

KEMIJSKO IN BIOTIČNO SLEDENJE ORGANSKIH FOSFORNIH PESTICIDOV V OKOLJU

Polonca TREBŠE¹, Mojca BAVCON², Katja STANEK³, Damjana DROBNE⁴

^{1,2,3}Laboratorij za raziskave v okolju, Politehnika Nova Gorica

⁴Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Ljubljana

IZVLEČEK

Organske fosforne pesticide uporabljamo v kmetijstvu kot insekticide. Te spojine inhibirajo delovanje encima acetilholinesteraze (AChE), ki uravnava prenos živčnih impulzov v organizmih. Velika uporaba omenjenih pesticidov v intenzivnem kmetijstvu in vpliv tako na tarčne kot tudi na netarčne organizme narekujejo spremljanje zastopanosti teh spojin v okolju, njihovo morebitno adsorpcijo v tleh ter razgradnjo in nastanek metabolitov. S klasičnimi analitskimi metodami (plinsko ali tekočinsko kromatografijo) določamo vsebnost pesticidov v najrazličnejših vzorcih, vpliv strupenosti omenjenih spojin na živem svetu pa lahko spremljamo z merjenjem aktivnosti encima acetilholinesteraze v izbranih organizmih.

Ključne besede: organski fosforni pesticidi, hidroliza, oksidacija, kopenski enakonožni raki *Porcellio scaber*, acetilholinesteraza

ABSTRACT

CHEMICAL AND BIOLOGICAL MONITORING OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDES IN THE ENVIRONMENT

Organophosphorus compounds (OP) are mostly used in agriculture as pesticides. They inhibit acetylcholinesterase activity not only in insects but can also affect the nervous system of humans. Large amounts of those pesticides in extensive agriculture and their effects on target as well as on non-target organisms declare monitoring of such compounds in the environment. In particular, their eventual adsorption in soil and degradation and formation of metabolites should be monitored. By using classical analytical methods (gas or liquid chromatography) we are able to determine a content of pesticides in different samples, but the effects of their application, so called toxicity on a wide range of living organisms and humans can be followed by measuring the AChE activity in selected organisms.

Keywords: organophosphorus pesticides, hydrolysis, oxidation, terrestrial crabs *Porcellio scaber*, acetylcholinesterase

1 UVOD

Organske fosforne pesticide (OP) uporabljajo v intenzivnem kmetijstvu kot insekticide. Razvili so jih kot zamenjavo za spojine kloriranih ogljikovodikov predvsem zato, ker so le-te v naravi bistveno bolj obstojne in se akumulirajo v organizmih, organske fosforne spojine pa se zaradi hidrofilitnosti v organizmih ne akumulirajo, prav tako pa se tudi lažje razgradijo. Na škodljivce učinkujejo kot inhibitorji encima acetilholinesteraze, ki uravnava prenos živčnih impulzov. Posledica je akumuliranje živčnega prenašalca acetilholina in s tem neprekinjen potek postsinaptičnega impulza (Chambers, 1992).

Velika poraba vseh pesticidov narekuje spremljanje njihove razgradnje in morebitne akumulacije v okolju (van der Hoff *et al.*, 1999). Do vnosa OP v naravo prihaja s pogostim in velikokrat tudi prekomernim škropljenjem zelenjave in sadja. Obstojnost OP v tleh je

¹ doc. dr., Vipavska 13, SI-5000 Nova Gorica

² univ. dipl. chem.

³ univ. dipl. biol.

⁴ prof. dr.

odvisna od katalitskih sposobnosti tal, osvetljenosti obdelovalnih zemljišč in topnosti pesticida v vodi. Bolje topni pesticidi se namreč z dežjem hitreje spirajo iz tal, z osvetljenostjo in sončno lego pa se večja vpliv fotolize. V vodi pa so OP izpostavljeni pretežno hidrolizi. Nekateri, npr. diazinon razpadejo hitreje v kislih razmerah, malation in malaokson pa v bazičnih.

