

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Monika HRIBAR

**UČINKI IZBRANEGA FITOFARMACEVTSKEGA  
SREDSTVA NA OSNOVI PIRETRINOV NA RAKE  
ENAKONOŽCE VRSTE *Porcellio scaber* (Crustacea:  
Isopoda)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2010

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA BIOLOGIJO

Monika HRIBAR

**UČINKI IZBRANEGA FITOFARMACEVTSKEGA SREDSTVA NA  
OSNOVI PIRETRINOV NA RAKE ENAKONOŽCE VRSTE *Porcellio  
scaber* (Crustacea: Isopoda)**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

**EFFECTS OF A SELECTED PHYTOFARMACEUTICAL PRODUCT  
WITH PYRETHRINS ON ISOPOD *Porcellio scaber* (Crustacea:  
Isopoda)**

GRADUATION THESIS

University studies

Ljubljana, 2010

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija biologije. Opravljeno je bilo na Katedri za zoologijo Oddelka za biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Študijska komisija Oddelka za biologijo je za mentorja diplomskega dela imenovala doc. dr. Primoža Zidarja.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Jasna ŠTRUS

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Recenzent: doc. dr. Janko BOŽIČ

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Mentor: doc. dr. Primož ZIDAR

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo

Datum zagovora:

Podpisana se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddala v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Monika Hribar

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 591.5:595.3(043.2)=163.6
- KG kopenski enakonožci/insekticid/piretrin/strupenost/sposobnost izbire/regeneracija
- AV HRIBAR, Monika
- SA ZIDAR, Primož (mentor)
- KZ SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo
- LI 2010
- IN UČINKI IZBRANEGA FITOFARMACEVTSKEGA SREDSTVA NA OSNOVI PIRETRINOV NA RAKE ENAKONOŽCE VRSTE *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda)
- TD Diplomsko delo (univerzitetni študij)
- OP XIII, 49 str., 12 pregl., 19 sl., 14 pril., 22 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI V diplomskem delu smo ugotavljali prizadetost rakov enakonožcev vrste *Porcellio scaber* po kratkotrajni neposredni izpostavitvi fitofarmaceutskemu pripravku s piretrinom v zemlji in določili delež regeneracije živali po prestavitvi na čisto zemljo. Ugotavljali smo tudi učinke pripravka po zaužitju na fiziološke parametre, kot so pogin, prehranjevaje, sprememba telesne mase in levitev. Insekticidni pripravek smo s pršenjem nanесли na suhe liste leske s katerimi smo 28 dni hranili živali. Ugotavljali smo tudi njihovo zmožnost izogiba pripravku v hrani ali zemlji tako, da smo poskusnim živalim hkrati ponudili onesnaženo in čisto hrano ali dali na izbiro onesnaženo in čisto zemljo. Ugotovili smo, da neposredna kratkotrajna izpostavitvev 20 µl ali več pripravka v gramu suhe zemlje povzroči prizadetost ali pogin poskusnih živali. Delež regeneracije je bil nizek. Ob dolgotrajnejši izpostavitvi hrani z dodanim pripravkom, se je povečala smrtnost živali, zmanjšala se je količina zaužite hrane in količina izločenih iztrebkov (LOEC = 667 µl pripravka/g lista). Vpliva na spremembo teže in na levitev nismo zaznali. Ugotovili smo, da kopenski enakonožci lahko zmanjšajo učinke pripravka s piretrinom z izbiro neonesnažene hrane ali neonesnažene zemlje.

## KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn

DC UDC 591.5:595.3(043.2)=163.6

CX terrestrial isopod/insecticide/pyretrin/toxicity/ability of choice/regeneration

AU HRIBAR, Monika

AA ZIDAR, Primož (supervisor)

PP SI-1000 Ljubljana, Večna pot 111

PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Biological Department

PY 2010

TI EFFECTS OF A SELECTED PHYTOFARMACEUTICAL PRODUCT WITH PYRETHRINS ON ISOPOD *Porcellio scaber* (Crustacea: Isopoda)

DT Graduation Thesis (University studies)

NO XIII, 49 p., 12 tab., 19 fig., 14 ann., 22 ref.

LA sl

AL sl/en

AB In the thesis we investigated the handicap of isopod crustaceans *Porcellio scaber* after short exposure to the phytofarmaceutical product with pyrethrins in soil and the degree of their regeneration after replacement to clean soil. We also investigated effects of the product after ingestion on physiological parameters like death, feeding, mass change and moulting. Animals were fed with dry hazel leaves to which the insecticide was applied by spraying. Besides, we investigated the escape response when animals were offered polluted and unpolluted food or soil at the same time. We found out that direct short-term exposure to the amount of 20 µl or more of the product per dry soil causes handicapped state or death of the test animals. The regeneration level was low. Upon long-term exposure to food with applied product, the mortality increased, the quantity of consumed food and the quantity of the excrements decreased (LOEC = 667 µl product/g leaf). We recorded no influence on weight change or moulting. We also found out that terrestrial isopods can decrease the effect of the product with pyrethrins by choosing unpolluted food or soil.

## KAZALO VSEBINE

Ključna dokumentacijska informacija .....	III
Key words documentation.....	IV
Kazalo vsebine.....	V
Kazalo slik.....	VII
Kazalo preglednic .....	VIII
Kazalo prilog .....	IX
Okrajšave in simboli .....	X
Slovarček.....	XI
<b>1 UVOD</b> .....	1
1.1 OPREDELITEV PROBLEMA.....	1
1.2 CILJI RAZISKAVE.....	3
1.3 HIPOTEZE .....	3
<b>2 PREGLED OBJAV</b> .....	4
2.1 POSKUSNE ŽIVALI.....	4
<b>2.1.1 Opis poskusnih živali</b> .....	4
<b>2.1.2 Odzivi kopenskih enakonožcev na prisotnost onesnažil v hrani ali zemlji</b> .....	6
2.2 PIRETRINI.....	9
<b>2.2.1 Na splošno o piretrinih</b> .....	9
<b>2.2.2 Strupenost piretrinov</b> .....	10
<b>2.2.3 Usoda piretrinov v okolju</b> .....	14
<b>2.2.4 Fitofarmacevtska sredstva s piretrinom na tržišču</b> .....	16
<b>3 MATERIALI IN METODE</b> .....	18
3.1 GOJENJE ŽIVALI V LABORATORIJU .....	18
3.2 IZVEDBA POSKUSOV .....	18
<b>3.2.1 Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano</b> .....	18
<b>3.2.2 Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano</b> .....	20
<b>3.2.3 Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo zemljo</b> .....	21
<b>3.2.4 Sposobnost izbire med onesnaženo in neonesnaženo zemljo</b> .....	21

3.3 PRIPRAVEK BIO PLANTELLA FLORA KENYATOX VERDE.....	24
3.4 STATISTIČNA ANALIZA.....	25
<b>4 REZULTATI</b> .....	26
4.1 IZPOSTAVITEV INSEKTICIDNEMU PRIPRAVKU Z ONESNAŽENO HRANO..	26
<b>4.1.1 Umrljivost osebkov in levitev</b> .....	26
<b>4.1.2 Sprememba telesne mase živali</b> .....	27
<b>4.1.3 Prehranjevanje</b> .....	29
4.2 IZPOSTAVITEV INSEKTICIDNEMU PRIPRAVKU Z ONESNAŽENO HRANO Z MOŽNOSTJO IZBIRE MED ONESNAŽENO IN NEONESNAŽENO HRANO .....	33
<b>4.2.1 Umrljivost osebkov in levitev</b> .....	33
<b>4.2.2 Sprememba telesne mase živali</b> .....	34
<b>4.2.3 Prehranjevanje</b> .....	35
4.3 IZPOSTAVITEV INSEKTICIDNEMU PRIPRAVKU Z ONESNAŽENO ZEMLJO	38
4.4 SPOSOBNOST IZBIRE MED ONESNAŽENO IN NEONESNAŽENO ZEMLJO...	42
<b>5 RAZPRAVA IN SKLEPI</b> .....	43
5.1 SPLOŠNE UGOTOVITVE O UČINKIH PRIPRAVKA S PIRETRINOM NA RAKE .....	43
5.2 SKLEPI.....	46
<b>6 POVZETEK</b> .....	47
<b>7 VIRI</b> .....	50
<b>ZAHVALA</b>	
<b>PRILOGE</b>	

## KAZALO SLIK

Slika 1: Sušenje leskovih listov. ....	18
Slika 2: Posodica s poskusno živaljo, ki je imela na izbiro onesnaženo in neonesnaženo hrano. ....	20
Slika 3: Predeljena posodica. ....	22
Slika 4: Posoda s poskusnimi živalmi, ki so imele na izbiro onesnaženo in neonesnaženo zemljo. ....	23
Slika 5: Porazdelitev poskusnih živali, ki so imele na izbiro onesnaženo in neonesnaženo zemljo. ....	23
Slika 6: Insekticidni pripravek Bio plantella flora kenyatox verde. ....	24
Slika 7: Sprememba telesne mase preživelih živali po 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500 µl/g s.t. lista). ....	27
Slika 8: Sprememba telesne mase preživelih živali po 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). ....	28
Slika 9: Masa zaužite hrane na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500 µl/g s.t. lista). ....	29
Slika 10: Masa zaužite hrane na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). ....	30
Slika 11: Koncentracijska odvisnost količine zaužite hrane (mg) pri živalih, ki so bile 28 dni izpostavljene visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). ....	30
Slika 12: Masa izločenih iztrebkov na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500 µl/g s.t. lista). ....	31
Slika 13: Masa izločenih iztrebkov na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). ....	32
Slika 14: Koncentracijska odvisnost izločene mase iztrebkov pri živalih v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). ....	32
Slika 15: Sprememba telesne mase preživelih živali po 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). ....	34
Slika 16: Masa skupne zaužite hrane na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl pripravka/g s.t. lista). ....	35
Slika 17: Delež zaužite neonesnažene hrane na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka v hrani, z možnostjo izbire čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). ....	36
Slika 18: Masa izločenih iztrebkov na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). ....	37
Slika 19: Izogib živali zemlji, onesnaženi z insekticidnim pripravkom. ....	42



## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Strupenost piretrinov za hišno muho ( <i>Musca domestica</i> ). .....	11
Preglednica 2: Strupenost piretrinov za čebele ( <i>Apis sp.</i> ). .....	11
Preglednica 3: Strupenost piretrinov za vodne organizme v statičnem vodnem sistemu. ....	11
Preglednica 4: Strupenost piretrinov za vodne organizme v pretočnem vodnem sistemu. ....	12
Preglednica 5: Strupenost piretrinov za ptice. ....	13
Preglednica 6: Strupenost piretrinov za sesalce. ....	14
Preglednica 7: Primerjava izbranega pripravka Bio plantella flora kenyatox verde z drugimi fitofarmaceutskimi sredstvi na osnovi piretrinov. ....	17
Preglednica 8: Umrljivost in levitev poskusnih živali v 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500 µl/g s.t. lista). ....	26
Preglednica 9: Umrljivost in levitev poskusnih živali v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). ....	26
Preglednica 10: Umrljivost in levitev poskusnih živali v 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). ....	33
Preglednica 11: Prizadetost poskusnih živali po 24 urah izpostavitve pripravku brez sušenja (5, 10, 20 in 30 µl/g s.t. zemlje) ter po 24 in 48 urah na čisti zemlji. ....	39
Preglednica 12: Prizadetost poskusnih živali po 24 urah izpostavitve pripravku po sušenju (5, 10, 20 in 30 µl/g s.t. zemlje) ter po 24 in 48 urah na čisti zemlji. ....	41

## KAZALO PRILOG

- Priloga A: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; kontrolne živali).
- Priloga B: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; 125  $\mu$ l pripravka/g s.t. lista).
- Priloga C: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; 250  $\mu$ l pripravka/g s.t. lista).
- Priloga D: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; 500  $\mu$ l pripravka/g s.t. lista).
- Priloga E: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; kontrolne živali).
- Priloga F: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; 667  $\mu$ l pripravka/g s.t. lista).
- Priloga G: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; 1333  $\mu$ l pripravka/g s.t. lista).
- Priloga H: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; 2000  $\mu$ l pripravka/g s.t. lista).
- Priloga I: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (kontrolne živali).
- Priloga J: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (0–667  $\mu$ l/g s.t. lista).
- Priloga K: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (0–1333  $\mu$ l/g s.t. lista).
- Priloga L: Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (0–2000  $\mu$ l/g s.t. lista).
- Priloga M: Sposobnost izbire med onesnaženo in neonesnaženo zemljo – prvi poskus.
- Priloga N: Sposobnost izbire med onesnaženo in neonesnaženo zemljo – drugi poskus.

## OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

a.s. – aktivna substanca

EC<sub>50</sub> (effective concentration) – koncentracija snovi, ki pri 50% poskusnih živali povzroči učinek

FfS – fitofarmacevtsko sredstvo

FURS – Fitosanitarna uprava Republike Slovenije

L – levitev

LC<sub>50</sub> (lethal concentration) – koncentracija snovi, ki pri 50% poskusnih živalih povzroči smrt

LD<sub>50</sub> (lethal dose) – odmerek snovi, ki pri 50% poskusnih živalih povzroči smrt

LOEC (lowest observed effect concentration) – najnižja koncentracija snovi, ki povzroči učinek

LS – levitev in smrtnost

N – vsota vseh živali v poskusu

NOEC (no observed effect concentration) – koncentracija snovi, ki ne povzroči učinka

NP - neprizadetost

P - prizadetost

S – smrtnost

s.t. – suha teža

ZFfS - zakon o fitofarmacevtskih sredstvih

## SLOVARČEK

FITOFARMACEVTSKO SREDSTVO – aktivne snovi in pripravki za varstvo rastlin (ZFfS)

INSEKTICID – sredstvo, s katerim zatiramo žuželke (insekte) (Maček in sod., 1990)

PIRETRINI – kemikalije v določenih rastlinah iz rodu *Chrysanthemum*, ki imajo lastnosti insekticida (Todd in sodelavci, 2003)

PRIZADETOST ŽIVALI – negibljivost ali slabša gibljivost

REGENERACIJA ŽIVALI – prizadete živali so ponovno gibljive in se odzivajo na dotike z iglo

## 1 UVOD

### 1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

V skladu z Zakonom o fitofarmaceutskih sredstvih (ZFfS) so fitofarmaceutska sredstva (FfS) aktivne snovi in pripravki, ki so namenjeni za (1) varstvo rastlin ali rastlinskih proizvodov pred škodljivimi organizmi oziroma za preprečevanje delovanja škodljivih organizmov, (2) za vpliv na življenjske procese rastlin, drugače kot s hranili, (3) za ohranjanje rastlinskih proizvodov, če niso predmet drugih predpisov, in (4) za zatiranje nezaželenih rastlin, delov rastlin, zadrževanje ali preprečevanje nezaželene rasti rastlin. Glede na namen uporabe jih delimo na akaricide, fungicide, herbicide, insekticide, limacide, nematocide, omočila, rodenticide, repelente, atraktante, regulatorje rasti in fumigante (FURS). Insekticidi so sredstva, s katerimi zatiramo žuželke (insekte), ki so poglavitni živalski škodljivci rastlin. Glede na način delovanja jih delimo na dotikalne (kontaktne), želodčne (digestivne) in dihalne (inhalacijske) strupe. Razdelimo jih lahko tudi po tem, na katere razvojne stopnje žuželk delujejo, in sicer na ovicide (delujejo na jajčeca), larvicide (na ličinke) in adulticide (na odrasle žuželke) (Maček in sod., 1990).

ZFfS med drugim določa tudi promet s fitofarmaceutskimi sredstvi in pogoje, ki jih mora izpolnjevati izvajalec varstva rastlin (uporabnik FfS). Zakon omejuje prosto prodajo nevarnejših fitofarmaceutskih pripravkov ljudem brez ustreznega potrdila o usposabljanju in opravljenem izpitu iz fitomedicine ter omogoča boljšo evidenco porabe FfS. Zakon tako omejuje dostopnost in porabo FfS zlasti v t.i. vrtničarstvu, kjer je količina in način uporabe sredstev za zaščito rastlin pred škodljivci nenadzorovana in pogosto neustrezna. Zaradi tega se pričakuje porast porabe pripravkov, ki so dostopni brez večjih omejitev. Mednje sodijo tudi pripravki na osnovi piretrinov. Piretrini so kemikalije z insekticidnim delovanjem, ki jih vsebuje piretrum, ekstrakt cvetov krizantem (*Chrysanthemum cinerariaefolium* in *C. cinereum*). Podatkov o vplivu piretrinov na netarčne organizme (z izjemo čebel) je malo.

Piretrini so relativno malo strupeni za sesalce (Todd in sodelavci, 2003) in ptice (U.S. EPA PED v Gunasekara, 2005), vendar izjemno strupeni za žuželke (Gunasekara, 2005) in tudi številne vodne organizme (U.S. EPA PED v Gunasekara, 2005). Piretrini delujejo kot živčni strup. Vežejo se na natrijeve kanalčke živčnih celic in tako podaljšajo odprtost kanalčkov. To povzroči paralizo in v nadaljevanju lahko smrt žuželk (Tomlin, 2000 v

Gunasekara, 2005), pri glodavcih pa trzanje, krčevito zvijanje in slinjenje (Todd in sod., 2003).

Bio plantella flora kenyatox verde je insekticidni pripravek na osnovi piretrinov (FURS). Pripravek je mešanica naslednjih sestavin: piretrini (0,075 %), piperonil butoksid (0,6 %), solvesso (0,6 %), voda in inertne snovi. To je bela stabilna emulzija, ki je občutljiva na svetlobo (varnostni list). Uporablja se za zatiranje listnih uši (Aphididae), resokrilcev (*Thrips* spp.) in rastlinjakovega ščitkarja (*Trialeurodes vaporariorum*) na okrasnih rastlinah ter vrtninah v rastlinjakih in na prostem. Rastlino, ki so jo napadli škodljivci, se zmerno poskropi po vsej površini. Insekticidni pripravek se ne razvršča kot nevaren in je na voljo brez omejitev v posebnem delu prodajaln z živili (FURS).

*Porcellio scaber* spada med kopenske rake enakonožce (Hopkin, 1991) in je sinantropna vrsta, saj ga najpogosteje najdemo v bližini človeških bivališč. Laikom je najbolj znan kot navadni prašiček (Mršić, 1997) ali tudi kot kletna mokrica (Potočnik, 1993), saj rad zahaja v hiše. Kopenski enakonožci so pomembni razkrojevalci stelje v listnatih gozdovih in komposta na vrtovih. S tem pospešujejo proces razkroja in vračajo bistvena hranila nazaj v tla. Na vrtovih le redko napadejo živeče rastline, saj se raje prehranjujejo z razkrajajočim rastlinstvom. V rastlinjakih občasno grizljajo sadike, a kljub temu ne naredijo pomenljive škode (Hopkin, 1991).

O strupenosti piretrinov za kopenske rake enakonožce ni podatkov. Ker se izbrani pripravek na osnovi piretrinov uporablja v življenjskem okolju kopenskih enakonožcev, lahko le ti pridejo v stik z njim. Zato smo se odločili raziskati vplive pripravka Bio plantella flora kenyatox verde na kopenske rake enakonožce vrste *Porcellio scaber*.

