

Gimnazija in srednja šola Rudolfa Maistra  
Novi trg 41a, 1241 Kamnik

# Vpliv endokrinih motilcev na rast in razvoj mokarjev *Tenebrio molitor* (Insecta: Coleoptera)

RAZISKOVALNA NALOGA  
področje Biologije



AVTORJI:  
Brina Vita Mauhar  
Anže Sitar  
Filip Zemljic

MENTORJA:  
Cirila Jeras, prof. biol.  
asist. dr. Andraž Dolar, mag. prof. biol.

# ZAHVALA

Lepo se zahvaljujemo vsem, ki so pomagali pri nastajanju naše raziskovalne naloge. Posebna zahvala za mentorstvo in pomoč gre profesorici Cirili Jeras in dr. Andražu Dolarju. Zahvaljujemo se tudi profesorici Tatjani Zorman in profesorici Tatjani Cvrtilli Ložar za lekturo raziskovalne naloge.

Brina Vita Mauhar, Anže Sitar in Filip Zemljic

# POVZETEK

Kemikalije, ki delujejo kot endokrini motilci, so zaradi množične uporabe v vsakdanjem življenju vse bolj prisotne okoli nas, zato je neizbežno, da živi organizmi pridejo v stik z njimi. V raziskovalni nalogi smo na primeru hroščev mokarjev (*Tenebrio molitor*) preučili vpliv dveh pogostih kemikalij, tj. di-2-ethylheksil ftalata (DEHP) in kadmija (Cd), na rast in razvoj organizma. Hrošči mokarji predstavljajo pomemben organizem, ki se zadnje čase vse pogosteje uporablja v prehrani ljudi, hkrati so pomembni razkrojevalci v naravnem okolju, poleg tega pa se uporabljajo tudi kot testni organizmi v raziskavah učinkov različnih kemikalij. V raziskovalni nalogi smo izvedli prehranjevalni poskus, ki smo ga izvedli tako, da smo v ovsene otrobe zamešali kemikaliji DEHP (100, 1000, 10000 mg/kg suhih otrobov) in Cd (5000 mg/kg suhih otrobov) in nato ličinke mokarjev izpostavili za 8 tednov. V kontrolni skupini smo ličinke izpostavili nekontaminiranim ovsenim otrobom. Na podlagi rezultatov raziskave smo ugotovili, da 8-tedenska izpostavitev kemikalijama DEHP in kadmij izzove zmanjšano preživetje, razmnoževanje, upad mase testnih živali v primerjavi s kontrolo, spremenjeno levitev, hkrati pa se preobrazba ličinke v bubo in nadalje v odrasle hrošče upočasni oziroma ustavi. Rezultati raziskovalne naloge omogočajo vpogled v mehanizem delovanja testiranih kemikalij, hkrati pa dokazujejo, da sta kemikaliji DEHP in kadmij škodljivi za mokarje. V nalogi smo tudi kot prvi razvili in predlagali metodo za spremeljanje razmnoževanja odraslih hroščev mokarjev.

**Ključne besede:** endokrini motilci, di-2-ethylheksil ftalat, kadmij, mokarji, rast, razvoj

## ABSTRACT

The pervasive presence of endocrine-disrupting chemicals in our environment due to their extensive usage in everyday life necessitates inevitable exposure of living organisms to them. This research paper examines the impact of two prevalent chemicals, di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and cadmium (Cd), on the growth and developmental processes of *Tenebrio molitor*, commonly known as mealworms. Mealworms hold significance not only as an increasing component of human nutrition but also as vital decomposers within natural ecosystems, further serving as test organisms in studying the effects of diverse chemical agents.

In this research paper we established a feeding regime as we subjected mealworm larvae to varying concentrations of DEHP (ranging from 100 to 10,000 mg/kg dry bran) and Cd (at 5000 mg/kg dry bran) mixed with oat bran over an 8-week period. The control group of larvae received uncontaminated oat bran. Our findings revealed that an eight-week-long exposure to DEHP and cadmium resulted in reduced survival, reproduction and body weight in the test subjects compared to the control group. In addition, exposure altered larval moulting and slowed down or halted the progression of larval development into pupal and adult stages.

The outcomes of the research paper not only shed light on the mechanisms of action of the examined chemicals but also confirm that both DEHP and cadmium are harmful to mealworms. As part of the research project, we were also the first to develop and propose a method for monitoring the reproduction of adult mealworms.

**Key words:** endocrine disruptors, di-2-ethylhexyl phthalate, cadmium, mealworms, growth, development.

# KAZALO VSEBINE

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1. Opredelitev problema.....	1
1.2. Namen in cilji raziskovalne naloge.....	1
1.3. Hipoteze .....	1
<b>2. TEORETIČNI DEL .....</b>	<b>2</b>
2.1. Hormonski motilci.....	2
Vrste motilcev .....	3
2.1.1. Učinki endokrinih motilcev na živali .....	9
2.1.1.1. Učinki endokrinih motilcev na razvoj in hormonalni sistem žuželk .....	10
2.1.2. Posledice endokrinih motilcev pri ljudeh .....	12
2.2. Delovanje hormonov v našem telesu .....	13
2.2.1. Vrste in delovanje hormonov .....	13
2.2.2. Delitev hormonov .....	14
2.2.3. Delovanje ščitnice in spolnih žlez.....	18
2.3. Mokarji ( <i>Tenebrio molitor</i> ).....	22
2.3.1. Razširjenost.....	22
2.3.2. Anatomija in morfologija mokarja .....	22
2.3.3. Razmnoževanje in razvoj mokarjev .....	23
2.3.4. Prehranjevanje .....	24
2.3.5. Vloga v ekosistemu .....	24
2.3.6. Pomen v prehrani.....	25
<b>3. PRAKTIČNI DEL .....</b>	<b>26</b>
3.1. Načrt poteka prehranjevalnega eksperimenta.....	26
3.1.1. Med poskusom merjeni parametri oz. biomarkerji:.....	27
3.2. Vzgoja poskusnih živali v laboratoriju Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani.	28
3.3. Pogoji in delo v šolskem laboratoriju.....	28
3.3.1. Priprava testnih koncentracij kadmija in DEHP .....	29
3.3.2. Priprava gojilnih lončkov za izpostavitev ličink.....	29
3.3.3. Izbor ličink mokarja.....	31
3.3.4. Označevanje ličink: .....	32
3.3.5. Priprava razmnoževalnih plošč za odrasle hrošče mokarje .....	33
3.3.6. Opazovanje vpliva hormonskih motilcev na razmnoževanje .....	34
3.3.7. Statistična analiza .....	34

4.	REZULTATI .....	35
4.1.	Preživetje mokarjev .....	35
4.2.	Razvoj, masa in levitev mokarjev.....	36
4.2.1.	Razvojna faza ličinke .....	38
4.2.1.1.	Odstotek ličink mokarjev med izpostavitvijo.....	38
4.2.1.2.	Masa ličink mokarjev med izpostavitvijo.....	39
4.2.1.3.	Levitev ličink mokarjev med izpostavitvijo .....	40
4.2.2.	Razvojna faza bube .....	42
4.2.2.1.	Odstotek bub mokarjev med izpostavitvijo .....	42
4.2.3.	Razvojna faza hrošča.....	43
4.2.3.1.	Odstotek hroščev mokarjev med izpostavitvijo .....	43
4.4.	Razmnoževanje odraslih hroščev mokarjev.....	44
4.4.1.	Povprečno število potomcev na skupino, ki je bila izpostavljena različnim koncentracijam kemikalij DEHP in kadmija.....	44
5.	ANALIZA REZULTATOV .....	45
5.1.	Preživetje mokarjev .....	45
5.2.	Razvoj in rast mokarjev.....	45
5.2.1.	Vpliv kadmija.....	45
5.2.2.	Vpliv DEHP.....	46
5.3.	Razmnoževanje mokarjev.....	47
5.4.2.	Vpliv DEHP.....	47
6.	ZAKLJUČEK.....	48
6.1.	Vrednotenje hipotez .....	48
6.2.	Predlogi in načrti za nadaljnje raziskave .....	49
7.	VIRI IN LITERATURA.....	50

## KAZALO SLIK

Slika 1: Kemična zgradba PCB .....	3
Slika 2: Kemična zgradba dioksina .....	3
Slika 3: Kemična zgradba benzopirena .....	4
Slika 4: Kemična zgradba BPA .....	4
Slika 5: Kemična zgradba Alkilfenola .....	5
Slika 6: Kadmij .....	6
Slika 7: Kemična zgradba DEHP.....	7
Slika 8: Delovanje DEHP .....	8
Slika 9: Delovanje splošnih endokrinih motilcev .....	9
Slika 10: vloga hormonov pri razvoju žuželk.....	11
Slika 11: Organi pod vplivi endokrinih motilcev .....	12
Slika 12:Delovanje signalnih molekul in glavne endokrine žleze v človeškem telesu .....	14
Slika 13:Položaj receptorja za hormon .....	15
Slika 14: Prikaz delovanja adrenalina.....	16
Slika 15: Prikaz delovanja učinka povratne zanke .....	17
Slika 16: Delovanje ščitnice .....	18
Slika 17: Zgradba ščitnice in njenih hormonov.....	19
Slika 18: Delovanje testosterona .....	20
Slika 19: Delovanje estrogena in progesterona .....	21
Slika 20: Anatomija hrošča mokarja.....	22
Slika 21: Anatomija ličinke mokarja .....	22
Slika 22: Razvojni cikel mokarja .....	23
Slika 23: Hrošči in ličinke mokarja.....	24
Slika 24: Primer uporabe ličinke mokarja v prehrani.....	25
Slika 25: Gojilni lončki .....	28
Slika 26: Priprava raztopin DEHP in kadmija.....	30
Slika 27: Priprava kadmija v otrobih .....	30
Slika 28: Kemikalija DEHP.....	30
Slika 29: Priprava gojilnih lončkov za ličinke mokarja .....	30
Slika 30: Priprava gojilnih lončkov za ličinke mokarja. ....	30
Slika 31: Skupina ličink. .....	31
Slika 32: Označevanje ličink .....	32
Slika 33: Označena ličinka .....	32
Slika 34: Priprava razmnoževalnih plošč.....	33
Slika 35: Določanje spola hrošča mokarja.....	34
Slika 36: Hrošč mokarja.....	47
Slika 37: Iskanje jajčec mokarja .....	47
Slika 38: Iskanje jajčec mokarja s pinceto .....	47
Slika 39: Ličinka mokraja pod lupo.....	47

## KAZALO GRAFOV

Graf 1: Preživetje mokarjev po 8 tednih izpostavitve DEHP in kadmiju v otrobih .....	35
Graf 2: Odstotek ličink mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih.	38
Graf 3:Masa ličink mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih .....	39
Graf 4: Prikaz levitve ličink mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih .....	41
Graf 5: Odstotek bub mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih ..	42
Graf 6: Odstotek odraslih hroščev mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih.....	43
Graf 7: Povprečno število potomcev na skupino, ki je bila izpostavljena različnim koncentracijam kemikalij DEHP in kadmija.....	44

## KAZALO TABEL

**Tabela 1:** Prikaz števila mokarjev v različnih razvojnih fazah (ličinka, buba, hrošč) v odvisnosti od časa in kemikalije (št. 1).....36

**Tabela 2:** Prikaz števila mokarjev v različnih razvojnih fazah (ličinka, buba, hrošč) v odvisnosti od časa in kemikalije (št. 2).....37

**Tabela 3:** Prikaz števila levitev na ličinko mokarjev v časovni odvisnosti glede na izpostavljenost različnim koncentracijam kemikalijam.....40

# 1. UVOD

## 1.1. Opredelitev problema

Kemikalije, ki delujejo kot endokrini motilci, so zaradi množične uporabe v vsakdanjem življenju vse bolj prisotne okoli nas, zato je neizbežno, da živi organizmi pridejo v stik z njimi. Na primeru hroščev mokarjev (*Tenebrio molitor*), ki se zadnje čase vse pogosteje uporabljajo v prehrani ljudi, hkrati so pomembni razkrojevalci v naravnem okolju oziroma se pogosto uporabljajo tudi kot testni organizmi v raziskavah učinkov različnih kemikalij, smo s prehranjevalnim poskusom preučevali vpliv dveh pogostih kemikalij, tj. di-2-etylheksil ftalata (DEHP) in kadmija (Cd), na rast in razvoj organizma.

