

EMÜ Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Aianduse osakond

Stefani Jakuš

**Püretroidi subletaalse doosiga korduvtöötlemise mõju
süsi-ketasjooksiku lokomotoorsele aktiivsusele**

Magistritöö

Juhendajad: Ph.D Enno Merivee

MSc. Ene Tooming

Tartu 2014

Estonian University of Life Sciences

Institute of Agricultural and Environmental Sciences

Department of Horticulture

Stefani Jakuš

**Sublethal effect of repeated pyrethroid exposure on
the locomotor activity in the carabid beetle *Platynus
assimilis***

Master's thesis

Supervisors: Ph.D Enno Merivee

MSc. Ene Tooming

Tartu 2014

SISUKORD

SISSEJUHATUS	5
1. PESTITSIIDIDE SUBLETAALSED MÕJUD KASULIKELE LÜLIJALGSETELE	8
1.1 Füsioloogilised mõjud.....	9
1.1.1 Üldine keemia ja neurofüsioloogia	9
1.1.2 Areng.....	10
1.1.3 Valmikute eluiga	11
1.1.4 Immunoloogia	12
1.1.5 Viljakus	13
1.1.6 Sooline jagunemine	13
1.2 Mõjud käitumisele	14
1.2.1 Lokomotoorne aktiivsus.....	14
1.2.2 Orienteerumisvõime	15
1.2.3 Toitumine	16
1.2.4 Paaritumine	17
1.2.5 Munemine	18
1.2.6 Õppimisvõime	19
1.2.7 Resistentsus	19
1.3 Mõju populatsiooni ökoloogiale	20
1.4 Pestitsiidide toime tagajärjed integreeritud kahjuritõrjes ning tolmeldamisel.....	21
2. MATERJAL JA METOODIKA.....	23
2.1 Katsemardikad	23
2.2 Katsed	23
2.2.1. Püretroidiga töötlemine	23
2.2.2. Videofilmimine	24

2.2.3 Andmetöötlus	24
2.2.4. Statistiline analüüs	24
3. TULEMUSED	25
3.1 Püretroidi subletaalse doosiga töötlemise mõju lokomotoorse aktiivsuse rütmidele	25
3.2. Püretroidi subletaalse doosiga 24-tunnise intervalliga korduvtöötlemise mõju mardikate poolt läbitud tee pikkusele neljal järjestikusel päeval	25
3.3. Püretroidi subletaalse doosiga 24-tunnise intervalliga korduvmõjutatud ja kontrollgrupi mardikate lokomotoorse aktiivsuse dünaamika neljal järjestikusel päeval	28
4. ARUTELU	30
KOKKUVÕTE	32
SUMMARY	34
KASUTATUD KIRJANDUS	36

SISSEJUHATUS

Jooksiklased pakuvad arvestatavat keskkonnateenust mahepõllunduse edendamisel. Nad on oma arvukuse ja liigilise mitmekesisusega ühed tähtsamad kahjurite arvukuse vaoshoidjad põldudel (Kromp, 1999). Jooksiklaste arvukus võib varieeruda väga laiades piirides olenevalt aastaajast, põldude asukohast, toiduressursside olemasolust, kasvatatavast kultuurist, põllu majandamisviisist jms. Üle-Euroopalised suurejoonelised väliuuringud rohkem kui 150 tootmispõllul on tõestanud jooksiklaste tähtsust taimekahjurite arvukuse vähendamisel (Winqvist *et al.*, 2011). Inglismaal hiljuti 257 tootmispõllul läbi viidud mastaaapsed väliuuringud tõestasid jooksiklaste tähtsust umbrohtude seemnepanga vähendamisel nii tavaviljeluse tingimustes, kus fookus on maksimaalsel saagil, mitte bioloogilise mitmekesisuse säilitamisel või looduse poolt pakutavatel keskkonnateenustel, kui ka maheviljeluse tingimustes (Bohan *et al.*, 2011). Mahetootmises pole pestitsiidide kasutamine lubatud ja põllupidajad rajavad oma lootused viljavaheldusele, mehaanilisele umbrohutõrjele ja looduslike vaenlaste soodustamisele ohjeldamaks umbrohtusid ja taimekahjureid. Sadadel põldudel läbi viidud uurimused on siiski tõestanud, et mahepõldudel aitavad rõövlüljalgsed umbrohtude seemnepanka kahandada ja kahjureid vaos hoida ainult siis, kui bioloogilist mitmekesisust tagav maastikuelementide heterogeensus on suur (Winqvist *et al.*, 2011; Bohan *et al.*, 2011). Homogeensel maastikul maheviljelus küll suurendab bioloogilist mitmekesisust, kuid jooksiklaste taimekaitseline potentsiaal võib hoopis väheneda.

Pestitsiidide madalate dooside subletaalseid mõjusid mitmesuguste kasulike lüljalgsete käitumisele on viimastel aastakümnetel intensiivselt uuritud (Haynes, 1988; Desneux *et al.*, 2007; Garcia, 2011). Pestitsiididega kokkupuutumisest tingitud käitumismustrite muutused võivad lisaks otsesele suremusele oluliselt mõjutada taimekahjurite looduslike vaenlaste ellujäämist ja populatsioone. Kuigi arvukal ja liigirikkal jooksiklaste faunal on tähtis roll mulla umbrohuseemnete varude vähendamisel ning kahjurite vaos hoidmisel integreeritud kahjuritõrje programmides (Kromp, 1999; Honek *et al.*, 2003; Bohan *et al.*, 2011), on pestitsiidide subletaalseid mõjusid nende käitumisele seni vähe uuritud (Prasifka *et al.*, 2008; Giglio *et al.*,

2011; Tooming *et al.*, 2013). Maapinnal aktiivselt tegutsevaid jooksiklasi võivad kasutatud pestitsiidid mõjutada mitmel viisil – pritsimisvedeliku piiskadega vahetult töötlemise ajal, aga ka hiljem, saastunud toidu ja maapinnal ning taimedel kuivanud mürgiste jääkidega kokku puutumise kaudu. Põldude servaaladel toimuvad jooksiklastel migratsioonid põllu ja sellega piirnevate alade vahel, seega on tõenäoline, et mardikad puutuvad pestitsiidi jääkidega kokku korduvalt. Informatsioon pestitsiidide subletaalsete dooside mõjust röövlüljalgsete käitumisele ja sellega seotud taimekaitselisele efektiivsusele on vajalik selleks, et nende ainete kasutamisega kaasnevat taimekaitselist kasu ja võimalikku negatiivset mõju looduslikele vaenlastele igakülgsest hinnata.

Antud töö teoreetilises osas antakse kirjanduspõhine ülevaade taimekaitsevahendite mõjust kasulike lüljalgsete füsioloogiale, käitumisele ja populatsiooni ökoloogiale. Eksperimentaalses osas selgitatakse süsi-ketasjooksiku näitel insektitsiidi Fastac 50 EC madalate dooside mõju jooksiklaste lokomotoorsele aktiivsusele korduval töötlemisel. Preparaat Fastac toimeaine alfa-tsüpermetriin on püretroid, mis toimib kahjustavalt putukate närvisüsteemile. Lokomatsioon on loomade fundamentaalne omadus, mis on paljude ellujäämiseks ja sigimiseks tähtsate käitumuslike omaduste osa, nagu migratsioonid, otsinguline käitumine, elupaigavalik, käitumuslik termoregulatsioon jne. Seega lokomotsiooni kvantitatiivsed parameetrid peegeldavad putuka ja keskkonna vaheliste suhete paljusid aspekte ning putuka füsioloogilist, ökoloogilist ja toksikoloogilist staatust (Baatrup ja Bayley, 1993; Bayley, 2002; Desneux *et al.*, 2007).

Töös püstitatud hüpoteesid:

1. jooksiklase töötlemine püretroidi subletaalse doosiga ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$ alfa-tsüp.) mõjutab lühema või pikema ajavahemiku vältel mardikate lokomotoorset aktiivsust;
2. püretroidi nõrga doosiga töötlemise tulemusena mardikal tõenäoliselt kujunev induktiivne resistentsus kahandab korduvmõjutamistel järgnevate töötlemiste mõju lokomotsioonile võrreldes esimese mõjutamisega.

Töö eesmärgid:

1. Käesoleva töö eesmärgiks oli mõõta püretroidiga Fastac 50 EC subletaalse doosiga ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$ alfa-tsüp.) töödeldud süsi-ketasjooksiku lokomotoorse aktiivsuse parameetrite muutusi

võrreldes kontrollmardikakatega;

2. Selgitada püretroidi Fastac 50 EC subletaalse doosiga korduvtöötlemise mõju mardikate lokomotoorsele aktiivsusele (4 mõjutamist 24-tunnise intervalliga).

Tänuavaldused. Tänud juhendajatele, Enno Merivee ja Ene Tooming, kes aitasid lõputööks vajalikke katseid läbi viia ning olid alati abivalmid. Samuti sooviks tänada Anne Musta, kes aitas mul ka katseid läbi viia ning alati vastas mu küsimustele.

1. PESTITSIIDIDE SUBLETAALSED MÕJUD KASULIKELE LÜLIJALGSETELE

Viimastel aastakümnetel on järjest rohkem hakatud uurima pestitsiidide toimet kasulikele lülijalgsetele (Desneux *et al.*, 2007). Seni on tähelepanu pööratud peamiselt kahele organismide grupile, taimekahjurite looduslikele vaenlastele ja tolmeldajatele - vastavalt nende tähtsusele integreeritud kahjuritõrjes (IKT) ja tolmeldamisel. On mitmeid olulisi põhjuseid, miks uuritakse neurotoksiinide mõju putukate käitumisele (Von Keyserlingk, 1985). Esiteks - üksikasjalikud uuringud aitavad selgitada uute ja tavapäraste insektitsiidide toimemehhanismi ning aitavad ka mõista, mis mõju nad avaldavad putuka käitumisele (Haynes, 1988). Teiseks – on selge, et peaaegu kõik pestitsiidid segavad kahjurputukate käitumismustreid ning see võib aidata hoida tasakaalus nende populatsiooni. Oluline on aga see, et need ühendid võivad kahjustada ka mittesihtorganisme, sh. taimekahjurite looduslikke vaenlasi.

Pestitsiidide registreerimise ja kasutamise seotud riskianalüüs peab järgima kindlaid reegleid, mis Euroopa riikide jaoks on ära toodud Euroopa Nõukogu Direktiivis 91/414 (Desneux *et al.*, 2007). Kauga aega kasutati agrokemikaalide toime hindamiseks kasulikele lülijalgsetele klassikalist laboratoorset mediaanse letaalse doosi (LD_{50}) või letaalse kontsentratsiooni (LC_{50}) määramist. Edasi asuti välja töötama valikulise toimega pestitsiidide, mis efektiivselt hävitaksid kahjureid, kuid oleksid võimalikult vähe toksilised kasulikele lülijalgsete faunale. Toime valikulisuse hindamine põhines siiski LD_{50} määramisel, pestitsiidide kõrvalmõju kasulikele lülijalgsetele ei õnnestunud aga vältida, kuna ei pööratud tähelepanu nende subletaalsetele toimetele. Kasulike lülijalgsete üha suureneva taimekaitselise tähtsustamise ja pestitsiidide subletaalse toime traditsiooniliste uurimismeetodite piiratuse tõttu on viimaste aastate trendiks selle toime igakülgne uurimine üha kiirenevas tempos. Subletaalse toime all mõistame pestitsiidi sellist füsioloogilist või käitumuslikku mõju organismidele, kes pestitsiidiga töötlemise üle elavad, kusjuures pestitsiidi doos/kontsentratsioon võib olla subletaalne või letaalne. Subletaalne doos/kontsentratsioon on defineeritud kui katsepopulatsioonis nähtavat suuremust mittetekitav.