## 1.2 CILJI RAZISKAVE

Namen raziskave je bil ugotoviti:

- kakšen je neposreden učinek izbranega fitofarmacevtskega pripravka na kopenske rake enakonožce kot netarčne organizme (prizadetost oz. smrtnost) in stopnja regeneracije osebkov po kratkotrajni neposredni izpostavitvi pripravku,
- kako ostanki pripravka na listnem opadu ali zemlji učinkujejo na rake enakonožce (smrtnost, levitev, sprememba teže, prehranjevanje),
- ali se kopenski enakonožci lahko izognejo učinkom pripravka s piretrinom v hrani/zemlji (izogib onesnaženi hrani, izbira neonesnažene hrane ali zemlje).

## 1.3 HIPOTEZE

Znano je, da so piretrini izjemno strupeni za žuželke in tudi številne vodne organizme. So dotikalni strupi, ki hitro prodirajo v živčni sistem (Gunasekara, 2005). Pri enakonožcih pričakujemo značilno akutno toksičnost ob neposredni izpostavitvi pripravku.

Žuželke lahko piretrine hitro razgradijo, zato si paralizirana žuželka pogosto opomore in preživi. Iz tega razloga se piretrinom v pripravkih dodaja synergiste (npr. piperonil butoksid). Ti sami po sebi niso strupeni, temveč preprečujejo detoksikacijo (Todd in sodelavci, 2003). Po kratkotrajni izpostavitvi pripravku, kjer je piretrinom dodan piperonil butoksid, ne pričakujemo regeneracije živali.

Piretrini na svetlobi in zraku hitro razpadejo (Casida, 1980). Razpolovna doba za piretrine je od nekaj minut do nekaj ur (HSDB, 2001 v Todd in sodelavci, 2003). Pričakujemo, da ostanki pripravka s piretrini v hrani ne ogrožajo populacij izopodnih rakov.

Nekateri dosednji poskusi so pokazali, da se raki enakonožci lahko izognejo ali zmanjšajo škodljive učinke kovin ali nekaterih insekticidov v hrani ali zemlji (Zidar in sodelavci, 2005, Loureiro in sodelavci, 2005). Pričakujemo, da se raki enakonožci lahko izognejo tudi škodljivim učinkom piretrinov v hrani ali zemlji.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 POSKUSNE ŽIVALI

#### 2.1.1 Opis poskusnih živali

Raki (Crustacea) so večinoma vodne živali, a nekateri med njimi so osvojili tudi kopno. Postranicam (Amphipoda) in rakom enakonožcem (Isopoda), ki jih skupaj uvrščamo med rake valilničarje (Peracarida), pripadajo namreč tudi vrste, ki lahko celoten življenjski cikel živijo izven vode (Hopkin, 1991).

Red Isopoda vsebuje več kot 10000 vrst, ki so razširjene po vsem svetu (Hopkin, 1991), odsotne so le na skrajnih subpolarnih in polarnih predelih (Potočnik, 1993).

Enakonožce delimo v 9 podredov. Kopenske enakonožce (ekološka oznaka) uvrščamo v podred Oniscoidea (kočiči ali mokrice ali prašički), kamor sodi tudi *Porcellio scaber*. Druge skupine enakonožcev poseljujejo morje in celinske vode. Skupno jih imenujemo vodni enakonožci; najobsežnejši med njimi je podred Asellota (Mršič, 1997).

Telo kopenskih enakonožcev je podolgovato ovalno in hrbtno-trebušno sploščeno. Razlikujemo tri telesne regije: glavo (dejansko glavoprsje = cefalotoraks), oprsje (pereion) in zadek (pleon). Izraz glava je funkcionalnega (ne morfološko-anatomskega) pomena, saj se združi s prvim členom oprsja v glavoprsje. Na glavi sta dva para tipalnic. Ustni aparat je grizalo. Oprsje je sestavljeno iz sedmih med seboj gibljivo povezanih segmentov, ki so sestavljeni iz hrbtnih (tergitov) in trebušnih ploščic (sternitov). Obstransko se tergiti podaljšujejo v stranske krpe (epimere). Na sternitih je na trebušni strani (ventralno) po en par nog hodilk (pereiopodov). Sedmi par hodilk samcev je pogosto izoblikovan kot pomožni organ za kopulacijo. Zadek je sestavljen iz petih členov, ki med seboj niso trdno zrasli. Na vsakem je po en par zadkovih nožic (pleopodov). Pleopodi so sestavljeni iz bazalnega protopodita, nanj pa se priraščata notranja (endopodit) in zunanja veja (eksopodit). Šesti člen zadka se s telzonom združi v pleotelzon, ki je trikotne oblike. Na pleotelzonu je en par repnih nožic (uropodov), ki so enako grajene kot pleopodi. V zadku se nahaja srce. Izločalo je večja spodnječeljustna (maksilarna) žleza. Nekateri kopenski enakonožci imajo kot dihalo na zunanjih vejah sprednjega para pleopodov razvit psevdotrahealni sistem (Mršič, 1997).



Kopenski enakonožci se zadržujejo v habitatih z višjo talno vlago, predvsem pa stalno visoko zračno vlago (Mršič, 1997). Živijo praktično povsod, kjer so za njih ugodni pogoji, to so poleg vlage še zadostna količina hrane in primerna skrivališča (Potočnik, 1993). Živijo v gozdni stelji, trhlem lesu, pod skorjo, v panjih in pod kamni. Največ vrst najdemo v vlažnih listnatih in mešanih gozdovih, precej manj pa v iglastih (odpadle iglice so komajda prebavljiva hrana, tla so precej suha). V vodi lahko preživijo le kratek čas. Celotna skupina je močno odvisna od matične podlage. Najdemo jih predvsem na apnencih ali dolomitih, le redke vrste lahko uspevajo tam, kjer ni kalcija (Mršič, 1997). Kopenski enakonožci so omnivorne živali in se prehranjujejo z odmrlo organsko snovjo, pretežno rastlinskega izvora. Nahajajo se tudi v bližini človeških bivališč (v rastlinjakih, kletah, kompostnih kupih, skladiščih (hrane), toplih gredah in gojiščih gob), kjer lahko delujejo tudi kot škodljivci (obžirajo dele živih rastlin). Vendar pa je direktna škoda, ki jo povzročajo, zanemarljiva v primerjavi z njihovo splošno koristnostjo, sodelovanjem pri nastanku in ohranitvi plodne zemlje (Hopkin, 1991, Potočnik, 1993). Pomembni so pri mehanskem drobljenju rastlinskih ostankov, ker s tem povečujejo aktivno površino delcev in lajšajo dostop bakterijam in glivam, ki razgrajujejo organske snovi (Mršič, 1997).

Kopenski enakonožci so ločenih spolov, z izrazitim spolnim dimorfizmom (Mršič, 1997), še zlasti pri izoblikovanosti pleopodov in včasih tudi pereopodov. Oploditev je notranja. Paritveno vedenje in številčno razmerje med spoloma je vrstno značilno. Praviloma je samic več kot samcev. Ontogeneza poteka v marsupiju (valilni vrečki) samic. Razvita je skrb za potomstvo (Potočnik, 1993).

Ko se kopenski enakonožci zvalijo iz marsupija, imajo šest parov pereopodov. Po prvi levitvi se pojavi sedmi segment, po drugi levitvi pa sedmi par pereopodov. Mladiči se levijo v rednih intervalih do spolne zrelosti. Odrasle živali se še vedno levijo, a manj pogosto. Najprej levijo zadnji del eksoskeleta, po nekaj dneh pa še sprednji del. Malo jih živi več kot tri leta (Hopkin, 1991).

*Porcellio scaber* ali navadni prašiček ima do 17 mm dolgo telo, ki je navadno sive barve, pogosto pa so tudi oranžni, motno rumeni, črni, rdeči ali rjavi. Imajo številne črne ocele in dva para psevdotrahej. Navadno so negibni, če pa jih karkoli zmoti, hitro stečejo stran.

Naseljujejo številne habitate. V primerjavi s sorodno vrsto *Oniscus asellus* imajo raje rahlo manj vlažne pogoje oziroma okoljske razmere (Hopkin, 1991).

### **2.1.2 Odzivi kopenskih enakonožcev na prisotnost onesnažil v hrani ali zemlji**

Loureiro in sodelavci (2005) so opravili raziskavo na izopodih vrste *Porcellionides pruinosus* in deževnikih vrste *Eisenia andrei*. Poskusne živali so bile izpostavljene različnim koncentracijam več kemikalij (lindana, dimetoata, bakrovega sulfata, karbendazima, benomila) in zemlji iz zapuščenega rudnika z visoko (zemlja JC) in nizko vsebnostjo težkih kovin (zemlja JNC). Opravili so skupinske in individualne poskuse. Pri skupinskih so dali po 10 živali v pravokotne plastične posode, ki so bile predeljene na dva dela. V enem delu je bila čista zemlja (Lufa 2.2), v drugem delu pa s kemikalijami onesnažena zemlja oziroma zemlja iz rudnika. Onesnaženo zemljo so pripravili tako, da so v čisto zemljo zamešali kemikalije oz. zemljo iz rudnika. V kontrolnih posodah je bila v obeh predelkih le čista zemlja. Med predelkoma je bila pregrada, ki so jo ob začetku poskusa umaknili, da so živali lahko prehajale z ene strani na drugo. Po 48 urah so pregrado postavili nazaj in prešteli, koliko živali se nahaja na onesnaženi in koliko na čisti zemlji. Pri individualnih poskusih, kjer so uporabili le izopode, so dali v manjšo cilindrično posodo po 1 žival, ki je prav tako lahko zbirala med čisto in onesnaženo zemljo (Loureiro in sod., 2005).

Cilj raziskave je bil ugotoviti, če se vedenje poskusnih živali (izogib onesnaženi zemlji), lahko uporabi za oceno onesnaženosti tal. Rezultati so pokazali, da se tako izopodi kot tudi deževniki lahko izognejo onesnaženi zemlji. Izopodi v kontrolnih posodah so strani izbirali naključno. Izogib izopodov onesnaženi zemlji so opazili pri 1500 µg bakrovega sulfata/g s.t. zemlje (pri skupinskem in individualnem poskusu), pri 20 in 40 µg dimetoata/g s.t. zemlje (samo pri skupinskem poskusu), pri 113 in 200 µg lindana/g s.t. zemlje (skupinski poskus, manj kot 20% preživelih na onesnaženi zemlji), pri 10 in >53 µg lindana/g s.t. zemlje (individualni poskus), pri individualnih poskusih s 75% mešanico zemlje JNC (75% JNC + 25% Lufa 2.2) in 100% mešanico JNC (0% Lufa 2.2) ter pri individualnih poskusih s 25, 50 in 75% mešanico zemlje JC. S karbendazimom in benomilom niso testirali izopodov (Loureiro in sod., 2005).

Izogib deževnikov so opazili pri 320 µg bakrovega sulfata/g s.t. zemlje, pri 40 µg dimetoata/g s.t. zemlje (povprečno 20% živali na onesnaženi zemlji), pri 10 ali več µg karbendazima/benomila/g s.t. zemlje ter pri 75% mešanici zemlje JC (>80% živali na čisti zemlji). Deževniki se niso izogibali zemlji JNC. Poskusov z lindanom pri deževnikih niso izvedli (Loureiro in sod., 2005).

V vseh poskusih, ki so jih opravili Loureiro in sodelavci (2005), je bila smrtnost izopodov nižja kot 20%. Le pri 113 in 200 µg lindana/g s.t. zemlje je bila smrtnost 37,5 in 28%. Tudi smrtnost deževnikov je bila manj kot 20% (Loureiro in sod., 2005).

Sousa in sodelavci (2000) so izopode vrste *Porcellionides pruinosus* izpostavili lindanu s ponudbo hrane. Uporabili so jelševe liste in koncentracijo 0,2 µg/g s.t. lista. 21 dni so imele živali na voljo le onesnaženo hrano, nato pa so imele 19 dni na voljo le čisto hrano. V drugem delu poskusa (čista hrana) se je intenzivnost prehranjevanja povečala (Sousa in sod., 2000).

Fischer in sodelavci so ugotavljali učinke dimetoata (insekticida) na izopodih vrste *Porcellio scaber*. Živali so bile izpostavljene različnim koncentracijam dimetoata (10, 20, 25, 30, 40, 50 in 75 µg a.s./g s.t.) s ponudbo hrane (listov javorja, krompirja in hrane za kunce) in z zemljo (umetna OECD in naravna LUFA 2.2). Učinek je bil večji pri izpostavitvi z zemljo; izpostavitvev z naravno zemljo je imela večji učinek kot izpostavitvev z umetno zemljo (Fischer in sod., 1997).

Pogin je bil večji pri izpostavitvi z uporabo Lufe. Živali so izgubile na teži za 50 in 10% tako na naravni (pri koncentracijah 17,5 ali 4,2 µg a.s./g s.t.) kot tudi na umetni zemlji (18,5 ali 41,2 µg a.s./g s.t.). Pri izpostavitvi s ponudbo hrane (75 µg a.s./g s.t.) ni bilo učinka na rast in smrtnost (Fischer in sod., 1997).

Vink in sodelavci (1995) so testirali strupenost pesticidov (benomila, karbofurana, diazinona) na tropskih izopodih vrste *Porcellionides pruinosus*. Opazovali so smrtnost (z oceno LC<sub>50</sub>) ter vpliv pesticidov na rast ali težo poskusnih živali (z oceno NOEC). Živali so izpostavili pesticidom s hrano (listjem) in s substratom (peskom) (Vink in sod., 1995).

Vrednosti LC<sub>50</sub> pri izpostavitvi s hrano so bile >31000 (za benomil), 485 (za karbofuran) in 74,15 (za diazinon) µg a.s./g s.t. hrane. Vrednosti LC<sub>50</sub> pri izpostavitvi s substratom so bile

1221 (za benomil), 21,41 (za karbofuran) in 3,03 (za diazinon)  $\mu\text{g a.s./g s.t.}$  peska (Vink in sod., 1995).

Živalim, ki so bile izpostavljene pesticidom s hrano, je teža upadala. Vrednosti NOEC sta bili 1000 (za benomil) in  $<8,71$  (za diazinon)  $\mu\text{g a.s./g s.t.}$  hrane. S karbofuranom tega poskusa niso opravili. Živalim, ki so bile izpostavljene benomilu s substratom, je teža prav tako upadla. Karbofuran in diazinon v substratu pa nista imela jasnega učinka na rast izopodov (Vink in sod., 1995).

Z opisanim poskusom so ugotovili, da je pri testiranju strupenosti zelo pomemben način izpostavitve. Vsi trije pesticidi so imeli večji učinek pri izpostavitvi s substratom (peskom) (Vink in sod., 1995).

Ribeiro in sodelavci (2001) so enakonožce vrste *Porcellio dilatatus* izpostavili dvema insekticidoma (endosulfanu in parationu) s hrano (jelševimi listi). Koncentracije insekticidov so bile 0,1; 1; 10; 25; 50; 100; 250 in 500  $\mu\text{g/g}$  hrane (Ribeiro s sod., 2001).

Pri poskusu s parationom je smrtnost naraščala skupaj s koncentracijo insekticida in pri najvišjih koncentracijah (250 in 500  $\mu\text{g/g}$  hrane) dosegla 100%. Endosulfan ni bistveno vplival na smrtnost (Ribeiro s sod., 2001).

Pri poskusu z endosulfanom so pri najvišjih koncentracijah (100, 250 in 500  $\mu\text{g/g}$  hrane) opazili upad prehranjevanja in upad rasti. Paration ni vplival na prehranjevanje in rast (Ribeiro s sod., 2001).

Zidar in sodelavci (2005) so opravili raziskavo, v kateri so izopodom vrste *Porcellio scaber* hkrati ponudili čisto hrano in s kadmijem onesnaženo hrano (20, 45, 200 ali 450  $\mu\text{g/g s.t.}$  hrane). Poskus je trajal 3 tedne (Zidar in sod., 2005).

Živali so raje imele čisto hrano. Preferenca se je rahlo povečala z večanjem koncentracije kadmija in s trajanjem poskusa (maksimalna preferenca je bila 65%). Kontrolne živali niso pokazale nobene preference, saj so imele na izbiro le čisto hrano. Le v prvem tednu poskusa so živali, ki so imele na izbiro tudi hrano s 45  $\mu\text{g}$  kadmija, raje imele onesnaženo hrano (Zidar in sod., 2005).

Vse živali so v času poskusa pridobile na teži. Tudi v količini skupne zaužite hrane (čiste in onesnažene hrane) med skupinami ni bilo razlik. Manjšo količino zaužite onesnažene hrane so živali kompenzirale z večjo količino zaužite čiste hrane. Smrtnost se je povečala v tretjem tednu poskusa, vendar pa vzrok za to ni bil kadmij, saj med skupinami ni bilo razlik v številu poginulih živali (Zidar in sod., 2005).

Drobne in Hopkin (1995) sta testirala strupenost cinka na kopenskih enakonožcih vrst *Porcellio scaber* in *Oniscus asellus*. Poskusne živali so bile s hrano (listi *Acer campestre*) izpostavljene različnim koncentracijam cinka (1000, 2000, 5000 in 10000 µg cinka/g s.t. lista). Že pri 2000 µg cinka/g s.t. lista sta opazila upad prehranjevanja, še bolj očitno pa je bil upad pri 5000 µg cinka/g s.t. lista. Kritična meja je tako nekje med 2000 in 5000 µg cinka/g s.t. lista. Merilo za stopnjo prehranjevanja je bila količina izločenih iztrebkov (Drobne in sod., 1995).

## 2.2 PIRETRINI

### 2.2.1 Na splošno o piretrinih

Piretrum je naravna mešanica kemikalij v določenih rastlinah iz rodu *Chrysanthemum* (*C. cinerariaefolium* in *C. cinereum*). Izvleček zgleda kot rumeno rjav prah ali kot gosta tekočina (surov izvleček). Leta 1800 so v Aziji prvič opazili, da ima piretrum lastnosti insekticida. Uporabljali so ga za zatiranje klopotov, človeških uši, bolh, ščurkov, hroščev, muh in komarjev (Todd in sodelavci, 2003).

Piretrum vsebuje 6 individualnih kemikalij, ki imajo lastnosti insekticida. Imenujejo se piretrini (Todd in sodelavci, 2003) in se nahajajo v cvetovih rastlin, kjer so zaščiteni pred fotodekompozicijo (razpadom pod vplivom svetlobe) in izolirani, da ne škodujejo žuželkam, ki obiščejo cvet (Casida, 1980). Pridobiva se jih lahko tako, da se cvetove posuši in spremeni v prah. Lahko pa se jih ekstrahira s topili, npr. z acetonom (Metcalf, 1995 v Todd in sodelavci, 2003). Vsak cvet vsebuje 3-4 mg piretrinov (Casida, 1980). Piretrin I, cinerin I in jasmolin I so estri krizantemske kisline. Piretrin II, cinerin II in jasmolin II so estri piretrične kisline (Todd in sodelavci, 2003). Krizantemska in piretrična kislina sta vezani z enim od treh alkoholov (piretrolon, cinerolon, jasmololon) (Head, 1973 v Gunasekara, 2005).