## 1.2. Namen in cilji raziskovalne naloge

- Preučiti vpliv izpostavitve testnega kopenskega organizma mokarja (*Tenebrio molitor*) kemikaliji di-2-etylheksil ftalat (v nadaljevanju DEHP) kot pogosti hormonski motilec v okolju.
- Raziskati vpliv različnih koncentracij kemikalije DEHP na preživetje, maso, levitev in razvoj testnega organizma.
- Ugotoviti vpliv izpostavitve kadmiju na testni organizem.
- Primerjati rezultate znanega hormonskega motilca kot je kadmij z rezultati dobljenimi pri izpostavitvi mokarjev z DEHP in odkriti odzive testnega organizma po izpostavitvi.

## 1.3. Hipoteze

- a) Kemikalija DEHP bo vplivala na preživetje mokarjev.
- b) Razvoj mokarjev, izpostavljenim DEHP, bo počasnejši kot v kontrolni skupini.
- c) Ličinke mokarjev bodo zaradi izpostavljenosti DEHP bolj pridobivale na masi.
- d) Število levitev ličink mokarja izpostavljenih DEHP bo manjše.
- e) Izpostavljenost ličink mokarjev kadmiju bo negativno vplivala na preživetje, maso, levitev in razvojni cikel.
- f) Razmnoževanje hroščev, ki se bodo razvili med izpostavitvijo DEHP in kadmiju, bo slabše kot v kontroli.

## 2. TEORETIČNI DEL

### 2.1. Hormonski motilci

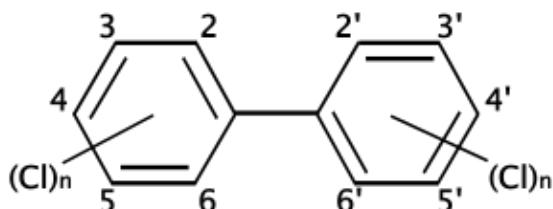
Hormonski oz. endokrini motilci so snovi, ki spreminja delovanje hormonalnega sistema in s tem posledično škodujejo zdravju. Motijo proizvodnjo, sproščanje, transport, presnovo, vezavo, delovanje in eliminacijo naravnih hormonov v telesu, s tem pa vplivajo na ohranjanje notranjega ravnotesja, plodnost, vedenje in razvoj. Lahko:

- Posnemajo naravno prisoten hormon v telesu, kot so estrogeni (ženski spolni hormoni), androgeni (moški spolni hormoni), in ščitničnih hormonov, kar lahko vodi do prekomerne stimulacije.
- Vežejo se na receptor v celici kot ključ in blokirajo naravno prisoten hormon, da ne opravlja svojih funkcij. Telo se ne odzove pravilno. Primeri kemikalij, ki blokirajo hormone, so anti-estrogeni in anti-androgeni.
- Motijo ali blokirajo pot naravnih hormonov, oz. njihove receptorje, nato nastajajo v telesu, na primer s spreminjanjem njihove presnove v jetrih.

Endokrini motilci pridejo v vodo v industrijskih odplakah in zavrženju starih naprav. Tako se kopijočijo v mulju, sedimentih rek in morjih ter s tem posledično tudi v morskih in rečnih bitjih, ki jih tudi človek lahko zaužije. V človeški organizem vstopajo skozi prebavila, dihala in kožo.

## Vrste motilcev

- Poliklorirani bifelini oz. PCB-ji:



Slika 1: Kemična zgradba PCB

vir slike: ([https://sl.wikipedia.org/wiki/Poliklorirani\\_bifenili](https://sl.wikipedia.org/wiki/Poliklorirani_bifenili))

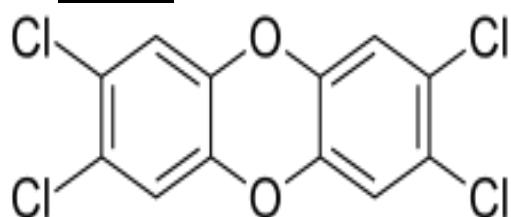
Poliklorirani bifenili oz. PCB so organske spojine iz skupine kloriranih cikličnih ogljikovodikov. Raztopina PCB-ja je rumenkaste barve z zelo neprijetnim vonjem in je močno hidrofobna. Zaradi svojih dobrih tehnoloških lastnosti so se pogosto uporabljali v industriji kot:

- sredstva za termoizolacijo,
- aditivi za plastične mase, barve, lepila, tekstil, papir,
- aditivi pri pripravi pesticidov.

Danes je ta kemikalija prepovedana, saj je zelo toksična.

V okolju se počasi razgrajujejo, poleg tega pa se lahko kopijojo v živih organizmih ([https://en.wikipedia.org/wiki/Polychlorinated\\_biphenyl](https://en.wikipedia.org/wiki/Polychlorinated_biphenyl)).

- Dioksini:



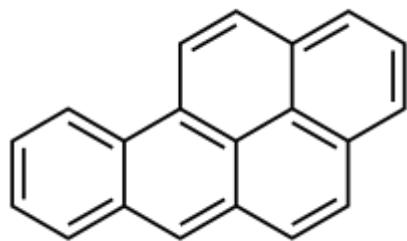
Slika 2: Kemična zgradba dioksina

(vir slike: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Dioksini>)

Dioksini so organske spojine, ki večinoma nastajajo ob gojenju oz. so stranski produkt raznih industrijskih procesov. So zelo slabo topni v vodi. Dioksini nimajo pogoste uporabe, le v redkih pesticidih večinoma nastanejo kot stranski produkt. Snov je toksična in se zelo slabo razkraja.

([https://en.wikipedia.org/wiki/Dioxins\\_and\\_dioxin-like\\_compounds](https://en.wikipedia.org/wiki/Dioxins_and_dioxin-like_compounds))

- Benzopiren:



Slika 3: Kemična zgradba benzopirena

vir slike: ([https://en.wikipedia.org/wiki/Benzo\(a\)pyrene](https://en.wikipedia.org/wiki/Benzo(a)pyrene))

Benzopiren je organska brezbarvna snov, ki jo najdemo v cigaretah, ožganih kosih lesa in premogovem katranu. Snov je karcinogena in največkrat povzroča nastanek raka na pljučih.

- Bisfenol A (BPA)



Slika 4: Kemična zgradba BPA

vir slike: (<https://www.news-medical.net/health/Bisphenol-A-%28BPA%29-Health-Effects.aspx>)

Bisfenol A oziroma BPA je brezbarvna snov, ki se uporablja v množični proizvodnji plastike. Je brezbarvna, slabo topna v vodi, a dobro topna v večini organskih topil. Motilec ne predstavlja direktnih akutnih problemov, a se skozi čas nalaga z zelo dolgo dobo izločevanja iz telesa.

- Pesticidi:

**Klorpirifos:**

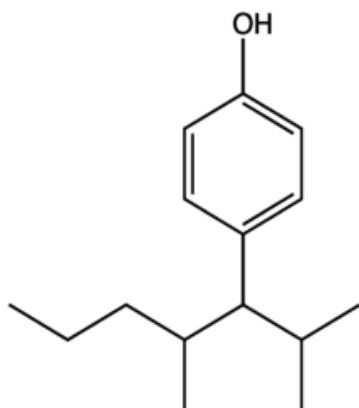
(CPF) Insekticid, ki preko stika prizadene živčni sistem organizma. Prizadene delovanje živčnega prenašalca ACH, s tem da preprečuje njegovo razgradnjo, ko se veže na encim Acetylholinesteraze (ACHE). Predvsem je nevaren za čebele, ptice, nekatere divje živali in človeka.

**Glifosat:**

Širokospektralni herbicid. Deluje na endokrino delovanje goved, drugih živali in človeka. Hitreje deluje pri moških, saj učinkuje na androgenske receptorje, pri količini več kot 10 ppm pride do aromataze, ki pretvarja androgen v estrogen, kar je vzrok za ženske spolne znake pri moških.

(povzeto po: <https://brez-gso.svoboda.si/wp-content/uploads/sites/4/2017/03/Pesticidi-kot-hormonski-motilci-in-njihov-vpliv-na-okolje.pdf>)

- Alkilfenoli: Alkilfenoletoksilati (APEO) in alkilfenoli (AP)



Slika 5: Kemična zgradba Alkilfenola

vir slike: (<https://en.wikipedia.org/wiki/Alkylphenol>)

Organske kemikalije, ki se uporabljajo v tekstilni industriji med barvanjem. Glavna uporaba teh snovi je čiščenje. Čeprav se v industriji pogosto uporablja, je zelo škodljiv tako za zdravje ljudi kot tudi za naravno okolje, do katerega pridejo z odpadki. Delujejo kot mimiki estrogena in povzročajo tudi raka na dojkah.

- **Težke kovine** (kadmij, svinec in živo srebro)

Nekatere so potrebne za naše telo, kot cink, baker in mangan, v prevelikih količinah pa so zelo nevarne, še posebej živo srebro, kadmij in svinec. Motijo hormonsko homeostazo in ravnotežje hormonov v telesu. Med različnimi težkimi kovinami so razlike, vendar vse večinoma vplivajo na ožilje, živčni sistem, imunski in prebavni sistem ter še posebej na ščitnične hormone.

KADMIJ : Približno tri četrtine kadmija po svetu uporabljajo za izdelavo električnih baterij (posebno baterij Ni-Cd), večino od preostale četrtine pa v glavnem za barvila, prevleke, in kot stabilizator za plastike). V Zemljini skorji ga je med 0.1 in 0.5 ppm. Človek je kadmiju večinoma izpostavljen preko hrane in sloga življenja (kajenje). Kadmij se veže na beljakovinske molekule metalotioneine in se prenese predvsem v ledvice in jetra. Tam moti metabolizem kalcija, posledica tega pa so šibke kosti in osteomalacija. Kadmij se zelo počasi izloča iz telesa, okoli 10-30 let, prisotnost tega pa poveča možnost raka pljuč, mehurja in dojk ter povišan krvni tlak ter sladkorno bolezen. Deluje tudi kot posnemovalec estrogena, ki moti delovanje le tega.



Slika 6: Kadmij

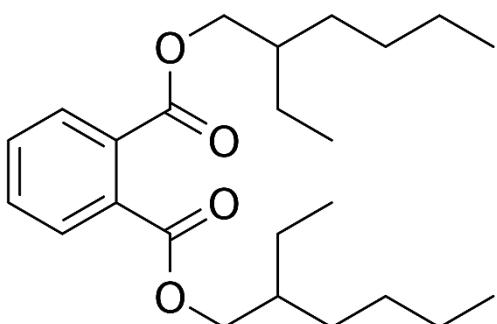
vir slike: (<https://resources.arcmachines.com/cadmium-in-welding-avoiding-long-term-health-risks-ami/>)

## • FTALATI

Ftalati so izjemno razširjeni v uporabi v današnjem svetu. Pogosto se uporablja kot mehčalci v plastikah, da ta postane mehka in bolj prožna. Najbolj znani so:

- Di-2-etilheksil ftalat oz. DEHP in
- Di-izononil ftalat oz. DINP.
- Di-2-propilheptil ftalat oz. DPHP

### DEHP



Slika 7: Kemična zgradba DEHP

vir slike: ([https://en.wikipedia.org/wiki/Bis\(2-ethylhexyl\)\\_phthalate](https://en.wikipedia.org/wiki/Bis(2-ethylhexyl)_phthalate))

DEHP oziroma di-2-etilheksil ftalat je organska spojina z organsko formulo  $C_6H_4(CO_2C_8H_{17})_2$ . Je najpogosteji član skupine ftalatov. DEHP ni topen v vodi, vendar se dobro topi v maščobah.