Hidroliza je eden od glavnih procesov pretvorbe organskih fosforinih pesticidov v vodnem mediju in v sedimentih, kajti organske fosforne estrske vezi zlahka hidrolizirajo. V nekaterih primerih lahko poteče hidroliza na več reakcijskih centrih v dani organski fosforini molekuli. Ključ občutljivosti organskih fosforinih spojin za hidrolitski razkroj je v manjši elektronski gostoti na fosforjevem atomu. Zaradi tega močno vplivajo na stabilnost organskih fosforinih estrov substituirane skupine in njihove elektron-donorske oziroma elektronprivlačne lastnosti. Hitrost hidrolize organskih fosforinih spojin je odvisna tudi od pH vrednosti vzorca. Diazinon, na primer, hitro hidrolizira tako v zelo kislem kot tudi bazičnem mediju. Ker je kisik bolj elektronegativen kot žveplo, so tudi okso-derivati bolj dovzetni za hidrolizo kot tio-substituirani pesticidi. Izpostavljanje organskih fosforinih spojin sončni svetlobi lahko povzroči fotolitsko razgradnjo. To se lahko zgodi preko direktne fotolize, pri čemer pesticid absorbira UV svetlobo in nato reagira z reaktanti iz okolja ali pa razpade sam. Pogostejša je indirektna fotoliza, povezana z zastopanostjo huminskih ali anorganskih substanc, ki absorbirajo svetlobo in nato reagirajo s pesticidom ali pa tvorijo kisikove, hidroksilne ali peroksi radikale, ki povzročijo fotooksidacijo pesticida (Pehkonen in Zhang, 2002).

Sledenje organskih fosforinih pesticidov v okolju ne poteka samo s kemijskimi metodami. Glede na dejstvo, da OP učinkujejo na aktivnost encima acetilholinesteraze, lahko učinke delovanja omenjenih pesticidov sledimo tudi na organizmih. Z ugotavljanjem učinkov in posledic delovanja organofosforinih insekticidov na vretenčarje se ukvarjajo številne raziskovalne skupine, zato je način delovanja teh insekticidov na višje organizme dobro znan. V zadnjem času so tovrstne raziskave razširili tudi na nižje organizme, predvsem na skakače (*Collembola*), deževnike in kopenske enakonožne rake (Drobne, 1997). Rezultati kažejo, da se po različno dolgih izpostavitvah pesticidom iz skupine organskih fosfatov kažejo različni učinki. Tako med štiritedensko izpostavitvijo raka *Porcellio scaber* dimetoatu v koncentraciji 75 µg dimetoata/g suhe hrane, ni bilo vpliva na rast testnih organizmov (Fischer *et al.*, 1997). Štiritedenski poskus, v katerem so rake vrste *Porcellionides pruinosus* izpostavili diazinonu v hrani v koncentracijah 8.71, 18.73, 40.73, 86.50, 186.18 in 400.2 µg diazinona/g suhe hrane, pa je pokazal, da dodatek tega insekticida zavira rast. LC₅₀ za diazinon je znašal 303 µg/g po treh tednih in 74.15 µg/g po šestih tednih. Vrednosti LC₅₀ za izpostavljenost testnih organizmov diazinonu za manj kot tri tedne ni bilo mogoče izračunati, ker je bila smrtnost pri najvišji koncentraciji diazinona manjša od 50% (Vink *et al.*, 1995). V tritedenskem poskusu so kopenskega raka vrste *Porcellio dilatatus* izpostavili parationu, ki so ga dodali hrani v koncentracijah 0.1, 1, 10, 25, 50, 100, 250 in 500 µg parationa/g suhe hrane. Po treh tednih so ugotavljali aktivnost encima acetilholinesteraze (AChE) in laktat dehidrogenaze (LDH). Paration je povzročil močno znižano aktivnost tako AChE kot tudi LDH (Ribeiro *et al.*, 2001).

Pri naših raziskavah smo s plinsko kromatografijo s plamensko-ionizacijskim detektorjem spremljali razgradnjo dveh pesticidov: malationa in diazinona ter nastajanje njunih razkrojnih produktov 2-izopropil-6-metil-4-pirimidinola (IMP) in malaoksona v vodi, tleh in zelenjavi skozi 21 dni. Obenem pa smo hoteli ugotoviti, ali je možno spremljati strupenost omenjenih insekticidov tudi na živem svetu. S poskusi smo tako ugotavljali, kako se spreminja aktivnost encima acetilholinesteraze v kopenskem enakonožnem raku *Porcellio scaber*, ki je tarčni encim pri delovanju omenjenih insekticidov. Poleg merjenja

aktivnosti encima pa smo med dvo in štiritedensko izpostavitvijo spremljali še težo, učinkovitost asimilacije (AE) in smrtnost.