1.1 Füsioloogilised mõjud

1.1.1 Üldine keemia ja neurofüsioloogia

Pestitsiidide mõju putukate biokeemiale on uuritud nii tolmeldajatel kui ka taimekahjurite looduslikel vaenlastel. Enamus süvauuringuid on tehtud meemesilasel, kelle biokeemiat paremini tuntakse. Mesilase füsioloogiat käsitlevates eksperimentides on mõõdetud ensüümide aktiivsust enne ja pärast pestitsiidiga töötlust. On näidatud, et fenitrotiooni (fosfororgaaniline) ja tsüpermetriini (püretroid) süstimine mesilasele põhjustab Na^+/K^+ ATPaasi ja atsetüülkoliinesteraasi aktiivsuse langust (Bendahou *et al.*, 1999). Na^+/K^+ ATPaas on raku metabolismi protsesside energiaallikas ja kindlustab transmembraanse ionide kontsentratsiooni tasakaalu ja sellest tuleneva raku elektrilist potentsiaali. Seega püretroidide poolt tekitatud häired Na^+/K^+ tasakaalus võivad mõjutada paljusid raku funktsioone. Näiteks, püretroid deltametriin kutsub esile südamelihase rakkude väärtalitlust. Deltametriini kardiotoxilisust on näidatud meemesilasel, kellel see aine muutis südame kokkutõmmete sagedust ja jõudu (Papaefthimiou & Theophilidis, 2001). Fungitsiidil prokloraasil on südamelihasele sarnane toime, kuid palju tugevam. Prokloraasi ja deltametriini koostoimel ilmneb lisaks sünergistlik efekt. Nende ainete sünergistlik koosmõju avaldub ka mesilase termoregulatsioonis. Koos prokloraasiga kutsub deltametriin mesilasel esile sünergistlikku hüpotermiat ehk alajahtumist doosides, mis nende ainete eraldi kasutamisel termoregulatsiooni märgatavalt ei mõjuta (Desneux *et al.*, 2007).

Võrreldes meemesilasega on pestitsiidide mõju looduslike vaenlaste biokeemiale ja ensümaatilistele protsessidele vähe uuritud. Kiilassilmal on siiski leitud (Rumpf *et al.*, 1997), et paljud pestitsiidid inhibeerivad atsetüülkoliinesteraasi ja teiste ensüümide aktiivsust. Atsetüülkoliinesteraasi inhibeerimine põhjustab olulisi häireid kõikides süsteemides, kuna see on kõikide sünaptiliste ülekannete peakomponent, eriti kui inhibitsioon kestab pikka aega pärast töötlust (Desneux *et al.*, 2007). Nii näiteks fosfororgaanilise diasinooniga ja kloropüriifossiga töödeldud huntämblikul (*Lycosidae*) kulus pärast manustamist 24-48 tundi atsetüülkoliinesteraasi inhibitsiooni kadumiseni.

Demonstreeritud on ka pestitsiidide neurofüsioloogilist toimet (Decourtye *et al.*, 2004). Neonikotinoid imidaklopriid mõjutab mesilase aju metaboolset aktiivsust. Käitumiskatsed

näitasid, et see aine häirib mesilase olfaktorset õppimisvõimet. Pärast töötlust aju seenkeha oksüdatiivne metabolism kiirenes, mille tulemusena olfaktorne mälu halvenes. Pestitsiidide negatiivset mõju putukate biokeemiale ja neurofüsioloogiale on raske interpreteerida, kuna selle tagajärgi isendi või populatsiooni tasandil sageli ei tunta.

1.1.2 Areng

Neurotoksiinid ning putukate kasvuregulaatorid avaldavad kahjulikku mõju ka kasulike lüljalgsete arengule (Desneux *et al.*, 2007). Putukate kasvuregulaatorid on sünteetilised hormooni analoogid, mis katkestavad kestumise (juveniilhormooni ja ekdüsooni analoogid) ja kutiikuli moodustumise (kitiini inhibitorid) ning toimivad ka endokriinsele süsteemile. Parasitoididel on nende ainete poolt esile kutsutud häireid demonstreeritud nukust koorumisel (Krespi *et al.*, 1991). Ka röövtoidulisel kiilassilmal *Mallada signatus* põhjustab botaaniline insektitsiid azadirahtiin A häireid nukust koorumisel. Spinosaadiga töötlemine vähendab endoparasitoidil *Hyposoter didymator* koorumiste arvu. Selle põhjuseks on vastsete võimetus toota kookoni moodustamiseks vajalikku siidi. Sarnaselt endoparasitoidile on ka teisel röövtoidulisel kiilassilmal *Chrysoperla*, kui objekte mõjutatakse juveniilhormooni analoogi fenoksükarbiga, koorumiste arv väiksem (Desneux *et al.*, 2007).

Pestitsiidid võivad häirida ka putukate arengu kiirust, mis omakorda mõjutab suuresti looduslike vaenlaste potentsiaalset arvukuse tõusu ja fenoloogilist sünkroonsust peremehe või saakloomaga. Parasitoidide puhul on arengu kiirenemine äärmiselt kahjulik, kuna kaob sünkroonsus peremehe ilmumisega. Fenoksükarb aga hoopis aeglustab kiilassilma *Chrysoperla rufilabris* arengu kiirust (Liu & Chen, 2001). Consoli *et al.*, (1998) näitasid, et parasitoidi *Trichogramma pretiosum* nukud on arengu kiirust mõjutavatele pestitsiididele palju tundlikumad kui munad, vastsed või eelnukud. Pärast kokkupuudet neurotoksiinidega on putukatel arenguaja pikenemine ning sarnast tulemust on täheldatud ka teistel röövlüljalgsetel ning parasitoididel (Desneux *et al.*, 2007). Seitsetäpp-lepatriinul *Coccinella septempunctata* ja kiilassilmal *C. Carnea* põhjustab azadirahtiin A morfogeneetilisi vääraarenguid (Ahmad *et al.*, 2003). Peale botaanilise insektitsiidiga mõjutamist olid peremehes *Plutella xylostella* koorunud isaste parasitoidide *Cotesia plutella* tagasääred lühenenud. Selline isaste vääraareng kahandab tugevalt nende edukust, kuna nende

sigimisvõime sõltub keha suuruselt (Desneux *et al.*, 2007).

Ühiseluliste tolmeldajate puhul tuleb vastsete arenguhäireid vaadelda kui peamist ohtu kolooniatele. Haudme ja kooruvate noorte meemesilaste arvu vähenemine on kolooniale kahjulikum kui töomesilaste kaotus, kuna tööjaotuse paindlikkus võimaldab töomesilasi asendada kui on piisavalt hauet ja ammesid (Thompson, 2003). Arengule avaldavad mõju ka sünteetilised kasvuregulaatorid, seda eriti just vastsestaadiumis (Desneux *et al.*, 2007). Suukaudne diflubenzurooni manustamine töomesilastele põhjustab haudme pinna vähenemist. Haudme mõjutamine fenooksükarbiga tekitab aga väärarengutega vastseid ja nukke, mida leidub surnutena tarude ees maas. Kasvuregulaatorite kasutamisel on aga täheldatud muutusi meemesilase valmikute füsioloogias. Äsjakoorunud mesilased *Apis mellifera* ja *Apis cerana* valmikud, keda mõjutati diflubenzurooniga kaotasid kaalus ja nende neelualuste näärmete areng oli pärsitud. See uurimus tõestas kitiini inhibitorite morfogeenset võimekust, mida varem omistati vaid juveniilhormooni analoogidele. Kuna ammede neelualused näärmed toodavad nõret, millega toidetakse töomesilaste vastsete esimesi kasvujärke ja mesilasemade kõiki kasvujärke, siis nende näärmete väärareng põhjustab vastsete alatoitumist, mis viib lõpuks koloonia vähenemisele ja ema mitteuuendamisele.

1.1.3 Valmikute eluiga

Pestitiidi letaalse või subletaalse annuse toimet putukate pikaalisusele on kirjeldatud peamiselt parasitoididel ja vähemal määral ka röövtoidulistel putukatel (Desneux *et al.*, 2007). Sõltuvalt uuringust, võib eluea lühenemist pidada subletaalseks mõjuks või latentseks ehk varjatud suremuseks. Pestitsiidide mõju ekstrapoleerimist populatsiooni tasandile on raske teha, sest see sõltub konkreetse kasuri bioloogiast. On tõenäoline, et enne enneaegset surma suudavad nad suuremal või vähemal määral sigida ja kahjureid hävitada. Praktilisest seisukohast on teada saadud, et toitumise ja paljunemise hulk, mis toimub pestitsiidiga kokkupuute ja putuka surma vahel, on väga oluline. Lühenenud eluea negatiivseid tagajärgi populatsiooni dünaamikale on rõhutatud uuringutes, kus hinnati pestitsiidide mõju putukatele, kasutades elutabeli analüüsi.

Mesilaste puhul on kindlaks tehtud nende pikaajaline kokkupuutumine toksiliste toimeainetega

varutoidus, kui põllukultuuridele pritsitud pestitsiidide toiduga taru kantakse (Desneux *et al.*, 2007). Seega hinnanguline surmav doos ägeda mürgisuse testides on vaid pestitsiidi surmava toime osaline mõõt, sest testi kestus on lühike, enamikel juhtudel ligikaudu 1-3 päeva. Mesilaste pikaajalist ellujäämist käsitlevad uuringud on tõstatanud ellujäämise andmete statistilise analüüsi probleemi. Kroonilise mürgistuse testides on enamasti analüüsitud ainult pikaajalise mürgistuse lõpp-tulemust s.o. kumulatiivse suremuse tõusu (Schmuck, 2004). Teistes uurimustes esitatakse suremuse määra sõltuvus pestitsiidi mõjumise ajast graafiliselt, ilma statistilise analüüsita (Desneux *et al.*, 2007). Seevastu, kui ellujäämise analüüsimisel on kasutatud statistilisi meetodeid, siis on tihti kasutatud parameetrilist mudelit (Hutchinson, 2000). Need analüüsid sõltuvad siiski suurel määral eeldusest, et ellujäämisajal on eriline tõenäosuse jaotus. Pealegi, need statistilised meetodid põhinevad samasse gruppi kuuluvate mesilaste sõltumatusel hüpoteesil, mis ei ole reaalne. Tõepoolest, mesilase ellujäämine sõltub tema kontaktidest tarukaaslastega, toidu vahetamisest ja suhtlemisest feromoonide abil, mis muudab mesilase ellujäämise tarukaaslastest sõltuvaks (Desneux *et al.*, 2007).