Piretrini so slabo topni v vodi in dobro topni v organskih topilih, npr. v alkoholu, kerozinu in kloriranih ogljikovodikih (Todd in sodelavci, 2003). Piretrin I, cinerin I in jasmolin I so bolj hlapljivi kot piretrin II, cinerin II in jasmolin II (Crosby, 1995 v Gunasekara 2005). Kemikalije v čisti obliki so prozorne, viskozne in imajo visoko vrelišče (Head, 1973 v Gunasekara, 2005).

Pogosto se piretrinom dodaja druge kemikalije (piperonil butoksid, piperonil sulfoksid), sinergiste, ki povečajo njihovo aktivnost oz. strupenost. Sinergisti preprečijo, da bi nekateri encimi razgradili piretrine (Todd sodelavci, 2003).

Piretrine se uporablja v gospodinjstvu, to je v razpršilih za zatiranje letočih žuželk in v šamponih za zatiranje škodljivcev na domačih živalih. Uporablja se jih tudi za zatiranje žuželk na živini, žitu, sadju in zelenjavi (Todd in sodelavci, 2003).

Piretroidi so sintetični analogi in derivati piretrinov (Mueller-Beilschmidt, 1990 v Todd in sodelavci, 2003). Torej gre za sintetične kemikalije, ki imajo zelo podobno strukturo kot piretrini. Pogosto so bolj strupeni za žuželke in tudi sesalce ter obstojnejši kot piretrini (tudi bolj foto-stabilni). Pripravi se jih s postopkom esterifikacije kisline z alkoholom (Todd in sodelavci, 2003).

### **2.2.2 Strupenost piretrinov**

Piretrini delujejo na živčni sistem žuželk in povzročijo paralizo. Vežejo se na natrijeve kanalčke živčnih celic in tako podaljšajo odprtost kanalčkov. To lahko povzroči smrt (Tomlin, 2000 v Gunasekara, 2005). Pri glodavcih so posledice podaljšanja odprtosti natrijevih kanalčkov trzanje, krčevito zvijanje in slinjenje (Todd in sod., 2003).

Ni podatkov, da bi bili piretrini strupeni za kopenske enakonožce vrste *Porcellio scaber*. Raziskali pa so učinke piretrinov na žuželkah, sesalcih, pticah in vodnih organizmih.

Piretrini so izjemno strupeni za žuželke (Preglednici 1 in 2), saj so dotikalni strupi, ki hitro prodirajo v živčni sistem (Gunasekara, 2005). Smrt nastopi po nekaj minutah ali nekaj urah (Casida, 1980). Žuželke lahko piretrine hitro detoksificirajo z encimi, ki jih proizvajajo. Tako si paralizirana žuželka pogosto opomore in preživi. Iz tega razloga se piretrinom dodaja že omenjene sinergiste. Ti sami po sebi niso strupeni, temveč preprečujejo detoksifikacijo (Todd in sodelavci, 2003).

Preglednica 1: Strupenost piretrinov za hišno muho (*Musca domestica*) (Gunasekara, 2005: 7).

PIRETRINI	POVPREČEN LD <sub>50</sub> (µg/muho)
Piretrin I	0, 20
Piretrin II	0, 49
Cinerin I	1, 77
Cinerin II	0, 43
Jasmolin I	1, 28
Jasmolin II	0, 46

Čebele so visoko občutljive na piretrine (U.S. EPA PED v Gunasekara, 2005). Glede na to, da imajo čebele pomembno vlogo pri opráševanju in da zapolnjujejo ekološko pomembne niše, je v bližini njihovih populacij potrebna izredno pazljiva raba (Gunasekara, 2005).

Preglednica 2: Strupenost piretrinov za čebele (*Apis sp.*). Aktivna substanca je 57,8% (U. S. EPA PED v Gunasekara 2005: 8 in Tomlin, 2000 v Gunasekara 2005: 8).

ŽUŽELKA	NAČIN IZPOSTAVITVE	LD <sub>50</sub> (µg/čebelo)
<i>Apis sp.</i>	oralno	22
<i>Apis sp.</i>	dotikalno	130-290

Vodni organizmi so zelo občutljivi na piretrine (Preglednici 3 in 4). Le ti se v njih koncentrirajo. Strupeni so za mnoge ribe (U.S. EPA PED v Gunasekara, 2005).

Preglednica 3: Strupenost piretrinov za vodne organizme v statičnem vodnem sistemu (U. S. EPA PED v Gunasekara, 2005: 11).

VODNI ORGANIZEM	ČAS IZPOSTAVITVE (ure)	AKTIVNA SUBSTANCA (%)	UČINEK	KONCENTRACIJA (µg/L)
<i>Daphnia sp.</i>	48	20	EC <sub>50</sub>	42
<i>Daphnia sp.</i>	96	20	EC <sub>50</sub>	25
<i>Salmo salar</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	40
<i>Lepomis macrochirus</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	41
<i>Ictalurus punctatus</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	9,0
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	44
<i>Micropterus salmoides</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	33

Preglednica 4: Strupenost piretrinov za vodne organizme v pretočnem vodnem sistemu (U. S. EPA PED v Gunasekara, 2005: 11).

VODNI ORGANIZEM	ČAS IZPOSTAVITVE (ure)	AKTIVNA SUBSTANCA (%)	UČINEK	KONCENTRACIJA (µg/L)
Mysidacea	96	57,5	LC <sub>50</sub>	1,4
Cladocera	48	57,5	EC <sub>50</sub>	11,6
<i>Lepomis macrochirus</i>	96	57,5	LC <sub>50</sub>	10
<i>Salmo trutta</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	19,4
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	23
<i>Salvelinus namaycush</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	19,7
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	20
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96	57,5	LC <sub>50</sub>	5,1
<i>Cyprinodon variegatus variegatus</i>	96	57,5	LC <sub>50</sub>	16
<i>Micropterus dolomieu</i>	96	20	LC <sub>50</sub>	22



Piretrini so relativno malo strupeni za ljudi in druge sesalce (Preglednica 6) (Todd in sodelavci, 2003) ter ptice (Preglednica 5) (U.S. EPA PED v Gunasekara, 2005).

Preglednica 5: Strupenost piretrinov za ptice (U. S. EPA PED v Gunasekara, 2005: 8).

PTICA	NAČIN IZPOSTAVITVE	AKTIVNA SUBSTANCA (%)	UČINEK	KONCENTRACIJA (µg/g)
<i>Colinus virginianus</i>	preko hrane	57,8	LC <sub>50</sub>	5620
<i>Coturnix japonica</i>	preko hrane	20	LC <sub>50</sub>	5000
<i>Anas platyrhynchos</i>	preko hrane	20	LC <sub>50</sub>	5000
<i>Anas platyrhynchos</i>	preko hrane	57,8	LC <sub>50</sub>	5620
<i>Phasianus colchicus</i>	preko hrane	20	LC <sub>50</sub>	5000
<i>Anas platyrhynchos</i>	ni podatka	57,8	ni opaženih učinkov	1780
<i>Colinus virginianus</i>	ni podatka	20	ni opaženih učinkov	3160

Nizke kronične izpostavitve piretrinom pri sesalcih navadno ne povzročijo nevroloških simptomov zaradi hitrega metabolizma in izločanja. Direkten stik s kožo pa lahko povzroči abnormalne kožne občutke: ščemenje, zbadanje, pekoč občutek, otopelost in srbenje. Vsi občutki so omejeni na mesto stika s piretrini (Todd in sodelavci, 2003).

Koža in respiratorni trakt sesalcev ne absorbirata velikih količin piretrinov; manjša količina se absorbira prek gastrointestinalnega trakta. Ni znano, da bi se piretrini akumulirali v tkivih sesalcev. Analize urina so pokazale odsotnost piretrina in prisotnost njegovih metabolitov (WHO, 1975 v Gunasekara, 2005).

Laboratorijski testi na sesalcih so pokazali, da piretrum (v visokih koncentracijah ali v kombinaciji s piperonil butoksidom) nima kancerogenih, mutagenih ali teratogenih učinkov. Nekaj patoloških sprememb pri visokih koncentracijah je bilo opaženih v jetrih (Casida, 1980).

Preglednica 6: Strupenost piretrinov za sesalce (WHO, 1975 v Gunasekara, 2005: 9; Schoenig, 1995 v Gunasekara, 2005: 9; U. S. EPA, 1988 in 1994v Gunasekara, 2005: 9).

SESALEC	NAČIN IZPOSTAVITVE	UČINEK	KONCENTRACIJA ( $\mu\text{g/g}$ )	RAZISKAVA
<i>Rattus sp.</i>	oralno	LD <sub>50</sub>	500 – 1000	WHO, 1975
<i>Rattus sp.</i>	preko kože	LD <sub>50</sub>	>1800	WHO, 1975
<i>Rattus sp.</i> (samec)	oralno	LD <sub>50</sub>	2370	Schoenig, 1995
<i>Rattus sp.</i> (samica)	oralno	LD <sub>50</sub>	1030	Schoenig, 1995
<i>Rattus sp.</i> (samec)	ni podatka	ni opaženih učinkov	710	Schoenig, 1995
<i>Rattus sp.</i> (samica)	ni podatka	ni opaženih učinkov	320	Schoenig, 1995
<i>Rattus sp.</i>	ni podatka	ni opaženih učinkov	150	U. S. EPA, 1988
<i>Rattus sp.</i> (samec)	ni podatka	ni opaženih učinkov (2 leti)	130	U. S. EPA, 1994
<i>Rattus sp.</i> (samica)	ni podatka	ni opaženih učinkov (2 leti)	173	U. S. EPA, 1994
fam. Leporidae	ni podatka	ni opaženih učinkov	150	U. S. EPA, 1988
fam. Leporidae	ni podatka	izguba teže (11%)	300	U. S. EPA, 1988
<i>Rattus sp.</i>	vdihoavanje (4 ure)	LC <sub>50</sub>	3,4 mg/m <sup>3</sup>	Schoenig, 1995
<i>Mus sp.</i> (samec)	ni podatka	ni opaženih učinkov (18 mesecev)	686	U. S. EPA, 1994
<i>Mus sp.</i> (samica)	ni podatka	ni opaženih učinkov (18 mesecev)	834	U. S. EPA, 1994

### 2.2.3 Usoda piretrinov v okolju

Čeprav je piretrum naravno prisoten v okolju, se piretrini in tudi piretroidi primarno sproščajo v okolje zaradi njihove rabe kot insekticidi. Najpomembnejša emisijska pot je izpust v atmosfero, saj se piretrine in piretroide uporablja kot različna razpršila na prostem in v notranjosti. Sproščajo se lahko tudi iz tovarn med samo proizvodnjo (Todd in sodelavci, 2003).

Dež, odtoki iz kmetijskih površin in odpadna voda iz tovarn lahko kontaminirajo jezera, ribnike, reke in potoke s piretrini in piretroidi. Zaradi samega načina nanosa (s škropljenjem) lahko piretrini in piretroidi difundirajo po zraku in pridejo v stik tako z vodo kot tudi s tlemi (Todd in sodelavci, 2003).

Piretrini in piretroidi se močno vežejo v tla in so v njih navadno slabo mobilni (Todd in sodelavci, 2003). Absorpcija piretrinov v tla se povečuje s povečevanjem organske snovi v tleh. Večja koncentracija huminske kisline zmanjša mobilnost piretrinov (Antonious, 2004 v Gunasekara, 2005). Posledično piretrini in piretroidi ne iztekajo v podtalnico, ne onesnažujejo pitne vode in s površine tal izhlapevajo počasi. Tudi rastline jih težje črpajo prek korenin. Zaradi direktnega škropljenja rastlin pa se lahko piretrini in piretroidi nahajajo na listih, sadju in zelenjavi (Todd in sodelavci, 2003).

Piretrini in piretroidi razpadejo zaradi fotolize, hidrolize ali biodegradacije (Todd in sodelavci, 2003). So zelo nestabilni na svetlobi in zraku (Casida, 1980).

V atmosferi vseh 6 piretrinov in veliko piretroidov hitro razpade (pogosto v 1 ali 2 dneh) pod vplivom sončne svetlobe (fotoliza) ali pa v reakcijah z atmosferskimi oksidanti (Todd in sodelavci, 2003). Razpolovna doba za piretrine je od nekaj minut do nekaj ur (HSDB, 2001 v Todd in sodelavci, 2003). Dež in sneg pomagata odstranjevati iz atmosfere piretroide, ki se ne razgradijo hitro (v zadnjem času razviti piretroidi lahko razpadejo šele po nekaj mesecih) (Todd in sodelavci, 2003).

Piretrine in piretroide sčasoma razgradijo mikroorganizmi (biodegradacija) v tleh in vodi. Na površini tal, vode in rastlin jih lahko razgradi tudi sončna svetloba. Hidroliza je uspešna le v alkalnih pogojih in pri dovolj visoki temperaturi (20°C ali več) (Todd in sodelavci, 2003).

Tudi temperatura je odločilen dejavnik pri razgradnji piretrinov. Raziskava, opravljena na rastlini *Tanacetum cinerariaefolium*, je pokazala, da pri temperaturi 20°C razpade 26% piretrinov, pri 60°C 65% in pri 100°C razpade 68% piretrinov (Atkinson in sodelavci, 2004 v Gunasekara, 2005).

#### **2.2.4 Fitofarmacevtska sredstva s piretrinom na tržišču**

Na tržišču je 14 fitofarmacevtskih sredstev, ki vsebujejo piretrin (Preglednica 7). Večinoma so to insekticidi. Vsebujejo od 0,018 do 16% piretrina. Nekateri poleg piretrina vsebujejo še piperonil butoksid, solvesso (mešanica aromatoz z vreliščem 183-208°C), abamektin (antihelmintik), repično olje, in cinerin (FURS, varnostni listi, poročilo IVZ).

Preglednica 7: Primerjava izbranega pripravka Bio plantella flora kenyatox verde z drugimi fitofarmacevtskimi sredstvi na osnovi piretrinov (FURS, varnostni listi, poročilo IVZ).

IME SREDSTVA	PROIZVA- JALEC	DELEŽ PIRETRINA (%)	DODANE SNOVI	NAMEN	DOSTOP- NOST (Z ALI BREZ IZPITA)
BIO PLANTELA FLORA KENYATOX VERDE	COPYR, UNICHEM d.o.o.	0, 075	PIPERONIL BUTOKSID, SOLVESSO, VODA, INERTNE SNOVI	INSEKTICID	BREZ
BIOTIP Ubij me nežno	COPYR	0, 075	PIPERONIL BUTOKSID	INSEKTICID	BREZ
FAZILO SPREJ	COMPO GmbH&Co. KG	0, 02	ABAMEKTIN	INSEKTICID, AKARICID	Z
FLORA VERDE	COPYR	1, 816	Ni podatka	INSEKTICID	Z
KENYATOX VERDE	COPYR	16	Ni podatka	INSEKTICID	Z
PHOBI GRAINS	LODI SRL	2	PIPERONIL BUTOKSID	INSEKTICID	Z
RAPTOL KONCENTRAT	NEUDORFF	1, 834	REPIČNO OLJE	INSEKTICID	Z
RAPTOL SPRAY	NEUDORFF	0, 018	REPIČNO OLJE	INSEKTICID	BREZ
SPRUZIT KONCENTRAT	NEUDORFF	4	CINERIN, PIPERONIL BUTOKSID	INSEKTICID	Z
SPRUZIT PRAH	NEUDORFF	0, 3	CINERIN, PIPERONIL BUTOKSID	INSEKTICID	BREZ
TERMINATOR Insekticid za rastline	COPYR	0, 075	PIPERONIL BUTOKSID	INSEKTICID	BREZ
VALENTIN EKO INSEKTICID IZ NAR. PIRETRINA KONC.	COPYR	16	Ni podatka	INSEKTICID	Z
VALENTIN EKO INSEKTICID IZ NARAVNEGA PIRETRINA-R	COPYR, UNICHEM d.o.o.	0, 075	Ni podatka	INSEKTICID	BREZ
VAPE GARDEN - insekticid	GUABER	0, 5	PIPERONIL BUTOKSID	INSEKTICID	BREZ

### 3 MATERIALI IN METODE

#### 3.1 GOJENJE ŽIVALI V LABORATORIJU

Raki enakonožci vrste *Porcellio scaber* so bili nabrani v neonesnaženem okolju v okolici Cerknice in pred poskusom več let gojeni v laboratoriju.

Pred izvedbo poskusa smo izbrane živali gojili v stekleni posodi. Na dnu posode je bila papirnata brisača, omočena z destilirano vodo. Na brisači je bila standardizirana zemlja – Lufa 2.2 (mešanica peska, gline in šote). Podlago smo redno vlažili z destilirano vodo. Živali smo hranili z leskovimi listi in solato.

#### 3.2 IZVEDBA POSKUSOV

##### 3.2.1 Izpostavitvev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano

Za hrano smo uporabili leskove liste, ki smo jih nekaj dni pred poskusom herbarizirali in posušili. Na dan poskusa smo eno serijo listov poškropili z destilirano vodo (kontrolni listi). Preostale tri serije listov smo poškropili z različnimi koncentracijami insekticidnega pripravka Bio plantella flora kenyatox verde. Liste smo nato dali v sušilec in jih sušili približno dve uri pri približno 50°C (Slika 1).



Slika 1: Sušenje leskovih listov.

Medtem ko so se listi sušili, smo pripravili posodice (plastične petrijevke, premera 9cm) in stekleno posodo za hrambo živali. Posodice smo označili in vanje dali filter papir, ki smo ga kasneje omočili z destilirano vodo. V stekleno posodo smo dali navlaženo papirnato brisačo in stiropor. Odbrali in stehali smo poskusne živali.

Po končanem sušenju smo liste razrezali na koščke in jih stehali. V vsako posodico smo dali po en košček lista in po eno žival. Tako smo pripravili eno serijo kontrol in tri serije z insekticidnim pripravkom. Vse posodice smo dali v stekleno posodo, ki smo jo pokrili s črno folijo in nato odnesli v komoro (šibka osvetlitev, dnevno-nočni režim 16h : 8h,  $T = 21 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

Poskus je trajal 28 dni. Opazovali smo prehranjevanje (količino zaužitega lista, iztrebke), rast (sprememba mase živali), smrtnost in levitev. Dvakrat tedensko smo pregledovali živali. Po potrebi smo jim dodajali destilirano vodo, zabeležili morebitno smrtnost ali levitev ter kakšno drugo posebnost.

Po dveh tednih smo hrano zamenjali z novo in tako zgoraj opisani postopek priprave hrane ponovili za vse preživele živali.

Po končanem poskusu smo stehali preživele živali. Njihove posodice z listi in iztrebki smo sušili dva dneva. Nato smo stehali še liste in iztrebke. Opisan postopek smo izvedli tudi ob menjavi hrane.

Poskus smo izvedli dvakrat. Prvič smo uporabili manjše koncentracije insekticidnega pripravka, in sicer 125, 250 in 500  $\mu\text{l/g}$  s.t. lista. Tako so bile povprečne koncentracije piretrina ob nastavitvi poskusa 65, 108 in 299  $\mu\text{g/g}$  s.t. lista. Ob menjavi hrane pa so bile povprečne koncentracije 84, 209 in 388  $\mu\text{g/g}$  s.t. lista. Zaradi poskusne napake (ob nastavitvi poskusa so bile mase listov različne) je prišlo do velikih razlik v koncentracijah med enim in drugim nanašanjem insekticida.