DEHP se uporablja:

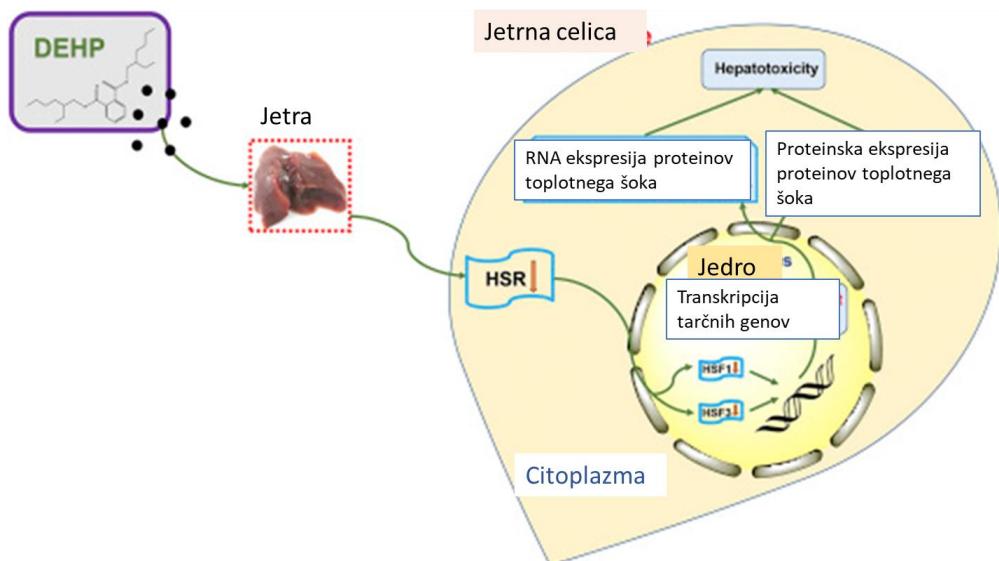
- največ kot mehčalec plastike,
- topilo v svetlečih palicah,
- v hidravličnih tekočinah.

Zaradi široke uporabe plastike in s tem DEHP v plastikah se ta pogosto znajde v kozmetiki, embalaži za pakiranje hrane in pijače ter v igračah. Prisoten je tudi v pesticidih, nekaterih čistilih in kemikalijah, ki delujejo kot zaviralci ognja. Ogromno DEHP je tudi v PVC ovojih. Pri proizvodnji peletov PVC je vrednost DEHP v zraku izjemno velika, kar predstavlja nevarnost za vse prisotne

DEHP v organizmih deluje kot endokrini motilec. Pri ljudeh zmanjšuje plodnost moških in celovitost kromatidne DNK, zmanjšuje pa tudi stopnjo testosterona in aldosterona pri moških. V nevretenčarjih, posebej insektih, je bilo opaženo manjše število ličink na žuželko. DEHP ne moti moških osebkov pri iskanju partnerja, vendar zmotijo količino jajčec, ki jih samica odleže. DEHP pri osebkih prav tako povzroča rahlo povečanje mase in drugačne odzive na razne dražljaje. Prav tako pa DEHP povzroča prehiter razvoj osebkov, a to je najbolje videno pri potomcih osebkov kontaminiranih z DEHP.

DEHP je splošno priznana kot toksična snov in je prepovedana v mnogo državah, tudi v EU pri uporabi v medicini, saj je bila prisotna v PVC vrečkah za kri ipd., prav tako pa so prepovedana v splošni uporabi, kot pri igračah ter pakiranju hrane in pijače.

([https://en.wikipedia.org/wiki/Bis\(2-ethylhexyl\)\\_phthalate](https://en.wikipedia.org/wiki/Bis(2-ethylhexyl)_phthalate))



Slika 8: Delovanje DEHP

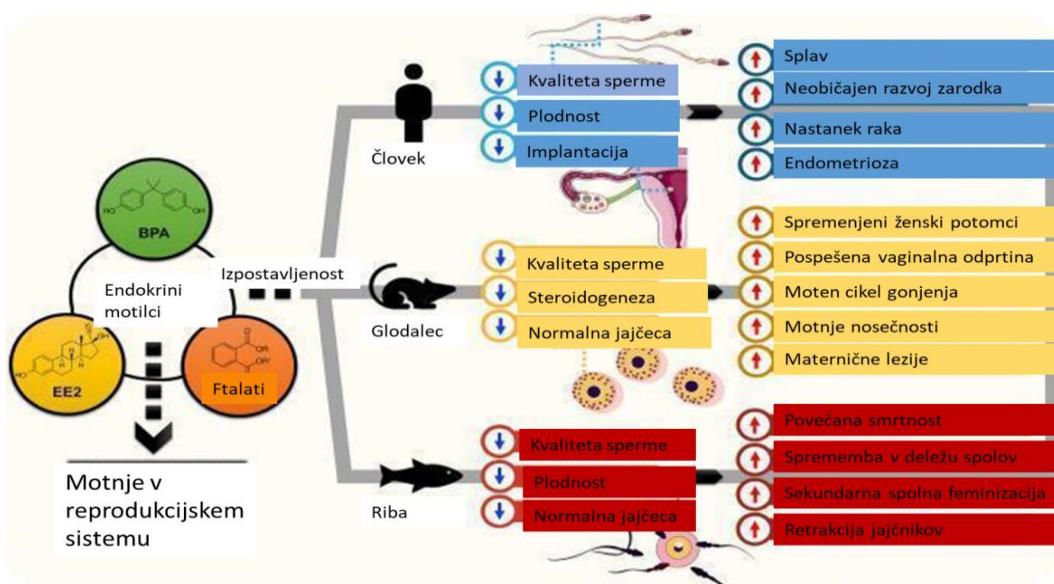
Vir slike: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004565351930832X>)

## 2.1.1. Učinki endokrinih motilcev na živali

Pri več živalskih vrstah so ugotovili, da so hormonski motilci vzrok motenj v razmnoževanju, rasti in razvoju in posledično sprememb v lokalnih populacijah.

Znani so naslednji primeri:

- Zaradi prevelike uporabe pesticidov se je število floridskih panterjev znižala na pičilih 50. Pri samcih so odkrili zelo velik odstotek kriptorhizma, kar pomeni, da so testisi ostali v trebušni votlini: tamkajšnja temperatura okoli 37 stopinj Celzija testisom škoduje: nastopijo težave pri plodnosti. Prav tako so imeli samci nendaravno vsebnost estrogena.
- Škodljive učinke motilcev so odkrili še pri drugih sesalcih, na primer pri vidrah, kunah zlaticah, miših, rovkah, podganah, medvedih in belugah.
- Ribojede ptice izpostavljene motilcem so prav tako imele razmnoževalne in metabolne težave. Na območju, močno onesnaženem z DDT-jem, so našli samice, ki so imele razmnoževalne organe na levi in desni strani (normalno je na levi) ter samce z jajcevodi in ovotestisi. Galebi, golobi, japonske prepelice in ščinkavci so zaradi izpostavljenosti celo spremenili vedenje, predvsem v povezavi z razmnoževanjem in starševstvom. Ni bilo opaženega odzivanja na dvorne klice, niti zanimanja za parjenje, nenavadno pa je, da se je povečalo število ženskih parov (dveh samic),
- Pri nevretenčarjih, npr. pri morskih polžih, se zaradi izpostavljenosti aditivom v barvah ladij lahko pojavijo obojespolniki (You in Song, 2021).



Slika 9: Delovanje splošnih endokrinih motilcev

Vir slike: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1532045621000296>)

### **2.1.1.1. Učinki endokrinih motilcev na razvoj in hormonalni sistem žuželk**

Vse več je dokazov, da lahko veliko spojin povzroči endokrine motnje pri nevretenčarskih organizmih. Nevretenčarji predstavljajo približno 95 % vseh živali, vendar je znanega bolj malo glede vpliva endokrinih motilcev na organizme. Kljub vsemu je med nevretenčarji najbolj raziskana skupina žuželk.

Hormoni žuželk uravnavajo posebne funkcije, kot so:

- levitev,
- metamorfoza,
- mobilizacija energije,
- polifenizem (pojav več fenotipov v populaciji, ki niso posledica genetskih razlik) in
- diapavza (upočasnitev življenjskih procesov, npr.: hibernacija)

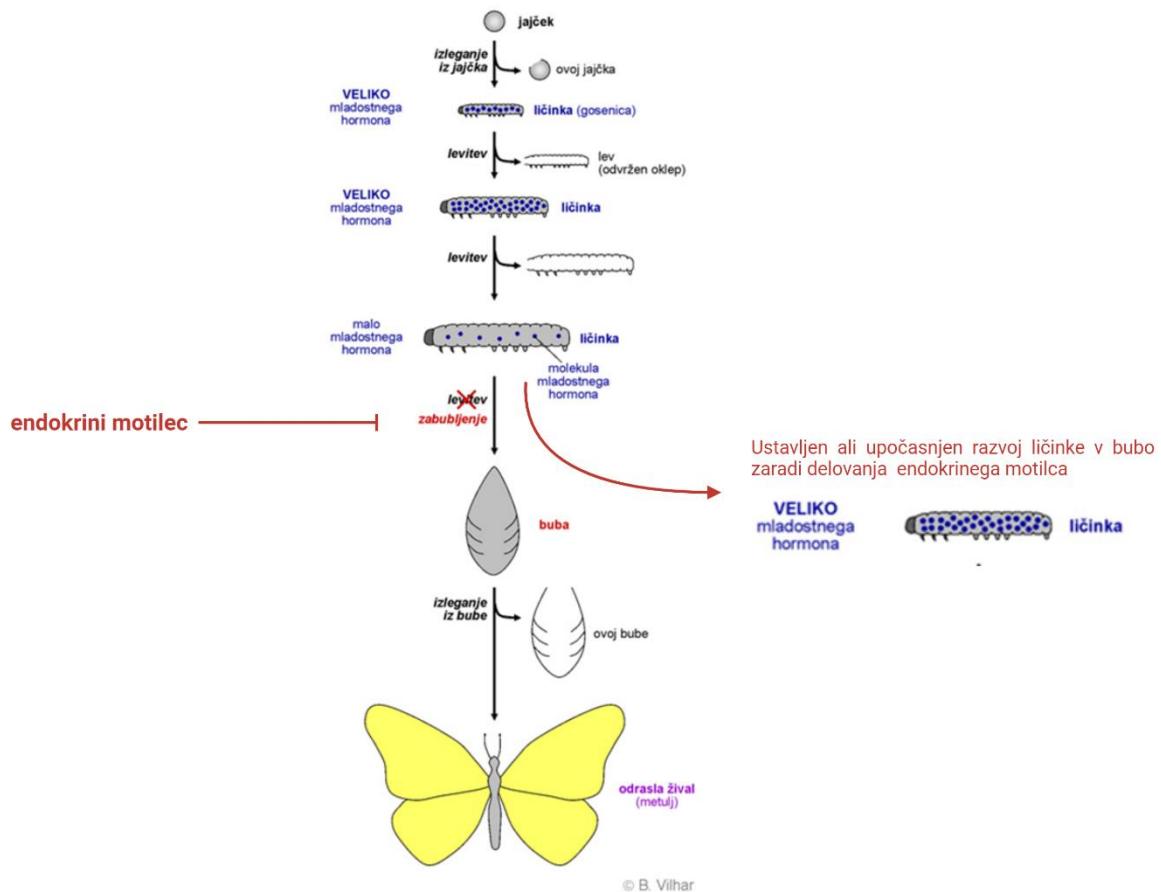
Nekatere od teh funkcij so značilne samo za žuželke, regulirajo pa jih tri glavne skupine hormonov:

- peptidni hormoni,
- steroidni hormoni (npr.: levitveni hormon oz. ekdizon) in
- juvenilni ali mladostni hormoni.