2 MATERIALI IN METODE

Kemikalije: Pri eksperimentalnem delu smo uporabljali pesticide in njihove metabolite najmanj 95% čistosti. Diazinon in malaokson smo kupili pri Pestanalu, IMP pa pri Aldrichu. Malation so nam podarili na Kmetijskem inštitutu Slovenije v Ljubljani. Topila smo dobavili pri različnih dobaviteljih (Merck, Carlo Erba, J. T. Baker).

Kemijska analiza spojin: Vse ekstrakte spojin iz radiča, tal in vode smo analizirali na plinskem kromatografu GC HP 6890 s plamensko ionizacijskim detektorjem (FID) na nepolarni koloni SPB-1 dimenzij 30 m x 0,53 mm; debelina filma: 3 μ m; stacionarna faza: 100% polidimetilsiloksan. Temperaturo na koloni smo pri določevanju pesticidov v vseh ekstraktih spreminjali za 10°C/min od začetne temperature 80°C do končne 290°C. Zaradi zamudne obdelave vzorcev (vzorčenje, ekstrakcija, sušenje, koncentriranje, analiza) smo poskuse na radiču in zemlji izvajali v dveh, poskuse z vodo pa v štirih paralelkah. Relativna standardna deviacija v vseh eksperimentih je bila 5-15%.

Gojenje živali: Kopenske enakonožne rake (*Porcellio scaber*), ki smo jih nabrali v neonesnaženem okolju, smo v laboratoriju gojili v steklenih posodah (20 x 35 x 20 cm), katerih dno smo prekrili z 2 – 5 cm plastjo peska in tal. Na plast tal smo dodali debelo plast suhih leskovih listov (*Corylus avellana*), ki so bili osnovna hrana, dvakrat tedensko pa smo jim dodajali koščke sadja in zelenjave. Gojišča smo dnevno vlažili z destilirano vodo.

Priprava hrane za poskus: Odpadle liste leske, nabrane v neonesnaženem okolju, smo posušili - herbarizirali. Iz listov smo izrezali koščke z maso 100 mg in približno enako površino. Na spodnjo stran listov smo s pipeto nanесли 150 μ l vodnih raztopin diazinona različnih koncentracij in pustili, da so se listi posušili. Končne koncentracije diazinona na listih so bile 5, 10, 50 in 100 μ g diazinona/g suhe teže lista. Kontrolne živali smo hranili z enako pripravljenimi listi brez dodanega diazinona.

Merjenje aktivnosti AChE: Encimsko aktivnost smo merili po končanem poskusu. Posamezno žival smo homogenizirali v fosfatnem pufru (pH = 7) in centrifugirali 15 minut pri 3000 obratih/min. Aktivnost AChE smo merili s kolorimetrično metodo po Ellmanu na spektrofotometru HP 8453 pri valovni dolžini 412 nm 8 minut (Ellman *et al.*, 1961). Da smo dobili končni volumen 3 ml, smo 500 μ l vzorca (supernatant homogenizirane živali) dodali 20 μ l acetilholin jodida (0.075 M), 100 μ l ditiobisnitrobenzojske kisline (DTNB, 0.01 M) in 2380 μ l fosfatnega pufru (pH = 7). Meritve smo izvedli v dveh paralelkah. Encimsko aktivnost smo izrazili glede na težo živali v enotah/g teže. 1 enota ustreza 1 μ molu substrata, hidroliziranega v minuti.

Študij razgradnje malationa in diazinona v radiču: K 50 g homogeniziranega vzorca smo dodali ustrezno koncentracijo standardnih raztopin spojin diazinona, malationa, IMP in malaoksona (v nadaljevanju spojin) v etil acetatu, 100 mL raztopine Na₂SO₄ (10 g Na₂SO₄ /100 mL vode) ter dolili do 70 mL etil acetata, zmes nato prefiltrirali in organsko fazo ločili v liju ločniku. Ekstrakt smo sušili z brezvodnim Na₂SO₄ in etil acetat odparili na rotavaporju, preostanek pa raztopili v 1 mL etil acetata. 4 μ L ekstrakta smo vbrizgali (splitless) na kromatografsko kolono SPB-1.

