UPPSALA
UNIVERSITET

Pyretroiders påverkan på kräftdjuret *Gammarus pulex*

Isac Söderlund

Independent Project in Biology
Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2014
Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Sammandrag
Pyretroider är en grupp insektsmedel som används i stor utsträckning inom jordbruk. Detta på grund av den höga effektiviteten mot insekter och den låga toxiciteten mot däggdjur. I kringliggande strömmar där besprutning av pyretroider sker så finns det organismer som är väldigt känsliga mot pyretroider, sötvattenmärlan *Gammarus pulex* är en av dem. *G. pulex* lever i strömmar och finns i höga densiteter, därför är den en viktig del av näringskedjan. Pyretroider agerar på natriumkanaler, där den hindrar kanalerna från att stänga efter en signal vilket leder till repetitiva signaler. Man antar även att pyretroider kan påverka kalcium- respektive GABA-kanaler. Överlevnad, drift, reproduktion och beteenden har visats bli påverkade av just pyretroider hos *G. pulex*. Det finns faktorer som påverkar effektiviteten och nedbrytningen av pyretroider, temperatur är en sådan faktor. En lägre temperatur ger högre effektivitet för pyretroider mot insekter, och tillgång på ljus påverkar nedbrytningen. Hög ljustillgång ger snabbare nedbrytning av pyretroider, vilket minskar tiden organismer blir exponerade. Pyretroider är hydrofoba vilket betyder att det snabbt binder till organiskt material. Detta leder till att man kan hitta pyretroider i sediment, och finns det mindre organiskt material så kan en större del binda till organismer som *G. pulex*. Syftet med denna översiktsartikel är att sammanställa de studier som är gjorda kring pyretroider, där *G. pulex* är den studerande organismen. I studierna används koncentrationer som både är rimliga att nå naturen men även högre koncentrationer som i framtiden kanske kan bli rimliga. Tiden för exponering verkar ha en inverkan på i hur stor grad *G. pulex* blir påverkad, men även temperaturen verkar påverka resultaten. Yngre individer tycks vara känsligare mot exponering av pyretroider än äldre. Med ökad koncentration ökar effekterna på *G. pulex*. Alla studier tyder på att en påverkan hos *G. pulex* sker. Man måste se över vilka pyretroider som man ska använda för de skiljer sig i hur persistenta de är i miljön, inte bara undersöka vilken som är mest effektiv mot insekter.

Inledning
Inom jordbruket används insekticider för att skydda grödorna från att ta skada från insekter (Rasmussen *et al.* 2013b). En grupp av insekticider som används är pyretroider, de började användas för flera årtionden sedan men användningen av dem har ökat den senaste tiden (Soderlund 2011). De är en av flera grupper insektsmedel som används inom jordbruk och idag så återfinns de även i hemmet såväl som inom jordbruket (Kuivila *et al.* 2012, Soderlund 2011).

Pyretroider är en grupp insektsmedel som är neurotoxiskt och de används i stor utsträckning, bland annat inom jordbruket (Kuivila *et al.* 2012). Pyretroider används i stor skala eftersom andra mer persistenta insektsmedel förbjudits och då har de bytts ut mot pyretroider istället (Kuivila *et al.* 2012). Den höga effektiviteten mot insekter gör att pyretroider är mycket användbara när det gäller kontroll av insekter (Vijverberg & van den Bercken 1990). Ekonomiskt är pyretroider ett förmånligt sätt att framställa än de flesta andra insekticider, därför har bland annat organofosfater och carbamater, som är andra insektsmedel blivit ersatta mer och mer mot pyretroider (Vijverberg & van den Bercken 1990).

Kring jordbruk finns strömmar där avrinningen från jordbruket kan nå. Avrinningen från dessa utgör stor del av den exponering som akvatiska system utsätts för (Lauridsen & Friberg 2005). Detta betyder att pyretroider kan nå dessa strömmar och exponera akvatiska organismer (Rasmussen *et al.* 2013b). Även spridning med vinden till närliggande strömmar är en faktor till exponeringen (Lauridsen & Friberg 2005). Ökningen av pyretroider genom åren har lett till en större risk att de når närliggande akvatiska miljöer (Rasmussen *et al.*

2013a). Genom denna sorts exponering utsätts organismer för pyretroider i omgångar, d.v.s. pulser av pyretroider (Lauridsen & Friberg 2005).

Det finns olika varianter av pyretroider. Lambda-cyhalothrin och Esfenvalerat är några av de som används inom jordbruk men pyretroider används även för kontroll av myggor (Cold & Forbes 2004, Thomas *et al.* 2008). Vissa akvatiska organismer är väldigt känsliga mot pyretroider och leddjur är en sådan grupp (Rasmussen *et al.* 2013b). Ett problem med användningen av pyretroider är att andra organismer som inte är menade att exponeras kan ta skada eftersom det är giftigt, speciellt för ryggradslösa djur och akvatiska organismer (Schleier & Peterson 2013). Hos både marina- som sötvattenorganismer är pyretroider toxiskt (Kuivila *et al.* 2012). Negativa effekter har visats sig på större delen av den akvatiska faunan, däribland allt från alger till fisk (Rasmussen *et al.* 2008). Att spraya med pyretroider över åkermark som sedan ger avrinning till strömmar har visat ge högre mortalitet och en större drift hos ryggradslösa djur (Davies & Cook 1993). Drift betyder den förflyttningen individer gör med strömmen, d.v.s. hur mycket de flyter med strömmen medströms. Man kan säga att det är det mönster som individer rör sig i strömmar (Gibbins *et al.* 2007). Katastrofisk drift definieras som en ökning i driften hos individer på grund av föroreningar eller ändringar i flödet hos strömmarna (Gibbins *et al.* 2007).