Razvoj žuželk uravnavata predvsem hormon levitve (ekdizon) in juvenilni (mladostni) hormon. Raziskovalci so ugotovili, da npr. nekatere rastline proizvajajo različne analoge hormonov žuželk, ki motijo razvoj žuželk, običajno preprečujejo zorenje ali proizvajajo sterilne odrasle osebe. To se zgodi zaradi analogov juvenilnega hormona oz. antijuvenilnih hormonov, ki povzročijo prezgodnji razvoj. Ti delujejo obratno od juvenilnega (mladostnega) hormona, ki zavira gene, ki spodbujajo razvoj značilnosti odraslih, zaradi česar ličinka ostane ličinka. Ko pa koncentracija teh hormonov upade, se ličinka preobrazi v bubo in kasneje v hrošča. Podobno kot hormonalni analogi rastlin delujejo tudi drugi endokrini motilci, ki pri žuželkah motijo izvalitev jajčec, razvoj ličink, levitev ličink in bub ter zmanjšajo plodnost in življenjsko dobo testnih organizmov. Raziskovalci so npr. opazili tudi hitrejši razvoj ličinke samca in upočasnjen razvoj ličinke samice (Soin in Smagghe, 2007).

Dokazi o škodljivem delovanju kemikalije DEHP obstajajo za nekatere nevretenčarske organizme. Znano je, da DEHP lahko vpliva na preživetje in reprodukcijo (Kim in sod., 2019), metabolizem (Pradhan in sod., 2018), encime antioksidativnega sistema, ki ščitijo organizme pred strupenimi metaboliti in reaktivnimi kisikovimi radikali, ki se tvorijo v stresnih situacijah

(Yildirim in sod., 2021), in na izražanje genov, konkretno tistih, ki kodirajo levitveni hormon (Planelló in sod., 2011).

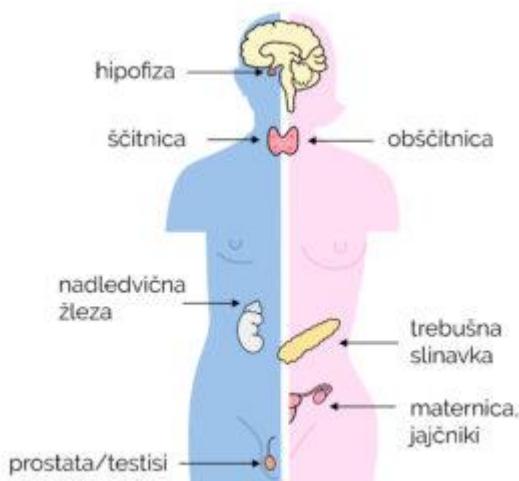


Slika 10: vloga hormonov pri razvoju žuželk

## 2.1.2. Posledice endokrinih motilcev pri ljudeh

Znani so nekateri učinki endokrinih motilcev na ljudi (Preda in sod., 2012):

- zmanjšujejo plodnost,
- povzročajo spremembe v zgradbi moških spolnih organov in sečil (npr. hipospadija) ter povzročajo raka mod,
- lahko povzročijo pojav sekundarnih spolnih znakov pri moških, ki so značilni za ženske,
- povzročajo bolezni ženskih spolnih organov, kot so vnetje endometrija, policistični jajčniki in neplodnost,
- prehiter nastop pubertete
- debelost in bolezni, kot so krvožilne bolezni (predvsem bisfenol A in ftalati)
- povzročajo razvojne nepravilnosti možganov,
- pripomorejo k manjšemu odstotku rojenih dečkov.
- pripomorejo k nastanku rakavih tvorb.



Slika 11: Organi pod vplivi endokrinih motilcev

Vir slike: (<https://www.cakalnedobe.si/nasvet/hormonski-motilci-v-kozmetiki/>)

## 2.2. Delovanje hormonov v našem telesu

Telo mnogoceličnih živali uravnava in usklaja delovanje celotnega organizma s pomočjo dveh sistemov, v katerih usklajevanje omogočajo signalne molekule.

Prvi sistem je sistem žlez z notranjim izločanjem ali endokrini sistem, ki je eden od osnovnih regulacijskih sistemov v telesu živali. Te žleze izločajo hormone. Hormoni so raznovrstne molekule, ki prenašajo sporočila in uravnavajo razmnoževanje, razvoj, energijski metabolizem, rast, razmnoževanje in vedenje živali.

Ker pa lahko živčne celice s svojimi impulzi regulirajo tudi sproščanje hormonov, je drugi sistem uravnavanja in usklajevanja delovanja organizma živčni sistem, ki se dopolnjuje z endokriniom sistemom. Živčni sistem je mreža specializiranih živčnih celic ali nevronov, ki po svojih izrastkih pošiljajo živčne impulze in z njimi vplivajo na delovanje drugih celic. Živčni impulz je spremembra membranskega potenciala, ki se širi po celici in na koncu sproži izločanje prenašalnih molekul iz celice. Te prenašalne molekule so sporočila za druge nevrone, mišične celice in celice endokrinega sistema.

### 2.2.1. Vrste in delovanje hormonov

Specializirane celice izločajo različne signalne molekule, s pomočjo katerih se prenašajo signali med celicami. Te pa lahko delujejo le na celice, ki imajo ustrezne receptorje za posamezno vrsto signalne molekule. Imenujemo jih tarčne celice. Vsak hormon ima lahko eno ali več vrst tarčnih celic. Receptorji so beljakovine, ki so v celični membrani ali v notranjosti celice in se lahko povežejo s signalno molekuljo.

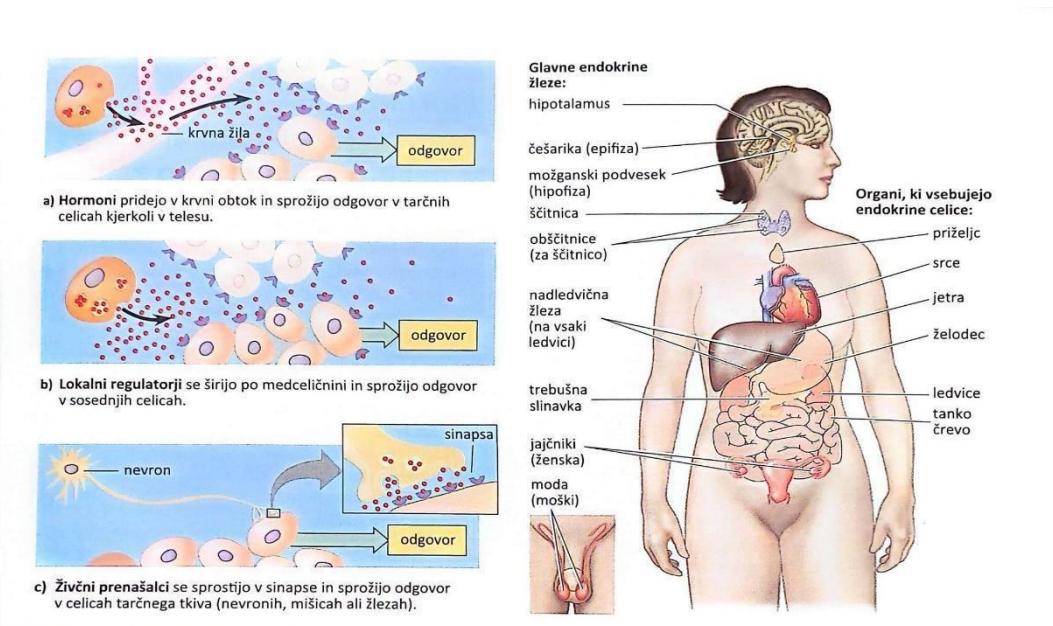
Medcelična komunikacija s signalnimi molekulami lahko poteka na tri različne načine, pri katerih se signalne molekule vežejo na določene receptorske beljakovine na površini ali v notranjosti tarčnih celic.

**Signalne molekule** delimo glede na vrsto celic, v katerih nastajajo, in glede na pot, po katerih pridejo do receptorjev:

- **Živčni prenašalci** se sproščajo v sinapsah in prenašajo signale med živčnimi celicami.
- **Lokalni regulatorji** so signalne molekule, ki se širijo z difuzijo in delujejo le na sosednje celice ali celo samo na celice, v katerih so nastali.
- **Hormoni** so signalne molekule, ki jih izločajo endokrine celice. Te so lahko posamezne ali pa v manjših skupkih v drugih organih, kot recimo v steni prebavil in v ledvicah. Lahko pa so združene v žleze z notranjim izločanjem. Hormoni se lahko izločajo v medceličnino, na večje razdalje pa jih po telesu prenaša kri. Vzdržujejo homeostazo (npr. koncentracija glukoze v krvi), omogočajo odziv organizma na zunanje dražljaje (npr. stres), uravnavajo rast, razvoj in razmnoževanje. Vplivajo tudi na značilnosti, po katerih se med seboj razlikujejo odrasle živali in ličinke ter osebki različnega spola.

## 2.2.2. Delitev hormonov

Hormone glede na kemično zgradbo delimo na polipeptide, amine in steroide.

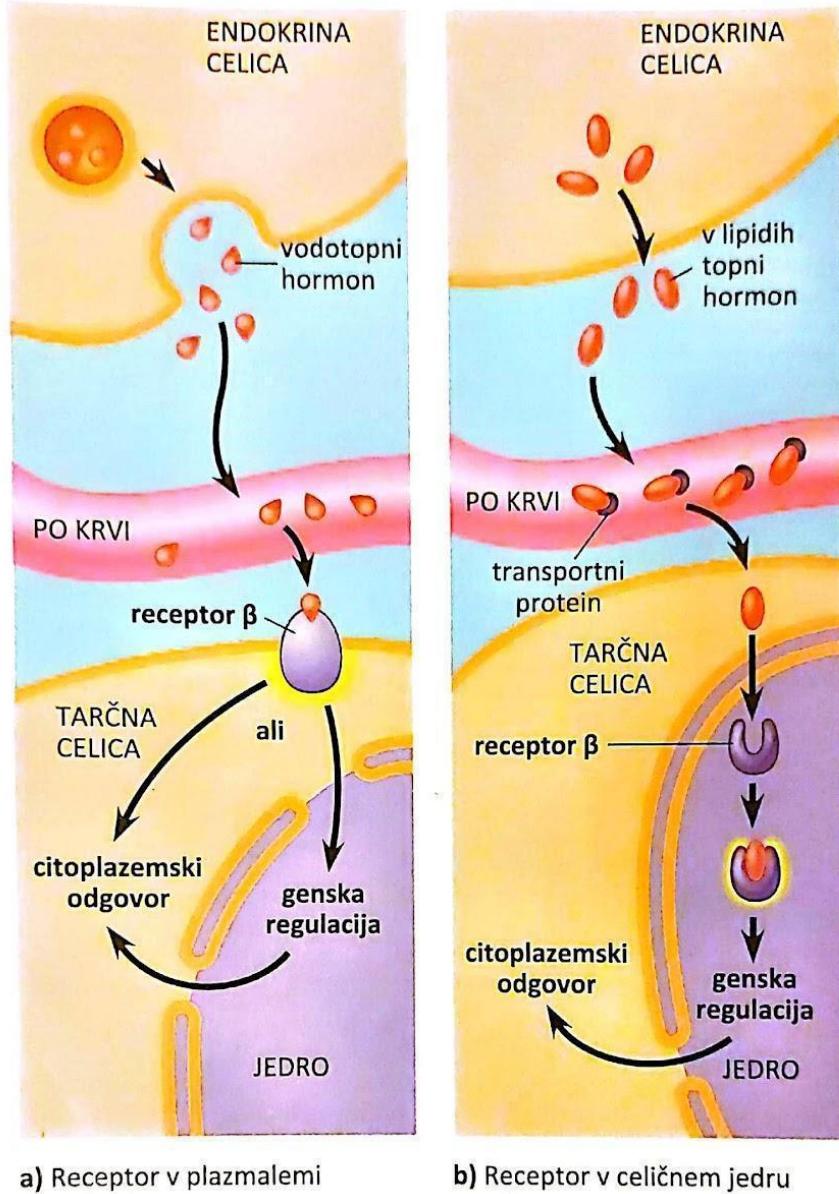


CS Skenirano s CamScannerjem

Slika 12:Delovanje signalnih molekul in glavne endokrine žleze v človeškem telesu

Njihovo delovanje je odvisno od topnosti v vodi. Polipeptidi in večina aminov so topni v vodi in niso topni v lipidih in zato ne morejo skozi celično membrano. Steroidi in veliki nepolarni amini pa so topni v lipidih in ne v vodi in zato lahko prehajajo skozi celično membrano.