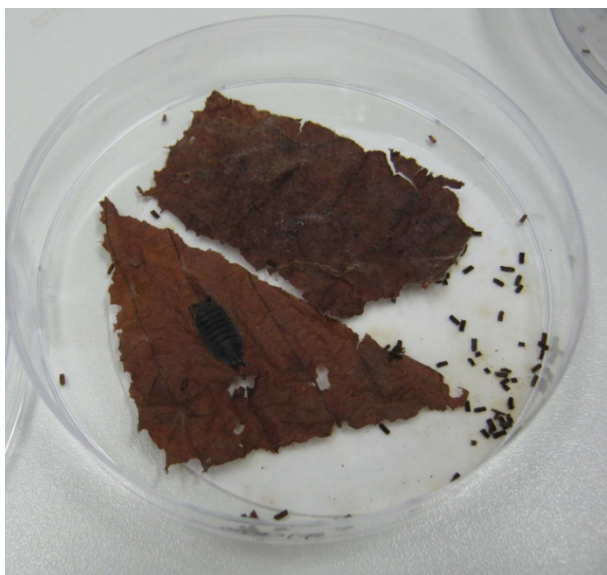
Ko smo poskus ponavljali, smo vzeli večje koncentracije: 667, 1333 in 2000  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. lista. Povprečne koncentracije piretrina ob nastavitvi poskusa so bile 491, 1006 in 1397  $\mu\text{g/g}$  s.t. lista. Ob menjavi hrane so bile povprečne koncentracije 496, 966 in 1510  $\mu\text{g/g}$  s.t. lista.

Pri nizkih koncentracijah insekticidnega pripravka smo vzeli po 8 živali za vsako koncentracijo. Ko pa smo poskus ponavljali z višjimi koncentracijami, smo vzeli 10 živali za posamezno koncentracijo insekticidnega pripravka.

### 3.2.2 Izpostavitvev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano

Liste, posodice in živali smo pripravili enako kot pri izpostavitvi insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (glej prvi in drugi odstavek poglavja 3.2.1).

Po končanem sušenju smo liste razrezali na koščke, ki so imeli obliko kvadrata ali trikotnika. Koščke smo stehali. V vsako posodico smo dali po en trikotnik, en kvadrat in po eno žival (Slika 2). Pri serijah z insekticidnim pripravkom so bili vsi trikotniki tretirani z destilirano vodo, vsi kvadrati pa s pripravkom. Pri kontrolni seriji pa so bili tako trikotniki kot kvadrati tretirani le z destilirano vodo. Posodice smo dali v stekleno posodo in jih odnesli v komoro.



Slika 2: Posodica s poskusno živaljo, ki je imela na izbiro onesnaženo in neonesnaženo hrano.

Tudi ta poskus je trajal 28 dni. Opazovali smo prehranjevanje (količino zaužitega lista, iztrebke), rast (spremembo mase živali), vedenjski odziv oziroma izbiro hrane (katerega lista živali več pojedjo), smrtnost in levitev. Dvakrat tedensko smo pregledovali živali, dodajali destilirano vodo v petrijevke in beležili opažanja.

Po dveh tednih smo zamenjali hrano in ves opisan postopek ponovili za preživete živali.

Po zaključku poskusa smo stehali preživete živali. Liste in iztrebke v posodicah smo posušili in nato stehali. Enako smo storili tudi ob menjavi hrane.



Poskus smo izvedli enkrat. Nanašali smo 667, 1333 in 2000  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. lista. Povprečne koncentracije piretrina ob nastavitvi poskusa so bile 521, 975 in 1508  $\mu\text{g/g}$  s.t. lista. Ob menjavi hrane so bile povprečne koncentracije 493, 1051 in 1475  $\mu\text{g/g}$  s.t. lista.

Pri vsaki koncentraciji smo uporabili po 10 poskusnih živali.

### 3.2.3 Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo zemljo

V vsako posodico smo natresli po 20 g zemlje (Lufa 2.2), ki smo jo predhodno posušili. Zemljo v posodicah smo namočili z destilirano vodo do 50% maksimalne zadrževalne količine vode. Kontrolnim posodicam smo dodali 4,8 ml destilirane vode, posodicam z insekticidnim pripravkom pa smo dodali ustrezno manjšo količino vode (4,7 ml; 4,6 ml; 4,4 ml in 4,2 ml). Po približno 1 uri smo namočeno zemljo dobro premešali in jo poškopili z insekticidnim pripravkom (5, 10, 20 in 30  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje), pri tem smo seveda izvzeli kontrolne posodice, katerim smo (kot že opisano) dodali le vodo. Omenjeni nanosi pripravka predstavljajo 4,59  $\mu\text{g}$ , 8,12  $\mu\text{g}$ , 16,28  $\mu\text{g}$  in 23,60  $\mu\text{g}$  piretrina/g s.t. zemlje. Za vsako koncentracijo smo uporabili po 5 posodic (paralelk). V vsako posodico smo dodali po 5 živali. Posodice smo zložili v stekleno posodo, jo pokrili s črno folijo in odnesli v komoro.

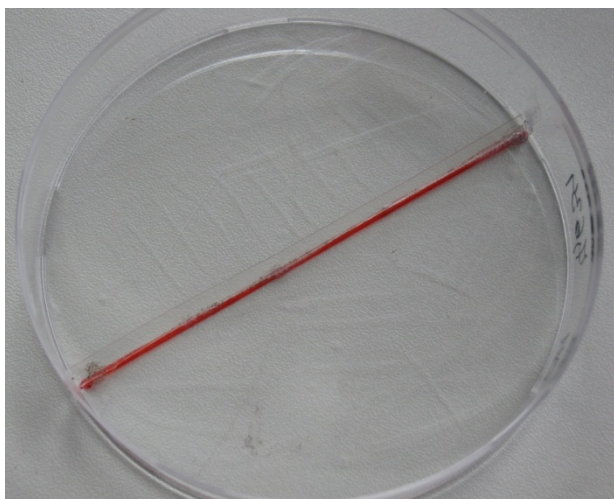
Po 24 urah smo pogledali, koliko živali je bilo neprizadetih in koliko prizadetih (negibljevih ali slabo gibljivih in poginulih). Gibljivost smo testirali tako, da smo se živali nežno dotaknili z iglo in opazovali njihovo odzivnost.

Po pregledu živali smo le te prestavili na čisto zemljo, katero smo pripravili po zgoraj opisanem postopku z destilirano vodo. Po 24 in 48 urah regeneracije na čisti zemlji smo prav tako ugotavljali prizadetost in neprizadetost poskusnih živali. Ob koncu poskusa smo določili, koliko od prizadetih živali je poginilo.

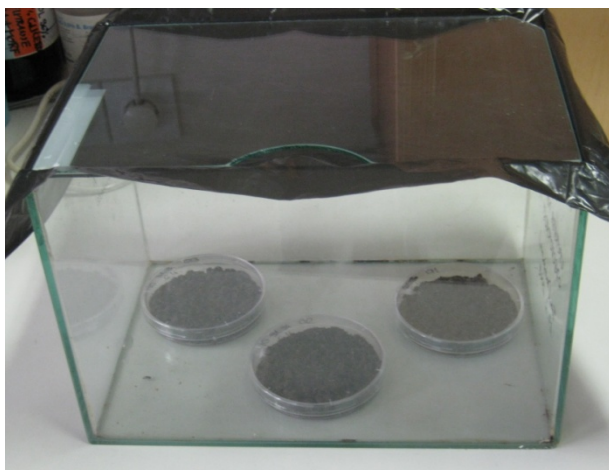
Celoten poskus smo izvedli še enkrat, vendar smo na zemljo najprej nanesli insekticidni pripravek in jo nato približno 2 uri sušili na 30°C. Nato smo dodali v vse petrijevke po 4,8 g destilirane vode. Pri tem poskusu smo nanesli povprečno 3,79  $\mu\text{g}$ , 7,34  $\mu\text{g}$ , 15,41  $\mu\text{g}$  in 22,79  $\mu\text{g}$  piretrina/g s.t. zemlje. Vsi ostali postopki poskusa so enaki zgoraj opisanim.

### 3.2.4 Sposobnost izbire med onesnaženo in neonesnaženo zemljo

Vsako posodico smo predhodno predelili na dva dela s tršo folijo (Slika 3). V vsak predelek smo natresli po 10 g zemlje (Lufa 2.2). Pregrada je bila v nivoju zemlje in je omogočala neovirano prehajanje živali. V vsaki posodici (razen pri kontrolah) smo en predelek poškropili z ustrežno količino insekticidnega pripravka (10, 20 in 30  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje). Omenjeni nanosi pripravka predstavljajo povprečno 8,85  $\mu\text{g}$ , 16,55  $\mu\text{g}$  in 22,30  $\mu\text{g}$  piretrina/g s.t. zemlje. Za vsako koncentracijo smo uporabili po 3 posodice. Nato smo posodice sušili približno 2 uri na 30°C. Po sušenju smo vsakemu predelku dodali po 2,4 ml destilirane vode. Zemljo smo dobro premešali in dodali po 10 živali v vsako posodico (dodajali smo jih čim bolj na meji med predelkoma). Posodice smo zložili v steklene posode, jih pokrili s črno folijo in nesli v komoro (Slika 4).



Slika 3: Predeljena posodica.



Slika 4: Posoda s poskusnimi živalmi, ki so imele na izbiro onesnaženo in neonesnaženo zemljo.

Po 48 urah smo pogledali, na kateri strani se nahajajo živali, ali na strani z ostanki piretrina ali na strani s čisto zemljo (Slika 5).



Slika 5: Porazdelitev poskusnih živali, ki so imele na izbiro onesnaženo in neonesnaženo zemljo.

Poskus smo ponovili z uporabo manjših količin insekticidnega pripravka (5 in 10  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje) in kontrolno skupino. Pri tem poskusu smo nanegli povprečno 3,55 in 8,05  $\mu\text{g}$  piretrina/g s.t. zemlje.

Delež živali, ki se onesnaženi hrani izogne (I), smo izračunali po formuli (ISO, 2008):

$$I = ((K-O)/N) \times 100$$

pri čemer je K število živali na čisti zemlji, O število živali na onesnaženi zemlji in N število vseh živali v posodici. Dobljene vrednosti so v območju med 100 (vse živali na čisti zemlji) in -100 (vse živali na onesnaženi zemlji).

### 3.3 PRIPRAVEK BIO PLANTELLA FLORA KENYATOX VERDE

Insekticidni pripravek Bio plantella flora kenyatox verde (Slika 6) vsebuje naslednje sestavine: piretrine, piperonil butoksid, solvesso, vodo in inertne snovi. Uporablja se za zatiranje rastlinskih škodljivcev, kot so listne uši, resokrilci in rastlinjakov ščitkar (varnostni list). Njegova karenca je 4 dni za kumare, paradižnik, fižol in grah ter 7 dni za listno zelenjavo (FURS). Pripravek je občutljiv na svetlobo in se ne razvršča kot nevaren (varnostni list).



Slika 6: Insekticidni pripravek Bio plantella flora kenyatox verde.

### 3.4 STATISTIČNA ANALIZA

Za analizo rezultatov smo uporabili statistični program SPSS 17.0. Za testiranje razlik med dvema skupinama smo uporabili neparametrski Mann-Whitney test, za testiranje razlik med več skupinami pa Kruskal-Wallis test. Za statistično značilno razliko smo določili mejo  $p < 0,05$ . Določili smo najvišje uporabljene koncentracije, ki na živali niso imele učinka (NOEC) oz. najnižje uporabljene koncentracije, ki povzročijo značilen učinek (LOEC).

LC50, koncentracijo, ki povzroči 50% smrtnost poskusnih živali smo izračunali po Spearman-Kärber metodi (Hamilton s sod., 1977).

EC50, koncentracijo, ki povzroči 50% spremembo merjenega parametra, smo izračunali po log-logističnem modelu (Haanstra s sod., 1985).

## 4 REZULTATI

### 4.1 IZPOSTAVITEV INSEKTICIDNEMU PRIPRAVKU Z ONESNAŽENO HRANO

#### 4.1.1 Umrljivost osebkov in levitev

V prvem poskusu, kjer smo uporabili nizke količine insekticidnega pripravka, je bila stopnja umrljivosti poskusnih živali pri vseh skupinah visoka (Preglednica 8). Pogin je bil največji v drugem in četrtem tednu. Največ živali se je levilo drugi teden.

Preglednica 8: Umrljivost in levitev poskusnih živali v 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500 µl/g s.t. lista). 0 je kontrolna skupina. L je število živali, ki so se levile; S je število živali, ki so poginile; LS je število živali, ki so se levile in nato poginile. N = 32.

	0			125			250			500		
	S	L	LS	S	L	LS	S	L	LS	S	L	LS
1. teden	1	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
2. teden	2	1	0	4	1	0	1	4	0	4	0	0
3. teden	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
4. teden	2	0	0	2	0	0	4	1	1	2	0	0
Skupaj	5	2	0	6	3	0	6	5	1	6	0	0

V drugem poskusu, kjer smo uporabili visoke količine insekticidnega pripravka, je stopnja umrljivosti naraščala z naraščanjem količine pripravka (Preglednica 9), pri kontrolni skupini pa ni presegla 10%. Pogin je bil največji zadnja dva tedna. LC<sub>50</sub> je bila 1121 µl pripravka/g s.t. lista (95% interval zaupanja: 519 – 2422) oz. 829 µg piretrina/g s.t. lista (95% interval zaupanja: 384 – 1791).

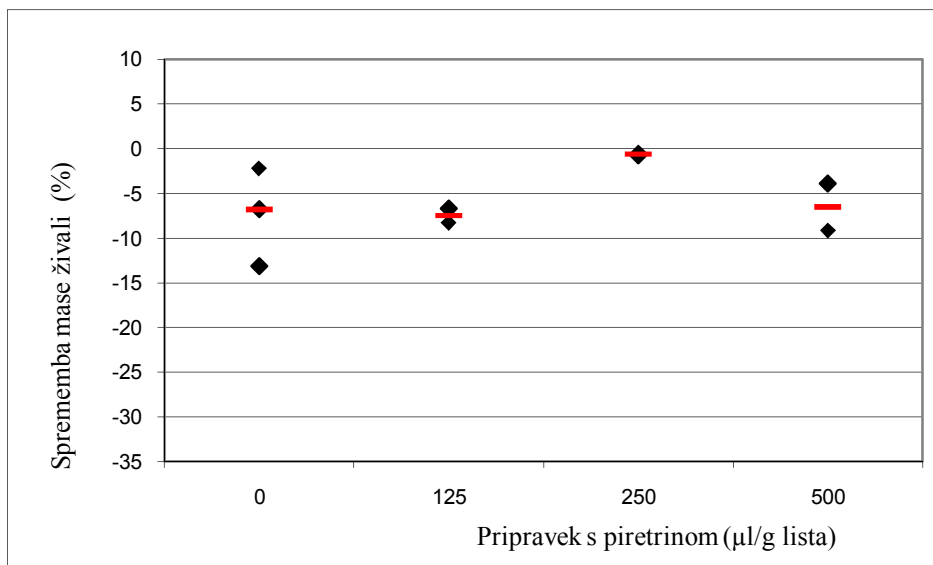
Noben poskus ni pokazal povezave med levitvijo in umrljivostjo.

Preglednica 9: Umrljivost in levitev poskusnih živali v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). 0 je kontrolna skupina. L je število živali, ki so se levile; S je število živali, ki so poginile; LS je število živali, ki so se levile in nato poginile. N = 40.

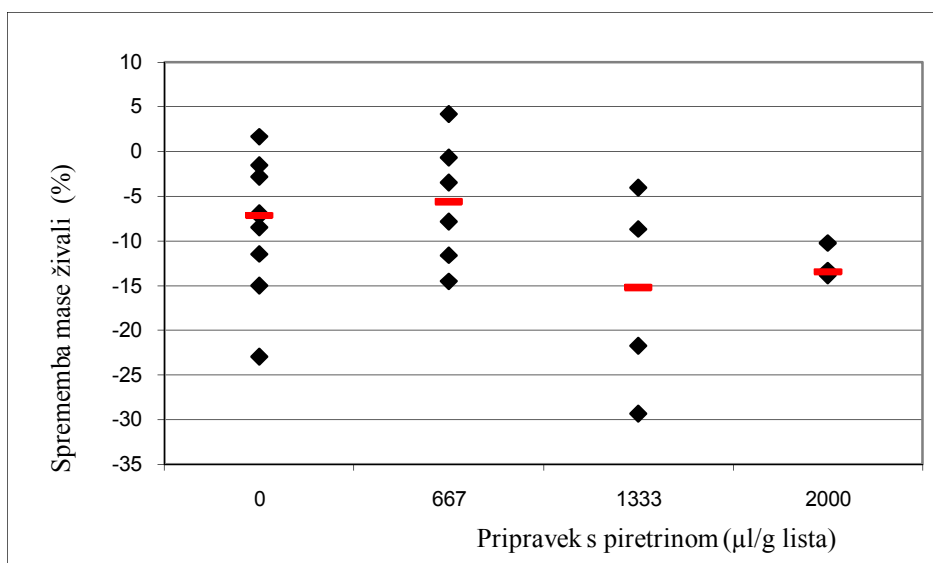
	0			667			1333			2000		
	S	L	LS	S	L	LS	S	L	LS	S	L	LS
1. teden	0	1	0	1	2	0	0	0	0	1	1	0
2. teden	0	0	0	0	2	0	2	1	0	0	1	0
3. teden	0	0	0	0	1	0	4	0	0	3	2	0
4. teden	1	0	0	3	1	1	0	1	0	2	0	0
Skupaj	1	1	0	4	6	1	6	2	0	6	4	0

#### 4.1.2 Sprememba telesne mase živali

Vse živali, kontrolne in tretirane, so v poskusu z nižjimi koncentracijami pripravka (razen pri 250  $\mu\text{l/g}$  s.t. lista) minimalno izgubljale telesno maso (do 5%) (Slika 7), medtem ko je bila izguba mase pri višjih koncentracijah tudi do 15% (Slika 8). Vendar pa med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik (Kruskal-Wallis test).



Slika 7: Sprememba telesne mase preživelih živali po 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500  $\mu\text{l/g}$  s.t. lista). 0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti (odstotki, glede na začetno težo). N = 9.