Syftet med denna översiktsartikel är att undersöka om pyretroider påverkar de akvatiska systemen och sötvattensmärlan *Gammarus pulex*. Fokus kommer att ligga på pulsexponering, då de flesta försöksstudier fokuserar på pulsexponering.

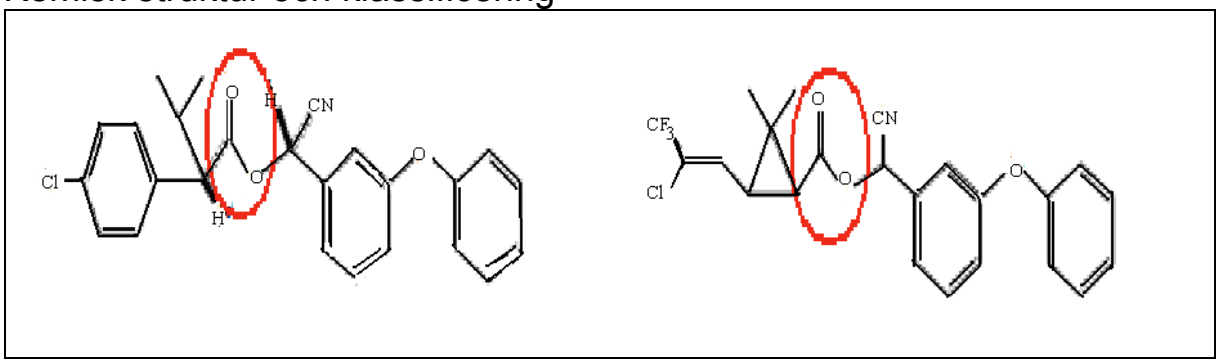
Om Gammarus pulex

Figur 1. Struktur och utseende hos kräftdjuret *Gammarus pulex*. Den kan bli mellan 12-16 mm långa. (hämtad från Mayer *et al.* 2012)

Gammarus pulex är ett kräftdjur och en art av sötvattenmärlor som finns i strömmar runtom i världen, bland annat kan man hitta *G. pulex* i större delar av Europa men återfinns även i andra delar av världen (Adam *et al.* 2010). Livslängden hos dessa är ungefär 17 till 23 månader för honor medan för hanar är det ungefär två till fem år och de kan bli upp till 12 mm respektive 16 mm långa (Cold & Forbes 2004). *G. pulex* är en allätare, de livnär sig på löv och små mikroorganismer. Arten är också väldigt mobil för att hitta föda och habitat att vistas i (Lauridsen & Friberg 2005). De lever i sötvatten där är de väldigt viktiga inom näringskedjan då de är byten till många andra sötvattenorganismer i strömmar och vattendrag, däribland många fiskar. *G. pulex* utför även predation på andra mindre organismer (Adam *et al.* 2010, Cold & Forbes 2004). De finns i höga densiteter, upp till 20 000-30 000 individer

per kvadratmeter och därför är de en av den viktigaste födan till många större organismer (Cold & Forbes 2004). Eftersom *G. pulex* är väldigt känsliga mot pyretroider så är det en risk för dessa att exponeras och även många andra ryggradslösa djur är känsliga mot just pyretroider (Nørum *et al.* 2010).

Kemisk struktur och klassificering



Figur 2. Strukturen av två olika sorters pyretroider. Till vänster är strukturen av Esfenvalerate och till höger Lambda-cyhalothrin. De röda ringarna visar var esterbindingen finns och det är där bindingarna hos molekylerna klyvs (Omritad efter Soderlund 2011).

Pyretroider är en grupp insektsmedel som finns i två olika typer, typ I och typ II (Soderlund *et al.* 2002). De är syntetiserade varianter av det naturliga extraktet pyretriner som härstammar från blomman krysantemum (*Chrysanthemum morifolium)* (Clark & Symington 2012). Det finns sex olika varianter av pyretriner, där alla varierar lite i struktur och utifrån dessa så har många syntetiska varianter (pyretroider) skapats genom små ändringar av strukturen (Soderlund *et al.* 2002). Molekylerna hos pyretroider innehåller en syra- och en alkoholdel, dessa sitter oftast ihop via esterbindningar med vissa undantag där det är andra bindningar (Soderlund *et al.* 2002). En av de nyare syntetiska pyretroiderna lambda-cyhalothrin, förmodas vara mer potent än andra pyretroider, då denna pyretroid har kunnat påvisa effekt vid väldigt låga koncentrationer (Lauridsen & Friberg 2005). Lambda-cyhalothrin kommer tas upp i denna översiktsartikels och en annan pyretroid som kommer tas upp är esfenvalerate som används mycket vid kontroll av grödor och insektskontroll (Cold & Forbes 2004).

Hur når pyretroiden strömmarna?

Pyretroider som når akvatiska miljöer finns i både bunden form där det är bundet till partiklar och i lös form där det oftast är blandat med vatten (Lauridsen & Friberg 2005). Tillgängligheten för pyretroider i vattnet beror på många faktorer, bland annat så besprutas marker ofta inte året runt utan det sker spcifikt bara när lantbruket kan så och gror sina grödor (Cold & Forbes 2004). Pyretroider når ofta strömmar i pulser från jordbruket då man inte konstant besprutar dem utan man gör det under specifika tidpunkter, vilket kan leda till akut toxicitet (Lauridsen & Friberg 2005). Akut toxicitet menas med att organismer exponeras en kortare period med relativt höga koncentrationer (Rasmussen *et al.* 2013b). Andra faktorer som kan påverka är bland annat temperatur, ljus, biomassa m.fl. (Cold & Forbes 2004). Pyretroider löser sig väldigt dåligt i vatten för att molekylerna är hydrofoba, vilket medför att de ganska snabbt försvinner från vattnet och binder till organiskt material (Rasmussen *et al.* 2013b). Efter att pyretroidena bundit till det organiska materialet så kan man sedan hitta dessa i sediment och annat organiskt material en längre tid efteråt (Rasmussen *et al.* 2013b, Schleier & Peterson 2013).