Koncentracijo spojin na radiču v naravi smo spremljali vsak drugi dan v obdobju 21 dni. V tem obdobju smo spremljali tudi količino padavin in število sončnih dni ter potrdili sklep o vplivu vremena na razgradnjo pesticidov v naravi. Za določevanje pesticidov na radiču v naravi smo sledili zgoraj navedenemu postopku za pripravo umeritvene krivulje za določanje pesticidov v radiču brez dodatka standardnih raztopin pesticidov v etil acetatu.

Študij razgradnje malationa in diazinona v tleh: V 500 mL bučko smo natehtali 50 g suhe, zmlete in presejane zemlje, dodali ustrezno koncentracijo standardnih raztopin spojin v etil acetatu in dolili 70 mL etil acetata in vzorec homogenizirali. Zemljo smo pustili 1 dan v digestoriju, tako da je popolnoma ves etil acetat odhlapel. Naslednji dan smo 10 g tako pripravljene zemlje dodali 2,5 mL deionizirane vode in trikrat po 10 min ekstrahirali z etil acetatom (1 x 15 mL, 2 x 10 mL). Vse ekstrakte smo združili, odparili topilo na rotavaporju in preostanek raztopili v 1 mL etil acetata. Nato smo 4 μ L ekstrakta vbrizgali na kromatografsko kolono za analizo.

Poskus na tleh je bil zastavljen v dveh delih. V prvem delu smo opazovali vpliv svetlobe na razpad diazinona na suhi in sterilizirani zemlji, v drugem delu pa razpad diazinona v naravnih razmerah. Tla, ki smo jih analizirali po zgoraj opisanem postopku ekstrakcije spojin iz tal z dodanimi pesticidi, so imela pH = 7,1 s 3,5 % vsebnostjo organskih substanc. V prvem delu smo natehtali 500 g tal in ji dodali diazinon v etil acetatu, tako da je bila koncentracija diazinona v tleh približno 5 mg/kg. 250 g tal smo pustili v temi, 250 g pa na svetlobi. Obe posodi smo postavili v naravo in zavarovali pred

dežjem. V drugem delu pa smo 1 m² tal škropili s pripravkom, ki vsebuje 60% diazinona, po navodilih za škropljenje, ki jih navaja proizvajalec.

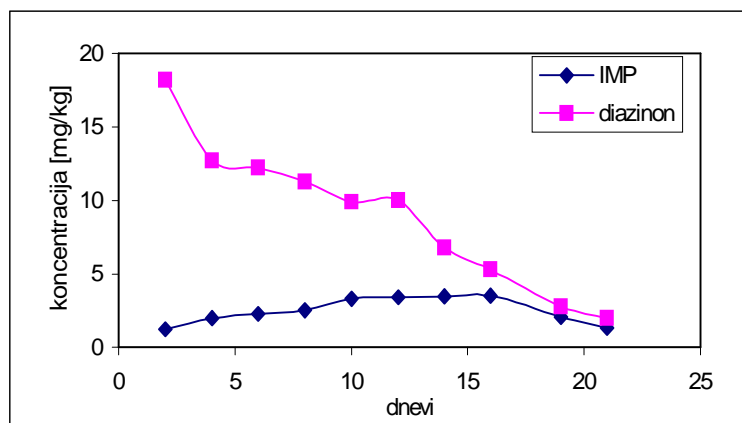
Študij razgradnje malationa in diazinona v vodi: za pripravo umeritvene krivulje za določanje pesticidov v vodi smo 10 mL delovne raztopine spojin z različnimi koncentracijami pesticidov 3 x ekstrahirali z etil acetatom (1 x 25 mL, 1 x 20 mL, 1 x 10mL) ob dodatku 50 mL raztopine Na₂SO₄ (10 g Na₂SO₄/100 mL vode).

Poskus v vodi nam je služil za določanje razgradnje malationa in diazinona v temi in na svetlobi, zato smo 1L delovne raztopine z približno koncentracijo 5 mg/L postavili v temo 1L pa na svetlobo in vsak drugi dan v obdobju 21 dni analizirali 10 mL alikvote po postopku, opisanem za pripravo umeritvene krivulje za določanje pesticidov v vodi.