1.1.4 Immunoloogia

Insektitsiididel on mõju putukate immuunsüsteemile (George & Ambrose, 2004a). Olenevalt insektitsiidist, võivad nad kas vähendada või suurendada selle vastupanuvõimet. Monokrotofoss ja metüülparatioon, kontsentratsioonil üks kümnendik letaalsest kontsentratsioon (LC_{50}), vähendas röövtoidulise *R. kumarii* hemolümfi plasmotsüüte vastavalt 16% ja 13% võrra. Samal ajal endosulfaan (kloororgaanika) suurendas plasmotsüütide arvu 15% võrra. Plasmotsüüdid mõjutavad otseselt putukate immuunreaktsiooni, võimaldades võõrkehade kapseldamist. George & Ambrose (2004b) leidsid, et plasmotsüütide arvu vähenemine on seotud granulaarsete hemotsüütide arvu suurenemisega, millel on fagotsütoosi kaudu tähtis roll detoksifikatsioonis. Nad tegid hüpoteesi, et detoksifitseerimisprotsessi ajal plasmotsüüdid muundatakse granuleeritud hemotsüütideks, näidates, et pestitsiidid mõjutavad röövtoidulise putuka immuunsusreaktsiooni kaudselt, kaasates immuunsusrakke detoksifitseerimise teenistusse. Peremehe ja parasitoidi suhetes võivad pestitsiidid mõjutada parasitoidi kaudselt peremeesputuka immuunreaktsiooni nõrgendamise teel. Diieldriin ja endosulfaan, doosis LD_{30} , nõrgendasid vastavalt 25% ja 23%

võrra äädikakärbse *Drosophila melanogaster* immuunreaktsiooni parasitoidi *Leptopilina boulardi* vastsete vastu (Desneux *et al.*, 2007). Pestitsiidid võivad ka suurendada parasitoidide vastsete kapseldamist. Kui parasitoidi *L. boulardi* mõjutati kloropüriifossi LD₅₀ doosiga, siis tema munade kapseldamine tõusis 4,5% võrra. Seega, võivad insektitsiidid otseselt mõjutada nii peremehe kui ka parasitoidi immuunsüsteemi vastupanuvõimet.

1.1.5 Viljakus

Pestitsiididel on täheldatud mõju ka taimekahjurite looduslike vaenlaste viljakusele. Viljakuse langus võib olla tingitud nii pestitsiidide mõjust putuka füsioloogiale kui ka käitumisele. Cõnsoli *et al.* (1998) kirjeldasid parasitoidi *T. pretiosum* viljakuse langust kokkupuutel püretroididega enne oogeneesi. Vastavalt nende hüpoteesile mõjutab tebufenosiid ekdüsteroidi retseptoreid ning see võib viia putuka reproduktiivse arengu häireteni. Kui parasitoidi peremehele manustati putuka sünteetilisi kasvuregulaatoreid (PKR) ja teflubensurooni, siis nende parasiteeritus *C. plutellae* poolt vähenes. Teflubensurooni mõjul langeb ka emaste viljakus (Desneux *et al.*, 2007). PKR-pestitsiidid põhjustavad pikemaajalisi häireid sigivuses, kui neurotoksiinid. Näiteks, röövtoidulise *Micromus tasmaniae* viljakust, kes oli kokku puutunud PKR ja neurotoksiliste pestitsiididega, mõjutas PKR rohkem kui neurotoksilised insektitsiidid. Nagu eelpool sai mainitud, võivad pestitsiidide pikaajalised subletaalsed mõjud häirida kahjurite ja kasurite fenoloogilist sünkroonsust ning sellest tingituna esinevad häired ka kahjurite arvukuse regulatsioonis.

1.1.6 Sooline jagunemine

Taimekaitsevahendid võivad putukate suguelundites kutsuda esile deformatsioone. Antud füsioloogiline mõju on väga halb, kuna viljakus on esmatähtis putukate edaspidisel ellujäämisel (Desneux *et al.*, 2007). Valmikute edasine järglaste sooline jagunemine võib olla pestitsiididega kokkupuutest tugevalt mõjutatud. Seda ennekõike munarakkude viljastumise ja eri sugude erineva ellujäämisvõimaluse seisukohast. Nimelt muudab kloropüriifoss kiletiivaliste parasitoidide *Aphytis melinus* soolist jagunemist, vähendades emaste järglaste arvu. Täiskasvanud

putukate pestitsiidiga kokkupuutel oli 58% järglastest emased, samas kui kontrollgrupis oli emaste osakaal 73% (Rosenheim & Hoy, 1988). Ka liigiga *Aphidius uzbekistanicus* on kahe püretroidi puhul saadud sarnaseid tulemusi (Krespi *et al.*, 1991).

1.2 Mõjud käitumisele

1.2.1 Lokomotoorne aktiivsus

Seni ei ole otseselt uuritud kasulike lüljalgsete lokomotoorset aktiivsust pärast pestitsiidiga kokkupuudet. Küll aga on täheldatud mõju lokomotoorsele aktiivsusele, kuid need on peamiselt tingitud otsesest mürgitusest pestitsiidide kokkupuutest: knock-down efekt paneb nad värisema, neil on koordineerimata liikumine ja nad puhastavad kõhtu, samal ajal tagajalgu hõõrudes (Suchail *et al.*, 2001). Teiseks tagajärjeks on muudatused käitumises ning munaparasiidi *Trissolcus basalis* jaoks oli pestitsiidide toime ärritav ja eemalepeletav (Salerno *et al.*, 2002). Pärast kokkupuudet pestitsiidiga ärritas deltametriin röövtoidulist lepatriinut *Coccinella septempunctata* ning ta hakkas end rohkem puhastama ning rohkem liikuma (Desneux *et al.*, 2007). Arvatakse, et enda puhastamine võiks olla seotud refleksiga, mille kutsus esile putuka kehal asuvate retseptorite ärritamine. See ärritusefekt võib sundida putukaid liikuma mürgiga töödeldud aladelt eemale. Järelikult kõrgenenud lokomotoorset aktiivsust ei saa seostada looduslike vaenlaste efektiivsuse suurenemisega.

Pestitsiidide toime näitajad kasulike putukate seisukohast võiksid olla senisest täpsemad ning kvantitatiivsemad (Lambin *et al.*, 2001). Töomesilaste puhkeaja pikkust ja -asendit võrreldi kontrollmesilastega. Imidaklopriidi kõrvaltoimed aktiivsusele sõltusid otseselt insektitsiidi annusest. Väiksema annuse puhul aktiivsus suurenes, kuid suurema annuse puhul liikumine vähenes. Imidaklopriidi mõju võib aja jooksul ka muutuda. Seega võib eeldada, et imidaklopriidi sama annusega töötlemisel võib tekkida vastupidine reaktsioon. Antud uuringus mõõdeti ka putukatel vahemaa läbimiseks kulunud aega. See test põhines negatiivsel geotaksil või postitiivsel fototaxil, sest mesilased kippusid liikuma gravitatsioonijõule vastu, et jõuda valgusallikani. See eksperiment annab täpsema hinnangu mesilaste kõndimisest, kuid mitte lendamisest, mis on olulisem toiduotsinguteks.

1.2.2 Orienteerumisvõime

Kasurite jaoks võib orienteerumine hõlmata mitut sensoorset stiimulit, kas keemilist või visuaalset (Desneux *et al.*, 2007). Kasurid veedavad märkimisväärselt suure osa oma elust liikudes ning otsides toitu ja peremeesputukaid. Pestitsiidide neurotoksilist mõju parasitoidide käitumisele ja orienteerumisvõimele mõõdetakse spetsiaalsete käitumisaparaatidega. Eksperimentide üldine ülesehitus on järgmine: putukatele luuakse sarnased tingimused nagu looduses, siis pritsitakse taimedele pestitsiide ning uurimisobjektid on otseses kokkupuutes töödeldud taimedega. Tulemused näitavad, et olenevalt parasitoidi liigist ning pestitsiidi kasutusest on nende mõjud erinevad ning võib esineda vastupidine reaktsioon peremeesputuka leidmiseks. On teatatud, et pestitsiidi positiivsed subletaalsed mõjud kasuritele on tõepoolest olemas (Komez *et al.*, 2001).

Enamasti on pestitsiidi mõju orientatsioonile siiski negatiivne. Kui parasitoid *Microplitis croceipes* tarbib taimest nektarit, mis on saastunud imidaklopriidiga või aldikarbiga, siis tema lõhnatundlikkus langeb, vastavalt 71% ja 62% (Stapel *et al.*, 2000). Desneux *et al.* (2004) näitasid, et pestitsiidide kõrvaltoimed võivad olla ajutised ning peale pestitsiidi mõju lakkamist suudavad putukad taastuda kõrvaltoimetest. Röövtoidulistel putukatel uuritakse üldiselt pestitsiidide mõju saagi avastamisele ning jahtimisele. Näiteks tsüpermetriin vähendas röövtoidulise *Acanthaspis pedestris* rünnakuid saakloomadele 2,4 kuni 6,4 korda.

Pestitsiidid mõjuvad halvasti putukate vastassugupoole leidmisele ning seetõttu ka nende paljunemisele. Pestitsiidid võivad takistada sugupartnerite vahelist keemilist kaugsuhtlemist. Ühelt poolt võib väheneda eritatava feromooni kogus ja koostis, teiselt poolt langeb signaali vastuvõtva sugupoole kemoretseptorite tundlikkus (Haynes, 1988). Ka subletaalsed doosid võivad putukate seksuaalse kommunikatsiooni katkestada. Parasitoidi *Trichogramma brassicae* isased, keda töödeldi kloropüriifossi doosiga LD_{0,1}, peatusid emase suguferomooni toimel lühemajaliselt kui töötlemata isased. Samal ajal, sama doosiga töödeldud emaste feromooni mõju töötlemata isaste peatumisreaktsioonile oli tugevam, kui seda oli töötlemata emastel. Seevastu, kui *T. brassicae* isastele putukatele annustati püretroid deltametriini doosis LD_{0,1}, siis nende peatumise reaktsioon emase feromooni mõjualas tugevnes, kuid samas, kui ainult emastele

putukatele annustati seda ainet, siis nende feromooni toime isastele putukatele nõrgenes (Delpuech *et al.*, 1999).

Tolmendajate ruumilisel orienteerumisel on väga tähtis maamärkide visuaalne meeldejätmise (Desneux *et al.*, 2007). Mesilased kasutavad visuaalseid orientiire toiduallika juurde navigeerimiseks ning omavahelises suhtlemises, et pesakaaslastele teada anda, mis suunas ja kui kaugemale nad lendama peavad. Mesilane, kes toidu korje ajal puutub kokku pestitsiidiga võib visuaalsed mustrid ebaõigesti omandada, mis viib selleni, et tal tekib meeltesegadus ning omakorda võib ära eksida. Lisaks korjemesilaste orienteerumisvõime kadumisele, võivad insektitsiidid mõjutada ka korjelennult naasevate mesilaste tantsu abil edasiantava informatsiooni täpsust. Selline on näiteks deltametriini mõju mesilaste orienteerumisvõimele. Pärast kokkupuudet insektitsiidiga võib väliselt tunduda, et mesilaste koloonia on terve, kuna pole märkimisväärselt suremusi, kuid see ei tähenda, et nende eluviis pole häiritud, seda fakti kinnitavad paljud põnevad uuringud paratiooni subletaalsetest mõjudest (Haynes, 1988).