Kronisk toxicitet kan uppkomma eftersom pyretroider kan binda till sediment och finnas kvar i akvatiska system, vilket kan ge exponering av låga koncentrationer under en längre tid

(Rasmussen *et al.* 2013b). Denna sorts exponering är mer av intresse för organismer som lever i sedimenten. Fokus kommer ligga på pulsexponering i denna översiktartikel för den är mer aktuell för *G. pulex.*

Faktorer som påverkar effektiviteten hos pyretroider
Temperaturen har en viktig del i hur effektiva pyretorider är hos insekter. Det har visats att lägre temperaturer ger högre utslagseffekt på insekter, detta på grund av att insekterna blir mer känsliga mot pyretroider (Narahashi *et al.* 1995). Hur mycket organiskt material som finns hos strömmar kan göra att pyretroider är mer tillängliga för organismerna eftersom det då finns mindre att binda till, vilket kan resultera i att mer löser sig i vattnet (Van Wijngaarden *et al.* 2006). Runt våren befinner sig många organismer i reproduktionsstadie så det finns yngre organismer som kanske är mer mottagliga (Van Wijngaarden *et al.* 2006). Även under vintern när det är kallt och mindre ljus så försämras degraderingen av pyretroider. Detta gör så att koncentrationen av pyretroider blir oförändrad en längre tid (Van Wijngaarden *et al.* 2006). Vid normala förhållanden, när det finns god tillgång på ljus och det är varmt så bryts pyretroider snabbt ner, den snabba nedbrytningen av pyretroider bidrar till att hålla sänkta koncentrationer (Schleier & Peterson 2013). Flödet hos strömmar har en inverkan hur snabbt pyretroider försvinner ur det akvatiska systemet och hur lång exponering organismer som *G. pulex* blir utsatta för (Nørum *et al.* 2010, Rasmussen *et al.* 2013a). Flödet hos strömmar påverkar hur rörelsebeteenden och driften hos *G.pulex* och effektiviteten hos pyretroider kan påverkas (Nørum *et al.* 2010, Rasmussen *et al.* 2013a).

Mekanism – hur fungerar pyretroider

Natriumkanaler finns i membranet på nervceller och de har som uppgift att släppa in natrium från utsidan av membranet till insidan på cellen (Narahashi *et al.* 1995). Eftersom det är högre koncentration natrium utanför än innanför membranet är det inte en energikrävande process (Vijverberg & van den Bercken 1990). Kalium finns för att jämna ut laddningarna, de jonerna är i hög koncentration inne i cellen, så när natrium kommer in så släpps kalium ut (Vijverberg & van den Bercken 1990). Det finns natriumkanaler som är spänningsberoende, så när spänningen ändras så öppnas natriumkanalerna, vilket leder till att natrium tar sig in i cellen. Detta ger en depolarisering inuti cellen. På det sättet kommunicerar nervceller i kroppen med varandra (Vijverberg & van den Bercken 1990). Det som pyretroiderna gör är att de hindrar natriumkanalerna från att stängas när de väl öppnats (Clark & Symington 2012). Detta leder till att fler än en signal bildas, på så sätt ger detta repititiva aktionspotentialer (Clark & Symington 2012).

Kanaler i membran som släpper in joner består av flera olika subenheter. Alla delar tillsammans bildar en kanal som kan öppnas och stängs för att släppa in eller ut joner genom membran. Helixar som formas av aminosyrakedjor finns i transmembranen och flera sådana bildar protein domäner (Clark & Symington 2012).

Pyretroiders verkar på en α-subenhet som är ihopkopplad med andra subeneheter, som finns i membranet hos nervceller, det är delar i kanalerna som släpper in joner. Via punktmutationer i α-subenheten hos insekter har man kunnat visa att det kunnat ge resistens mot pyretroider (Clark & Symington 2012). Från punktmutationer och modelleringar av natriumkanaler så antar man att det finns fragment av aminosyror i domänerna som pyretroider kan binda till. Dessa fragment består av korta aminosyrasekvenser i den intracellulära länkarna mellan helix S4 och S5 eller i helixarna S5 och S6 som är en del av domän II (Clark & Symington 2012). Pyretroider kan även påverka kalciumkanaler, detta är dock inte fullt studerat men man vet att vissa pyretroider påverkar specifika varianter av kalciumkanaler (Clark & Symington 2012).

Det diskuteras att GABA-kanaler som är inhiberande kanaler som släpper in negativa kloridjoner för att jämna ut laddningar, kan påverkas av vissa specifika varianter på pyretroider och störa kommunikationen mellan celler hos organismer (Clark & Symington 2012). Det om GABA- och kalciumkanaler är dock inte tillräckligt studerat, så man kan inte fastställa att pyretroider påverkar dessa (Clark & Symington 2012).

Varför används pyretroider och vilka symptom kan de ge
Pyretroider har en väldigt låg toxicitet hos däggdjur, för att däggdjur har enzym som enkelt klyver pyretroiderna via esterbindningarna vilket ger mer hydrofila metaboliter som enkelt går att exkretera (Maund *et al.* 2012). Men vid högre koncentrationer är det även giftigt för däggdjur medan det är en högre toxicitet hos insekter redan vid låga koncentrationer. Detta på grund av att nedbrytningen av pyretroider skiljer sig mellan däggdjur och insekter (Narahashi *et al.* 1995). Eftersom insekter inte har samma förmåga att bryta ner och exkretera pyretroider så krävs ganska låga koncentrationer för att döda dem (Narahashi *et al.* 1995). Därför används pyretroider i väldigt stor utsträckning. Men om dessa når närliggande akvatiska system så kan andra organismer påverkas (Narahashi *et al.* 1995).