Poskus s kopenskimi enakonožnimi raki (*Porcellio scaber*): Živali obeh spolov s telesno težo 20 ± 5 mg (mladiče) smo za dva oz. štiri tedne hranili s hrano, ki smo ji dodali diazinon v različnih koncentracijah: 5, 10, 50 in 100 oz. 150 µg diazinona/g suhe hrane. Živali smo vsako posebej namestili v petrijevko, kjer smo jih hranili s suhimi listi leske (*Corylus avellana*) z dodanim diazinonom v različnih koncentracijah in v kontrolni skupini, ki smo jo hranili z listi leske, na katere smo nanесли destilirano vodo. Petrijevke smo vsak dan pregledovali ter vlažili z destilirano vodo. Vsak tretji dan smo živalim ponudili svežo hrano. Med poskusom smo živali vsak drugi dan tehtali, spremljali smo količino zaužite hrane in smrtnost. Sedmi in štirinajsti dan poskusa smo stehali iztrebke. Na osnovi mase použitih listov (C) in mase iztrebkov (F) smo izračunali učinkovitost asimilacije hrane (AE) po formuli $AE = (C-F)/C$.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Rezultati študija razgradnje malationa in diazinona na radiču: Na sliki 1 lahko vidimo trend zmanjševanja koncentracije obeh pesticidov na radiču. Koncentracija malaoksona je v 5 dneh naraščala, potem pa se je začela zmanjševati. Diazinon je v 5 dneh popolnoma razpadel, malation pa 95 %. Malaokson je bil zastopan že v pripravku samem (na začetku 7,1 mg/kg) in je v 21 dneh razpadel 60% glede na najvišjo vrednost pri 5 dneh.

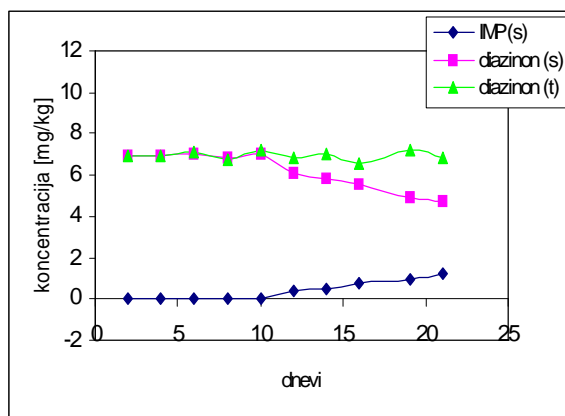


Slika 1: Vsebnost diazinona in malationa ter nastalega malaoksona v radiču v obdobju 21 dni

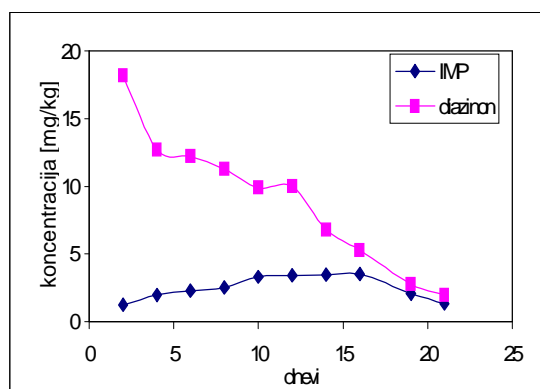
Rezultati študija razgradnje diazinona v tleh: Slika 2 je prikazuje razpad diazinona in nastajanje IMP na svetlobi in v temi. Na svetlobi razpade 30% diazinona in ravno toliko nastane IMP; medtem ko IMP v tleh, ki so bila postavljena v temo nismo opazili. Na sliki 3 pa lahko vidimo, da se je vrednost diazinona v naravi zmanjšala za 90 % pri tem pa je nastalo 40 % IMP. Pri poskusu v naravi moramo upoštevati poleg hidrolize in fotolize še mikrobiotično razgradnjo in spiranje iz tal.

Rezultati študije razgradnje diazinona in malationa v vodi: Ugotovili smo, da se diazinon razkroji v IMP v enaki meri tako v bučki, ki je bila izpostavljena sončni svetlobi, kot tudi v bučki, ki je bila postavljena v temen prostor (slika 4). Glede na dobljene in literaturne

podatke sklepamo, da je potekala le hidroliza diazinona, katere hitrost ni odvisna od svetlobe, ampak od pH in temperature.