1.2.3 Toitumine

Pestitsiidid võivad kasurite toitumist häirida kolmel viisil (Desneux *et al.*, 2007). Esiteks, mõned pestitsiidid on repellentse ehk eemale peletava toimega, segades kasulike putukate tavapärasest toitumisest. Teiseks, osadel pestitsiididel on toitumist pärssivad omadused. Kolmandaks, pärast kokkupuudet pestitsiididega kaotavad putukad haistmisvõime ning seepärast on neil toidu leidmine häiritud. Toitumise vähenemine võib mõjutada parasitismi/röövtoidulisuse määra langust. Mõnedel liikidel põhjustab langus toitumises munaproduktiooni vähenemist, mis omakorda vähendab ka liigi edukust (Jervis & Copland, 1996). Pestitsiidide kasutamine võib mesilastes esile kutsuda toitumishäireid, vähendades õietolmu ja nektari korjamist, ning see omakorda võib kaasa tuua demograafilise arvukuse languse taru populatsioonis (Desneux *et al.*, 2007). Püretroidid on pestitsiididest seni tuntuimad putukaid eemalepeletava toimega insektitsiidid. Parasitoidid *Apibidius rhopalosiphi* reageerisid tugevalt lehetäi nõrele filtripaberil, kuid järjest suurenevate deltametriini kontsentratsioonidega putukad lahkusid sealt, kuna see oli tõrjuva ning ärritava toimega (Longley & Jepson, 1996). Deltametriini mõju röövtoidulisusele lepatriinule *C. septempunctata* uuriti visuaalse vaatluse kaudu (Haynes, 1988). Lepatriinude

liikumise aktiivsus suurenes deltametriiniga pritsitud taimedel, kuid nad kippusid jääma taime osadele, mis olid vähem pritsitud. Seesugune tulemus näitab, et deltametriin mõjub lepatriinule tõrjuvalt. Samast mõju uuriti ka dimetooadiga ning leiti, et täiskasvanud putukad ja vastsed söid vähem dimetooadiga töödelduid lehetäisi, kuna nad vältisid preparaafiga töödeldud alasid (Desneux *et al.*, 2007). Samuti selgus eksperimentide käigus, et varem töödeldud lehetäisi söödi vähem.

Toiduotsingutel toimuvaid protsesse, mis hõlmavad keerulisi närvitegevusi, võivad neurotoksilised pestitsiidid kergesti häirida (Desneux *et al.*, 2007). Pärast kokkupuudet tsüpermetriiniga kaotas röövtoiduline lutikas *Acanthaspis pedestris* võime saaki halvata. Nende häiretega kaasnesid veel ka söömise vähenemine, juhuslik liikumine ning oli märke rahutusest. Ahmad *et al.* (2003) leidsid, et röövtoidulised *Coccinella septempunctata* ja *Chrysoperla carnae* söid vastsestaadiumis vähem mürgiste ainetega töödeldud lehetäisi.

1.2.4 Paaritumine

Paljudel liikidel eritab emane putukas oma suguferomooni kõhu tagaosas asuvast näärdest lühikese aja jooksul, kindlalt ettemääratud ajal, kas siis päeval või öösel (Haynes & Birch, 1984). Isased putukad hakkavad sageli oma tiibu lehvutama enne kui nad lendu tõusevad, sest nii eritavad nad näärmetest feromooni ning kutsuvad sellega emaseid putukaid enda lähedale. Hiljem, kui isasputukad on õhku tõusnud hakkavad nad siksakiliselt lendama tuulega kaasa ning hiljem ka vastutuult, sellega nad nõ. uhkeldavad oma feromooniga st. annavad emastele putukatele endast märku. Sellised liikumised annavad isasele putukale võimaluse läheneda emasele putukale, kus ta siis maandub ning hakkab emasputukaga kurameerima. Sageli kaasneb sellega ka visuaalne, keemiline ja taktiline märguanne (Haynes, 1988). Liblika *Pectinophora gossypiella* käitumise muutust täheldati nelja päeva möödumisel peale pestitsiidi subletaalse doosiga kokkupuudet, kuid emastel putukatel oli piisavalt feromooni nende näärmetes, selleks et meelitada potentsiaalseid kaaslasi (Haynes & Baker, 1985). Emased *Heliothis virescens* liblikad olid töödeldud perimetriiniga ning nemad meelitasid vähem isasputukaid põllul enda juurde, kui töötlemata emasputukad, mis näitab et perimetriin ilmselt segas feromooni vabastamist või tootmist (Moore, 1987).

Selleks, et ritsikad leiaks kaaslase, toimub neil omavaheline akustiline suhtlus. Helide tegemine on isastele ritsikatele paarumiseks väga oluline (Young & Stephen, 1970). Kasutades paratiooni moonutas see laulumustri rütmi, mis omakorda määrab liigispetsiifilisuse signaali, kuid üldkuulatavat helisagedust see ei mõjutanud.

Dieldriin põhjustas toakilgil *Acheta domesticus* kohest laulu lõppemist ning see mõju kestis mitu tundi (Young & Stephen, 1970). Hiljem laulumuster oli kiirenenud ning üldkuulatav helisagedus oli rohkem varieeruvam. Pärast 9h oli üldkuulatav helisagedus ikkagi muutuv, kuid laulumustri tempo oli taastunud. Emased putukad olid valmis isastega paaruma siis, kui laulumuster normaliseerus. Muutuv laulu helisagedus seda ei takistanud.

1.2.5 Munemine

Pestitsiidide mõju munemisele on enamasti uuritud parasitoidide kohta. Vähesed uuringuid on tehtud röövtoidulistega, kuid tolmeldajate kohta senised andmed puuduvad (Desneux *et al.*, 2007). Pestitsiidid võivad häirida putukate närvi- ja hormonaalsüsteemi ning sellega kaasnevad koordineerimisprobleemid, millest on tingitud ka häired munemises. Pestitsiidi repellentne toime võib kaudselt mõjutada munemist ning see vähendab putukal võimalusi leida omale sobiv peremeesputukas või munemiskoht (Malone *et al.*, 1996). Selgus, et pärast subletaalset kokkupuudet pestitsiididega, esinesid emastel parasitoididel *Aphidius ervi* ja *Trybliographa rapae* munemishäired. Kühner *et al.* (1985) kirjeldasid pestitsiidi negatiivset mõju parasitoidi *Diaeretiella rapae* käitumisele ning samuti vähenes ka parasiteerimine ning munetud munade arv. Pestitsiidide pärssivat toimet parasitoidide munemisedukusele on täheldatud ka paljudel teistel liikidel (Desneux *et al.*, 2007). Näiteks pärast kokkupuudet imidaklopriidiga pritsitud lehtedega vähenes parasitoidil *Neochrysocharis formosa* munemine peremeesputukasse. Sarnast mõju täheldati ka parasitoidil *Copoclypeus florus*.

Kui parasitoidid on peremeesputuka läheduses, sõltuvad nad suuresti keemilistest signaalidest või värvilisest nägemisest (Desneux *et al.*, 2007). Eksperimentaalselt on kindlaks tehtud, et peale kokkupuudet lambda-tühaloetriiniga on parasitoid *A. ervi* peremeesputukaga vähem kontaktis, võrrelduna need parasitoididega, kes ei ole pestitsiidiga varem kokkupuutes olnud.

1.2.6 Õppimisvõime

Mesilastel on uuritud pestitsiidide mõju nende õppimisvõimele, selleks et mõista õppimise tähtsust korje ajal (Menzel & Müller, 1996). Seevastu pestitsiidi mõju kasurite õppimisvõime kohta on väga vähe uuritud (Desneux *et al.*, 2007). Iga mesilane läbib teatud protsesse, kui ta maandub lillele ning lillede lõhn, värvus ja kuju jäävad neile meelde, kuna see seostab neid toiduga (Menzel & Müller, 1996). Lõhnad mängivad olulist rolli lille ära tundmises ning piisab ühest korrast, et mesilastel jääks lille lõhn meelde. Laboritingimustes saab tundma õppida mesilaste haistmismeelt kasutades biotesti, mis põhineb imilondi väljasirutamise reaktsioonil (PER) (Takeda, 1961). PER analüüs stimuleerib taime loomulikke vastastikke mõjusid, mis toimuvad lillele maandumisel, mesilane laiendab oma imilonti, et aru saada kas ta on õigel taimel ning see on nagu refleks. See refleks võimaldab neelata/ameda lille nektarit ja edendab mälu lillede lõhnade meelde jätmisel. PER analüüsiga on uuritud mõju käitumisele ligikaudu 20 erineva pestitsiidiga (Desneux *et al.*, 2007).

Toksiliste ainetega kokkupuude võib toimuda enne PER refleksi, selle ajal või pärast seda (Desneux *et al.*, 2007). Kokkupuude pestitsiididega võib mõjutada assotsiatiivse õppimise menetlusi nagu näiteks harjumusi. PER harjumus on lihtne õppevorm, kus maitseomaduse kordamine põhjustab stimulatsiooni langust. See test näitab, et organism on võimeline piirama refleksi tundlikkust. Harjumise protseduure on kasutatud, et näidata imidaklopriidi subletaalsete annuste mõjusid PER refleksile (Lambin *et al.*, 2001). Need tulemused näitavad selgelt, et imidaklopriidi subletaalsed doosid mõjutavad putukate käitumist.

1.2.7 Resistentsus

Püretroidid on insektitsiididest ühed efektiivseimad, usaldusväärseimad ning odavamaid kahjuritõrjevahendid. Nende järjepideva kasutamise tõttu on aga põllumajanduses esile kerkinud uus probleem – kahjuritel tekib püretroidide suhtes resistentsus (Liu, 2012). Tegemist on adaptiivse nähtusega, mille puhul insektitsiididega kokkupuutes oleva putuka organismis leiavad aset biokeemilised muutused (WHO, 1957). Üksikud putukad võivad omada insektitsiidile resistentset geeni või muudetud genoomi ning insektitsiidide kasutamisel on sellest tingituna

nende ellujäämisvõimalus suurem, kui seda on teistel liigikaslastel, kellel antud resistentsusgeen puudub. Looduses jääb ellu aga see, kes suudab paremini keskkonnatingimustega kohastuda. Resistentsed geenid kanduvad põlvkondades edasi ning selle tulemusena tekib suur kahjurite arvukus, mida on raske kontrollida. Resistentsuse teket mõjutavad eelkõige põllukultuuri liigid ja insektitsiidide kasutamise ajalugu (Khambay & Jewess, 2010).

Putukates tekkinud insektitsiidi resistentsuse mehhanismid on tihedalt seotud geenide üliekspressiooniga st. mõnede konkreetsete geenide võimendumisega, avaldumisega, struktuurse mutatsiooniga (Liu 2012). Tegemist on tavalise ning kindlaksmääratud sündmusega resistentsuse evolutsioonis. Tsütokroom P450, hüdrolaas ja glutatioon S-transferaas (GST) on peamised ensüümid kolmes geeni perekonnas, mis aitavad putukal organismi insektitsiididest puhastada (Scott, 1999). Tsütokroom P450 geeni avaldumist kutsuvad esile eksogeensed ja endogeensed tegurid ning antud nähtust nimetatakse induktsiooniks (Feyereisen, 2005). Terriere (1983; 1984) väitis, et tsütokroom P450 induktsioon tekkis selle tõttu, et ellujääda keemiliselt ebasõbralikus keskkonnas. Seni ei ole teada kui palju gene otseselt resistentsuse tekkel osalevad, kuid on selge, et tsütokroom P450 geenide roll on märkimisväärne (Zhu *et al.*, 2008). Lisaks insektitsiididele indutseerivad taimetoidulistel putukatel tsütokroom P450 tootmist ka taime ksenobiootikumid ehk saasteained (Khambay & Jewess, 2010). Katsetes *Helicoverpa armigera* vastsetega, kellele toideti piparmündi (*Mentha piperita*) lehti, indutseerisid nad 4 korda rohkem tsütokroom P450 avaldumist, kui tavaliselt toidetud vastsed (Schuler, 1996).

1.3 Mõju populatsiooni ökoloogiale

Eelnevates peatükkides on mitmel pool välja toodud pestitsiidide subletaalsete dooside kahjulikku mõju kasulike putukate füsioloogiale ja üldise edaspidisele elule. Seni on subletaalsete dooside mõju putuka populatsioonile vaid kirjeldatud, kuid otseselt seda analüüsitud ei ole. Sellest lähtuvalt võib eeldada, et tõenäoliselt avaldavad pestitsiidid mõju ka kasulike putukate populatsioonile (Desneux *et al.*, 2007). Pestitsiidid kipuvad alandama parasitoidide ning nende peremeesputuka arvukust ning see võib omakorda viia haruldaste liikide hävimiseni.