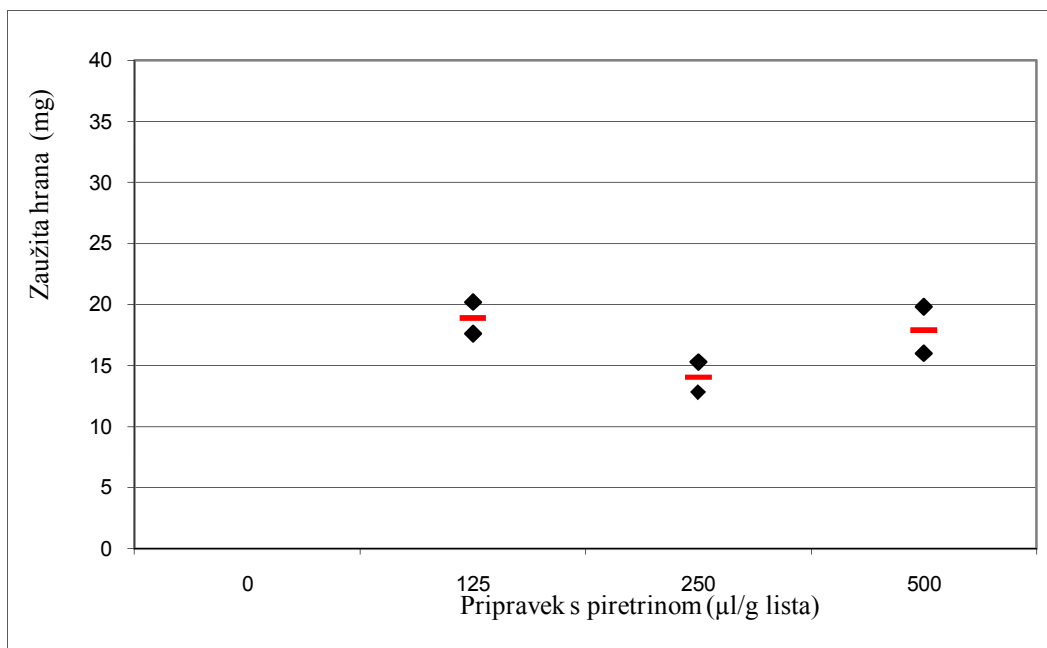


Slika 8: Sprememba telesne mase preživelih živali po 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). 0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti (odstotki, glede na začetno težo). N = 23.



#### 4.1.3 Prehranjevanje

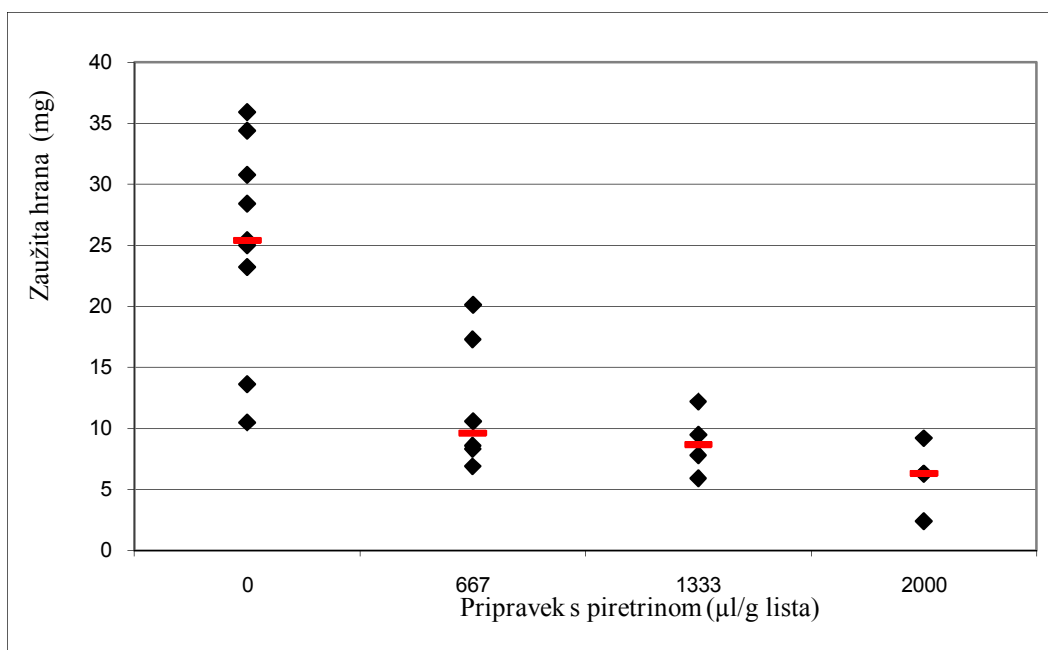
Pri poskusu z nizkimi količinami insekticidnega pripravka ni bilo statistično značilnih razlik med skupinami v količini zaužite hrane (Kruskal-Wallis test; Slika 9). Zaradi poskusne napake za kontrolno skupino nimamo podatkov o količini zaužite hrane.



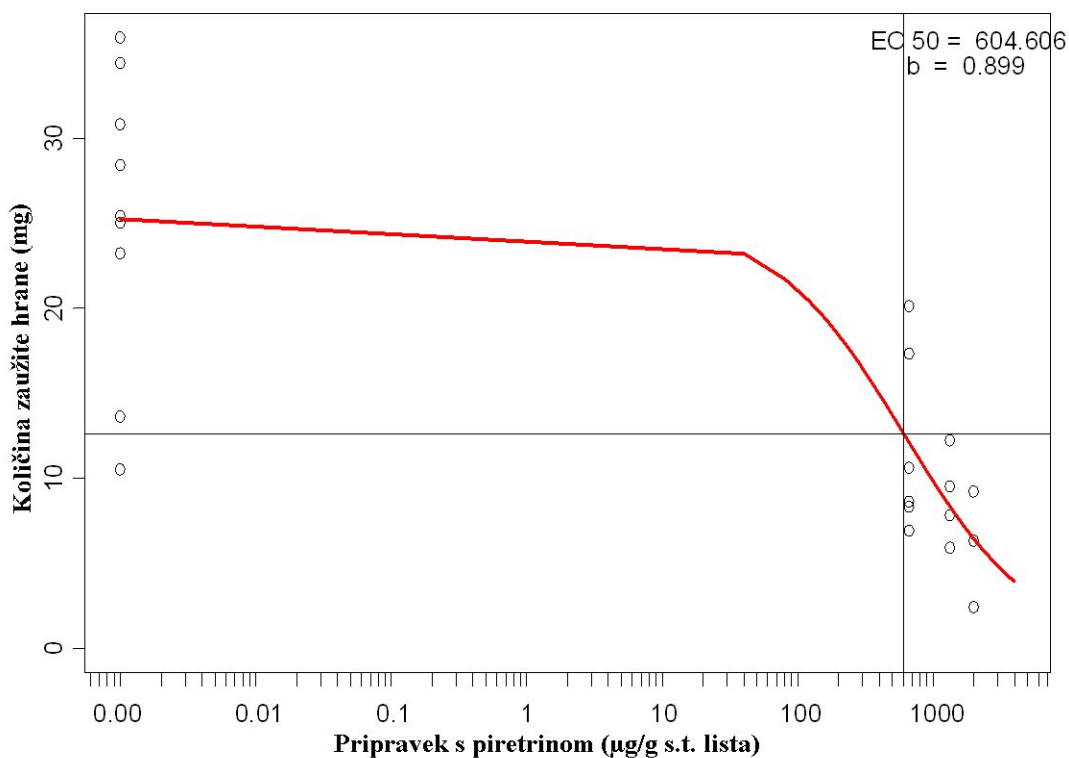
Slika 9: Masa zaužite hrane na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500 µl/g s.t. lista). 0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti. N = 6.

Pri poskusu z visokimi količinami insekticidnega pripravka je količina zaužite hrane upadala z naraščanjem koncentracije piretrina v hrani (Slika 10). Že pri skupini z dodanimi 667 µl pripravka/g s.t. lista oz. 493,5 µg piretrina/g s.t. lista je bil upad statistično značilen (Mann-Whitney test), kar pomeni, da je 493,5 µg piretrina/g s.t. lista LOEC vrednost. EC<sub>50</sub> za zaužito hrano je 604,6 µl pripravka/g s.t. lista (95% interval zaupanja: 0 (-16) – 1229) (Slika 11) oz. 448 µg piretrina/g s.t. lista (95% interval zaupanja: 0 (-7,5) – 906).

Posamezna žival je v 28 dneh izpostavitve s hrano zaužila približno 6 µg (pri 667 µl pripravka/g s.t. lista) oz. 9 µg piretrina (pri 1333 in 2000 µl pripravka/g s.t. lista). Groba ocena LD<sub>50</sub> je 8 µg piretrina na žival v 28 dneh, če zanemarimo razpad piretrina v času poskusa in napako nanosa.

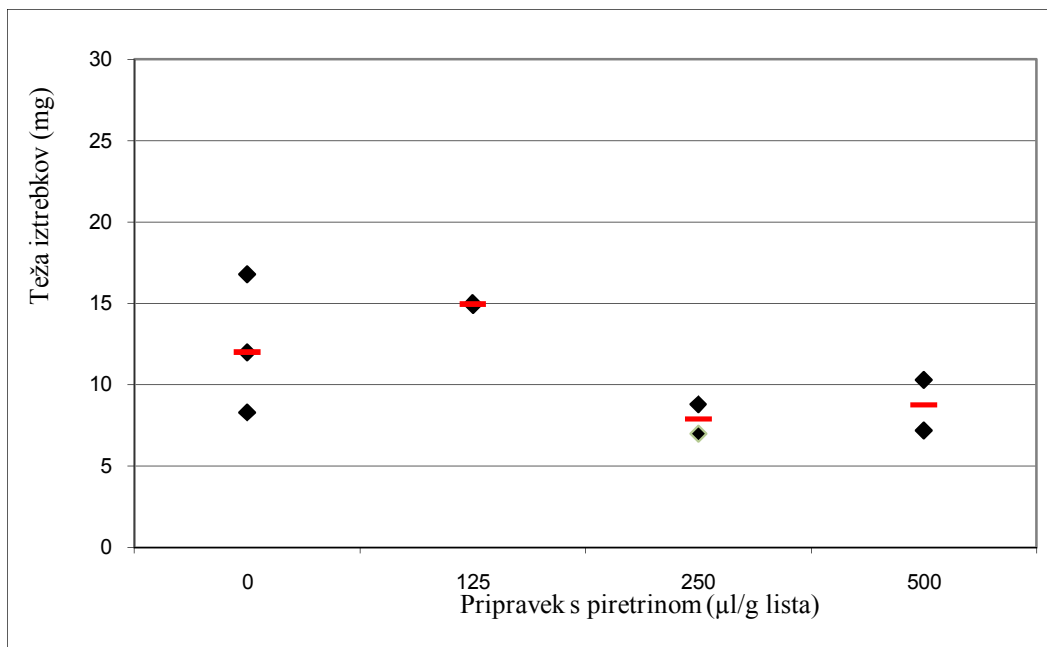


Slika 10: Masa zaužite hrane na preživelih živalih v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). 0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti. N = 23.



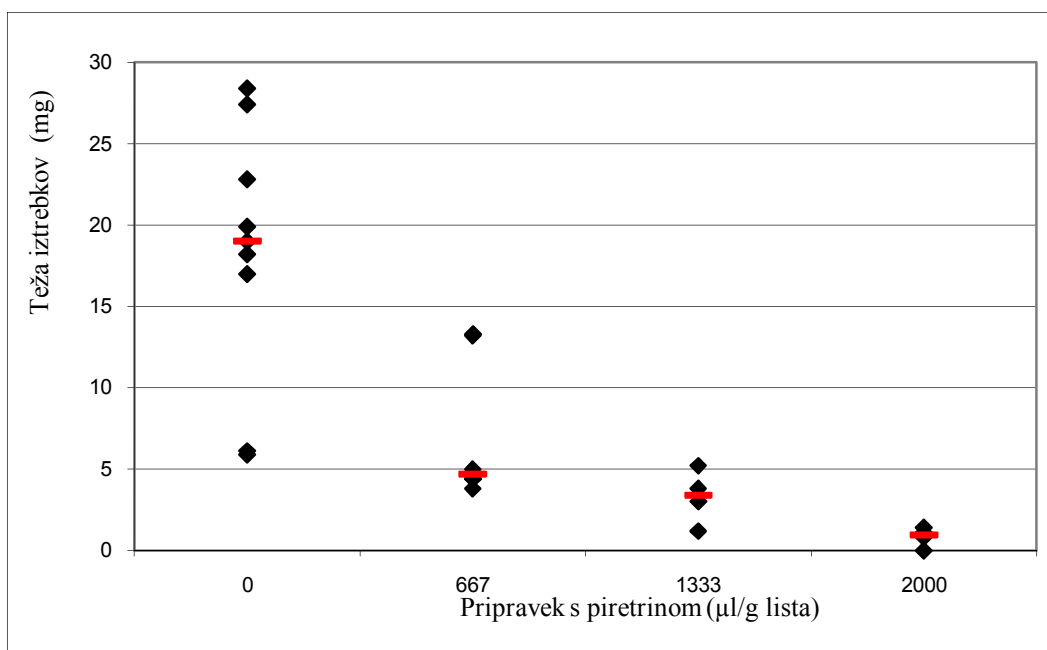
Slika 11: Koncentracijska odvisnost količine zaužite hrane (mg) pri živalih, ki so bile 28 dni izpostavljene visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista).

Pri poskusu z nizkimi količinami insekticidnega pripravka ni bilo statistično značilnih razlik med skupinami v količini izločenih iztrebkov (Kruskal-Wallis test; Slika 12).

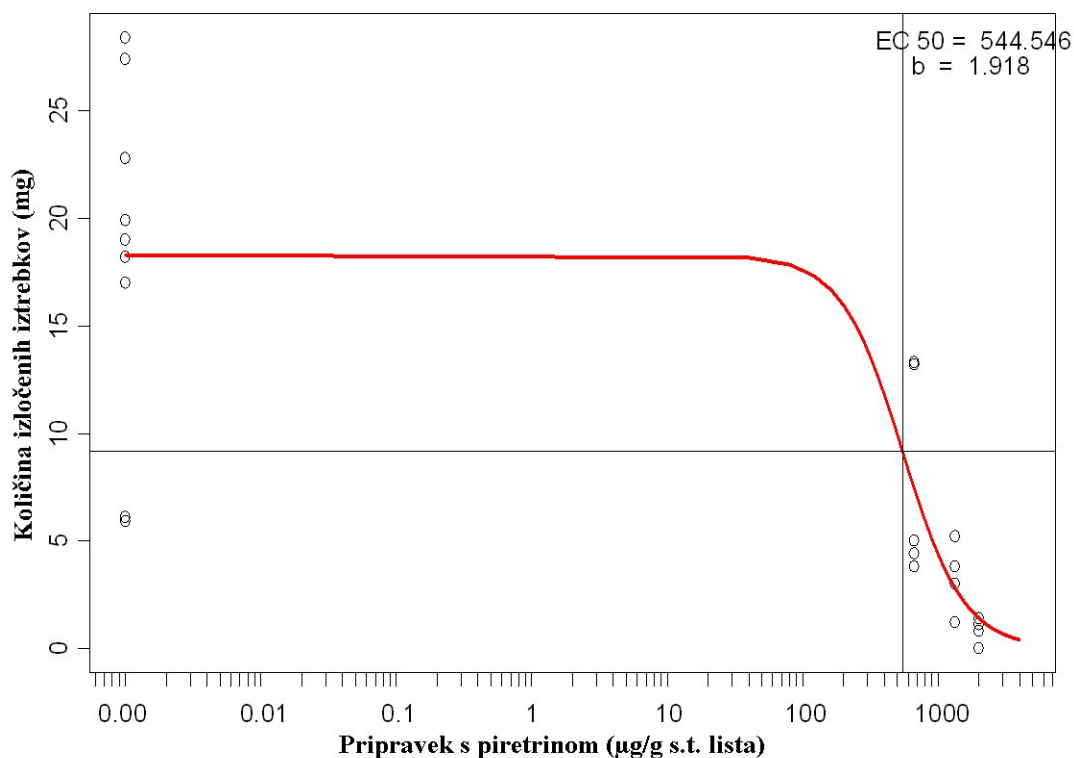


Slika 12: Masa izločenih iztrebkov na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve nizkim količinam pripravka s hrano (125, 250 in 500 µl/g s.t. lista). 0 so kontrolne skupine. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti. N = 9.

Pri poskusu z visokimi količinami insekticidnega pripravka je količina izločenih iztrebkov v času poskusa upadala z naraščajočo količino pripravka (Slika 13). LOEC je 667 µl pripravka/g s.t. lista oz. povprečno 493,5 µg piretrina/g s.t. lista. EC<sub>50</sub> je 544,5 µl pripravka/g s.t. lista (95% interval zaupanja: 146,5 – 945,9) (Slika 14) oz. okoli 404 µg piretrina/g s.t. lista (95% interval zaupanja: 111 – 698).



Slika 13: Masa izločenih iztrebkov na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista). 0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti. N = 23.



Slika 14: Koncentracijska odvisnost izločene mase iztrebkov pri živalih v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000 µl/g s.t. lista).

## 4.2 IZPOSTAVITEV INSEKTICIDNEMU PRIPRAVKU Z ONESNAŽENO HRANO Z MOŽNOSTJO IZBIRE MED ONESNAŽENO IN NEONESNAŽENO HRANO

### 4.2.1 Umrljivost osebkov in levitev

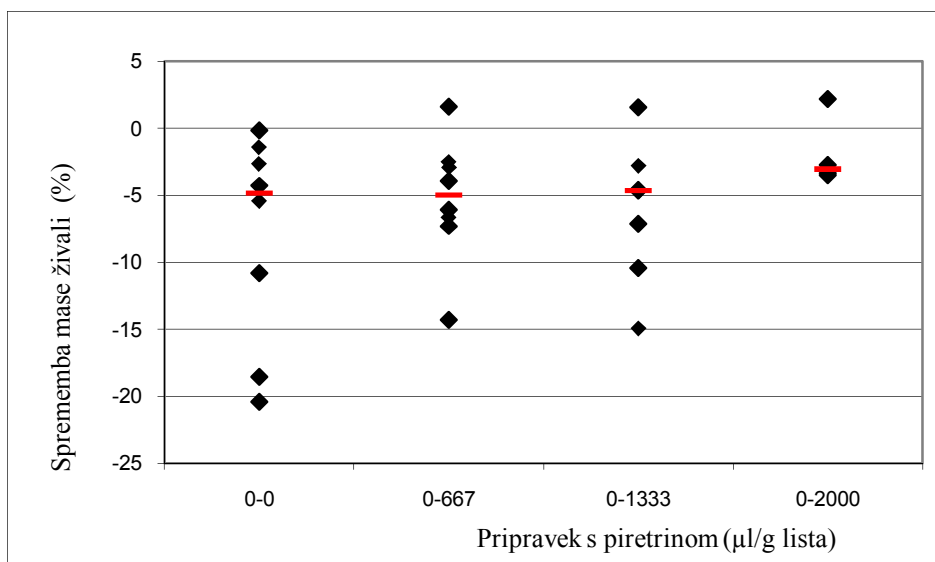
Stopnja umrljivosti je bila najvišja pri najvišji količini dodanega insekticidnega pripravka (2000 µl/g s.t. lista), to je vsaj še enkrat večja kot pri nižjih količinah pripravka (Preglednica 10). Pogin je bil največji tretji teden. Smrtnost kontrolnih živali je bila 20%. Poskus ni pokazal povezave med levitvijo in umrljivostjo.

Preglednica 10: Umrljivost in levitev poskusnih živali v 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). 0-0 je kontrolna skupina. L je število živali, ki so se levile; S je število živali, ki so poginile; LS je število živali, ki so se levile in nato poginile. N = 40.