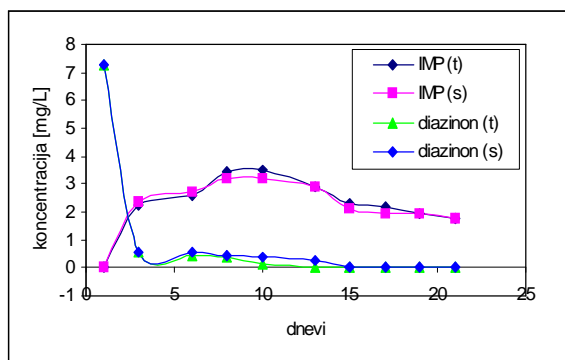


Slika 2: Potek razkroja diazinona na svetlobi in v temi

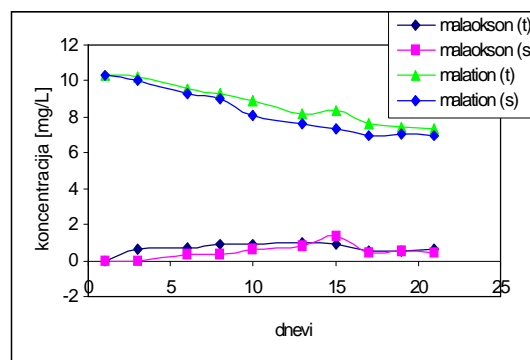


Slika 3: Potek razkroja diazinona v naravi

Razkroj malationa (slika 5) je tako v temi kot na svetlobi počasnejši kot pri diazinonu. Koncentracija malaoksona naraste v prvih dnevih, kasneje se med eksperimentom ni bistveno spreminjala. Malation se je v vodi razgradil 30 %, pri tem se ga je 10 % oksidiral v malaokson. Diazinon se je 95 % razgradil že v prvih dveh dneh, v celoti pa je 95 % hidroliziral v IMP.



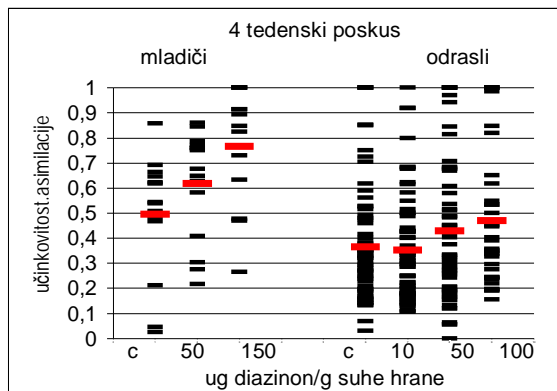
Slika 4: Razkroj diazinona v vodi v temi in na svetlobi



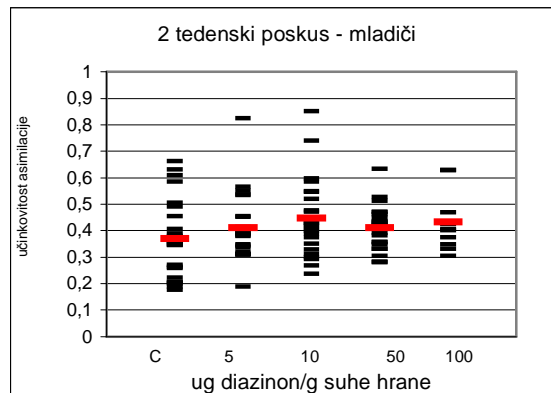
Slika 5: Razkroj malationa v vodi v temi in na svetlobi

Rezultati poskusa z živalmi: V štiritredenskem poskusu smo ugotovili veliko variabilnost prirasti, kar kaže, da prirast ni zanesljiv kazalec izpostavljenosti diazinonu. Povprečna učinkovitost asimilacije kontrol je bila 48%; pri živalih, ki so bile izpostavljene različnim koncentracijam diazinona pa je nihala od 63% do 77% (slika 6). Rezultati dvotedenskega poskusa z mladiči kopenskega enakonožnega raka *Porcellio scaber*, hranjenimi z diazinonom v subletalnih koncentracijah (5, 10, 50 in 100 µg diazinona/g suhe teže hrane), so pokazali, da te koncentracije niso imele vpliva niti na spremembo telesne teže niti na učinkovitost asimilacije v primerjavi s kontrolno skupino (slika 7).