Tolmeldajate arvukuse tõsist vähenemist on seni pandud pestitsiidide süüks ning keskkonnasaaste tuvastamisel kasutatakse mesilasi bioindikaatoritena (Desneux *et al.*, 2007). Mesilastel kindlaks tehtud pestitsiidide subletaalsed mõjud ei ole otseselt ülekantavad teistele tolmeldajatele. Mesilased (*Apoidea*) on väga mitmekesine rühm ning erinevad taksonoomilised rühmad võivad reageerida pestitsiididele erinevalt. Pestitsiidid avaldavad mõju mesilaste sotsiaalsele organisatsioonile (vähendades toidu tarbimist ning tööliste ja haudme hulka), kuid antud effekte võib kompenseerida mesilasema mitteosalemine korjel ning tema väiksem kokkupuude kahjulike keemiliste ühenditega, kui seda on töomesilastel. Seevastu teistel sotsiaalsel tolmeldajatel, näiteks emakimalastel, tuleb kevadel leida enne toit selleks, et hiljem rajada koloonia. Sellisel juhul võivad pestitsiidid oluliselt mõjutada kimalste koloonia loomist. Senistele uuringutele toetudes võib öelda, et tolmeldaja, kellel puudub aastaringselt koloonia on olnud varasemalt pestitsiidiga kokkupuutes.

1.4 Pestitsiidide toime tagajärjed integreeritud kahjuritõrjes ning tolmeldamisel

Mesindust ning põllukultuuride tolmeldamisest saadav majanduslik kasu väheneb tolmeldajate kolooniate mürgitamise tõttu pestitsiididega (Kevan, 1991). Parim näide on pikaajaline uuring Ida-Kanadas. Selles piirkonnas oli mustikaistandus, mis sõltub suuresti 70 liigist kohalikest tolmeldajatest. Selle istanduse saak ikaldus 1970 aastal ning ka järgnevatel aastatel, sest istandust pritsiti fenitrotiooniga, mis seda põhjustas. Kuigi on kogutud palju andmeid pestitsiidide poolt põhjustatud mesilaste massilise hukkumise mõju kohta kultuuride tolmeldamisel, siis pestitsiidide subletaalsete toimete mõjule põllumajandusliku tootmise saakidele on vähe tähelepanu pööratud (Desneux *et al.*, 2007).

Pestitsiidide subletaalsete mõjude uuringud kasuritele on selleks, et hinnata pestitsiidide sobivust integreeritud kahjuritõrjes (IKT) (Desneux *et al.*, 2007). Kuid kui koostatakse IKT programme, siis võetakse harva arvesse pestitsiidide subletaalseid mõjusid agroökosüsteemide kasulikule lüljalgsete faunale. Et vähendada pestitsiidide kahjulikku mõju kahjuritõrje looduslikele vaenlastele, tehakse selektiivsusteste kasuritele. Nende testide eesmärgiks on välja valida kõrge letaalse toksilisusega pestitsiidid sihtmärk kahjuritõrje vastu, mis oleksid minimaalse letaalse

toksilisusega ülejäänud organismidele. Arvestades aga pestitsiidide subletaalsete mõjude suurt tähtsust põllukahjurit looduslikele vaenlastele, peaks pestitsiidide valikul eelistama neid, millel on minimaalne subletaalne mõju kasulikele lüljalgsetele.

2. MATERJAL JA METOODIKA

2.1 Katsemardikad

Katsemardikate valmikud koguti Lõuna-Eesti metsaservadest, nende poolt eelistatud talvituskohtadest pruunmädanenud lamapuidust, 2013. a. mais. Katsete alguseni säilitati mardikaid külmkapis 4-5° C juures. Mardikad paigutati 30x20x10cm plastkarpidesse, kuhu oli lisatud niisutatud pruunmädanenud puidutükke. Vahetult enne katsete algust hoiti mardikaid 4-5 päeva jooksul kasvatuskapis MLR-35 1H (SANYO Electric Co., Ltd, Jaapan) 20° C temperatuuril pikapäeva valgustingimustes (L16:D8), kus suhteline õhuniiskus oli 70%. Neid toideti niisutatud kassitoiduga (Friskies Vitality + Nestl'e Purina, Ungari) ja joodeti puhta veega.

2.2 Katsed

Katsed viidi läbi mai-juuni 2013. a. EMÜ PKI taimekaitse osakonna Putukate sensoorse füsioloogia laboris.

2.2.1. Püretroidiga töötlemine

Mardikate mõjutamiseks püretroidiga kasutati laialt levinud sissekastmismeetodit, sukeldades nad 10 sekundi vältel Fastac'i (BASF) vesiemulsiooni, alfa-tsüpermetriini kontsentratsioon 0,1mg L⁻¹, mis on põllul maksimaalselt lubatud kontsentratsioonist (750mg L⁻¹) 7500 korda lahjem. Sissekastmismeetodi puhul satub püretroid mardika kõikidele kehaosadele nii nagu püretroidiga töödeldud põllulgi. Töötlemisemulsioon valmistati vahetult enne mõjutamist. Kontrollgrupi mardikate töötlemiseks kasutati destilleeritud vett. Katses oli kokku 20 mardikat, 10 Fastac'iga töödeldud ning 10 destilleeritud veega töödeldud mardikad ehk kontrollmardikad. Mardikaid mõjutati järjest neli päeva, 24h intervallidega. Eelkatsed püretroidiga Fastac 20° C ja 70% RH juures näitasid, et 10 sekundiga mõjutamine 0,1mg L⁻¹ alfa-tsüpermetriiniga ei olnud 4

päeva jooksul mardikatele letaalsete tagajärgedega. Seega hinnati mardikatele mõjunud doosi subletaalseks.

2.2.2. Videofilmimine

Kohe peale mõjutamist asetati jooksiklased ühe kaupa Petri tassidesse, mille diameeter on 8 cm. Eelnevalt pandi Petri tassidesse filterpaberi kettad, millele tilgutati destilleeritud vett, selleks, et mardikatel oleks piisavalt niiskust ellujäämiseks. Seejärel asetati Petri tassid (korraga 10 tk) koos mardikatega kartongist valmistatud filmimiskambrisse (50x60x50 cm), mis isoleerib katsemardikad ruumivalgusest. Peale töötlemist lasti mardikatel rahuneda 20 minutit ning seejärel alustati filmimist. Kaamera filmis mardikaid ülevaltvaates. Töödeldud mardikate käitumist videofilmiti sagedusega 30 kaadrit sekundis, 4h vältel resolutsiooniga 1920x1080 pikslit (Debut Video Capture tarkvara, NCH Software, USA). Filmimiskambrit valgustati nõrga hajuvalgusega (kambri põhja valgustatus 110 lx), milleks kasutati 12V alalisvoolu LED lampe. Alalisvoolu lampide kasutamine aitab vältida valguse värelemist videosalvestistel. Valgustatuse mõõtmiseks kasutati digitaalset valgusmõõdikut TES-1335 (TES Electrical Electronic Corp., Taiwan).

2.2.3 Andmetöötlus

Salvestatud videofaile analüüsiti hiljem spetsiaalse programmiga EthoVision XT versioon 9 (Noldus Information Technology, Wageningen, Holland). Analüüsitud lokomotoorse aktiivsuse parameetrikas valiti mardikate poolt läbitud tee pikkus igas minutis. Saadud andmetest arvutati näidisaktogramm, 4 tunni jooksul läbitud kogu teepikkus igal päeval ja töödeldud mardikate 4 tunni lokomotoorse aktiivsuse dünaamika ajalise resolutsiooniga 30 min.

2.2.4. Statistiline analüüs

Andmete statistiliseks analüüsiks kasutati STATISTICA 12.0 programmi. Aritmeetilisi keskmisi võrreldi korduvmõõtmistega dispersioonanalüüsi ANOVA ja post-hoc Fisher LSD testiga.