Symptom från pyretroider hos Gammarus pulex
Kontinuerlig signalering ger hyperaktiva symptom hos de individer som exponerats för tillräckligt hög koncentration av pyretroider (Narahashi *et al.* 1995). Hos individer av *G. pulex* så kunde man se symptom i de experiment som tas upp senare i denna artikel att både drift, rörelseförmåga och beteenden förändrats (Lauridsen & Friberg 2005, Rasmussen *et al.* 2008, Rasmussen *et al.* 2013b). En försämrad predation hos *G. pulex* är ett symptom som även kunnat påvisas (Rasmussen *et al.* 2013a). Förändrad aktivitet hos individer kunde visas och även döda individer konstaterades. Alla symptom är koncentrationsberoende, döda individer påträffades vid de högre testade koncentrationerna (Rasmussen *et al.* 2008, Lauridsen & Friberg 2005).

Symptom hos däggdjur
Även däggdjur kan få symptom från pyretroider, men vid högre doser än insekter. Det finns två olika utfall och dessa varierar beroende på vilka sorters pyretroider som de blivit utsatta för (Vijverberg & van den Bercken 1990). Vanliga symptom som man kan se hos däggdjur är skakningar av hela kroppen, hyperaktivitet, aggressioner och ofrivilliga kontraktioner (Vijverberg & van den Bercken 1990). Hos råttor har man kunnat se symptom som hypersensitivitet och aggressioner om de blivit exponerade för pyretroider. Man kunde även se skakningar, kramprycknigar, salivutsöndring och koma. Symptomen varierade beroende på vilken typ av pyretroid som använts (Clark & Symington 2012, Soderlund 2011).

Modellen för studier av pyretroider
För att studera pyretroiders påverkan på *G. pulex* och andra organismer så fångade man individer och valde de som inte är utsatta för parasiter eller skadade när de fångades (Cold & Forbes 2004, Nørum *et al.* 2010). Individer hölls minst i 14 dagar med en densitet på 200-300 individer i ett 10 liters akvarium (Cold & Forbes 2004). Koncentrationer som användes för experimentet presenteras i tabell 1 (Cold & Forbes 2004). Under experimentets gång och innan så behölls temperaturen på vattnet konstant för att utesluta påverkan från temeperaturen och det var 12 timmar mörker och 12 timmar ljust (Cold & Forbes 2004). Alla individer av *G. pulex* utsattes för en specifik exponering av pyretroider (Cold & Forbes 2004). Specifik exponeringstid och pyretroid för varje studie presenteras i tabell 1. För att kunna studera driften gjordes en modell där flödet och hastigheten var konstant, 2,2 L min^{-1}respektive 0,1 m s^{-1} för Lauridsen & Friberg (2005) men för varje studie var små variationer av flöde och

hastighet. Det viktiga var att det hölls konstant. Individer exponerades för lambda-cyhalthrin i en timme med de olika koncentrationerna som presenteras i tabell 1 (Lauridsen & Friberg 2005). Experimentet utfördes utomhus i strömmar (Lauridsen & Friberg 2005). Exponeringstiden för lambda-cyhalothrin var 90 minuter i experimentet som Rasmussen *et al.* (2008) utförde. Koncentrationerna som användes presenteras i tabell 1 (Rasmussen *et al.* 2008). Det vattnet som individerna exponerades i togs hand om och analyserades för att se den aktuella koncentrationen av lambda-cyhalothrin (Rasmussen *et al.* 2008). Den aktuella koncentration visade sig vara 92 ng L^{-1} om de exponerats för 106,5 ng L^{-1} och för de som exponderades för 10,65 ng L^{-1} var koncentrationen för låg för instrumenten att faställa (Rasmussen *et al.* 2008). Ett konstant flöde på 3,2 ± 0,03 L min^{-1} hölls i strömmarna i studien som Nørum *et al.* (2010) utförde. I testbehållarna fanns sediment som varierade om de var kontaminerade med pyretroider eller inte (Cold & Forbes 2004).

Tabell 1. Olika parametrar som användes under de olika studier och vilken typ av pyretroid som användes.

Parametrar	(Lauridsen & Friberg 2005)	(Cold & Forbes 2004)	(Rasmussen *et al.* 2008)	(Nørum *et al.* 2010)	(Rasmussen *et al.* 2013a)
Koncentrationer (ng L^{-1})	1; 10; 100; 1000	0; 10; 50; 100; 300; 500; 600; 1000; 2000	10,65; 106,5	1; 10; 100; 1 000; 10 000	1; 10; 100
Tid för exponering (min)	60	60	90	150 (90 + 60)	90
Temperatur (˚C)	7,9 – 10,8	13	4	10 ± 1	15 ± 1
Pyretroid som användes	Lambda-cyhalothrin	Esfenvalerate	Lambda-cyhalothrin	Lambda-cyhalothrin	Lambda-cyhalothrin