	0-0			0-667			0-1333			0-2000		
	S	L	LS	S	L	LS	S	L	LS	S	L	LS
1. teden	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0
2. teden	1	1	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0
3. teden	0	1	0	1	0	0	1	0	0	5	0	0
4. teden	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Skupaj	2	2	0	2	4	1	3	0	0	6	1	0

#### 4.2.2 Sprememba telesne mase živali

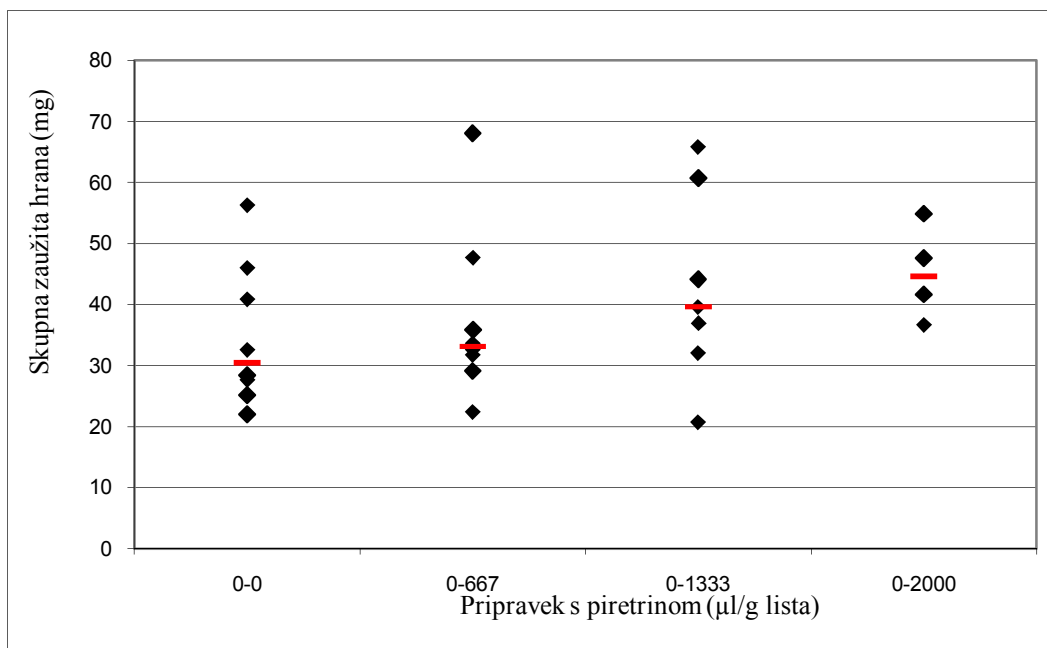
Večina živali je v času poskusa izgubila telesno maso. Med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik (Kruskal-Wallis test; Slika 15).



Slika 15: Sprememba telesne mase preživelih živali po 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). 0-0 je kontrolna skupina. Rdeča črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti (odstotki, glede na začetno težo). N = 27.

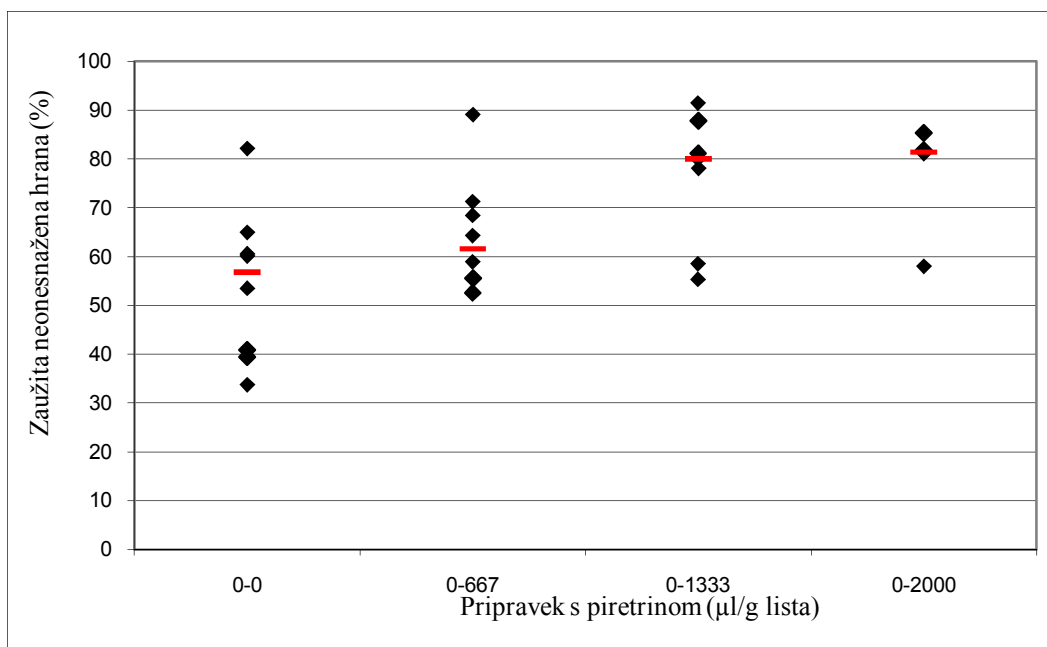
#### 4.2.3 Prehranjevanje

Živali so v času poskusa pojedle približno od 20 do 70 mg hrane (onesnažen in neonesnažen košček lista). Med skupinami ni bilo statistično značilnih razlik (Kruskal-Wallis test; Slika 16).



Slika 16: Masa skupne zaužite hrane na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl pripravka/g s.t. lista). 0-0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti. N = 27.

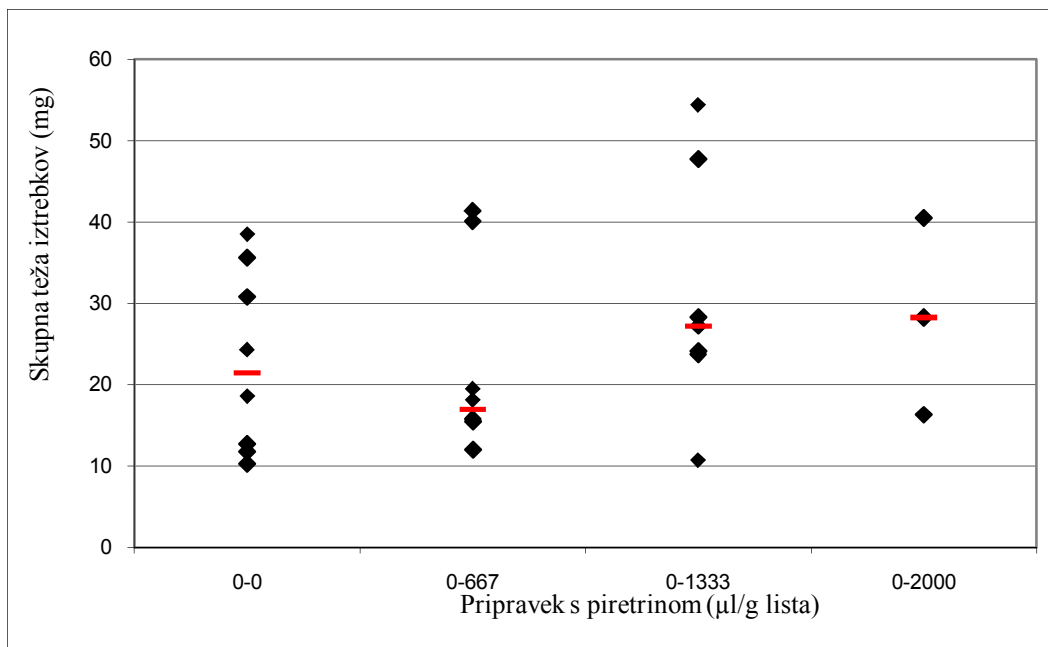
Živali, ki so imele na izbiro čisto hrano in hrano z dodanim pripravkom, so vse zaužile več čiste hrane (Slika 17). Pri kontrolni skupini je bila preferenca po enem ali drugem koščku hrane naključna.



Slika 17: Delež zaužite neonesnažene hrane na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve visokim količinam pripravka v hrani, z možnostjo izbire čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). 0-0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti. N = 27.



Skladno s količino skupne zaužite hrane med skupinami ni bilo upada količine izločenih iztrebkov (Slika 18).



Slika 18: Masa izločenih iztrebkov na preživelo žival v 28 dneh izpostavitve pripravku v hrani, ob sočasni prisotnosti čiste hrane (0-667, 0-1333 in 0-2000 µl/g s.t. lista). 0-0 je kontrolna skupina. Rdeče črte so mediane. Rombi so posamezne vrednosti. N = 27.

#### 4. 3 IZPOSTAVITEV INSEKTICIDNEMU PRIPRAVKU Z ONESNAŽENO ZEMLJO

V prvem poskusu, kjer onesnažene zemlje nismo sušili, so bile kontrolne živali in živali, izpostavljene nižjim koncentracijam pripravka (5 in 10  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje) večinoma neprizadete (le kakšna žival je poginila, gibljivost je bila normalna) (Preglednica 11). Pri višjih koncentracijah pripravka (20 in 30  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje) je bila prizadetost (smrtnost in slabša gibljivost) značilno večja (92 in 100% po 24 urah izpostavitve) (Mann-Whitney test). Ob koncu poskusa je bila povprečna smrtnost 36% pri 20  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje in 68% pri 30  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje.

20  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. zemlje je bila torej LOEC vrednost za prizadetost.  $\text{EC}_{50}$  po 24 urni izpostavitvi pripravku v zemlji je bila 14,4  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. zemlje. Izračunana  $\text{LC}_{50}$  je bila 24,5  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. zemlje (po 24 urah na zemlji s pripravkom in 48 urah na čisti zemlji).

48 urna regeneracija po izpostavitvi je bila nizka (Preglednica 11). Od prizadetih živali se je po 48 urah na čisti zemlji regenerirala le po ena od prizadetih živali, ki so bile izpostavljene 20 in 30  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. zemlje (v povprečju 4 oz. 5% živali).

Preglednica 11: Prizadetost poskusnih živali po 24 urah izpostavitve pripravku brez sušenja (5, 10, 20 in 30  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje) ter po 24 in 48 urah na čisti zemlji. 0 so kontrole. P je število/delež prizadetih živali, NP je število neprizadetih živali, R je delež regeneriranih živali, S je delež poginulih živali. POVP je povprečje. N = 125.

SKUPINA ŽIVALI	P (št. živali)	NP (št. živali)	P (%)	P (št. živali)	NP (št. živali)	P (%)	R (%)	P (št. živali)	NP (št. živali)	P (%)	R (%)	S (št. živali)	S (%)
0_1	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_2	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_3	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_4	0	5	0	1	4	20	0	1	4	20	0	1	20
0_5	0	5	0	1	4	20	0	1	4	20	0	1	20
0_POVP	0	5	0	0,4	4,6	8	0	0,4	4,6	8	0	0,4	8
5_1	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_2	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_3	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_4	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_5	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_POVP	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_1	1	4	20	1	4	20	0	1	4	20	0	1	20
10_2	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_3	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_4	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_5	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_POVP	0,2	4,8	4	0,2	4,8	4	0	0,2	4,8	4	0	0,2	4
20_1	4	1	80	4	1	80	0	4	1	80	0	2	40
20_2	4	1	80	4	1	80	0	3	2	60	25	1	20
20_3	5	0	100	5	0	100	0	5	0	100	0	1	20
20_4	5	0	100	5	0	100	0	5	0	100	0	2	40
20_5	5	0	100	5	0	100	0	5	0	100	0	3	60
20_POVP	4,6	0,4	92	4,6	0,4	92	0	4,4	0,6	88	5	1,8	36
30_1	5	0	100	5	0	100	0	5	0	100	0	3	60
30_2	5	0	100	5	0	100	0	4	1	80	20	2	40
30_3	5	0	100	5	0	100	0	5	0	100	0	5	100
30_4	5	0	100	5	0	100	0	5	0	100	0	4	80
30_5	5	0	100	5	0	100	0	5	0	100	0	3	60
30_POVP	5	0	100	5	0	100	0	4,8	0,2	96	4	3,4	68
	24h IZPOSTAVITVE			24h NA ČISTI ZEMLJI				48h NA ČISTI ZEMLJI				ZAKLJUČEK	

V drugem poskusu, kjer smo zemljo po nanosu pripravka posušili, smo pri kontrolnih živalih in skupinah živali z nižjo koncentracijo pripravka (5 in 10  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje) opazili 100% neprizadetost (Preglednica 12). Pri skupinah z 20 in 30  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. zemlje je bila prizadetost živali značilno višja (povprečno 88% za 20  $\mu\text{l}$  in 60% za 30  $\mu\text{l}$  po 24 urah izpostavitve). Ob koncu poskusa je bila povprečna smrtnost 8% (20  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje) in 36% (30  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje).

Tudi v primeru sušenja pripravka po nanosu je bila LOEC vrednost 20  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. zemlje.  $\text{LC}_{50}$  ni bilo mogoče izračunati, medtem ko je bila  $\text{EC}_{50}$  vrednost 16  $\mu\text{l}$  pripravka/g s.t. zemlje.

Pri skupini z 20  $\mu\text{l}$  insekticidnega pripravka/g s.t. zemlje smo opazili povprečno 58% stopnjo regeneracije poskusnih žival (48 ur regeneracije), pri skupinah s 30  $\mu\text{l/g}$  s.t. zemlje pa povprečno 20% stopnjo regeneracije (48 ur) (Preglednica 12).

Preglednica 12: Prizadetost poskusnih živali po 24 urah izpostavitve pripravku po sušenju (5, 10, 20 in 30  $\mu$ l/g s.t. zemlje) ter po 24 in 48 urah na čisti zemlji. 0 so kontrole. P je število/delež prizadetih živali, NP je število neprizadetih živali, R je delež regeneriranih živali, S je delež poginulih živali. POVP je povprečje. N = 125.

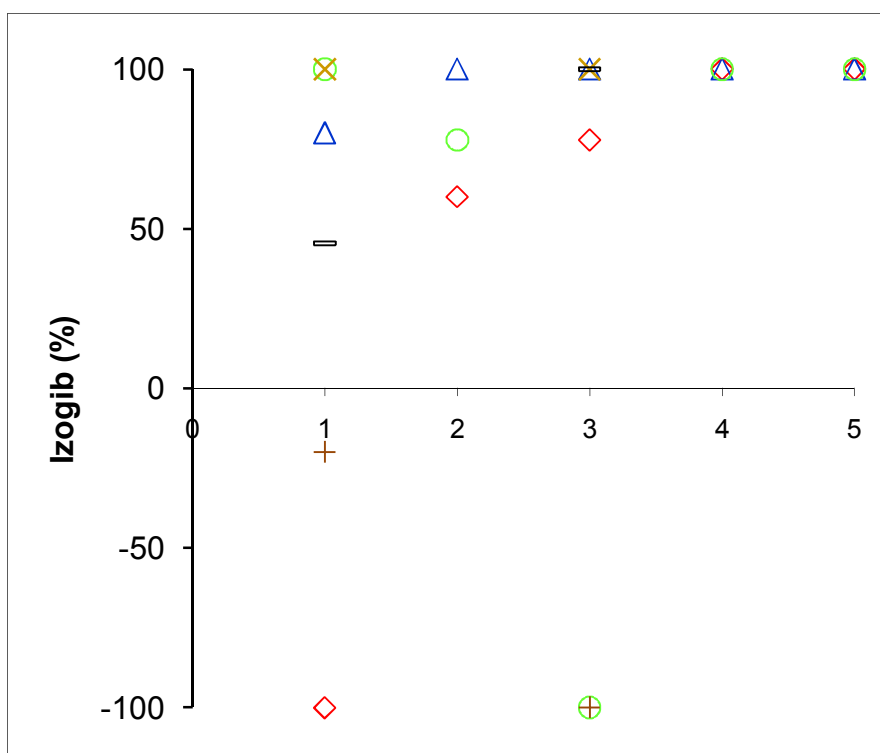
SKUPINA ŽIVALI	P (št. živali)	NP (št. živali)	P (%)	P (št. živali)	NP (št. živali)	P (%)	R (%)	P (št. živali)	NP (št. živali)	P (%)	R (%)	S (št. živali)	S (%)
0_1	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_2	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_3	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_4	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_5	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
0_POVP	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_1	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_2	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_3	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_4	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_5	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
5_POVP	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_1	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_2	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_3	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_4	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_5	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
10_POVP	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0
20_1	5	0	100	2	3	40	60	2	3	40	60	0	0
20_2	5	0	100	0	5	0	100	0	5	0	100	0	0
20_3	5	0	100	2	3	40	60	1	4	20	80	0	0
20_4	3	2	60	3	2	60	0	3	2	60	0	1	20
20_5	4	1	80	2	3	40	50	2	3	40	50	1	20
20_POVP	4,4	0,6	88	1,8	3,2	36	54	1,6	3,4	32	58	0,4	8
30_1	5	0	100	4	1	80	20	3	2	60	40	3	60
30_2	2	3	40	2	3	40	0	2	3	40	0	2	40
30_3	1	4	20	1	4	20	0	1	4	20	0	1	20
30_4	2	3	40	2	3	40	0	2	3	40	0	2	40
30_5	5	0	100	2	3	40	60	2	3	40	60	1	20
30_POVP	3	2	60	2,2	2,8	44	16	2	3	40	20	1,8	36
	24h IZPOSTAVITVE			24h NA ČISTI ZEMLJI				48h NA ČISTI ZEMLJI				ZAKLJUČEK	

#### 4. 4 SPOSOBNOST IZBIRE MED ONESNAŽENO IN NEONESNAŽENO ZEMLJO

Kontrolne živali, ki so imele obe strani posodice napolnjeni s čisto zemljo, so stran izbirale naključno (Slika 19). Pri skupini, ki je imela na eni strani onesnaženo zemljo s 5  $\mu$ l insekticidnega pripravka/g s.t. zemlje, je bil izogib 60 – 100%. Pri skupini z 10  $\mu$ l pripravka/g s.t. zemlje je bil izogib v treh posodicah 100%, v eni 77,8%, v dveh posodicah pa so bile vse živali na onesnaženi zemlji. Pri najvišjih količinah insekticidnega pripravka (20 in 30  $\mu$ l/g s.t. zemlje) smo opazili 100% izogib, saj smo vse poskusne živali našli na neonesnaženi zemlji.

Opazili smo, da se živali v posodicah razporejajo skupinsko (gručasto). V kontrolnih posodicah so bile poskusne živali lahko v več manjših skupinah, v posodicah z dodanim insekticidnim pripravkom pa večinoma v eni večji skupini.

Smrtnost je bila minimalna (4,4%) – 4 poskusne živali so pojedle druge živali (Priloga N).



Slika 19: Izogib živali zemlji, onesnaženi z insekticidnim pripravkom. Navpična skala: 100 pomeni, da so bile vse poskusne živali na čisti zemlji; -100 pomeni, da so bile vse živali na onesnaženi zemlji. Vodoravna skala: 1 so kontrolne skupine živali; 2, 3, 4 in 5 so skupine živali, ki so imele zemljo na eni strani posodice onesnaženo (5, 10, 20 in 30  $\mu$ l pripravka/g s.t. zemlje). Posamezne barvne oznake predstavljajo posamezno skupino živali. N = 105.