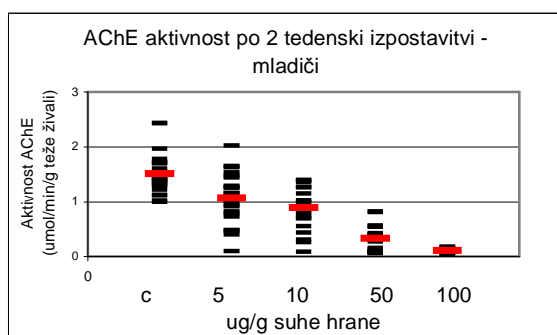
Izpostavljenost diazinonu v hrani pa se je kazala v zmanjšani aktivnosti encima acetilholinesteraza (AChE). Po dveh tednih izpostavljenosti koncentracijam 5 in 10 µg diazinona/g suhe hrane smo opazili zmanjševanje aktivnosti encima, po izpostavljenosti višjim koncentracijam (50 in 100 µg diazinona/g suhe hrane) pa prav tak pojav (slika 8).



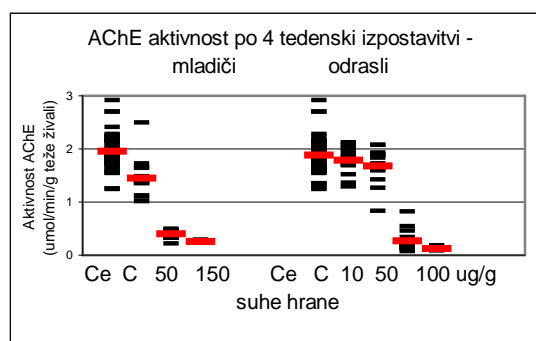
Slika 6: Učinkovitost asimilacije (AE) pri mladičih in odraslih živalih kopenskega enakonožnega raka *Porcellio scaber* po štirih tednih izpostavitve diazinonu v hrani v koncentracijah 50 in 150 ter 10, 50 in 100 µg diazinona/g suhe hrane



Slika 7: Učinkovitost asimilacije (AE) pri mladičih kopenskega enakonožnega raka *Porcellio scaber* po dveh tednih izpostavitve diazinonu v hrani v koncentracijah 5, 10, 50 in 100 µg diazinona/g suhe hrane



Slika 8: Aktivnost encima acetilholinesteraza (AChE) pri mladičih kopenskega enakonožnega raka *Porcellio scaber* po dveh tednih izpostavitve diazinonu v hrani v koncentracijah 5, 10, 50 in 100 µg diazinona/g suhe hrane



Slika 9: Aktivnost encima acetilholinesteraza (AChE) pri mladičih in odraslih živalih raka *Porcellio scaber* po štirih tednih izpostavitve diazinonu v hrani v koncentracijah 50 in 150 µg (mladiči) oz. 10, 50 in 100 µg diazinona/g suhe hrane (odrasli)

Če primerjamo rezultate dvotedenskega poskusa z rezultati štiritedenskega poskusa z mladiči, lahko ugotovimo, da je smrtnost po štiritedenski izpostavitvi diazinonu v koncentraciji 50 µg diazinona/g suhe hrane znašala 25% in v koncentraciji 100 µg diazinona/g suhe hrane 94%, medtem ko po dvotedenski izpostavitvi diazinonu v koncentraciji 50 µg diazinona/g suhe hrane smrtnosti ni bilo, pri koncentraciji 100 µg diazinona/g suhe hrane pa je bila smrtnost 17%.

Po štiritedenski izpostavitvi je postal opazen učinek diazinona na spremembo teže in asimilacijsko učinkovitost pri koncentraciji 150 µg diazinona/g suhe hrane ter na aktivnost encima acetilholinesteraze že pri koncentraciji 50 µg diazinona/g suhe hrane (slika 6, 9). Po dvotedenski izpostavitvi mladičev diazinonu v koncentracijah 5, 10, 50 in 100 µg diazinona/g suhe hrane pa ni bilo učinka diazinona na spremembo teže in učinkovitost asimilacije, še vedno pa je bilo opazno zmanjšanje aktivnosti acetilholinesteraze, znatno pri živalih, ki so bile izpostavljene koncentracijam 50 in 100 µg diazinona/g suhe hrane.

Po dvotedenski izpostavitvi mladičev diazinonu v koncentraciji 10 µg diazinona/g suhe hrane je prišlo do izrazitejšega zmanjšanja aktivnosti AChE v primerjavi z izpostavitvijo odraslih živalih isti koncentraciji diazinona, kar kaže, da so mladiči bolj občutljivi na izpostavljenost diazinonu (Slika 8, 9).