Hur påverkar pyretroider predationen hos Gammarus pulex

Rasmussen *et al.* (2013a) undersökte om dödligheten hos *Leuctra nigra* som tillhör familjen smalbäcksländor (SLU Svensk Taxonomisk Databas) sjönk om *G. pulex* blev exponerad för lambda-cyhalothrin. Om *G. pulex* blir exponerad för lambda-cyhalothrin under predation så sjunker dödligheten hos bytet, *L. nigra* (Rasmussen *et al.* 2013a). Först exponerades *G. pulex* separat från *L. nigra* i 30 minuter sedan skedde en 60 minuter exponering under predation (Rasmussen *et al.* 2013a). Vid den lägsta koncentrationen så kunde man inte se någon skillnad i överlevnad hos *L. Nigra* i jämförelse med kontrollgruppen där *G. pulex* inte blivit exponerade, se tabell 1. Men ökade man koncentrationen ytterligare så kunde man se att överlevnaden hos *L. nigra* bara efter någon minut halverades men stannade sedan av. Den högsta koncentration som *G. pulex* exponerades för resulterade i att det inte skedde någon predation alls, alla individer av *L. nigra* överlevde. Exponerade man bytet *L. nigra* för en koncentration på 62,1 ng L^{-1} så visade det ungefär samma resultat som överlevnaden hos kontrollen (Rasmussen *et al.* 2013a).

Ändringar av drift vid exponering för pyretroider

Rasmussen *et al.* (2013a) studerade även driften hos *G. pulex* om den exponerats för lambda-cyhalothrin. Till detta så studerade de även om en predator i vattnet påverkade driften. Predatorn i experimentet var en öring. Det visade sig att båda de koncentrationer (7,4 respektive 79,5 ng L^{-1}) som *G. pulex* exponerades för gav signifikanta resultat. Om predatorn

var frånvarande eller inte påverkade inte driften hos *G. pulex* (Rasmussen *et al.* 2013a). Med ökande koncentration gav högre grad individer med högre drift men vid experimentets slut så var driften hos båda exponeringsgrupperna densamma (Rasmussen *et al.* 2013a).

En annan studie som utfördes för att studera hur stor del av *G. pulex* som hade förändrad drift under 10 dagar vid exponering av lambda-cyhalothrin. Förändringen mättes över tid och det man kunde se var att proportionen av *G. pulex* i drift sjönk vid exponering av lambda-cyhalothrin (Rasmussen *et al.* 2008). När *G. pulex* exponerades för den lägre koncentrationen av de två så kunde man se att proportionen av de i drift sjönk markant, om man jämförde med kontrollen var hälften av individerna i drift efter 10 dagarna. Vid exponering av den högre koncentrationen så var proportionen ännu lägre, vilket visar på att högre koncentrationer ger större effekt (Rasmussen *et al.* 2008). De fyra första dagarna var proportionen i drift låg hos alla tre grupper, men från dag fem och framåt så blev skillnaderna större (Rasmussen *et al.* 2008). Rasmussen *et al.* (2008) studerade även på hur stor del som hade normal aktivitet, i kontrollen, lägre koncentration, och den högre koncentrationen. För varje grupp gjordes 10 observationer per kanal, det användes fyra kanaler. Tre tänkbara utfall användes i experimentet; normal aktivitet (vid fysisk kontakt gav flyktrespons), reducerad aktivitet (vid fysisk kontakt gav en sämre flyktförmåga) och död (Rasmussen *et al.* 2008). Ett medelvärde gjordes och det visade sig att med högre koncentration lambda-cyhalothrin så kunde man se mindre normal aktivitet.
Individer med reducerade aktivitet och döda individer ökade svagt från kontroll till högsta koncentration (Rasmussen *et al.* 2008).

En annan studie har tittat på rörelsen hos *G.pulex* om de exponeras för lambda-cyhalothrin vid olika koncentrationer (Nørum *et al.* 2010). Vid exponering av den lägsta koncentrationen så kunde man inte se någon skillnad mellan i hur mycket rörelse som skedde i jämförelse med kontrollen. Men från koncentrationen 10 ng L^{-1} och uppåt så kunde man se skillnader i jämförelse med kontroll (Nørum *et al.* 2010). Även driften hos *G. pulex* studerades, den mättes 90 minuter av exponeringstiden plus 60 minuter efter exponering (totalt 150 min). Vid den lägsta exponeringskoncentrationen så kunde man se att skillnad i drift uppkom efter exponeringstidens slut, alltså mellan minut 90 och 150 (Nørum *et al.* 2010). Ökade man koncentrationen så kunde man se en signifikant ändring i drift från början till slutet (0-150) (Nørum *et al.* 2010).

En studie där Lauridsen & Friberg (2005) studerade driften hos *G. pulex* i kanaler med ett konstant flöde på 2,2 L min^{-1}, visade att även vid den lägsta koncentrationen (se tabell 1) som användes så kunde man se en ökning i drift hos organismen *G. pulex* (Lauridsen & Friberg 2005). Ökningen var dock låg under de 22 timmar som mättes. De resterande koncentrationerna påvisade stark drift hos individerna redan från start (Lauridsen & Friberg 2005). Man undersökte även på de individer som visade drift, om de hade ett normalt beteende, påverkat beteende eller var döda (Lauridsen & Friberg 2005). Beteendet studerades på de individer i drift och då tittade man på flyktbeteendet om man rörde individerna, eller om de hade kramper. Det visade sig att de flesta som visade drift hos *G. pulex* hade normalt beteende, förhöjda koncentrationer gav svagt ökat antal av individer med påverkat beteende (Lauridsen & Friberg 2005).