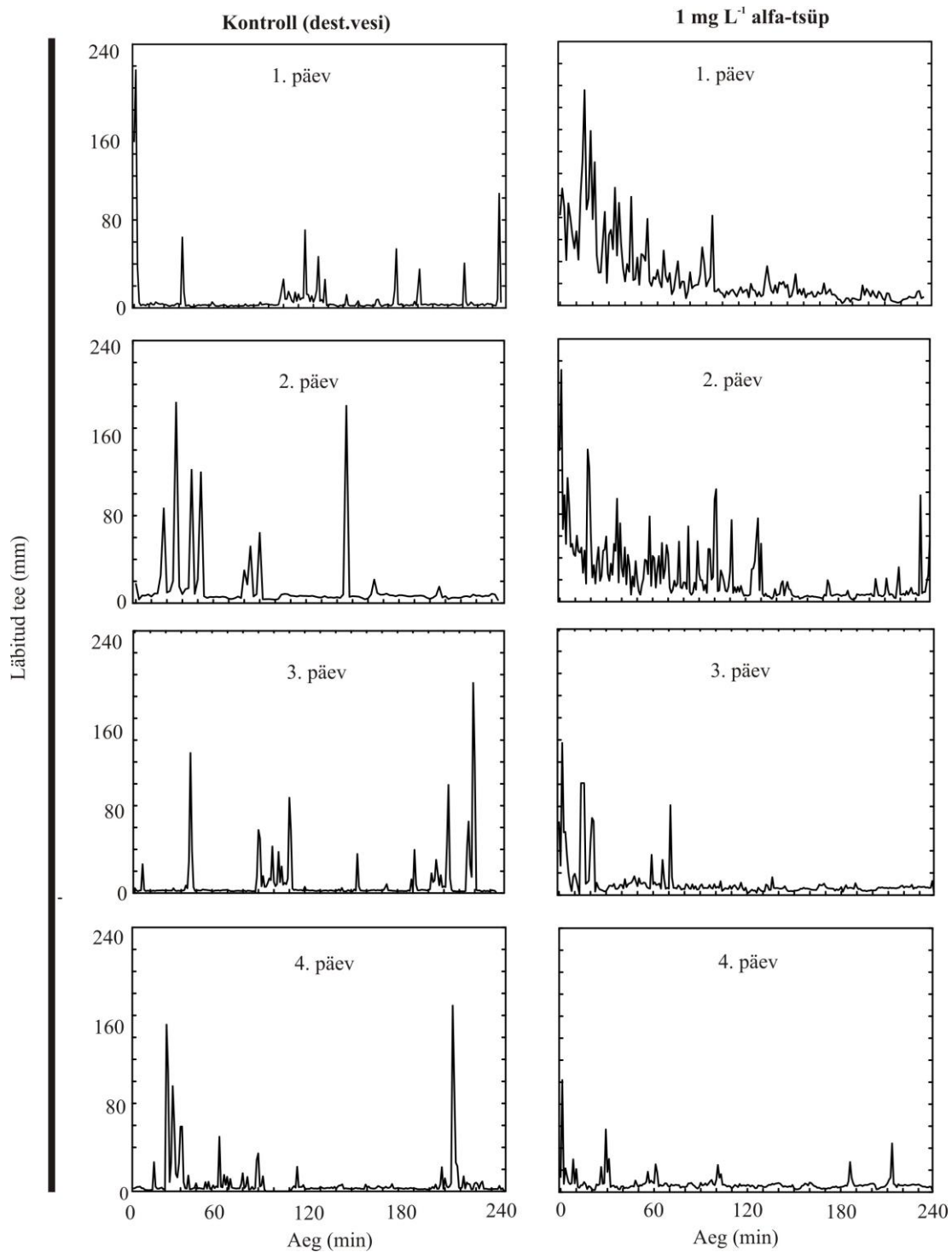
3. TULEMUSED

3.1 Püretroidi subletaalse doosiga töötlemise mõju lokomotoorse aktiivsuse rütmidele

Joonis 1 on näha katsetulemusi, kus kontrollmardikate lühiajalised, mõne minuti pikkused aktiivsusperioodid vaheldusid suhteliselt pikkade puhkepausidega. Täheldatud käitumismuster oli jälgitav kõigil neljal katsepäeval. Püretroidi subletaalse doosiga töödeldud mardikatel muutus selline käitumismuster märkimisväärselt. Esimesel ja teisel katsepäeval, vahetult peale insektitsiidiga mõjutamist olid mardikad väga aktiivsed ja liikusid paari tunni jooksul ringi puhkepausideta. Kirjeldatud hüperaktiivsus vältas siiski lühikest aega ja langes pidevalt. Neljatuks katseperioodi lõpuks jäid mardikad paigale või muutusid väheliikuvaks. Kolmandal päeval kutsus püretroidiga mõjutamine esile vaid nõrga ja lühiajalise lokomotoorse aktiivsuse tõusu. Sellele järgnes selgete lokomotoorse aktiivsuse rütmide kahanemine või täielik kadumine. Neljandal katsepäeval püretroidiga mõjutamine mardikate hüperaktiivsust enam ei põhjustanud, nende aktiivsus jäi nelja tunni vältel kontrolliga võrreldavale madalale tasemele, lokomotoorse aktiivsuse rütmid olid kontrollmardikate rütmidega võrreldes nõrgemad.

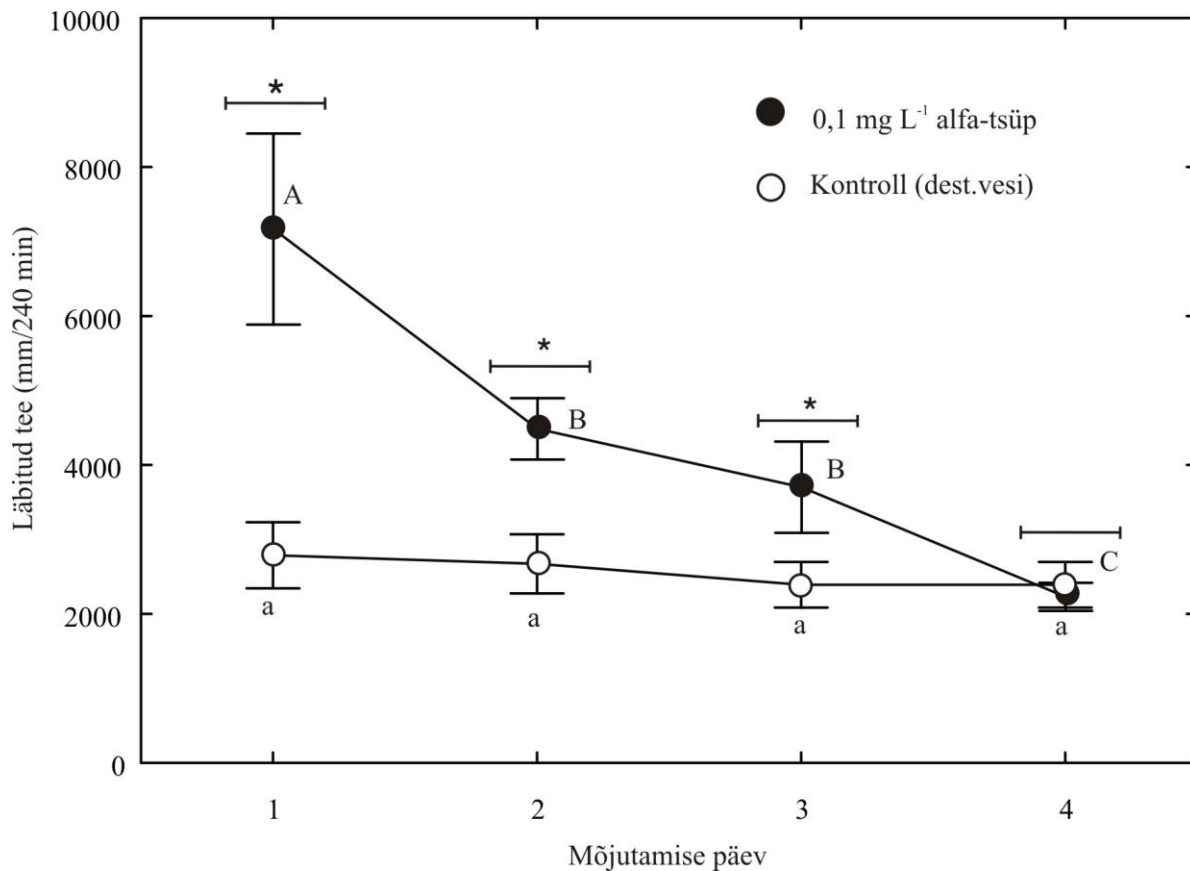
3.2. Püretroidi subletaalse doosiga 24-tunnise intervalliga korduvtöötlemise mõju mardikate poolt läbitud tee pikkusele neljal järjestikusel päeval

Kontrollrühma mardikate poolt 4 tunni jooksul läbitud tee pikkus jäi kõigil neljal päeval samale tasemele. Mõõtmistulemused varieerusid erinevatel päevadel vahemikus 2391–2788 mm, kuid erinevused ei olnud statistiliselt usutavad (joonis 2, lk 27; Fisher LSD test; $p>0,05$). Erinevalt kontrollist, läbisid püretroidiga töödeldud mardikad esimesel kolmel päeval 1,6–2,6 korda pikema vahemaa (mis oli statistiliselt usutav: Fisher LSD test, $p<0,05$). Nende lokomotoorne aktiivsus aga päevadega langes (Fisher LSD test, $p<0,05$). Kui esimesel päeval ulatus 4 tunni jooksul läbitud tee pikkus 7253 mm, siis neljandal päeval läbiti sama ajavahemiku jooksul vaid 2316 mm, olles jõudnud kontrolliga võrreldes samale tasemele (Fisher LSD test, $p>0,05$).



Joonis 1. Mardika lokomotoorse aktiivsuse näidisaktogrammide (mm min⁻¹). Igale aktogrammile vastab üks mardikas.

Seega, neljandal katsepäeval neljas püretroidiga mõjutamine mardikate lokomotoorset aktiivsust enam ei mõjutanud.

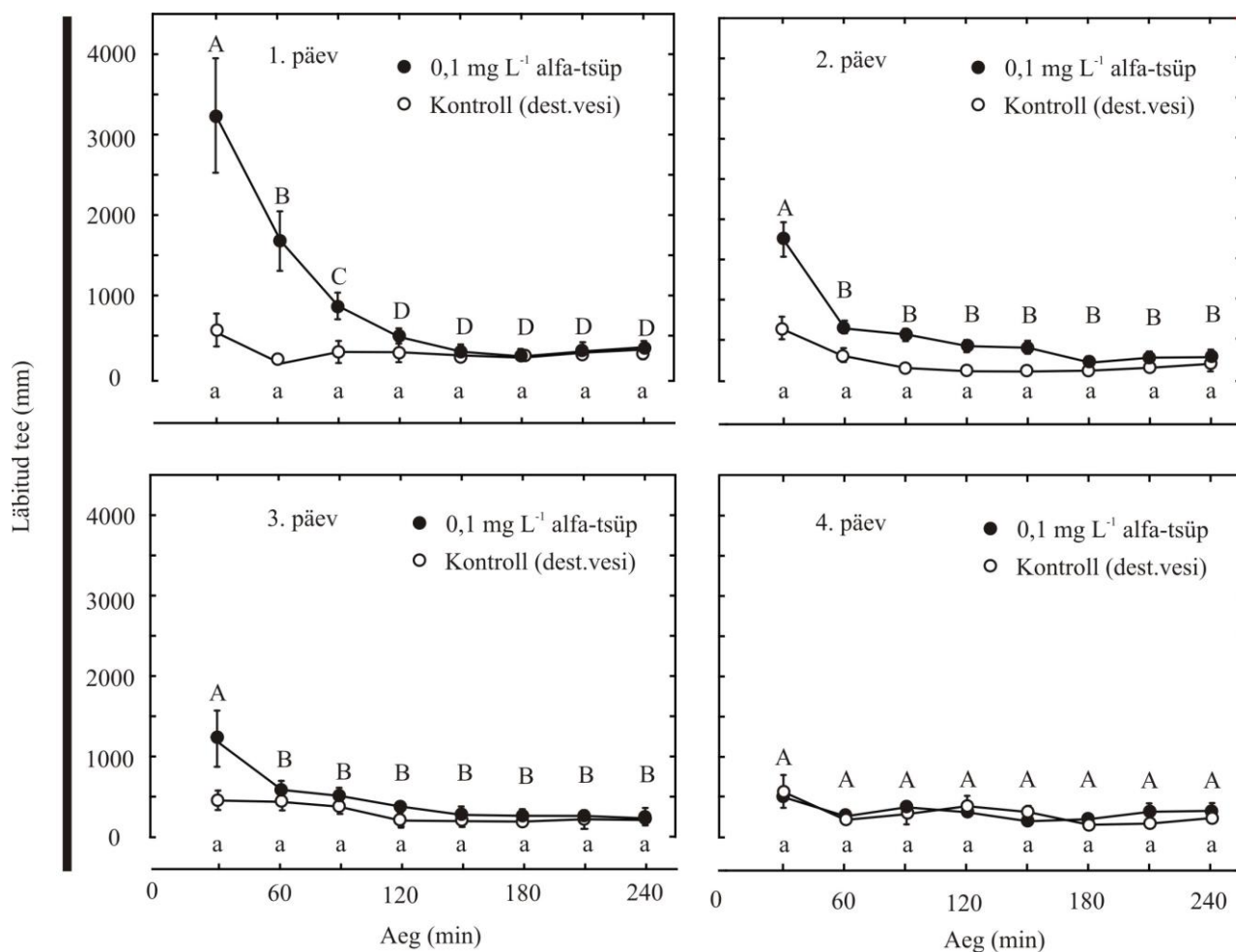


Joonis 2. Püretroidi Fastac subletaalse doosiga korduvtöötlemise mõju süsi-ketasjooksiku lokomotsioonile neljal järjestikusel päeval.

Erinevad suured ja väikesed tähed näitavad erinevusi lokomotoorses aktiivsuses vastavalt püretroidiga töödeldud ja kontrollrühma mardikatel. Tärniga tähistatud päevadel oli püretroidiga töödeldud mardikate poolt läbitud tee pikkus oluliselt suurem võrreldes kontrolliga. Korduvmõõtmistega ANOVA post-hoc test Fisher LSD, $p < 0,05$, $N = 10$. Vertikaaljooned näitavad keskmiste standardviga. Alfa-tsüp. on Fastac'i toimeaine alfa-tsüpermetriin.