4 SKLEP

Organske fosforne pesticide običajno spremljamo v okolju s kemijskimi metodami. S sledenjem spreminjanja aktivnosti encima acetilholinesteraze pa je možno ugotavljati toksičnost omenjenih pesticidov za izbrane organizme.

Štiri spojine: pesticida diazinon in malation ter njuna razgradna produkta, IMP in malaokson, smo s plinsko kromatografijo v kombinaciji s plamensko ionizacijskim detektorjem spremljali v vzorcih vode, zemlje in radiča. Z določanjem pesticidov v radiču smo ugotovili, da oba pesticida v 21 dneh popolnoma razpadeta, diazinon popolnoma že v 5 dneh, malation pa v 5 dneh 95%. Malaokson je bil zastopan že v pripravku samem in se ga razkroji 60% glede na najvišjo vrednost pri 5 dneh. Po 21 dneh je malaoksona še 7,2 mg/kg, kar dvakrat preseže dopustno mejo, ki znaša 3 mg/kg za skupno malation in malaokson.

Tako v vodi kot v tleh je bistven proces hidroliza v primerjavi z oksidacijo. Diazinona v vodi razpade 95% že v 2 dneh in se ga prav toliko pretvori v IMP. Malationa se razgradi 30%, od tega se ga 10% oksidira v malaokson. Bistvenih razlik med razkrojem v temi in na svetlobi ni bilo. V tleh v naravnih razmerah razpade kar 90% diazinona in se ga 40% pretvori v IMP. S poskusom na tleh na svetlobi smo pokazali, da je razgradnja diazinona 30% in ravno toliko IMP tudi nastane. V temi diazinon ne razpade, saj se njegova koncentracija v 21 dnevih ni spremenila, prav tako tudi IMP nismo zasledili.

Dvo- in štiritedenska izpostavitve kopenskih rakov organskemu fosfornemu pesticidu diazinonu je povzročila povečano inhibicijo encima acetilholinesteraze pri subletalnih koncentracijah 50 in 100 oz. 150 µg/g suhe hrane. V dvotedenskem eksperimentu učinek diazinona na spremembo teže in učinkovitost asimilacije še ni bil izražen, medtem ko so bile pri daljšem, štiritedenskem poskusu že opazne spremembe v teži in asimilacijski učinkovitosti. Ugotovili smo, da je možno aktivnost encima acetilholinesteraza uporabljati kot biomarker za ugotavljanje izpostavljenosti kopenskih enakonožnih rakov *Porcellio scaber* diazinonu.

5 LITERATURA

- Chambers, W. H., 1992. Organophosphorus compounds: An Overview. In: Chambers, J. E., Vevi, P. E. (Eds), Organophosphates, Chemistry, Fate, and Effects, Academic Press, San Diego: 3-17.
- Drobne, D., 1997. Terrestrial isopods – A good choice for toxicity of pollutants in the terrestrial environment. Environ. Toxicol. Chem., 6: 1159-1164.
- Ellman G. L., Courtney D. K., Andreas V., Featherstone J., Featherstone R. M., 1961, A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7: 88-95.
- Fischer E., Farkas S., Hornung E., Past T., 1997. Sublethal effects of an organophosphorus insecticide dimethoate on *Porcellio scaber*. Comp.Biochem.Physiol., 2: 161-166.
- Pehkonen S. O. Zhang, Q., 2002. The degradation of organophosphorus pesticides in natural waters: A critical review. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 32 (1): 17-72.
- Ribeiro S., Guilhermino L., Sousa J. P., Soares A. M. V. M., 2001. Effect of endosulfan and parathion on energy reserves and physiological parameters of the terrestrial isopod *Porcellio dilatatus*. Ecotoxicol. Environ. Saf., 49: 131-138.
- van der Hoff, G. R., van Zoonen, P., 1999. Trace analysis of pesticides by gas chromatography, J. Chromatogr. A, 843: 301-322

Vink K., Dewi L., Bedaux J., Tompot A., Hermans M., van Straalen N.M., 1995. The importance of the exposure route when testing the toxicity of pesticides to saprotrophic isopods. *Environ. Toxicol. Chem.* 7: 1225-1232.