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 SPLOŠNE UGOTOVITVE O UČINKIH PRIPRAVKA S PIRETRINOM NA RAKE

V diplomskem delu smo ugotavljali učinke pripravka s piretrinom na rake enakonožce vrste *Porcellio scaber*. Ugotavljali smo vpliv na smrtnost, prizadetost, prehranjevanje, rast in levitev živali ter njihovo sposobnost regeneracije po izpostavitvi in izogib pripravku.

Smrtnost kontrolnih živali v poskusih ni preseгла 20 %, z izjemo prvega poskusa, kjer je bil visok delež poginulih živali verjetno posledica neustreznega rokovanja z živalmi zaradi neizkušenosti in neustreznih pogojev (zlasti previsoke vlage). V nadaljnjih poskusih se je izkazalo, da izpostavitve 667  $\mu$ l insekticidnega pripravka v gramu hrane že povzroči značilno večji pogin živali. Omenjeni volumen, to je približno 0,1 ml pripravka, nanese na površino lista (približno 35-40 cm<sup>2</sup>) že z enkratnim pritiskom na ročico pršilke. Ta volumen ustreza približno 500  $\mu$ g piretrina/g hrane, kar smo v našem primeru upoštevali kot vrednost LOEC, ki značilno zmanjša preživetje živali. Izračunana vrednost LC<sub>50</sub> je bila 829  $\mu$ g piretrina/g s.t. lista, kar je več kot za insekticida karbofuran (485  $\mu$ g a.s./g s.t. hrane) in diazinon (74,15  $\mu$ g/g) (Vink in sod., 1995). Pri izračunu koncentracij piretrina (LC<sub>50</sub>) nismo upoštevali možnih odstopanj od deleža piretrina v pripravku (0,075%), napake pri nanašanju in razpadanja pripravka po nanosu. Če upoštevamo, da je razpolovna doba za piretrin le nekaj ur (HSDB, 2001 v Todd in sodelavci, 2003) in da so bili listi po nanosu sušeni pri 50°C (pri 60°C razpade 65% piretrinov - Atkinson in sodelavci, 2004 v Gunasekara, 2005), potem so dejanske vrednosti LOEC in LC<sub>50</sub> precej nižje.

Pri poskusu z uporabo 667-2000  $\mu$ l pripravka/g s.t. lista (približno 0,1-0,3 ml pripravka na list) je prišlo do upada prehranjevanja in posledično tudi do upada količine izločenih iztrebkov. Upad hranjenja je običajen odziv kopenskih rakov enakonožcev, ugotovljen v številnih tovrstnih poskusih. Ribeiro in sodelavci (2001) so opazili upad prehranjevanja pri 100, 250 in 500  $\mu$ g insekticida endosulfana/g hrane. Drobne in sodelavci (1995) pa so opazili upad pri 2000, 5000 in 10000  $\mu$ g cinka/g s.t. lista. Upad hranjenja je lahko vedenjski odziv na neustrezno hrano ali pa posledica zastrupitve, ki onemogoča primerno hranjenje.

Kljub upadu prehranjevanja so živali v času poskusa zaužile približno od 6 do 9  $\mu$ g piretrina. Približna ocena LD<sub>50</sub> je bila 8  $\mu$ g piretrina na posamezno žival v 28 dneh, kar je

manj kot so ocenili za čebele: 22 µg piretrina/čebelo, verjetno ob enkratnem odmerku (U.S. EPA PED v Gunasekara, 2005). Podatki o LD<sub>50</sub> za hišno muho pa navajajo nižje vrednosti, in sicer od 0,2 do 1,77 µg piretrinov/muho (Gunasekara, 2005).

Pri možnosti izbire čiste in onesnažene hrane so vse živali raje imele čisto hrano. Maksimalna preferenca je bila približno 80% pri višjih koncentracijah pripravka s piretrinom (1333 in 2000 µl/g lista). V podobni raziskavi, kjer so uporabili kadmij, so živali prav tako raje imele čisto hrano (maksimalna preferenca je bila 65%) (Zidar in sod., 2005). Izjema so bile kontrolne živali, ki so imele na izbiro le čisto hrano. Pri njih je bila preferenca naključna.

V raziskavi ni bilo statistično značilnih razlik med skupinami v količini skupne zaužite hrane, kar je ugotovil tudi Zidar s sod. (2005). Ker so imele živali na voljo tudi čisto hrano, izpostavitve insekticidnemu pripravku oz. kovini ni vplivala na prehranjevanje. Živali so se prehranjevale normalno in zaužile več čiste hrane.

Zidar in sodelavci navajajo, da ni bilo statistično značilnih razlik med skupinami v številu poginulih živali. Pri poskusu z insekticidnim pripravkom pa smo opazili izrazito povečano umrljivost pri najvišji koncentraciji pripravka (2000 µl/g lista). Pri tej koncentraciji se živali, kljub precej večjemu deležu zaužite čiste hrane (80%), niso mogle izogniti učinkom pripravka s piretrinom.

Poskusne živali so v času 28-dnevne izpostavitve insekticidnemu pripravku z in brez možnosti izbire predvsem izgubljale težo, kar se ujema z opazovanji Vinka in sodelavcev (1995). Zidar in sodelavci (2005) pa navajajo, da so živali pridobile maso. Vzrok za izgubo mase ni izpostavitve pripravku, saj ni bilo statistično značilnih razlik med skupinami. Razlog je verjetno osiromašena prehrana in večja poraba energije zaradi stresa. Živali so se 28 dni prehranjevale le s koščki leskovih listov, Zidar in sodelavci (2005) pa so uporabili bolj kompleksno hrano (mešanica listja, želatine in ribje hrane). Farcas s sodelavci (1996) ugotavlja, da živali, hranjene samo z listi javorja, kljub večji količini zaužite hrane, počasneje priraščajo in pogosteje umirajo v primerjavi z živalmi, hranjenimi s sestavljeno hrano (listi javorja, krompir in hrana za kunce).



Živali smo piretrinom v zemlji izpostavili v dveh zaporednih poskusih, v drugem smo po nanosu pripravka zemljo posušili (2 uri pri cca. 30°C). Piretrini so zelo temperaturno občutljivi. Že pri 20°C razpade 26 % piretrinov (Atkinson in sod., 2004, v Gunasekara, 2005). Razlike med enim in drugim poskusom so se pokazale pri višjih koncentracijah pripravka (20 in 30 µl/g zemlje). Pri poskusu s piretrini v zemlji brez predhodnega sušenja sta bila pogin in prizadetost večja kot pri poskusu z ostanki piretrina po sušenju. Regeneracijo živali pa smo opazili le pri drugem poskusu, kjer smo zemljo po nanosu posušili. Kontrolne živali in živali, izpostavljene nižjim koncentracijam (5 in 10 µl/g zemlje), so bile v obeh poskusih neprizadete.

Vrednosti LC<sub>50</sub> pri 24 urni izpostavitvi pripravku z zemljo so bile v obeh primerih znatno nižje kakor LC<sub>50</sub> pri štiri tedenski izpostavitvi s hrano. O tem je poročala tudi Vink s sodelavci (1995). Pri prehodu lipofilnih snovi skozi telesno površino le-te pridejo neposredno v telesne tekočine, pri zaužitju pa se po prehodu skozi prebavilo presnavljajo in verjetno pride le manjši del nespremenjen v telesne tekočine. Verjetno je poglaviti razlog za tako veliko razliko dejstvo, da so živali vnos insekticida pri izpostavitvi s hrano omejile z upadom prehranjevanja, pri izpostavitvi z zemljo pa se insekticidu niso mogle izogniti. Namreč pri 48 urni izpostavitvi pripravku z možnostjo izbire čiste zemlje je bila smrtnost manjša od 5% tudi pri najvišji koncentraciji pripravka. Do podobnih ugotovitev je prišla tudi Loureiro s sodelavci (2005), ki poroča o smrtnosti manjši kot 20%, saj so se živali z izbiro čiste zemlje izognile učinkom izbranih pripravkov.

Pri poskusu, kjer so izopodi imeli na izbiro onesnaženo in čisto zemljo, smo namreč opazili izogib onesnaženi zemlji že pri najnižji koncentraciji insekticidnega pripravka, to je 5 µl/g zemlje. Pri najvišjih koncentracijah (20 in 30 µl/g zemlje) je bil izogib celo 100%. Kontrolne živali so del posodice z zemljo izbirale naključno. Da se izopodi lahko izognejo onesnaženi zemlji so opazili tudi Loureiro in sodelavci (2005). Izogib so opazili pri npr. 20 µg dimetoata in 1500 µg bakrovega sulfata/g zemlje (Loureiro in sod., 2005).

Težko je pojasniti, zakaj so bile pri vmesni koncentraciji pripravka s piretrinom (10 µl/g zemlje) v dveh posodicah vse poskusne živali na onesnaženi zemlji (zato smo poskus z omenjeno koncentracijo ponovili). Malo verjetno je, da je prišlo do poskusne napake – do napačne oznake čiste in onesnažene strani posodice. Morda pri nizkih koncentracijah živali

težje zaznajo razliko med čisto in onesnaženo zemljo. Možen razlog je tudi socialni efekt. Verjetno so se posamezne živali začele zbirati na nekem mestu na onesnaženi zemlji in glavnini živali so se nato pridružile še ostale poskusne živali.

## 5.2 SKLEPI

- Neposredna kratkotrajna (24 urna) izpostavitve  $\geq 20 \mu\text{l}$  pripravka s piretrinom v gramu suhe zemlje povzroči prizadetost in pogin poskusnih živali. Stopnja regeneracije živali je nizka.
- Ostanke piretrina v zemlji (po sušenju  $\geq 20 \mu\text{l}$  pripravka s piretrinom v gramu suhe zemlje) povzročijo prizadetost živali. Stopnja regeneracije živali je zaznavna.
- Ob dolgotrajnejši izpostavitvi ostankom piretrina v hrani (4 tedne) se poveča smrtnost živali, zmanjša se količina zaužite hrane in količina izločenih iztrebkov. Vpliva na spremembo mase in na levitev nismo zaznali.
- Kopenski enakonožci lahko zmanjšajo učinke pripravka s piretrinom z izbiro neonesnažene hrane ali neonesnažene zemlje.

## 6 POVZETEK

Fitofarmaceutska sredstva so aktivne snovi in pripravki, ki so namenjeni za varstvo rastlin. Bio plantella flora kenyatox verde je fitofarmaceutsko sredstvo (insekticidni pripravek) na osnovi piretrinov, ki se ne razvršča kot nevaren in je na voljo brez omejitev v posebnem delu prodajaln z živili. Iz tega razloga se pogosto uporablja v t.i. vrtičkarstvu, kjer je količina in način uporabe fitofarmaceutskih sredstev nenadzorovana in pogosto neustrezna.

Piretrini so kemikalije z insekticidnim delovanjem, ki jih vsebuje piretrum, ekstrakt cvetov krizantem (*Chrysanthemum cinerariaefolium* in *C. cinereum*). Podatkov o njihovem vplivu na netarčne organizme (z izjemo čebel) je malo. Zato smo se odločili raziskati vplive omenjenega pripravka s piretrini na kopenskih enakonožcih vrste *Porcellio scaber*. Ker so sinantropna vrsta, jih najpogosteje najdemo v bližini človekovih bivališč, tudi na vrtovih, in tako lahko pridejo v stik s pripravkom.

Namen raziskave je bil ugotoviti, kakšen je neposreden učinek izbranega fitofarmaceutskega pripravka na kopenske rake enakonožce kot netarčne organizme (prizadetost ali smrtnost) in stopnjo regeneracije živali po kratkotrajni neposredni izpostavitvi pripravku. Ugotavljali smo, kako ostanki pripravka na listnem opadu ali zemlji učinkujejo na rake enakonožce in določili fiziološke parametre, kot so smrtnost, levitev, sprememba mase in prehranjevanje. Zanimalo nas je tudi, ali se kopenski enakonožci lahko izognejo učinkom pripravka s piretrinom v hrani/zemlji (izogib onesnaženi hrani, izbira neonesnažene hrane ali zemlje).

Učinke smo ugotavljali tako, da smo živali izpostavili pripravku z onesnaženo hrano (28 dni) in z onesnaženo zemljo. Po 24 urah izpostavitve onesnaženi zemlji smo živali prestavili na čisto zemljo (za 48 ur) in določili stopnjo regeneracije. Poskusnim živalim smo tudi hkrati ponudili onesnaženo in čisto hrano (leskovo listje) ter dali na izbiro onesnaženo in čisto zemljo, da smo ugotovili stopnjo izogiba pripravku. Pri vseh poskusih s hrano smo liste s pripravkom posušili. Piretrini so pri tem razpadli, saj so zelo temperaturno občutljivi. V tem primeru govorimo o ostankih piretrinov. Poskuse z zemljo smo izvedli s sušenjem in tudi brez sušenja zemlje.

Izpostavitve višjim koncentracijam pripravka s hrano (667, 1333 in 2000  $\mu\text{l/g}$  lista) je povzročila večjo smrtnost, ki se je povečevala z naraščanjem koncentracije pripravka. Povzročila je tudi upad prehranjevanja in posledično upad količine izločenih iztrebkov.

Pri možnosti izbire čiste in onesnažene hrane so imele vse živali raje čisto hrano. Maksimalna preferenca je bila približno 80% pri višjih koncentracijah pripravka s piretrinom (1333 in 2000  $\mu\text{l/g}$  lista). Izjema so bile le kontrolne živali, ki so imele na izbiro le čisto hrano. Pri njih je bila izbira naključna. V raziskavi ni bilo statistično značilnih razlik med skupinami v količini skupne zaužite hrane. Ker so imele živali na voljo tudi čisto hrano, izpostavitve insekticidnemu pripravku ni vplivala na prehranjevanje. Živali so se prehranjevale normalno in zaužile več čiste hrane. Opazili smo izrazito povečano umrljivost pri najvišji koncentraciji pripravka (2000  $\mu\text{l/g}$  lista). Pri tej koncentraciji se živali, kljub precej večjemu deležu zaužite čiste hrane (80%), niso mogle izogniti učinkom pripravka s piretrinom.

Izpostavitve izbranemu pripravku s hrano (z in brez izbire) ni vplivala na levitev in na spremembo mase. Živali so sicer v času poskusa večinoma izgubile maso, vendar je vzrok za to verjetno osiromašena prehrana in večja poraba energije zaradi stresa.

Pri izpostavitvi z zemljo (brez izbire) so imele učinek le višje koncentracije pripravka (20 in 30  $\mu\text{l/g}$  zemlje). Pri poskusu s piretrinom v zemlji (brez predhodnega sušenja) sta bila pogin in prizadetost večja kot pri poskusu z ostanki piretrina (po sušenju). Regeneracijo živali smo opazili le pri poskusu z ostanki piretrina. Kontrolne živali in živali, izpostavljene nižjim koncentracijam (5 in 10  $\mu\text{l/g}$  zemlje), so bile v obeh poskusih neprizadete.

Pri poskusu, kjer so izopodi imeli na izbiro onesnaženo in čisto zemljo, smo opazili izogib onesnaženi zemlji že pri najnižji koncentraciji insekticidnega pripravka, to je 5  $\mu\text{l/g}$  zemlje. Pri najvišjih koncentracijah (20 in 30  $\mu\text{l/g}$  zemlje) je bil izogib celo 100%. Kontrolne živali so del posodice z zemljo izbirale naključno. Težko je pojasniti, zakaj so bile pri vmesni koncentraciji pripravka s piretrinom (10  $\mu\text{l/g}$  zemlje) v dveh posodicah vse poskusne živali na onesnaženi zemlji. Poskus z omenjeno koncentracijo piretrina smo zato ponovili. Malo verjetno je, da je prišlo do poskusne napake – do napačne oznake čiste in onesnažene strani posodice. Morda pri nizkih koncentracijah živali težje zaznajo razliko med čisto in

onesnaženo zemljo. Možen razlog je tudi socialni efekt. Verjetno so se posamezne živali začele zbirati na nekem mestu na onesnaženi zemlji in glavnini živali so se nato pridružile še ostale poskusne živali.

Vrednosti  $LC_{50}$  pri 24 urni izpostavitvi pripravku z zemljo so bile znatno nižje kakor  $LC_{50}$  pri štiri tedenski izpostavitvi s hrano. Pri prehodu lipofilnih snovi skozi telesno površino le-te pridejo neposredno v telesne tekočine, pri zaužitju pa se po prehodu skozi prebavilo presnavljajo in verjetno pride le manjši del nespremenjen v telesne tekočine. Vendar pa je verjetno poglavitni razlog za tako veliko razliko dejstvo, da so živali vnos insekticida pri izpostavitvi s hrano omejile z upadom prehranjevanja, pri izpostavitvi z zemljo pa se insekticidu niso mogle izogniti. Namreč pri 48 urni izpostavitvi pripravku z možnostjo izbire čiste zemlje je bila smrtnosti tudi pri najvišji koncentraciji pripravka manjša od 5%, saj so se živali z izbiro čiste zemlje izognile učinkom izbranih pripravkov.

## 7 VIRI

Casida J.E. 1980. Pyrethrum flowers and pyrethroid insecticides. Environmental health perspectives Vol.34, pp.189-202

Drobne D. in Hopkin S.P. 1995. The toxicity of zinc to terrestrial isopods in a »standard« laboratory test. Ecotoxicology and environmental safety 31, 1-6

Farkas S., E. Hornung in E. Fischer (1996). Toxicity of copper to *Porcellio scaber* Latr. (Isopoda) under different nutritional status. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 57, 582-588

Fischer E., Farkas S., Hornung E. in Past T. 1997. Sublethal effects of an organophosphorus insecticide, dimethoate, on the isopod *Porcellio scaber* Latr. Comp. Biochem. Physiol. Vol. 116C, No. 2, pp. 161-166

Fitosanitarna uprava Republike Slovenije: <http://www.furs.si/>

Gunasekara A.S. 2005. Environmental fate of pyrethrins. Environmental monitoring branch. Department of pesticide regulation. Sacramento

Hamilton MA, Russo RC, Thurston RV (1977) Trimmed Spearman-Kärber method for estimating lethal concentrations in toxicity bioassays. Environ Sci Technol 11: 714–719.  
Correction: Environ Sci Technol 1978: 12: 417

Haanstra L., P. Doelman in J.M. Oude Voshaar (1985). The use of sigmoidal dose response curves in soil ecotoxicological research. Plant and Soil 84, 293-297

Hopkin S.P. 1991. A key to the woodlice of Britain and Ireland. Field studies Vol.7, No.4, Velika Britanija, 599-650

ISO 17512-1 2008. Soil quality -- Avoidance test for determining the quality of soils and effects of chemicals on behaviour -- Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*)

Loureiro S., Soares A.M.V.M. in Nogueira A.J.A. 2005. Terrestrial avoidance behaviour tests as screening tool to assess soil contamination. Environmental pollution 138: 121-131

Maček J. in Kač M. 1990. Kemična sredstva za varstvo rastlin. Kmečki glas. Ljubljana. 113-116

Mršič N. 1997. Živali naših tal. Uvod v pedozoologijo – sistematika in ekologija s splošnim pregledom talnih živali. Tehniška založba Slovenije

Poročilo o delu za obdobje od 1.1.2009 do 31.12.2009. Inštitut za varovanje zdravja Republike Slovenije

Potočnik F. 1993. Favnišično ekološke raziskave mokric. Doktorska disertacija. Zagreb, PMF, Prir.Odjel., Zool.Zavod

Ribeiro S., Sousa J.P., Nogueira A.J.A. in Soares A.M.V.M. 2001. Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 49, 131-138

Sousa J.P., Loureiro S., Pieper S., Frost M., Kratz W., Nogueira A.J.A. in Soares A.M.V.M. 2000. Soil and plant diet exposure routes and toxicokinetics of lindane in a terrestrial isopod. *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 19, No. 10, pp. 2557–2563

Todd G.D., Wohlers D., Citra M. 2003. Toxicological profile for pyrethrins and pyrethroids. U.S. Department of health and human services. Agency for toxic substances and disease registry. Atlanta. GA, 1-185

Varnostni listi za BIOTIP Ubij me nežno, FAZILO SPREJ, SPRUZIT KONCENTRAT, SPRUZIT PRAH, TERMINATOR Insekticid za rastline, VAPE GARDEN-insekticid, BIO PLANTELLA FLORA KENYATOX VERDE

Vink K., Dewi L., Bedaux J. in Tompot A. 1995. The importance of the exposure route when testing the toxicity of pesticides to saprotrophic isopods. *Environmental toxicology and chemistry* Vol. 14, No. 7, Amsterdam, 1225-1232

Zakon o fitofarmacevtskih sredstvih. Ur.l. RS, št. 11/2001. Spremembe: Ur.l. RS, št. 2/2004-ZZdr1-A, 37/2004, 98/2004-UPB1, 14/2007, 35/2007-UPB2

Zidar P., Božič J. in Štrus J. 2005. Behavioural response in the terrestrial isopod *Porcellio scaber* (Crustacea) offered a choice of uncontaminated and cadmium-contaminated food. *Ecotoxicology* 14., 493-502



## ZAHVALA

Zahvaljujem se:

Mentorju doc. dr. Primožu Zidarju za vso pomoč in potrpežljivost pri izvedbi poskusov, obdelavi rezultatov in pisanju diplomskega dela.