Položaj receptorja za hormon je odvisen od kemične sestave hormona, ki se veže na receptor.

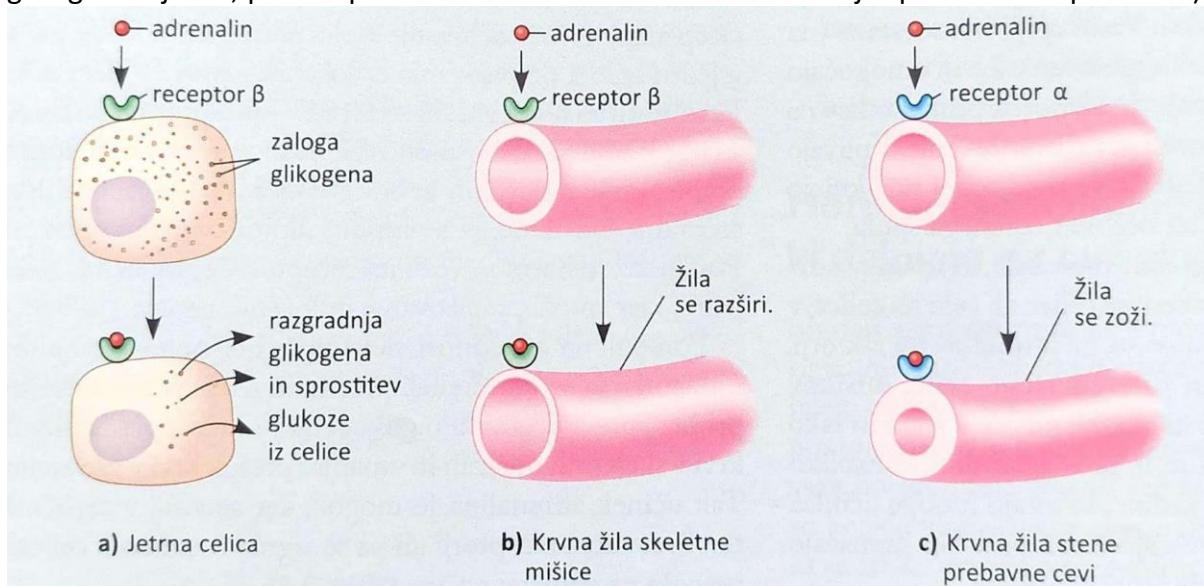


Slika 13:Položaj receptorja za hormon

**Receptorji za vodotopne hormone** so na zunanji površini celice. Ob vezavi hormona na receptor v celični membrani se v citoplazmi sproži delovanje določenih encimov ali pa se v jedru sproži prepisovanje določenih genov.

**Receptorji za hormone topne v lipidih** se nahajajo v jedru ali citoplazmi celice. Ko se hormon veže na receptor v jedru, sproži prepisovanje določenih genov. Receptorji za steroidne hormone, ki so topni v lipidih, so v citoplazmi. Potem, ko se hormon veže na receptor v citoplazmi, gre v jedro, kjer sproži prepisovanje določenih genov.

Pomembna značilnost določenih hormonov je njihov različni učinek, to je možno, ker so lahko za ta hormon v različnih tkivih različni receptorji ali pa se signal v različnih celicah prenaša na različne načine (npr. adrenalin, ki je hormon nadledvične žleze, hkrati sproži razgradnjo glikogena v jetrih, poveča pretok krvi v skeletnih mišicah in zmanjša pretok krvi v prebavilu).



Slika 14: Prikaz delovanja adrenalina

- receptor v celični membrani za vodotopne hormone
- receptor v celičnem jedru za hormone topne v lipidih

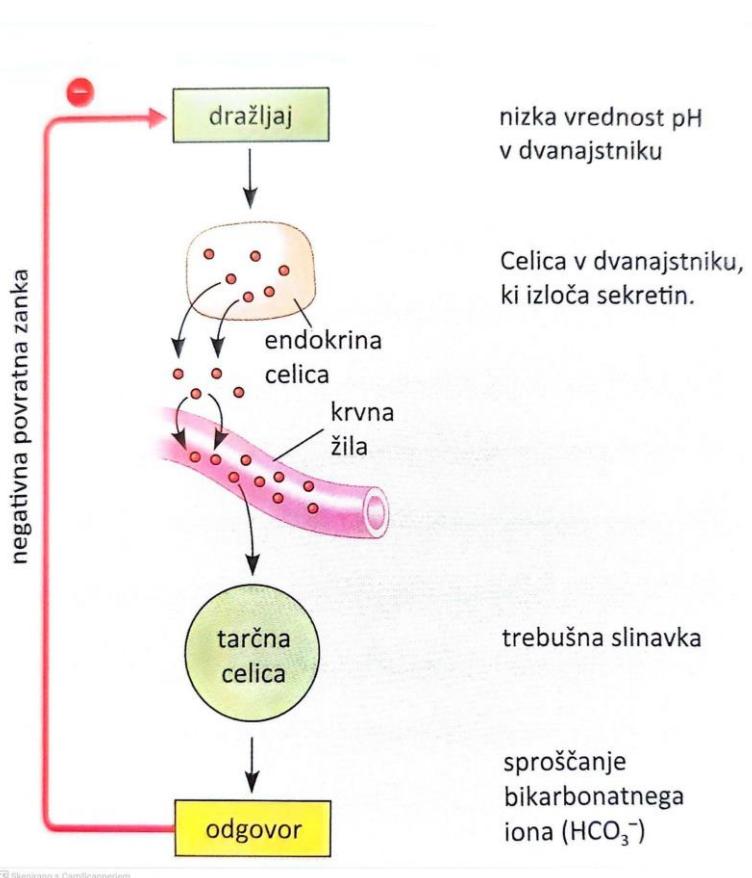
Veže se na receptorje na jetrnih celicah (a), krvnih žilah skeletnih mišic (b) in krvnih žilah stene prebavnih cevi (c). Povzroči sprostitev glukoze iz jetrnih celic, razširitev krvnih žil skeletnih mišic in zožitev krvnih žil prebavne cevi. Različen učinek ima zaradi različnih tarčnih celic (a in b) ali pa različnih receptorjev (b in c).

## UČINEK POV RATNE ZANKE

Hormoni, ki vzdržujejo homeostazo, učinkujejo z negativno povratno zanko. Dražljaj, ki prihaja iz zunanjega ali notranjega okolja, lahko povzroči, da hormonska žleza začne izločati hormone v kri. Ko v krvi raztopljen hormon pride do tarčnih celic, se veže na receptor in spremeni njeno delovanje. Odgovor tarčne celice je običajno tak, da se notranje okolje v organizmu spremeni tako, da se zmanjša dražljaj, ki je sprožil izločanje hormona. Ohranjanje stabilnosti notranjega okolja je tako posledica povezave med dražljajem in izločanjem hormona s povratno zanko.

Primeri hormonskega uravnavanja s povratno zanko:

- koncentracija kalcija v krvi,
- ravnovesje vode v telesu,
- koncentracija sladkorja v krvi.



Slika 15: Prikaz delovanja učinka povratne zanke

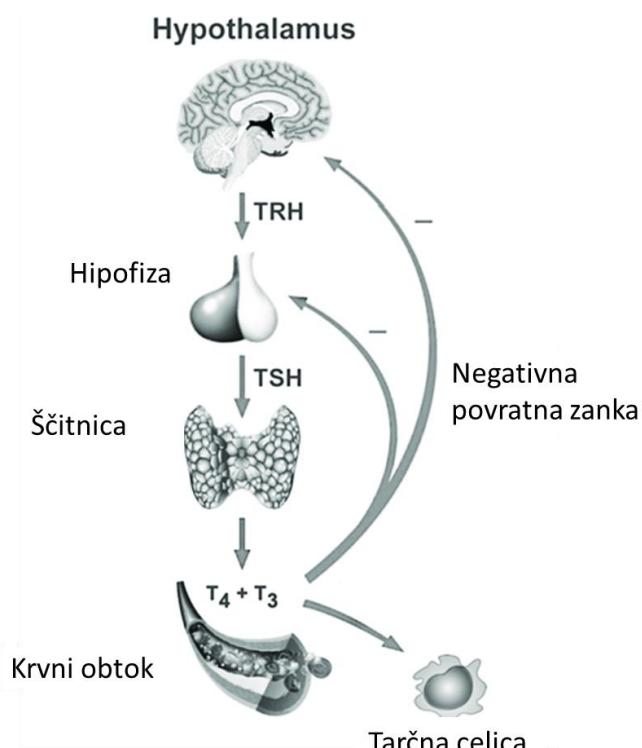
Dražljaj spodbudi izločanje hormona iz endokrine celice v kri. Hormon po krvi pride do tarčne celice. Odgovor tarčne celice zmanjša dražljaj in s tem izločanje hormona (negativna povratna zanka).

## 2.2.3. Delovanje ščitnice in spolnih žlez

Ker je ugotovljeno, da hormonski motilci največkrat vplivajo na delovanje hormonov ščitnice in spolnih žlez, smo njihovo delovanje bolj podrobno opisali.

### DELOVANJE ŠČITNICE

Žleza ščitnice je žleza, ki obdaja sprednji del sapnika tik pod grlo in uravnava presnovo. Izloča dva zelo podobna hormona, ki vsebujejo jod. Imenujeta se trijodtironin (T3) in tiroksin (T4). Ta dva hormona pospešujejo energijski metabolizem in ohranjata normalen krvni tlak, srčen utrip in mišično napetost. Pomembno vlogo imata tudi pri normalni telesni rasti in razvoju živčevja.

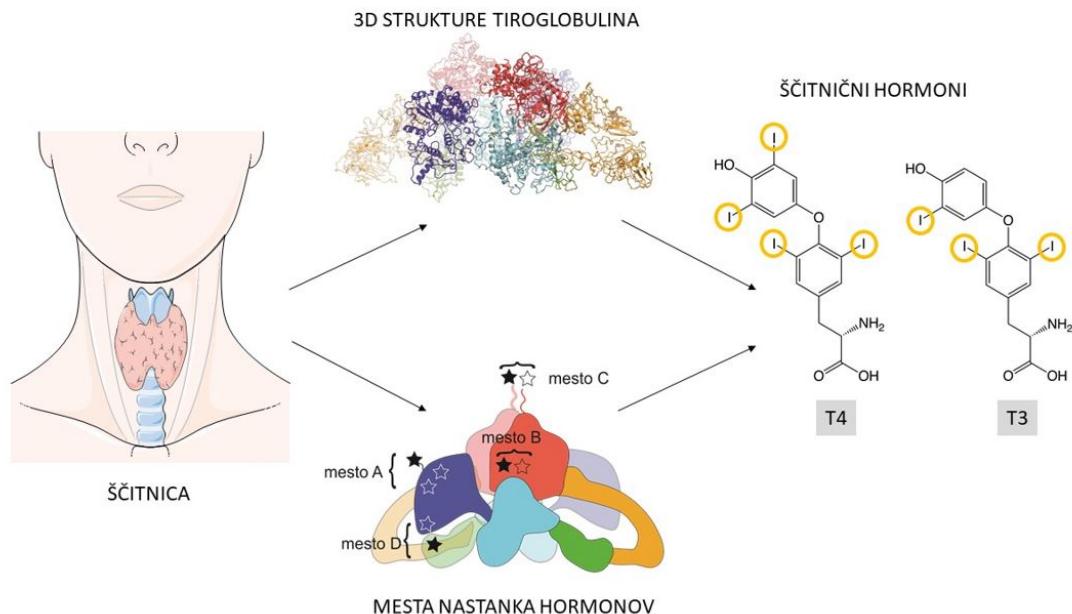


Slika 16: Delovanje ščitnice

Vir slike: ([https://www.researchgate.net/figure/The-Hypothalamic-Pituitary-Thyroid-axis-including-the-roles-of-thyrotropin-releasing-fig2\\_257006752](https://www.researchgate.net/figure/The-Hypothalamic-Pituitary-Thyroid-axis-including-the-roles-of-thyrotropin-releasing-fig2_257006752))

Slika št. 16 prikazuje delovanje ščitnice, in sicer kako hipofiza izloči hormon TSH, ki povzroči izločanje hormonov ščitnice - T3 (trijodtironin) in T4 (tiroksin) v krvni obtok, ki vplivata na ščitnične hormone, občutljive celice. Hormona T3 in T4 sta z negativno povratno zanko povezana z izločanjem hipotalamus in hipofize.