3.3. Püretroidi subletaalse doosiga 24-tunnise intervalliga korduvmõjutatud ja kontrollgrupi mardikate lokomotoorse aktiivsuse dünaamika neljal järjestikusel päeval

Salvestatud videofailide analüüs näitas, et püretroidi emulsiooniga 10 s vältel töödeldud mardikate lokomotoorne hüperaktiivsus kestis ainult 30–90 min peale töötlust sõltuvalt püretroidi kontsentratsioonist (joonis 3; Fisher LSD test, $p < 0,05$). Maksimaalset püretroidi põhjustatud hüperaktiivsust täheldati katse esimesel päeval, mil töötlusele järgnenud esimese poole tunni jooksul ulatus läbitud tee pikkus üle 3 m.



Joonis 3. Püretroidi subletaalse doosiga 24-tunnise intervalliga mõjutatud ja kontrollgrupi mardikate lokomotoorse aktiivsuse dünaamika neljal järjestikusel päeval.

Järgnevatel päevadel hüperaktiivne faas järjest kahanes ning katse neljandal päeval seda enam ei täheldatud (joonis 3; Fisher LSD test, $p > 0,05$). 30 minuti jooksul läbitud tee pikkused arvutati 4 tunni jooksul peale töötlust. Erinevad suured ja väikesed tähed näitavad erinevusi lokomotoorses aktiivsuses vastavalt püretroidiga töödeldud ja kontrollrühma mardikatel. Korduvmõõtmistega ANOVA post-hoc test Fisher LSD, $p < 0,05$, $N=10$. Vertikaaljooned näitavad keskmiste standardviga.

4. ARUTELU

Põldude töötlemisel insektitsiidiga Fastac satub vaid tühine osa preparaadist tilkvedelal kujul otse tõrjutavatele kahjurputukatele. Valdav osa langeb taimedele ja maapinnale, kus see kiiresti kuivab, moodustades nende pinnale õhukese õlise kile, mis on putukatele veelgi kahjulikum. Insektitsiid Fastac subletaalse doosiga eeltöödeldud jooksiklased on teistkordsele mõjutamisele selle preparaadiga vähem tundlikud, kui seda on kontrollmardikad. Haynes (1988) väitis, et putuka taastumine sõltub ka sellest, kui palju ta on olnud pestitsiididega subletaalselt kokkupuutes. Kolmandal ja neljandal mõjutamisel on jooksiklased veelgi vähem tundlikumad Fastac'ile. Viimase mõjutamisega (neljas päev) oli mardikate liikumismuster suhteliselt sarnane kontrollmardikate omale. Seega võib järeldada, et Fastac'iga mõjutatud mardika normaalne lokomotoorne aktiivsus võib taastuda juba peale neljandat mõjutamist. Selle nn. indutseeritud resistentsuse biokeemiliseks aluseks on mardika kehas toimuvad detoksifikatsiooni protsessid ja tsütokroom P450 mono-oksügenaaside paiskumine hemolüümi, mis muudab mardikad järgnevatele kokkupuudetele selle insektitsiidiga vähem haavatavaks (Khambay & Jewess, 2010). Samas Liu (2012) kirjutab, et mõnede putukate puhul on leitud, et insektitsiidi resistentsuse mehhanismid on seotud geeni üliekspressiooniga, võimendamisega, struktuurse mutatsiooniga. Geenide transkriptioniline üliekspressioon resistentsel kahjuritel olevat tavaline ning kindlaksmääratud sündmus resistentsuse evolutsioonis (Liu, 2012). Desneux *et al.* (2004) näitasid, et pestitsiidide kõrvaltoimed võivad olla ajutised ning peale pestitsiidi mõju lakkamist suudavad putukad kõrvaltoimetest taastuda.

Antud magistritöö katsetes kasutati väga nõrka Fastac'i kontsentratsiooni, sest tugevama kontsentratsiooniga jooksiklased üldjuhul surid või tekkis neil „nokaut“ olukord ning nendega polnud võimalik katseid teha. Sest siiski eesmärk oli selgitada püretroidi Fastac subletaalse doosidega korduvtoetlemise mõju jooksiklase lokomotoorsele aktiivsusele. Töö alguses esitatud hüpoteesid pidasid küll paika, kuid siiski on teadmata, kuidas subletaalsed doosid jooksiklastele edaspidises elus mõjuvad. Võib oletada, et see segab nende paaritumist, munemist,

talvitumiskoha otsimist, toidu otsimist, toitumist, paarilise leidmist jms. Olulised autorid on näidanud, et pestitsiidid mõjutavad taimekahjurite looduslike vaenlaste viljakust (Desneux *et al.*, 2007). Viljakuse langus võib olla tingitud nii pestitsiidide mõjust füsioloogiale kui ka käitumisele. Samuti võivad pestitsiidid põhjustada deformatsioone suguelundites. Kui parasitoid *Microplitis croceipes* tarbib taimest nektarit, mis on saastunud imidaklopriidiga või aldikarbiga, siis tema lõhnatundlikkus langeb, vastavalt 71% ja 62% (Stapel *et al.*, 2000). Seega võib järeldada, et pestitsiidide subletaalne mõju on kõikidele putukatele üldiselt negatiivne ning erinev.

Samuti võib oletada, et jooksiklane, olles kokkupuutes pestitsiidi subletaalsete doosidega, suudab paarituda ning muneda, kuid tema järglased tulevad väärarenguga või vastsed ei koorugi jms. Sellel oletusel on põhi all, sest autorid näitasid, et seitsetäpp-lepatriinul *Coccinella septempunctata* ja kiilassilmal *C. Carnea* põhjustab azadiraktiin A morfogeneetilisi väärarenguid (Ahmad *et al.*, 2003). Samuti nad kirjutavad, et peale botaanilise insektitsiidiga mõjutamist olid peremehes *Plutella xylostella* koorunud isaste parasitoidide *Cotesia plutella* tagasääred lühenenud, mis omakorda segab neil kaaslase leidmist ning paaritumist.

Järeldused:

- Korduval kokkupuutel püretroidi subletaalsete doosidega selle võime mardika käitumist mõjutada järjest väheneb kuni täieliku kadumiseni. Selle mõju vähenemise tõenäoliseks põhjuseks on varasemate mõjutuste poolt tingitud indutseeritud resistentsuse kujunemine.
- Indutseeritud püretroidiresistentsuse kujunemise võimalust taimekahjurite looduslikel vaenlastel tuleks arvestada integreeritud taimekaitseprogrammides.

KOKKUVÕTE

Antud töö teoreetilises osas selgus, et taimekaitsevahendi doos võib putukatele mõjuda letaalselt või subletaalselt. Pestitsiidide subletaalselt toimet putukatele, eriti just kasuritele on üldiselt vähe uuritud. Antud uuringuid tuleks aga pidevalt uuendada kuna üha enam töötatakse välja uusi pestitsiide, millede toimet kasuri käitumisele tuleks selgitada. On teada, et pestitsiidid mõjutavad putukate viljakust ning põhjustavad suguelundites deformatsioone, mistõttu isendid ei pruugi edaspidi paarituda. Isegi, kui paarumine õnnestub, siis võivad järglastel tekkida arenguhäired, mis mõjutab tugevalt nende elutsüklit. Pestitsiidid omavad mõju ka kasurite orienteerumisvõimele. Eriti hästi on see märgatav mesilaste kolooniates, mis on taimekaitsevahendiga varasemalt kokkupuutunud. Nimelt ei suuda toksiinidega kontaktis olnud mesilased üles leida toitu ning taru. See omakorda mõjutab majanduslikult põllumajandustootjaid, kelle kultuurid jäävad tolmendamata ja saak jääb saamata. Ka parasitoididel võib pestitsiidide kahjulik mõju avalduda peremeesorganismi otsingul ning sellest tingituna võib kahaneda kasuri populatsiooni arvukus. Lisaks sellele võib kasuritel muutuda fenoloogiline sünkroonsus peremehe või saakloomaga.

Töö eksperimentaalse osa esimeseks eesmärgiks oli mõõta püretroidiga Fastac 50 EC subletaalse doosiga ($0,1 \text{ mg L}^{-1}$ alfa-tsüp.) töödeldud süsi-ketasjooksiku lokomotoorse aktiivsuse parameetrite muutusi võrreldes kontrollmardikakatega ning teiseks eesmärgiks oli selgitada püretroidi Fastac 50 EC subletaalse doosiga korduvtöötlemise mõju mardikate lokomotoorsele aktiivsusele (4 mõjutamist 24-tunnise intervalliga). Antud magistritöös püstitatud hüpoteesid leidsid kinnituse. Fastac'i subletaalsed doosid mõjutavad mardikate lokomotoorset aktiivsust. Samuti iga eelnev püretroidi subletaalse doosiga mõjutamine suurendab mardikate vastupanuvõimet Fastac'ile (omandatud resistentsus), mille tõttu sama doosiga edasised mõjutamised kutsusid esile nõrgema reaktsiooni. Sellest võib järeldada, et 24-tunnise mõjutamise intervalli puhul mardikate normaalne lokomotoorne aktiivsus võib taastuda juba peale neljandat mõjutamist. Selle nn. indutseeritud resistentsuse biokeemiliseks aluseks võib olla mardika kehas

toimuv detoksifikatsiooni protsess, kus tsütokroom P450 mono-oksügenaas paiskub hemolümfis, muutes mardikad järgnevatele kokkupuudetele selle insektitsiidiga vähem haavatavaks.

Edasised uuringud peaksid selgitama Fastac'i neurotoksilist mõju jooksiklaste lokomotoorsele aktiivusele. Lisaks sellele tuleks viia läbi elektrofüsioloogilised eksperimendid, mis kinnitaks, kas mardika tundlail paiknev neuron Fastac'ile reageerib. Samuti oleks oluline teada, kas mardikas suudab taastuda Fastac'i subletaalsetest doosidest (mitte ainult väliselt) ja elada täisväärtuslikku elu.

SUMMARY

Sublethal Effect of Repeated Pyrethroid Exposure on the Locomotor Activity in the Carabid Beetle *Platynus assimilis*.

The theoretical section of the thesis argued that different doses of plant protection products can have a lethal or sublethal effect on insects. The sublethal impact of pesticides on insects, especially on beneficial insects, has generally not been studied very widely. Research related to the topic should however be constantly updated due to the gradually growing development of new pesticides, the impact of which on the behaviour of beneficial insects needs to be explained. It is known that pesticides have an impact on insects' fertility and they cause deformations in their sexual organs as a result of which some individuals may not be able to mate. Even if the mating is successful, the offspring may suffer from some abnormalities which have a strong effect on their life cycle. Pesticides also have an impact on the insects' ability to orientate. This is especially clearly seen in case of bee colonies that have previously been exposed to plant protection products. Namely, bees cannot find food or the beehive after being exposed to toxins. This in turn influences economically agricultural holdings whose arable crops will remain unpollinated and whose yield will be lost. In addition, the negative impact of pesticides may also reveal itself for parasitoids upon a search for a host and, as a result, the population of beneficial insects may decrease.

The first aim of the experimental section of the thesis was to measure (in comparison to control beetles) the changes in the locomotor activity parameters of the carabid beetle *Platynus assimilis* who had previously been exposed to a sublethal dose (0,1 mg L⁻¹ alpha-cyp.) of pyrethroid Fastac 50 EC. Secondly, the thesis aimed at determining the effect of repeated exposure to a sublethal dose of pyrethroid Fastac 50 EC on the locomotor activity of beetles (4 treatments in a 24-hour interval). The hypotheses set in the present Master's thesis were proved to be true. The sublethal doses of Fastac have an effect on the locomotor activity of beetles. In addition, every preceding exposure to a sublethal dose of pyrethroid increases beetles' resistance to Fastac (induced

resistance); therefore, following exposure to the same dose provoked a weaker reaction. It can be thus concluded that in case of a 24-hour interval of exposure, the normal locomotor activity of beetles may recover even after the fourth exposure. The biochemical basis for the so-called induced resistance may be the process of detoxification occurring in a beetle's body during which the cytochrome P450 monooxygenases diffuses into haemolymph and, as a result, makes beetles less vulnerable to following exposure to this insecticide.