Beteendestörningar hos Gammarus pulex
I en studie av Cold & Forbes (2004) utfördes ett experiment för att undersöka LC_{50}, vilket är den lägsta koncentrationen där en effekt på 50 % av individerna kan uppvisas. De blev indelade i par; hona och hane. Det man jämförde var om honorna producerade avkommor

eller inte. De studerade på LC_{50} vid tre tillfällen, efter 24, 48 och 96 timmar. De man kunde se var att värdet på LC_{50} blev lägre från 24 till 48 timmar men knappt någon skillnad mellan 48 till 96 timmar (Cold & Forbes 2004). De tittade på stora individer (10-14 mm) och små individer (7-8 mm), båda visade samma mönster som beskrivs innan men LC_{50} hos de mindre individerna var lägre än hos de större efter 24 timmar exponering. Ingen skillnad kunde man se efter 48 respektive 96 timmar (Cold & Forbes 2004). Överlevnaden hos de större individerna av *G. pulex* studerades vid de olika exponeringstiderna, det visade sig att mellan 24 och 48 timmar exponering så sjönk överlevnaden hos individerna. Vid koncentrationer 50 ng L^{-1} eller högre uppvisades döda individer efter exponering (Cold & Forbes 2004). Hanar och honor jämfördes och det visade sig att honor var något känsligare mot esfenvalerate än hanar då överlevnaden hos honor var lägre i snitt (Cold & Forbes 2004).

I en annan del av studien studerade Cold & Forbes (2004) om en timmes pulsexponering av esfenvalerate påverkade överlevnaden hos unga individer (3-6 mm) och icke reproducerande vuxna individer (9-15 mm). Både unga och äldre individer överlevde exponeringen på en timme vid en koncentration upp till 300 ng L^{-1} (Cold & Forbes 2004). Överlevnaden hos båda minskade med tiden, men överlevnaden minskade med större hastighet hos de unga individerna än hos de vuxna. I den grupp som exponerades för en koncentration på 300 ng L^{-1} minskade överlevnaden snabbare än den grupp som exponerades för 100 ng L^{-1} (Cold & Forbes 2004). Om sedimenten var kontaminerade eller inte med esfenvalerate verkade inte påverka överlevnaden hos individerna.

Cold & Forbes (2004) undersökte även om pulsexponering påverkade det reproduktiva beteendena hos *G. pulex*. Under exponering av esfenvalerate hos fertila honor så födde honorna många fler avkommor än i kontrollgruppen men avkommor dog i högre grad än hos kontrollen. Detta kunde man se bland alla olika koncentrationer av exponering (50; 100; 300 ng L^{-1}). Under två veckor efter exponeringen studerades överlevnaden av avkommorna och det man kunde se var att överlevnaden minskade under de två veckorna, där högre koncentration gav snabbare minskning (Cold & Forbes 2004). I kontrollgruppen så producerades nya avkommer till viss grad men hos alla exponeringsgrupper så var det ingen som producerade avkommor under två veckor efter exponering (Cold & Forbes 2004). När Cold & Forbes (2004) studerade överlevnaden hos nyfödda *G. pulex* som var fem dagar gamla efter en timmes exponering av esfenvalerate under en vecka så var bara en bråkdel av individerna i kontrollgruppen döda medan i alla exponersingsgrupperna (50; 100; 300 ng L^{-1}) var överlevnaden nästan lika med noll efter en vecka.

I en studie utförd av Cold & Forbes (2004) tittade de på hur pulsexponering av esfenvalerate påverkade parningsbeteenden och reproduktion hos *G. pulex* vid olika koncentrationer (0; 50; 100; 300; 600 ng L^{-1}). För att studera detta använde man par av *G. pulex*. Honorna hade inte blivit fertiliserade innan experimentet och hanarna kunde variera i storlek (9-15 mm). Resultatet visade att 13 dagar efter exponering så var antalet avkommor hos de exponerade grupperna mycket lägre än hos kontrollgruppen (Cold & Forbes 2004).

Diskussion

För att jordbruket ska få så lite förluster som möjligt av de grödor de odlar så används bland annat pyretroider för att skydda grödorna från herbivorer (Rasmussen *et al.* 2013b). Men spridning till andra områden kan ske och det kan ge indirekt exponering. Avrinningen från jordbruket står för en stor del av närliggande strömmar som exponeras. Detta kommer inte försvinna, utan kommer att bli större med tiden eftersom man ser att pyretroider börjar användas i större grad runtom i världen (Kuivila *et al.* 2012).

De koncentrationerna som har använts i experimenten kanske inte alltid är de mest sannolika i hur mycket som verkligen når ut i naturen. Men de flesta av studierna har dock valt ett spann av koncentrationer där man får med även rimliga koncentrationer som kan uppvisas i naturen. Förändringar i rörelsemönster kunde man se redan vid en koncentration på 10 ng L^{-1}, vilket är en sannolik koncentration att *G. pulex* kommer exponeras för (Nørum *et al.* 2010).

I de olika experimenten som tas upp så använder man olika temperaturer och **det** är en faktor som påverkar pyretroiders effektivitet (Cold & Forbes 2004). Så i jämförelse av experimenten så kan skillnader i resultat bero på att de har olika temperatur. Tiden som de exponerades för pyretroider påverkar resultatet, en längre exponeringstid ger längre tid för organismen att hinna påverkas.

På grund av pulsexponeringen från bland annat jordbruket så kommer det ske mestadels akut toxicitet mot *G. pulex* då pyretroider oftast återfinns någon timme i akvatiska system innan de försvinner (Lauridsen & Friberg 2005). Långvariga effekter kan även det uppkomma av pyretroider för att pulsexponering ger inte bara kortvariga effekter. Pyretroider binder även till sediment där den kan finnas en längre tid. Men eftersom *G. pulex* inte är en organism som gräver i sediment efter föda eller lever där så minskar risken för exponering (Schleier & Peterson 2013).

