22-nd Report of the WHO Expert Committee on Insecticides. WHO Techn. Rep. Ser. 585.
24. **Wilkinson C.F.** 1983. Role of mixed-function oxidases in insecticide resistance. W: *Pest resistance to pesticides* (G.P. Georghiou, T. Saito eds), Plenum press. New York, 175—205.
25. **Winteringham F.W.P., Hewlett P.S.** 1964. Insect cross resistance phenomena, their practical and fundamental implications. *Chem. Ind.* 1512–1518.

### Summary

The aim of this paper was the summing up of results of studies on insects resistance to pyrethroid insecticides used widely in Polish forestry to control many harmful insect species. The speed of development of resistance, cross-resistance spectrum and mechanisms of resistance were determined using the model bioindicator, *Musca domestica* L. Three resistant strains were obtained by selection with deltamethrin, cypermethrin or fenvalerate for twenty generations. The level of resistance was: about 42-fold for deltamethrin-selected strain, about 35-fold for cypermethrin-selected strain and about 23-fold for fenvalerate-selected strain. Studies on cross-resistance spectrum showed that the selection with anyone pyrethroid or DDT gave the cross-resistance to all pyrethroids tested, natural pyrethrins, DDT and metoxychlor. Cross-resistance are not involved lindane, propoxur and organic phosphate insecticides tested. Diagnostic studies on the penetration delaying mechanism (pen), and on the detoxifying metabolism as possible mechanisms of resistance in strains selected with deltamethrin, cypermethrin, fenvalerate and DDT were conducted. The use of tributyltin acetate (TBTA) has shown that delaying penetration mechanism was absent in the strain examined. The use of mixed function oxidase inhibitor, piperonyl butoxide (PB), or the esterase inhibitor, S,S,S-tributylphosphorotritioate (DEF), have indicated that oxidative or hydrolytic metabolism may play only a minor role in the resistance to pyretroids, DDT and metoxychlor in the strains studies. DDT-dehydrochloro-



rinase (DDT-ase) inhibitor, 1,1-bis (4-chlorophenyl) -2,2,2-trifluoroethanol (FDMC), has given no effect, and it suggests that DDT-ase is not responsible for the high resistance to DDT.

These studies suggest that the insensitivity of the target site is the main mechanism of resistance to pyrethroids, DDT and metoxychlor in the strains examined, connected with *kdr* gene. Knock-down dynamics and the lethal effect of strains selected with deltamethrin, cypermethrin, fenvalerate or DDT and have been exposed to different concentrations of these compounds in comparison with the reference strain was evaluated. Selected strains were knocked-down much more slowly than the reference strain. They also showed lower percent of mortality after 24 hours. Results of these studies strongly support the hypothesis on the occurrence of *kdr* mechanism in the examined strains selected with pyrethroids and DDT. From the practical point of view the more important matter is that the application of anyone pyrethroid has induced resistance to all pyrethroids. The intensive use of pyrethroid insecticides is not recommended. In order to delay the resistance to pyrethroids, the use of the rotation of pyrethroids with insecticides of other chemical group (e.g. acylureas) is needed.