Na izločanje hormonov ščitnice vpliva prednji reženj hipofize s hormonom TSH. Preveč ali premalo ščitničnih hormonov v krvi lahko povzroči hude presnovne motnje. Pokazatelji prevelike koncentracije ščitničnih hormonov so: povišana telesna temperatura in krvni tlak, obilno znojenje, hujšanje, izbuljene oči in razdražljivost (Basedonova bolezen), pokazatelji premajhne koncentracije pa: pridobivanje telesne mase, utrujenost, zaspanost in preobčutljivost na mraz.



Slika 17: Zgradba ščitnice in njenih hormonov

Vir slike: [Poznana struktura tiroglobulina, proteina pomembnega za delovanje ščitnice | Tromba](#)

Na sliki št. 15 je prikazana poenostavljena zgradba ščitnice in kemijska zgradba trijodtironina (T3) in tiroksina (T4). Predstavljena je tudi 3D zgradba tiroglobulina, proteina, iz katerega nastaneta hormona T3 in T4.

Ščitnica za sintetiziranje hormonov potrebuje jod, ki ga skozi hrano dobimo v morski hrani ali pa v jodirani soli. Če joda v prehrani primanjkuje, nastaja premalo ščitničnih hormonov. Posledično njihova koncentracija v krvi ni dovolj visoka, da bi lahko v negativni povratni zanki zmanjšali izločanje TSH iz hipofize. Zaradi stalne visoke koncentracije TSH v krvi ščitnica intenzivno sintetizira hormone in se zato poveča, ta pojav imenujemo golšavost.

## DELOVANJE SPOLNIH ŽLEZ

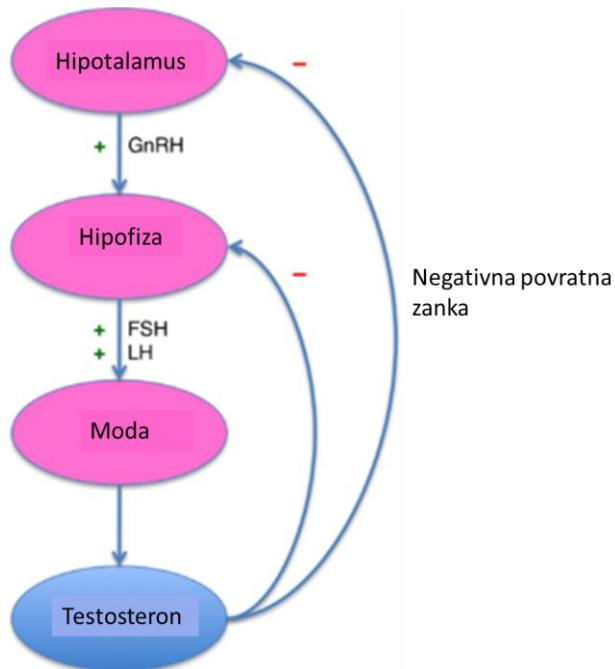
Spolni hormoni uravnavajo rast, razvoj, razmnoževalne cikle in paritveno oziroma spolno vedenje. Večinoma nastajajo v modih in jajčnikih, nekaj pa tudi v nadledvični žlezi in drugih tkivih. Poznamo tri glavne skupine spolnih hormonov: androgene, estrogene in progestine. Vse tri skupine najdemo pri moških in ženskah, vendar je pri moških več androgenov, pri ženskah pa več estrogenov in progestinov. Izločanje vseh treh skupin uravnavata hormona FSH in LH iz prednjega režnja hipofize. Izločanje teh dveh hormonov pa uravnava GnRH (gonadotropin izločajoči hormon) iz hipotalamus.

### ● ANDROGENI

Androgene izločajo predvsem moda, najpomembnejši androgen je testosteron, ki nastaja že v zarodku ob razvoju spolnih žlez, ki se začne dogajati po šestih tednih starosti. Takrat sprožijo geni na spolnem kromosomu Y diferenciacijo celic v spolnih žlezah, ki začnejo izločati testosteron, ki povzroči razvoj moda iz spolnih žlez. Ker pri deklakah ni kromosoma Y, se v spolnih žlezah ne diferencirajo celice, ki bi izločale testosteron in se zato spolne žleze razvijejo v jajčnike.

Androgeni so zelo pomembni tudi v času spolnega dozorevanja. Vplivajo na razvoj moških sekundarnih spolnih znakov, kot so: brki, brada, večja mišična masa, ožji boki in širša ramena kot pri ženskah.

Zloraba testosterona in drugih sorodnih steroidnih hormonov za povečevanje mišične mase: začeli so jih zlorabljati za povečevanje mišične mase športnikov, znani so pod imenom anaboliki. Uživanje anabolnih steroidov pa je za zdravje zelo škodljivo, saj povzročajo poškodbe jeter, ledvic, povišan krvni tlak, tresenje mišic in celo zmanjšanje mod in nastajanja spermijev. Pri mladostnikih lahko ustavijo rast, pri ženskah pa lahko povzročijo povečano poraščenost in motnje v menstrualnem ciklu.



Slika 18: Delovanje testosterona

Vir slike: (<https://bs.wikipedia.org/wiki/Testosteron>)

Hipotalamus s hormonom GnRH vpliva na hipofizo, ki s pomočjo hormonov FSH in LH sproži delovanje mod, ki izločijo hormon testosteron, ki je z negativno povratno zanko povezan z izločanjem hipotalamusa in hipofize.

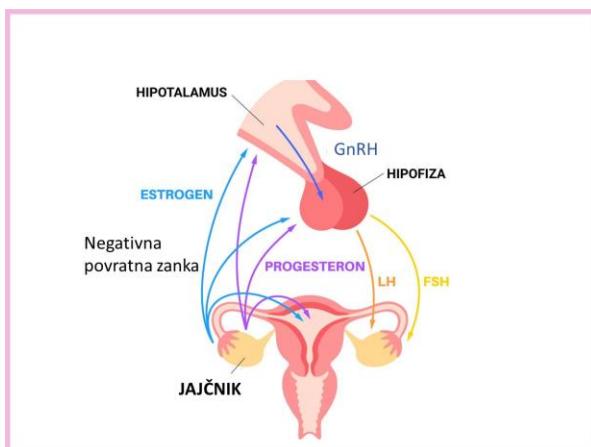
- ESTROGENI

Izločajo jih jajčniki, najpomembnejši estrogen je estradiol. Estrogeni vzdržujejo razmnoževalni cikel in povzročijo razvoj ženskih sekundarnih spolnih znakov: prsi, širši boki in več maščobnega tkiva kot pri moških. Prav tako pospešujejo presnovo in povečajo zadrževanje soli in vode v telesu.

Uporaba: v kontracepcijskih tabletah za uravnavanje dozorevanja jajčnih celic

- PROGESTINI

Primer progesterina je progesteron. Pri sesalcih vplivajo na tkiva v maternici, da se pripravijo na sprejem zarodka ter omogočajo njegovo rast in razvoj do rojstva. Nastajajo v rumenem telescu, ki je začasna hormonska žleza in nastane po sprostitvi jajčne celice. Progesteron nastaja tudi v nadledvični žlezi.



Slika 19: Delovanje estrogena in progesterona

Vir: [Estrogen in progesteron | oktal-pharma.hr](http://oktal-pharma.hr)

Hipotalamus izloči hormone, ki sprožijo delovanje hipofize, ki s hormonoma FSH in LH vpliva na izločanje estrogena in progesterona. Izločanje estrogena in progesterona je z izločanjem hipotalamusa in hipofize povezano z negativno povratno zanko.

Vir: Biologija 2, o zgradbi in delovanju organizmov (založba mladinska knjiga): Gregor Belušič, Jasna Dolenc Koce , Martina Turk , Miloš Vittori , Polona Zalar.

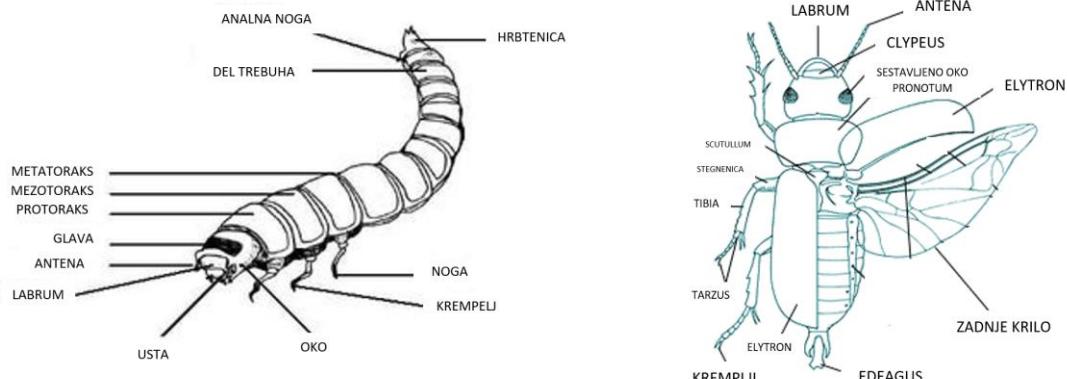
## 2.3. Mokarji (*Tenebrio molitor*)

### 2.3.1. Razširjenost

Mokarji so se prvotno pojavili ob Sredozemlju, sčasoma pa so se zaradi trgovine razširili po skoraj celi svetu. Za kmete in mlinarje so škodljivci, saj jim uničujejo pridelek, vendar pa jih ljudje gojimo in uporabljamo že veliko časa. Dobri so za raziskave, ribjo vabo ter dobra hrana za hišne ljubljenčke in ljudi. Leta 2015 so znanstveniki opazili, da lahko razkrajajo tudi nekatere oblike plastike. Velik vpliv pa imajo tudi na trajnostno kmetovanje, saj je njihovo gojenje zelo poceni, zavzame malo prostora in spušča malo toplogrednih plinov. Zaradi njihove uporabnosti in malo potrebnega prostora za gojenje so postali pomembni za masovno proizvodnjo. Danes so zato ena izmed najpogosteje gojenih žuželk na svetu. Gojimo jih lahko doma ali pa dobimo v trgovinah, zadnje čase pa se vedno več pojavljajo tudi na naših krožnikih.

Prevzeto po: <https://en.wikipedia.org/wiki/Mealworm>

### 2.3.2. Anatomija in morfologija mokarja



Slika 21: Anatomija ličinke mokarja

Slika 20: Anatomija hrošča mokarja

Vir slike 21: (<https://www.pinterest.com/pin/258182991118356357/visual-search/?x=16&y=16&w=318&h=191&cropSource=6&surfaceType=flashlight>)

Vir 20: (<https://www.britannica.com/animal/beetle/Form-and-function>)

### 2.3.3. Razmnoževanje in razvoj mokarjev

Mokarji so enospolniki, oplojene samice se zarijejo v mehka tla in odložijo jajčeca. V svoji odrasli dobi, ki traja približno 6-12 mesecev, bo samica v povprečju odložila približno 500 jajčec. Samci mokarjev izločajo spolni feromon, ki igra pomembno vlogo pri razmnoževanju. Parjenje v sorodstvu zmanjša privlačnost spolnega feromonskega signaliziranja samcev, zaradi česar samice bolj privlačijo vonji, ki jih oddajajo drugi samci. Zmanjšanje sposobnosti signaliziranja samcev je lahko posledica povečanega izražanja homozigotnih škodljivih recessivnih alelov, ki jih povzroča parjenje v sorodstvu. Za njihovo gojenje ne potrebujemo nobene posebne osvetljave, saj jim dnevni cikel ustreza, razvijejo pa se lahko celo v temi. Mokar je holometabolna žuželka, kar pomeni, da gre žival ob prehodu v odraslo fazo skozi proces popolne preobrazbe. V svojem življenju ima zato 4 razvojne faze:

**JAJČECE:** Od jajca do male ličinke preteče okoli 14 dni. Jajčka nalepljena na dnu posode so zelo ranljiva in kaj hitro počijo ob pregrbemu rokovaju. Na hitrost razvoja pa vpliva tudi vlažnost, saj se jajčeca hitreje izležejo ob večji vlagi.