Vsem članom komisije za kritično branje diplomskega dela.

Jožici Murko Bulić za potrpežljivo usmerjanje po omarah in predalih.

Celotni Katedri za zoologijo, da so me lepo sprejeli.

Družini in prijateljem za vso spodbudo, podporo in pomoč pri mojem delu.

Sošolcem, ki so me spremljali vsa leta mojega študija. Bila so res lepa leta!

## PRILOGE

### Priloga A

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; kontrolne živali). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa. Zaradi poskusne napake ni vseh podatkov za mase listov.

ŽIVALI	0_1	0_2	0_3	0_4	0_5	0_6	0_7	0_8
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	48,90	41,30	41,20	67,10	52,00	64,10	45,00	46,00
MASA ŽIVALI POTEK (mg)	smrt	38,50	40,30	58,30	smrt	smrt	smrt	smrt
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	/	/	/	/	/	/	/	/
MASA LISTA POTEK 1 (mg)	smrt	77,30	80,50	72,10	73,80	89,60	smrt	smrt
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	/	/	/	/	/	/	/	/
MASA LISTA POTEK 2 (mg)	smrt	7,50	3,20	2,80	smrt	smrt	smrt	smrt
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	smrt	4,50	5,10	14,00	5,30	5,10	smrt	smrt
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	smrt	36,10	43,00	47,90	smrt	smrt	smrt	smrt

## Priloga B

Izpostavitvev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; 125 µl pripravka/g s.t. lista). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	125_1	125_2	125_3	125_4	125_5	125_6	125_7	125_8
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	58,00	55,10	61,90	45,40	53,00	63,30	60,50	55,80
MASA ŽIVALI POTE M (mg)	smrt	51,40	56,80	smrt	smrt	smrt	smrt	smrt
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	85,90	76,00	66,60	68,60	74,00	74,40	73,50	82,50
MASA LISTA POTE M 1 (mg)	smrt	65,60	61,00	smrt	smrt	67,20	smrt	71,30
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	smrt	49,80	48,30	smrt	smrt	47,60	smrt	56,50
MASA LISTA POTE M 2 (mg)	smrt	42,60	33,70	smrt	smrt	smrt	smrt	smrt
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	smrt	9,30	3,80	smrt	smrt	4,70	smrt	6,30
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	smrt	5,60	11,20	smrt	smrt	smrt	smrt	smrt

### Priloga C

Izpostavitvev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; 250 µl pripravka/g s.t. lista). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	250_1	250_2	250_3	250_4	250_5	250_6	250_7	250_8
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	58,20	61,70	69,60	71,30	44,30	53,30	51,80	58,20
MASA ŽIVALI POTE M (mg)	smrt	smrt	66,80	smrt	smrt	smrt	smrt	53,80
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	71,10	83,10	104,60	88,60	72,50	94,80	95,90	82,50
MASA LISTA POTE M 1 (mg)	68,10	smrt	99,10	84,70	67,00	88,00	87,90	74,80
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	74,40	smrt	60,30	66,00	44,00	49,90	53,30	53,70
MASA LISTA POTE M 2 (mg)	smrt	smrt	50,50	smrt	smrt	smrt	smrt	48,60
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	2,20	smrt	2,20	3,40	1,30	3,30	3,50	2,80
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	smrt	smrt	6,60	smrt	smrt	smrt	smrt	4,20

## Priloga D

Izpostavitvev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (nižje koncentracije; 500 µl pripravka/g s.t. lista). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	500_1	500_2	500_3	500_4	500_5	500_6	500_7	500_8
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	65,60	58,60	54,80	44,60	43,80	36,20	44,90	59,30
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	smrt	smrt	49,80	smrt	smrt	34,80	smrt	smrt
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	73,30	57,80	56,80	57,60	79,10	60,00	44,90	62,90
MASA LISTA POTEM 1 (mg)	63,90	smrt	49,40	49,70	smrt	52,10	smrt	smrt
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	47,50	smrt	58,00	43,60	smrt	54,00	smrt	smrt
MASA LISTA POTEM 2 (mg)	smrt	smrt	49,40	smrt	smrt	42,10	smrt	smrt
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	3,10	smrt	1,60	1,80	smrt	2,70	smrt	smrt
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	smrt	smrt	5,60	smrt	smrt	7,60	smrt	smrt

## Priloga E

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; kontrolne živali). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	0_1	0_2	0_3	0_4	0_5	0_6	0_7	0_8	0_9	0_10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	65,90	61,40	44,90	63,60	51,00	60,10	33,30	46,00	41,40	53,70
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	64,90	57,00	41,10	56,30	smrt	61,10	28,30	44,70	31,90	50,00
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	46,30	40,90	44,40	32,90	43,90	37,70	46,10	32,40	38,00	35,80
MASA LISTA POTEM 1 (mg)	31,00	18,00	38,60	19,10	38,00	18,40	40,90	18,20	23,70	34,00
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	52,10	44,70	35,60	60,20	45,60	32,20	62,80	43,80	42,20	55,90
MASA LISTA POTEM 2 (mg)	33,00	31,70	27,80	49,00	smrt	23,10	42,60	27,20	33,30	47,20
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	13,00	18,60	2,80	10,60	4,40	15,00	3,30	9,70	11,10	0,80
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	14,40	9,80	3,10	7,60	smrt	4,90	15,70	13,10	5,90	5,30

## Priloga F

Izpostavitvev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; 667 µl pripravka/g s.t. lista). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	667_1	667_2	667_3	667_4	667_5	667_6	667_7	667_8	667_9	667_10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	42,20	104,10	72,10	60,00	52,60	28,60	40,00	38,20	55,20	55,10
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	smrt	89,00	smrt	59,60	48,50	29,80	smrt	smrt	53,30	48,70
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	37,00	36,30	38,10	45,60	38,50	41,50	39,60	39,90	35,30	35,70
MASA LISTA POTEM 1 (mg)	33,40	32,20	smrt	38,90	35,00	38,10	37,30	37,50	31,80	30,50
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	54,90	51,90	smrt	46,50	56,20	54,00	36,30	53,30	58,40	48,80
MASA LISTA POTEM 2 (mg)	smrt	49,10	smrt	44,90	49,10	48,80	smrt	smrt	41,80	36,70
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	1,90	2,30	smrt	2,80	2,40	2,20	1,30	1,00	3,30	4,80
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	smrt	2,70	smrt	1,00	2,00	2,20	smrt	smrt	10,00	8,40

### Priloga G

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; 1333 µl pripravka/g s.t. lista). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	1333/1	1333/2	1333/3	1333/4	1333/5	1333/6	1333/7	1333/8	1333/9	1333/10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	43,00	29,10	51,90	50,60	41,90	42,60	54,10	77,30	30,10	91,40
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	smrt	smrt	smrt	39,60	40,20	38,90	smrt	smrt	smrt	64,60
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	34,70	37,30	43,30	41,90	33,70	37,60	39,80	32,80	38,40	40,50
MASA LISTA POTEM 1 (mg)	32,00	smrt	41,00	41,40	32,30	35,20	39,40	24,30	smrt	32,00
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	43,80	smrt	61,20	46,80	64,30	46,30	46,30	41,90	smrt	43,20
MASA LISTA POTEM 2 (mg)	smrt	smrt	smrt	41,40	56,20	40,90	smrt	smrt	smrt	39,50
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	2,80	smrt	2,10	1,20	0,80	2,70	0,70	3,10	smrt	3,80
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	smrt	smrt	smrt	0,00	2,20	1,10	smrt	smrt	smrt	1,40



## Priloga H

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano (višje koncentracije; 2000 µl pripravka/g s.t. lista). Masa živali, listov in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	2000/1	2000/2	2000/3	2000/4	2000/5	2000/6	2000/7	2000/8	2000/9	2000/10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	48,00	47,90	42,10	43,20	40,70	59,80	46,90	36,30	57,60	56,50
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	smrt	43,00	smrt	37,30	smrt	51,50	smrt	smrt	smrt	49,00
MASA LISTA PREJ 1 (mg)	42,70	38,20	40,60	39,30	37,60	49,30	38,50	36,50	39,80	33,80
MASA LISTA POTEM 1 (mg)	40,60	36,60	smrt	36,80	smrt	42,20	32,70	30,60	37,60	30,90
MASA LISTA PREJ 2 (mg)	48,70	49,60	47,60	43,40	smrt	52,50	63,70	55,70	59,30	49,70
MASA LISTA POTEM 2 (mg)	smrt	48,80	smrt	39,60	smrt	50,40	smrt	smrt	smrt	46,30
MASA IZTREBKOV 1 (mg)	0,20	0,50	smrt	0,00	smrt	0,60	0,20	0,30	0,00	0,80
MASA IZTREBKOV 2 (mg)	smrt	0,60	smrt	0,00	smrt	0,80	smrt	smrt	smrt	0,00

## Priloga I

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (kontrolne živali). Masa živali, listov (trikotniki, štirikotniki) in iztrebkov na začetku poskusa, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	0_1	0_2	0_3	0_4	0_5	0_6	0_7	0_8	0_9	0_10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	69,20	58,30	72,30	63,20	63,70	61,10	56,10	57,10	52,90	49,50
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	smrt	58,20	64,50	50,30	51,90	58,50	smrt	54,00	51,50	48,80
MASA TRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	33,10	40,70	61,80	41,20	42,50	49,40	39,50	42,30	58,40	33,10
MASA TRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	smrt	35,00	56,00	36,30	24,90	40,70	27,50	36,60	45,00	25,30
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	70,30	74,40	68,40	64,70	72,60	89,10	74,60	71,20	115,50	71,80
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	smrt	69,70	62,60	57,10	57,10	86,60	56,10	58,40	111,70	58,00
MASA TRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	smrt	57,00	58,50	62,50	62,20	56,70	66,80	70,00	68,80	66,50
MASA TRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	smrt	53,70	54,40	50,20	46,00	31,90	smrt	66,40	61,10	49,70
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	smrt	76,80	70,10	80,00	68,10	75,90	78,10	71,70	70,60	76,70
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	smrt	68,50	60,70	76,40	61,20	71,10	smrt	66,20	63,00	69,10
MASA IZREBKOV 1 (mg)	smrt	5,50	7,00	7,00	23,40	6,80	21,30	14,80	12,90	17,70
MASA IZREBKOV 2 (mg)	smrt	4,80	5,70	4,80	12,20	24,00	smrt	3,80	11,40	20,80

## Priloga J

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (0–667 µl/g s.t. lista). Masa živali, listov (trikotniki, štirikotniki) in iztrebkov na začetku, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	667_1	667_2	667_3	667_4	667_5	667_6	667_7	667_8	667_9	667_10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	63,70	59,40	47,00	61,60	61,40	48,90	56,10	65,20	61,80	56,10
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	54,60	55,80	smrt	57,10	smrt	49,70	53,90	63,30	57,70	54,70
MASA TRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	32,10	43,40	44,90	45,40	40,50	42,00	39,90	52,70	45,20	40,30
MASA TRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	15,40	31,00	32,40	31,60	36,30	32,00	31,90	43,30	29,40	29,20
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	55,30	70,90	74,60	57,80	80,20	71,00	64,80	62,30	52,80	67,00
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	46,70	61,50	61,20	39,20	75,00	67,20	60,10	56,60	49,90	63,10
MASA TRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	70,40	59,60	73,20	54,20	smrt	51,40	51,90	55,50	59,30	60,30
MASA TRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	67,20	56,70	smrt	30,20	smrt	19,00	45,50	45,10	51,90	49,70
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	64,00	62,60	75,70	72,40	smrt	52,50	62,90	68,30	74,80	59,10
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	56,70	58,20	smrt	60,70	smrt	51,10	59,60	60,20	68,30	53,00
MASA IZREBKOV 1 (mg)	13,10	13,40	10,90	16,70	1,00	9,50	7,00	8,90	9,30	8,10
MASA IZREBKOV 2 (mg)	2,40	2,40	smrt	23,40	smrt	31,90	5,00	10,60	6,50	10,00

## Priloga K

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (0–1333 µl/g s.t. lista). Masa živali, listov (trikotniki, štirikotniki) in iztrebkov na začetku, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	1333/1	1333/2	1333/3	1333/4	1333/5	1333/6	1333/7	1333/8	1333/9	1333/10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	78,70	58,90	58,10	61,10	61,00	63,20	69,70	59,70	43,00	53,50
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	70,50	smrt	55,40	smrt	58,20	58,70	70,80	smrt	41,80	45,50
MASA TRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	41,80	62,00	52,30	62,40	42,40	59,20	44,20	78,10	69,60	56,90
MASA TRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	27,00	53,40	23,30	40,80	34,90	51,90	38,30	smrt	60,00	50,90
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	56,50	48,50	64,20	57,70	57,20	54,40	59,50	72,00	50,00	63,30
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	52,50	44,20	60,70	55,40	51,90	49,50	52,50	smrt	47,30	60,40
MASA TRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	42,90	53,80	47,80	64,60	64,60	47,40	56,90	smrt	50,40	66,30
MASA TRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	4,40	smrt	41,00	smrt	46,50	25,90	40,90	smrt	47,90	12,10
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	64,90	67,50	58,80	72,90	55,50	72,50	73,10	smrt	56,40	76,50
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	61,50	smrt	54,00	smrt	54,40	69,30	62,40	smrt	50,50	73,80
MASA IZREBKOV 1 (mg)	11,60	4,70	21,90	16,00	7,30	7,00	7,80	smrt	6,80	2,70
MASA IZREBKOV 2 (mg)	36,10	smrt	1,80	smrt	16,80	20,20	20,50	smrt	3,90	51,70

Priloga L

Izpostavitev insekticidnemu pripravku z onesnaženo hrano z možnostjo izbire med onesnaženo in neonesnaženo hrano (0–2000 µl/g s.t. lista). Masa živali, listov (trikotniki, štirikotniki) in iztrebkov na začetku, med menjavo hrane in ob koncu poskusa.

ŽIVALI	2000/1	2000/2	2000/3	2000/4	2000/5	2000/6	2000/7	2000/8	2000/9	2000/10
MASA ŽIVALI PREJ (mg)	52,10	59,80	50,10	73,00	50,90	74,40	58,90	63,30	53,30	58,60
MASA ŽIVALI POTEM (mg)	smrt	57,80	51,20	71,00	smrt	71,80	smrt	smrt	smrt	smrt
MASA TRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	58,10	53,50	51,00	43,00	59,40	45,80	59,00	69,10	56,60	62,60
MASA TRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	45,00	31,60	30,70	14,40	48,00	35,40	51,20	61,50	50,20	smrt
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 1 (mg)	62,70	67,50	46,80	67,20	59,00	54,90	59,30	63,20	66,50	68,70
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 1 (mg)	59,80	64,10	42,30	59,90	44,10	45,20	56,10	60,80	63,60	smrt
MASA TRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	50,40	72,50	67,40	63,00	63,20	59,70	59,40	55,60	69,80	smrt
MASA TRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	smrt	55,50	52,20	47,10	smrt	48,90	smrt	smrt	smrt	smrt
MASA ŠTIRIKOTNIKA PREJ 2 (mg)	61,90	53,60	64,30	66,90	60,00	67,00	55,50	66,50	65,70	smrt
MASA ŠTIRIKOTNIKA POTEM 2 (mg)	smrt	48,30	62,70	63,80	smrt	61,30	smrt	smrt	smrt	smrt
MASA IZREBKOV 1 (mg)	7,60	18,10	16,30	26,60	11,30	9,10	4,80	5,60	5,10	smrt
MASA IZREBKOV 2 (mg)	smrt	10,20	11,90	13,90	smrt	7,20	smrt	smrt	smrt	smrt

## Priloga M

Sposobnost izbire med onesnaženo in neonesnaženo zemljo – prvi poskus. Število živali (*Porcellio scaber*), ki so se po 48 urah izpostavitve pripravku (10, 20 in 30  $\mu$ l pripravka/g s.t. zemlje; 0 so kontrole) nahajale na neonesnaženi ali onesnaženi zemlji.

SKUPINA ŽIVALI	ČISTA ZEMLJA	ČISTA ZEMLJA
0_1	10	0
0_2	4	6
0_3	8	3
SKUPINA ŽIVALI	ČISTA ZEMLJA	ZEMLJA Z OSTANKI PIRETRINA
10_1	10	0
10_2	0	10
10_3	9 + 1 pojeden	0
20_1	9 + 1 pojeden	0
20_2	10	0
20_3	9 + 1 pojeden	0
30_1	9 + 1 pojeden	0
30_2	9 + 1 pojeden	0
30_3	9 + 1 pojeden	0
PO 48h IZPOSTAVITVE		

## Priloga N

Sposobnost izbire med onesnaženo in neonesnaženo zemljo – drugi poskus. Število živali (*Porcellio scaber*), ki so se po 48 urah izpostavitve pripravku (5 in 10 µl pripravka/g s.t. zemlje; 0 so kontrole) nahajale na neonesnaženi ali onesnaženi zemlji.

SKUPINA ŽIVALI	ČISTA ZEMLJA	ČISTA ZEMLJA
0_1	0	10
0_2	9	1
0_3	10	0
SKUPINA ŽIVALI	ČISTA ZEMLJA	ZEMLJA Z OSTANKI PIRETRINA
5_1	8	2
5_2	9 + 1 pojeden	0
5_3	8 + 1 pojeden	1
10_1	8	1 + 1 pojeden
10_2	9 + 1 pojeden	0
10_3	0	10
	PO 48h IZPOSTAVITVE	