Symptom hos däggdjur och ryggradslösa djur skiljer sig. Hos *G. pulex* så ser man mer hyperaktiva symptom, förändringar i rörelsemönster, drift, beteenden och predation (Lauridsen & Friberg 2005, Rasmussen *et al.* 2008, Rasmussen *et al.* 2013b). Medan hos däggdjur kan man se allt ifrån salivutsöndring till skakningar av hela kroppen (Vijverberg & van den Bercken 1990). Skillnader i symptom kan förklaras genom att de lever i olika miljöer och har annorlunda funktionaliteter. Men vid för höga koncentrationer så blir pyretroider letala både mot däggdjur och ryggradslösa djur, skillnaden är bara att de har olika grader av känslighet.

Som resultaten visar i studierna som tas upp, så ger pyretroider negativa effekter på organismen *G. pulex*. Effekterna behöver inte vara letala för att det ska påverka miljön och naturen runtom. *G. pulex* är en viktig del inom näringskedjan därför att den agerar både byte som predator i akvatiska miljöer.(Cold & Forbes 2004). De finns i stora densiteter och är därför en väldigt viktig byggsten i det akvatiska systemet. Om beteendet hos dem ändras så kan det ha en förödande effekter på ekosystemet i strömmarna.

Om en predator fanns i närheten eller inte påverkade inte driften hos *G. pulex*, däremot visade Rasmussen *et al.* (2013a) att pyretroidexponering kunde ge ökning i drift. I en annan studie så sjönk driften hos individer av *G. pulex* med större utslag vid högre koncentration (Rasmussen *et al.* 2008). Sammantaget så visar studierna att pyretroider ger förändringar i drift. Men att den ena visar på ökad och den andra på sjunkande drift kan kanske förklaras med de olika faktorer och parametrar som användes. Exempelvis så använde sig Rasmussen *et al.* (2008) av en temperatur på 4℃ vilket är en relativ låg temperatur. Vid den andra studien, Rasmussen *et al.* (2013a) så användes temperatur runt 15℃ och det är betydligt högre. Det kan förklaras så att vid lägre temperatur så sjunker metabolismen hos individer, vilket ger en lägre aktivitet. En annan förklaring kan vara att effekten av pyretroiden ökar vid lägre temperatur som för insekter som blev mer mottagliga. Dessa skillnader i temperatur kan vara en del i hur vissa skillnader i resultat kunde uppkomma. Koncentrationerna var ungefär densamma i båda experiment se tabell 1.

Yngre individer verkade vara något känsligare mot pyretroidexponering än individer som var vuxna vilket Cold & Forbes (2004) undersökte. Pyretroider verkade kunna påverka fertiliteten hos honor då inga nya avkommor föddes under exponering och redan fertiliserade honor födde avkommorna mycket snabbare än de som inte blev exponerade (Cold & Forbes 2004).

Slutsats

Alla studier tyder på att pyretroider har en negativ påverkan på sötvattensmärlan *Gammarus pulex*, allt ifrån förändringar i beetenden hos reproduktion och rörelse till drift och predation. Lägre koncentrationer gav mindre utslag än högre så det har av betydelse att försöka minimera avrinning från lantbruk till närliggande strömmar. Olika sorter av pyretroider varierar också i hur persistenta de är i miljön på grund av olikheter i struktur så man borde se över vilken sorts pyretroid som man ska använda. Vid val av pyretroid så borde inte bara den mest effektiva mot insekter vara valet utan man borde fundera över hur stor risk det finns att pyretroiden kan spridas till andra miljöer. Olika faktorer har påverkan på hur effektiva pyretroider är och hur snabbt de bryts ner. Faktorerna går att dra nytta utav för att maximera effektiviteten hos pyretroider och minimera risk för spridning

Tack

Vill tacka Tatjana Haitina för all handledning och återkoppling på min uppsats vilket hjälpt mig under skrivandets gång. Tack Marwa Rashed som gav mig tillåtelse att använda en figur på min organism från Hindawi publishing corporation. Även tack till Elin Ljunggren, Ingrid Lekberg och Greta Nilén för återkopplingen på mitt arbete.

Vill även tacka William Ondusye som jag diskuterat mycket kring mitt arbete med.

Referenser

Adam O, Degiorgi F, Crini G, Badot PM. 2010. High sensitivity of *Gammarus sp.* juveniles to deltamethrin: Outcomes for risk assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety **73**: 1402–1407.

Clark JM, Symington SB. 2012. Advances in the mode of action of pyrethroids. I: Matsuo N, Mori T. (Red.). ss. 49–72. Pyrethroids. Topics in Current Chemistry, Springer Berlin Heidelberg.

Cold A, Forbes VE. 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. Aquatic Toxicology **67**: 287–299.

Davies PE, Cook, LSJ, 1993. Catastrophic macroinvertebrate drift and sublethal effects on brown trout, *Salmo trutta*, caused by cypermethrin spraying on a Tasmanian stream. Aquatic Toxicology **27**: 201–224.

Gibbins C, Vericat D, Batalla RJ. 2007. When is stream invertebrate drift catastrophic? The role of hydraulics and sediment transport in initiating drift during flood events. Freshwater Biology **52**: 2369–2384.

Kuivila KM, Hladik ML, Ingersoll CG, Kemble NE, Moran PW, Calhoun DL, Nowell LH, Gilliom RJ. 2012. Occurrence and potential sources of pyrethroid insecticides in stream sediments from seven U.S. metropolitan areas. Environmental Science & Technology **46**: 4297–4303.

Lauridsen RB, Friberg N. 2005. Stream macroinvertebrate drift response to pulsed exposure of the synthetic pyrethroid lambda-cyhalothrin. Environmental Toxicology **20**: 513–521.

Maund SJ, Campbell PJ, Giddings JM, Hamer MJ, Henry K, Pilling ED, Warinton JS, Wheeler JR. 2012. Ecotoxicology of synthetic pyrethroids, I: Matsuo, N, Mori, T. (Red.), Pyrethroids, Topics in Current Chemistry. Springer Berlin Heidelberg, ss. 137–165.