Further research should explain and carry out electrophysiological experiments which would confirm if the neuron located at the beetle's antennae reacts to Fastac. In addition, it would be important to know if beetles can recover from the sublethal doses of Fastac (not only externally) and live a full life.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Ahmad, M., Ossiewatsch, H.R., Basedow, T. 2003. Effects of neem-treated aphids as food/hosts on their predators and parasitoids. *Journal of Applied Entomology*. 127:458-464.
- Baatrup, E. & Bayley, M. 1993. Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on the locomotor activity of the wolf spider *Pardosa amentata*: quantitative analysis employing computer-automated video tracking. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 26:138-152.
- Bayley, M. 2002. Basic behavior: the use of animal locomotion in behavioural ecotoxicology. *Behavioural Ecotoxicology*. John Wiley & Sons Ltd. Chichester. UK. 211-230.
- Bendahou, N., Bounias, M., Fléché, C. 1999. Toxicity of cypermethrin and fenitrothion on the hemolymph carbohydrates, head acetylcholinesterase, and thoracic muscle Na^+ , K^+ -ATPase of emerging honeybees (*Apis mellifera mellifera* L.). *Ecotoxicology Environmental Safety*. 44:139-146.
- Bohan, D.A., Boursault, A., Brooks, D.R., Petit, S. 2011. National-scale regulation of the weed seedbank by carabid predators. *Journal of Applied Ecology*. 48:888-898.
- Cônsoli, FL., Parra, J.R.P., Hassan, S.A. 1998. Side effects of insecticides used in tomato fields on the egg parasitoid *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym., Trichogrammatidae), a natural enemy of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Journal of Applied Entomology*. 122:43-47.
- Decourtye, A., Devillers, J., Cluzeau, S., Charreton, M., Pham-Delègue, MH. 2004. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology Environmental Safety*. 57:410-419.
- Delpuech, J.M., Legallet, B., Terrier, O., Fouillet, P. 1999. Modifications of the sex pheromonal communication of *Trichogramma brassicae* by a sublethal dose of deltamethrin. *Chemosphere*. 38:729-739.
- Desneux, N., Decourtye, A., Delpuech, J.M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review Entomology*. 52:81-106.
- Freyerisen, R. 2005. Insect cytochrome P450. *Comprehensive Molecular Insect Science*. 1-77.
- Garcia, P. 2011. Sublethal effects of pyrethroids on insect parasitoids: what we need to further know. *Pesticides-Formulations, Effects, Fate*. InTech. Rijeka.Croatia. 477-494.
- George, P.J.E. & Ambrose, D.P. 2004a. Impact of insecticides on the haemogram of *Rbynocoris kumarii* Ambrose and Livingstone (Hem., Reduviidae). *Journal of Applied Entomology*. 128:600-604.
- George, P.J.E. & Ambrose, D.P. 2004b. Toxic effects of insecticides in the histomorphology of alimentary

- canal, testis and ovary in a reduviid *Rhynocoris kumarii* Ambrose and Livingstone (Hemiptera: Reduviidae). *Journal of Advanced Zoology*. 25:46-50.
- Giglio, A., Giulianini, P.G., Zetto, T., Talarico, F. 2011. Effects of the pesticide dimethoate on a non-target generalist carabid, *Pterostichus melas italicus* (Dejean, 1828) (Coleoptera: Carabidae). *Italian Journal of Zoology*. 78:471–477.
- Goulet, H. 2003. Biodiversity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in Canadian agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science*. 83:259–264.
- Haynes, K.F. & Baker, T.C. 1985. Sublethal effects of permethrin on the chemical communication system of the pink bollworm moth. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 2:283-293.
- Haynes, K.F., 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual Review Entomology*. 33:149-168.
- Haynes, K.F. & Birch, M.C. 1984. The periodicity of pheromone release and male responsiveness in the artichoke plume moth. *Physiological Entomology*. 9:287-295.
- Honek, A., Martinkova, Z. & Jarosik, V. 2003. Ground beetles (*Carabidae*) as seed predators. *European Journal of Entomology*. 100:531-544.
- Hutchinson, T.P., 2000. Graphing the survivorship of bees. *Insectes Soc.* 47:291-296.
- Jervis, M.A. & Copland M.J.W. 1996. The life cycle. In *Insect Natural Enemies: Practical Approaches to Their Study and Evaluation*. ed. MA Jervis, N Kidd. London: Chapman & Hall. 63-102.
- Kevan, P.G., 1991. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture Ecosystems Environment*. 74:373-393.
- Khambay, B.P.S. & Jewess, P.J. 2010. Pyrethroids. In: *Insect Control*, eds. Lawrence I. Gilbert and Sarjeet S. Gill., Academic Press. London. 1–29.
- Komezha, N., Fouiller, P., Boulétreau, M., Delpuech, J.M. 2001. Modification, by the insecticide chlorpyrifos, of the behavioral response to kairomones of a *Drosophila* parasitoid, *Leptopilina boulardi*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 41:436-442
- Krespi, L., Rabasse, J.M., Dedryver, C.A., Nenon, J.P. 1991. Effect of three insecticides on the life cycle of *Aphidius uzbekistanicus* Luz. (Hym., Aphidiidae). *Journal of Applied Ecology*. 111:113-119.
- Kromp, B. 1999. Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. *Agriculture Ecosystems Environment*. 74:187-228.
- Kühner, C., Klingauf, F., Hassan, S.A. 1985. Development of laboratory and semi-field methods to test the side effect of pesticides on *Diaeretiella rapae* (Hym. Aphidiidae). *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent*. 50:531-538.
- Lambin, M., Armengaud, C., Raymond, S., Gauthier, M. 2001. Imidacloprid induced facilitation of the

- proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 48:129-34.
- Liu, N. 2012. Pyrethroid Resistance in Insects: Genes, Mechanisms, and Regulation. *Insecticides-Advances in Integrated Pest Management*. InTech. 457-468.
- Liu, T.X. & Chen, T.Y. 2001. Effects of the insect growth regulator fenoxycarb on immature *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae). *The Florida Entomologist*. 84:628-633.
- Longley, M. & Jepson, P.C. 1996. Effects of honeydew and insecticide residues on the distribution of foraging aphid parasitoids under glasshouse and field conditions. *Entomologia Experimentalis at Applicata*. 81:189-98.
- Malone, L.A., Tregidga, E.L., Todd, J.H., Burgess, E.P.J., Philip, B.A. *et al.* 2002. Effects of ingestion of a biotin-binding protein on adult and larval honey bees. *Apidologie*. 33:447-458.
- Mauchline, A.L., Osborne, J.L., Powell, W. 2004. Feeding responses of carabid beetles to dimethoate-contaminated prey. *Agricultural and Forest Entomology*. 6:99-104.
- Menzel, R. & Müller, U. 1996. Learning and memory in honeybees: from behavior to neural substrates. *Annual Review of Neuroscience*. 19:379-404.
- Milius, M., Merivee, E., Must, A. *et al.* 2011. Electrophysiological responses of the chemoreceptor neurones in the antennal taste sensilla to plant alkaloids and glucosides in a granivorous ground beetle. *Physiological Entomology*. 36:368-378.
- Moore, R.F. 1987. Inhibition of chemical communication between males and females of *Helioyhis zea* by sublethal amounts of permethrin. *Journal of Economic Entomology*. 317-318.
- Papaefthimiou, C. & Theophilidis G. 2001. The cardiotoxic action of the pyrethroid insecticide deltamethrin, the azole fungicide prochloraz, and their synergy on the semi-isolated heart of the bee *Apis mellifera macedonica*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 69:77-91.
- Prasifka, J.R., Lopez, M.D., Hellmich, R.L., Prasifka, P.L. 2008. Effects of insecticide exposure on movement and population size estimates of predatory ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management Science*. 64:30-36.
- Rosenheim, J.A. & Hoy, M.A. 1988. Sublethal effects of pesticides on the parasitoid *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Journal of Economic Entomology*. 81:476-483.
- Rumpf, S., Hetzel, F., Frampton, C. 1997. Lacewings (Neuroptera: Hemerobiidae and Chrysopidae) and integrated pest management: enzyme activity as biomarker of sublethal insecticide exposure. *Journal of Economic Entomology*. 90:102-108.
- Salerno, G., Colazza, S., Conti, E. 2002. Sub-lethal effects of deltamethrin on walking behavior and response to host kairomone of the egg parasitoid *Trissolcus basalis*. *Pest Management Science*.

- 58:663-668.
- Schuler, M.A. 1996. The role of cytochrome P450 monooxygenases in plant-insect interactions. *Plant Physiology*. 112:1411-1419.
- Scmuck, R. 2004. Effects of a chronic dietary exposure of the honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to imidacloprid. *Archives Environmental Contamination Toxicology*. 47:471-478.
- Scott, J.G. 1999. Cytochromes P450 and insecticides resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 29:757-777.
- Stapel, J.O., Cortesero, A.M. ja Lewis, W.J. 2000. Disruptive sublethal effects of insecticides on biological control: altered foraging ability and life span of a parasitoid after feeding on extrafloral nectar of cotton treated with systemic insecticides. *Biological Control*. 17:243-249.
- Suchnail, S., Guez, D., Belzunces, L.P. 2001. Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environmental Toxicology Chemistry*. 20:2482-2486.
- Takeda, K. 1961. Classical conditioned response in the honey bee. *Journal Insect Physiology*. 6:168-179.
- Terriere, L.C. 1983. Enzyme induction, gene amplification, and insect resistance to insecticides. *Pest Resistance to Pesticides*. Plenum Press. 265-297.
- Terriere, L.C. 1984. Induction of detoxication enzymes in insects. *Annual Review of Entomology*. 29:71-88.
- Thompson, H.M. 2003. Behavioural effects of pesticides in bees: their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicology*. 12:317-330.
- Tooming, E., Merivee, E., Must, A., Sibul, I., Williams, I. 2014. Sub-lethal effects of the neurotoxic pyrethroid insecticide Fastac 50 EC on the general motor and locomotor activities of the non-targeted beneficial carabid beetle *Platynus assimilis* (Coleoptera: Carabidae). *Pest Management. Sci.*, 70(6):959-966
- Von Keyserlingk, H.C. 1985. The significance of behaviour studies in insecticide research. *Pesticide Science*. 16:558-559.
- Winqvist, C., Bengtsson, J., Aavik, T., Berendse, T., Clement, L.W., Eggers, S., Fischer, C., Flohre, A., Geiger, F., Liira J., Pärt T., Thies, C., Tscharnke, T., Weisser, W.W., Bommarco R. 2011. Mixedeffects of organic farming and landscape complexity on farmland biodiversity and biological control potential across Europe. *Journal of Applied Ecology*. 48:570-579.
- World Health Organization. 1957. Expert committee on insecticides. World Health Organization technical report series. 67:451-454.
- Young, C.L. & Stephen, W.P. 1970. The acoustical behavior of *Acheta domesticus* L. following sublethal

doses of parathion, dieldrin, and sevin. *Oecologia* Berlin. 4:143-162

Zhu, F., Li, T., Zhang, L., Liu, N., 2008. Co-up-regulation of three P450 genes in response to permethrin exposure in permethrin resistant house flies, *Musca domestica*. *BMC Physiology*. 8:18.