**LIČINKA:**

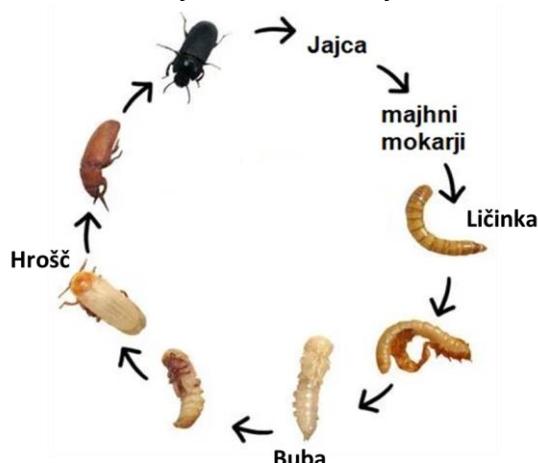
Se lahko v svojem ciklu, ki traja okoli 3 mesece, levi tudi do 20x. V tem času se hrani z vegetacijo in mrtvimi insekti. Ličinki lahko ustavimo rast s hibernacijo v hladnem prostoru.

**BUBA:**

Mokar po zadnji levitvi postane buba. Najprej je bela, sčasoma pa začne počasi rjaveti. V tej fazi se oblikujejo strukture odraslih žuželk, medtem ko se strukture ličink razgradijo. Ta faza traja 2-3 tedne.

**ODRASLA ŽIVAL - HROŠČ:**

Predstavlja zadnjo fazo v razvoju, ki lahko traja do 3 mesece. Glavna naloga odraslih spolno zrelih hroščev je razmnoževanje.



Slika 22: Razvojni cikel mokarja

Prevzeto po: <http://scurkasticno.si/mokarji>

Vir slike:[https://www.google.com/search?sc\\_esv=968f5892fb3c0ad5&sxsrf=ACQVn0-3a7DmdVQ-GfcEzJpF9o-hwVH5Kw:1710601770928&q=razvojni+cikel+mokarjev&tbo=isch&source=lnms&sa=X&ved=2ahUKEwjDz6GXIPmEAxWW0gIHHbLbB08Q0pQJegQICBAB&biw=1488&bih=742&dpr=1.25#imgrc=AF1rBi1Ne5I8hM](https://www.google.com/search?sc_esv=968f5892fb3c0ad5&sxsrf=ACQVn0-3a7DmdVQ-GfcEzJpF9o-hwVH5Kw:1710601770928&q=razvojni+cikel+mokarjev&tbo=isch&source=lnms&sa=X&ved=2ahUKEwjDz6GXIPmEAxWW0gIHHbLbB08Q0pQJegQICBAB&biw=1488&bih=742&dpr=1.25#imgrc=AF1rBi1Ne5I8hM)

### 2.3.4. Prehranjevanje

Mokarji za svoje preživetje potrebujejo hrano in vodo. Najdemo jih lahko v skladiščih žit in hrane, saj imajo tam dovolj hrane in vlage, svetlobe pa za preživetje ne potrebujejo. Najpogosteje se hranijo z žiti, oreščki, otrobi, ... V fazi, ko so ličinke, pa se hranijo tudi z organskim materialom, svežim ali razpadajočim. Za njihovo gojenje pa lahko uporabimo tudi posodo s substratom in kosom zelenjave, ki poskrbi za vlago.

### 2.3.5. Vloga v ekosistemu

Zaradi svoje lastnosti prehranjevanja z organskim materialom, ki je svež ali propada, ličinke mokarja močno pripomorejo k razgradnji kakšnega koli pokvarjenega organskega materiala. Pomagale pa bi lahko tudi pri čiščenju okolja, saj so znanstveniki ugotovili, da lahko razgradijo celo polistiren, ki je ena izmed najbolj razširjenih oblik plastike.



Slika 23: Hrošči in ličinke mokarja

vir slike: (<https://www.mladina.si/152384/cokoladne-bonboniere-z-murni-in-piskoti-s-prahom-iz-mokarjev>)

### 2.3.6. Pomen v prehrani

Ličinke mokarja za prehrano že dolgo uporabljajo v Aziji, še posebej pa v jugo-vzhodnem delu. Kaže pa da bodo kmalu prišli tudi do nas. Maja 2017 so bili v Švici odobreni kot hrana, temu pa je junija leta 2021 sledila še Evropska unija. Za prehranjevanje uporabljam mokarjevo ličinko in ne hroščev. Ugotovili so, da ima mokarjeva ličinka odlične hranilne vrednosti in je zato dobra krma za živali. Lahko pa bi živali tudi delno zamenjala, saj je njihovo gojenje cenejše in energetsko učinkovitejše od živinoreje in ribogojstva. Iz njih delajo moko, hamburgerje, ... Pri prehranjevanju z njimi pa moramo biti previdni, saj lahko pride tudi do raznih težav zaradi mikrobne kontaminacije, parazitov, prionov, antibiotikov, pesticidov, toksinov in alergenov.

Prevzeto po: (<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2017-0033/html>)



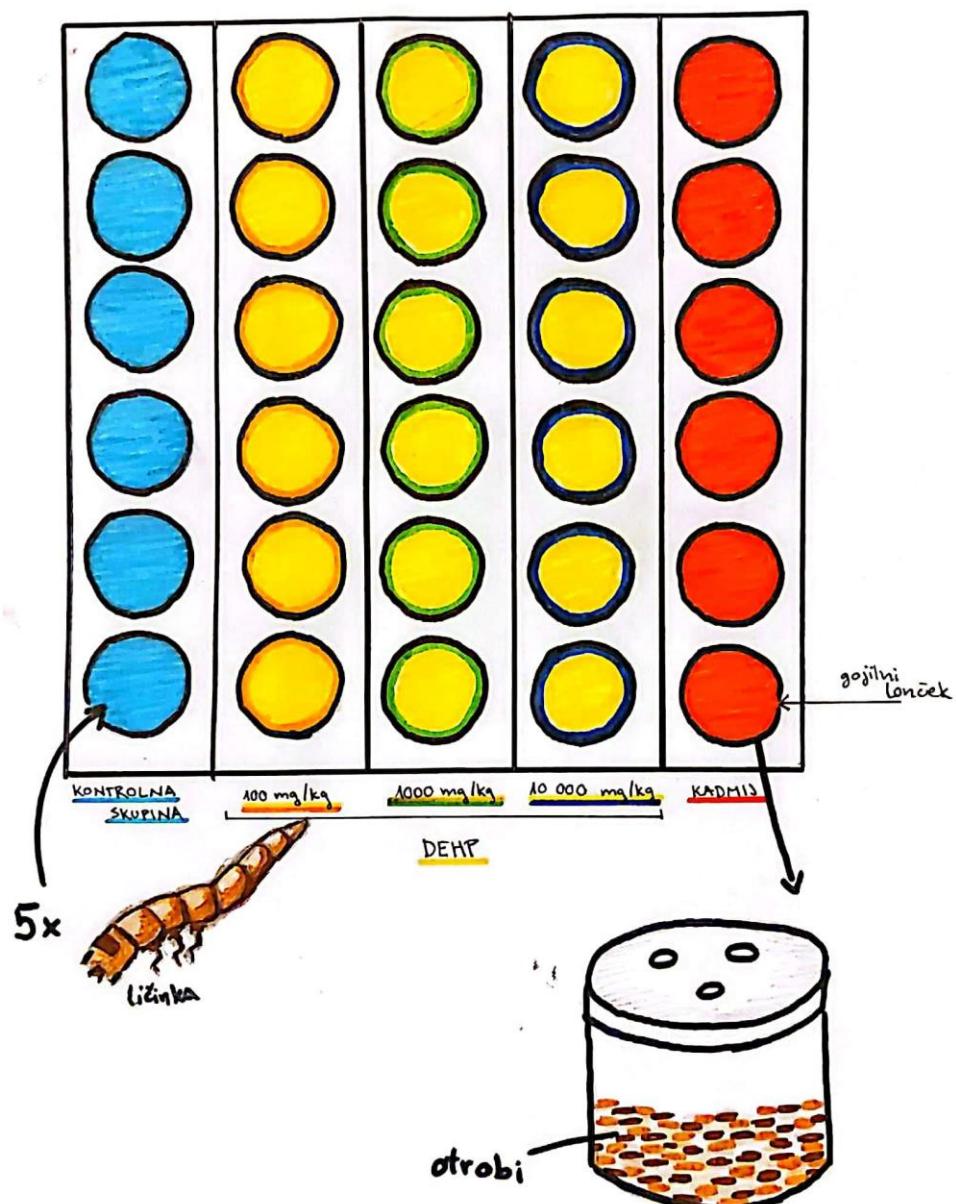
Slika 24: Primer uporabe ličinke mokarja v prehrani

Vir slike: (<https://www.zps.si/nasveti-in-vodniki/licinke-na-krozniku-kot-opcija-za-trajnostno-prehranjevanje-2021-07-14>)

### 3. PRAKTIČNI DEL

#### 3.1. Načrt poteka prehranjevalnega eksperimenta

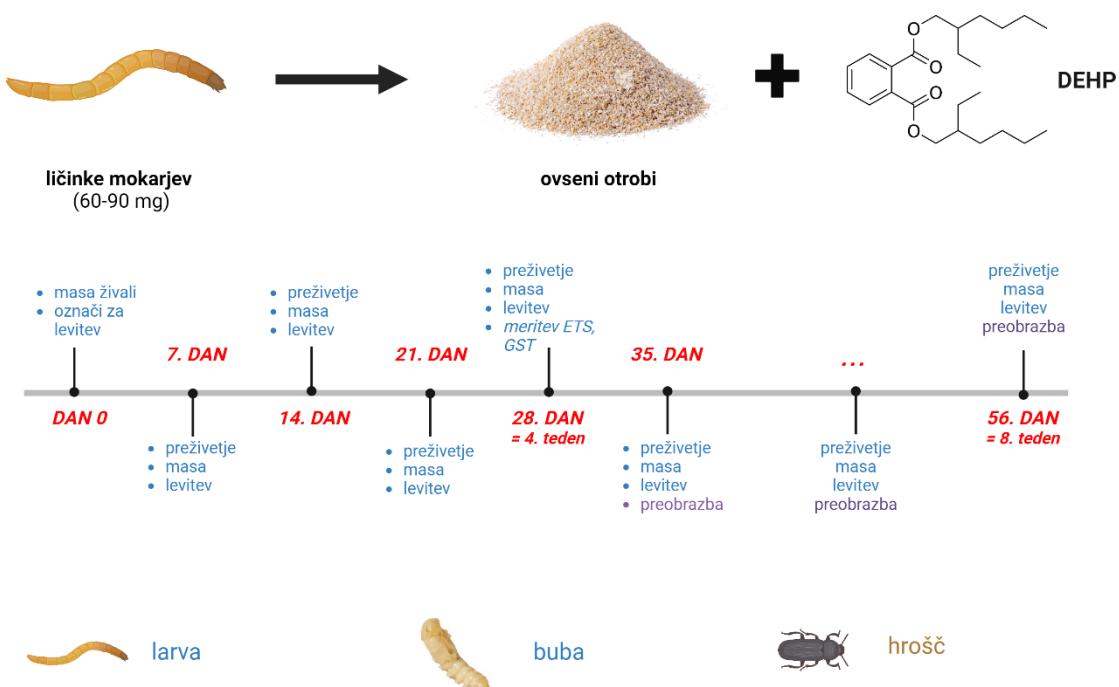
Skica 1: Razpored ličink v gojilne lončke z različnimi koncentracijami DEHP in kadmija ter kontrolo.