Mayer G, Maas A, Waloszek D. 2012. Mouthpart morphology of three sympatric native and nonnative gammaridean species: *Gammarus pulex*, *G. fossarum*, and *Echinogammarus berilloni* (Crustacea: Amphipoda). International Journal of Zoology doi:10.1155/2012/493420

Narahashi T, Carter DB, Frey J, Ginsburg K, hamilton BJ, Nagata K, Roy ML, Song J, Tatebayashi H. 1995. Sodium channels and GABAA receptor-channel complex as targets of environmental toxicants. Toxicology Letters, Proceedings of the International Congress of Toxicology - VII **82–83**: 239–245.

Nørum U, Friberg N, Jensen MR, Pedersen JM, Bjerregaard P. 2010. Behavioural changes in three species of freshwater macroinvertebrates exposed to the pyrethroid lambda-cyhalothrin: Laboratory and stream microcosm studies. Aquatic Toxicology **98**: 328–335.

Rasmussen JJ, Friberg N, Larsen SE. 2008. Impact of lambda-cyhalothrin on a macroinvertebrate assemblage in outdoor experimental channels: Implications for ecosystem functioning. Aquatic Toxicology **90**: 228–234.

Rasmussen, JJ, Nørum U, Jerris MR, Wiberg-Larsen P, Kristensen EA, Friberg N. 2013a. Pesticide impacts on predator–prey interactions across two levels of organisation. Aquatic Toxicology **140–141**: 340–345.

Rasmussen JJ, Wiberg-Larsen P, Kristensen EA, Cedergreen N, Friberg N. 2013b. Pyrethroid effects on freshwater invertebrates: A meta-analysis of pulse exposures. Environmental Pollution **182**: 479–485.

Schleier JJ, Peterson RKD. 2013. A refined aquatic ecological risk assessment for a pyrethroid insecticide used for adult mosquito management. Environmental Toxicology and Chemistry **32**: 948–953.

SLU Svensk Taxonomisk Databas. WWW-dokument 2004-09-21: http://www.dyntaxa.se/Taxon/Info/226028?changeRoot=True Hämtad 2014-12-02

Soderlund DM. 2012. Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances. Archives of Toxicology **86**: 165–181.

Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP, Mullin LS, Piccirillo VJ, Sargent D, Stevens JT, Weiner ML. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. Toxicology **171**: 3–59.

Thomas CR, Hose GC, Warne MS, Lim RP. 2008. Effects of river water and salinity on the toxicity of deltamethrin to freshwater shrimp, cladoceran, and fish. Archives of Environmental Contamination and Toxicology **55**: 610–618.

Van Wijngaarden RPA, Brock TCM, van den Brink PJ, Gylstra R, Maund SJ. 2006. Ecological effects of spring and late summer applications of lambda-cyhalothrin on freshwater microcosms. Archives of Environmental Contamination and Toxicology **50**: 220–239.

Vijverberg HPM, van den Bercken J, 1990. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. Critical Reviews in Toxicology **21**: 105–126.

Pyretroiders påverkan på kräftdjuret *Gammarus pulex*: etisk bilaga

Isac Söderlund

Självständigt arbete i biologi 2014

Hantering av insektsmedel

Att producera grödor som används av oss människor och djur är ett måste för att vi ska kunna klara oss. Att insektsmedel som pyretroider används för att ge en så stor skörd som möjligt och minimera förluster från herbivorer är ett vanligt fenomen. Men som konsekvens till att få en bättre skörd så kan exempelvis djur som kräftdjurs arten *Gammarus pulex* påverkas. Detta stöds i de studier som tagits upp i min uppsats och man kan fråga sig om besprutning av insektsmedel verkligen är något som borde få göras. Om användningen måste ske så måste man kunna minimera riskerna att det läcker ut i naturen. Det är myndigheters och företags som har ansvaret att se till att det sker på ett hållbart sätt.

Konsekvenser för samhället

Om man slutar att bespruta med insektsmedel

Om man skulle sluta och bespruta åkermark, skulle det då vara ekonomiskt hållbart för lantbrukare att odla? Utan insektsmedel så blir odlingen väldigt känslig mot herbivorer och svinnet från produktionen blir en osäkerhet. Detta leder till att priser kommer stiga på de grödor som produceras eftersom det kommer bli sämre produktion. Att sluta bespruta är dock inte hållbart i dagens samhälle och därför så kan vi inte ta bort besprutningen eftersom det hade gett oss för stora förluster av mat som behövs.

Om man fortsätter med besprutning

En konsekvens med att bespruta åkermark är att det inte alltid bara återfinns där man vill ha det, utan det sprids och kan skada andra ekosystem. Som närliggande strömmar till exempel, där sötvattenmärlan *Gammarus pulex* är väldigt viktig. Om de påverkas så kan det störa ekosystemet, vilket kan leda till att arter försvinner eller försvagas.

Så man kan fråga sig om naturen har något värde för oss eller om den är ett måste. Vi måste ha naturen för att vi människor ska kunna leva som vi gör idag. Vi behöver naturen så man kanske ska börja tänka efter och se över hur mycket besprutning av åkermark påverkar kringliggande natur.

Forskningsetik

De källor jag har använt är pålitliga då de flesta av mina källor är från förlag som har referensgranskning. För att inte ha utdaterad fakta så har jag valt nyare referenser som ger mer aktuell information. Sökning av källor gjordes genom databaserna Pubmed och Web of science. I min uppsats tycker jag att jag belyser båda sidor av ämnet men diskuterar kanske mer problemet och konsekvenser eftersom det är vad min uppsats ska ta upp.