### 3.1.1. Med poskusom merjeni parametri oz. biomarkerji:

- **Preživetje:** vsak teden smo zabeležili število živih živali.
- **Masa:** tedensko smo izmerili mase posameznih živali v vsakem lončku.
- **Levitev:** vsak teden smo zabeležili število levitev glede na število živih ličink.
- **Razvojne faze:** vsak teden smo zabeležili število živih ličink/bub/broščev.
- **Razmnoževanje odraslih hroščev:** po dveh tednih od združitve samca in samice smo opazovali število odloženih jajčec.

Skica 2: Časovni prikaz izvedbe poskusa z mokarji.



## **3.2. Vzgoja poskusnih živali v laboratoriju Biotehniške fakultete, Univerze v Ljubljani**

Ličinke hroščev mokarjev smo kupili v trgovini za male živali (MrPet) in jih nato gojili v plastičnem terariju na ovsenih otrobih, v komori s stalno temperaturo  $26 \pm 2$  °C in svetlobnim režimom (16:8 ur, svetlo/temno). Odrasle hrošče mokarje smo prenesli na novo gojišče z ovsenimi otrobi in kvasom (razmerje 9:1, w/w) in pustili, da se razmnožujejo. Iz odloženih jajčec smo vzgojili ličinke druge generacije, ki so bile "synchronizirane" v rasti (podobnih velikosti in telesne mase), in jih uporabili v naših poskusih.

## **3.3. Pogoji in delo v šolskem laboratoriju**

Pri našem poskusu smo morali poskrbeti, da bodo mokarji lahko preživeli in da jih bomo lahko opazovali in beležili podatke o njih. Kot hrano smo uporabljali ovsene otrobe, za vlogo pa smo poskrbeli z namočenim filtrirnim papirjem, ki smo ga tedensko menjevali. Da bi lahko dihali, smo jim na pokrove steklenih gojilnih lončkov naredili luknje in pri pospravljanju poskrbeli, da teh nismo prekrili. Lončke z mokarji, ki so bili zloženi v dveh škatlah, smo hrаниli v laboratoriju, kjer so mokarji dobili svetlobo čez večino dneva, ponoči pa so tako bili v temi. Skupaj smo imeli kar 30 steklenih lončkov, 6 lončkov na testno skupino, v vsak lonček pa smo dali po 5 ličink mokarjev - skupno 150 ličink.



Slika 25: Gojilni lončki

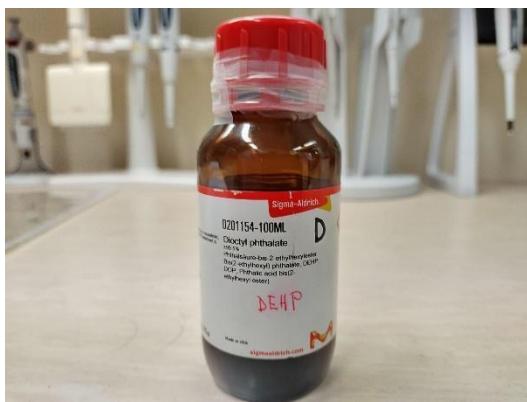
### **3.3.1. Priprava testnih koncentracij kadmija in DEHP**

V šolskem digestoriju smo pripravili založne raztopine testnih kemikalij, tj. kadmija (10 g/L dH<sub>2</sub>O) in DEHP (200 g/L acetona). Za pripravo založne raztopine kadmija (Cd) smo na tehtnici zatehtali 1,79 g kadmijev klorid monohidrata (CdCl<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O), kemikalijo prenesli v 100 mL stekleno bučko in jo napolnili z dH<sub>2</sub>O do oznake. Bučko smo pretresli in raztopino dobro premešali z uporabo magnetnega mešala. Založno raztopino smo kasneje dodali v otrobe, da smo pridobili končno koncentracijo 5000 mg Cd na kg otrobov.

Založno raztopino DEHP (200 g/L) smo pripravili v acetonu. Z uporabo analitske tehtnice smo v 15 mL plastično centrifugirko natehtali 2 g DEHP in dodali 10 mL acetona. Raztopino smo dobro pretresli in premešali na namiznem mešalu. Z redčenjem založne raztopine DEHP z acetonom smo pripravili redčitveno vrsto DEHP (20 g/L, 2 g/L), ki smo jo kasneje dodali v otrobe, tako da je bila končna koncentracijo DEHP v otrobih 10000, 1000, 100 mg/kg.

### **3.3.2. Priprava gojilnih lončkov za izpostavitev ličink**

- 10 g otrobov z/brez DEHP ali kadmija na lonček
- kadmij: 50 mL založne raztopine kadmija (10 g/L) prelimi na 100 g otrobov. Mešali in nato sušili do suhega v pečici pri 40 °C. Po 10 g otrobov s kadmijem dali v lončke (6x).
- DEHP:
  - za najvišjo koncentracijo DEHP v otrobih (10000 mg/kg) smo na 100 g otrobov dali 5 mL založne raztopine DEHP (200 g/L) in premešali ter pustili čez noč v digestoriju, da aceton izhlapi. Naslednji dan smo prenesli po 10 g otrobov z DEHP v testne posodice (6x).
  - za koncentracijo DEHP 1000 mg/kg smo na 100 g otrobov dali 5 mL založne raztopine DEHP (20 g/L), premešali ter pustili čez noč v digestoriju, da aceton izhlapi. Naslednji dan smo v vsakega od šestih testnih posodic prenesli po 10 g otrobov.
  - za koncentracijo DEHP 100 mg/kg in hkrati najnižjo koncentracijo smo na 100 g otrobov dali 5 mL založne raztopine DEHP (2 g/L), premešali in pustili čez noč v digestoriju, da aceton izhlapi. Naslednji dan smo prenesli po 10 g otrobov z DEHP v testne posodice (6x)
- v 6 lončkov smo natresli po 10 g otrobov brez dodanih kemikalij, kar je bila naša kontrolna skupina.



Slika 28: Kemikalija DEHP



Slika 26: Priprava kadmija v otrobih



Slika 27: Priprava raztopin DEHP in kadmija

- V pokrove lončkov smo naredili luknjice za normalen pretok zraka.
- V lončke z otrobi smo položili navlažen filtrirni papir za vlago in ga menjali vsak teden.



Slika 29: Priprava gojilnih lončkov za ličinke mokarja



Slika 30: Priprava gojilnih lončkov za ličinke mokarja.

### 3.3.3. Izbor ličink mokarja

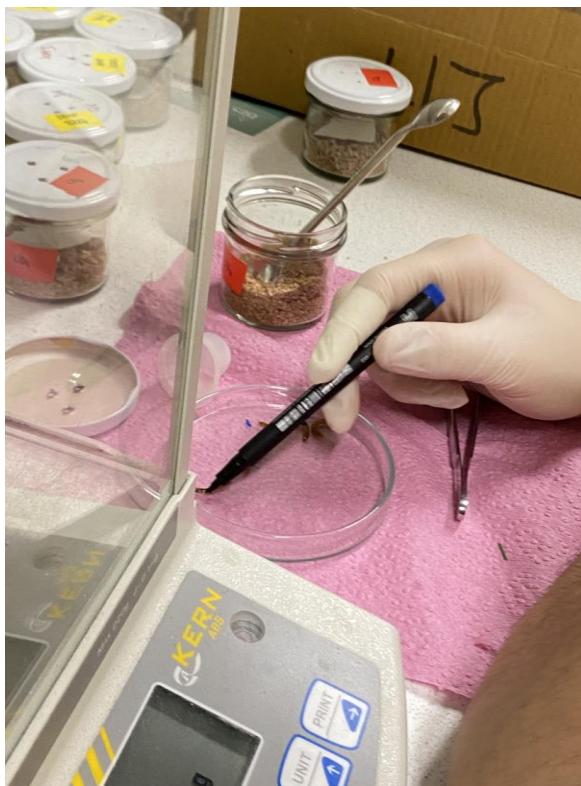
Tehtanje: Izmed približno 600 ličink smo jih izbrali 150, ki so ustrezale kriteriju. Vse ličinke so imele maso med 60 in 90 mg, da so si na začetku bolj podobne. V vsak gojilni lonček smo dali skupno 5 ličink, vsako ličinko pa smo na začetku kot tudi kasneje (tedensko) tehtali in maso zabeležili.



Slika 31: Skupina ličink.

### 3.3.4. Označevanje ličink:

Preden smo jih razdelili v lončke, pa smo jih označili z alkoholnim flomastrom, da smo lahko spremljali njihove levitve. Z označevanjem smo nadaljevali tudi med potekom poskusa in sicer po vsaki levitvi, ter levitve zabeležili. Ličinka, ki se je levila ni imela več oznake, ki smo jo naredili s flomastrom.



Slika 32: Označevanje ličink



Slika 33: Označena ličinka

### 3.3.5. Priprava razmnoževalnih plošč za odrasle hrošče mokarje

Za poskus smo pripravili tudi pet razmnoževalnih plošč. Vsaka plošča je bila razdeljena na šest prekatov, v vsak prekat pa smo združili enega samca in samico, ki sta se razvila v poskusu izpostavitve endokrinim motilcem (DEHP in kadmiju). V prekate smo nasuli manj otrobov (2 g) kot v gojilne lončke, vendar pa je bila koncentracija kemikalij v njih enaka koncentraciji v lončkih.

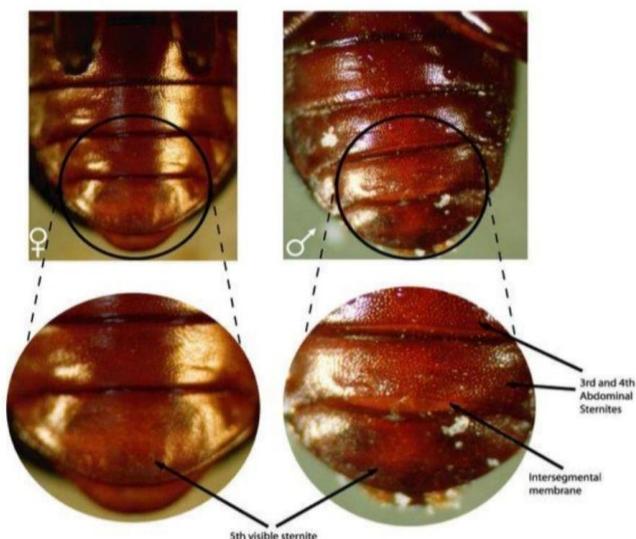


Slika 34: Priprava razmnoževalnih plošč

### 3.3.6. Opazovanje vpliva hormonskih motilcev na razmnoževanje

Po več tednih opazovanja organizmov v gojilnih lončkih se je razvilo dovolj hroščev, da smo z njimi lahko sestavili pare. Hrošče smo premaknili iz gojilnih lončkov v razmnoževalne plošče in zabeležili datum vsakič, ko smo dobili par. Po dveh tednih smo hrošče umaknili, nato pa pregledali otrobe in prešteli število jajčec ter ličink.

Spol mokarja smo določili šele, ko so se razvili v odraslega hrošča, tako kot je prikazano na spodnji sliki. Pod lupo smo hrošča obrnili, tako da smo opazovali njegovo spodnjo, trebušno stran. Samec se od samice razlikuje tako, da ima med zadnjim in predzadnjim členom zadka še en vmesni pol člen.



Slika 35: Določanje spola hrošča mokarja

Vir: (<http://www.entomologitaliani.net/public/forum/phpBB3/viewtopic.php?t=65135>)

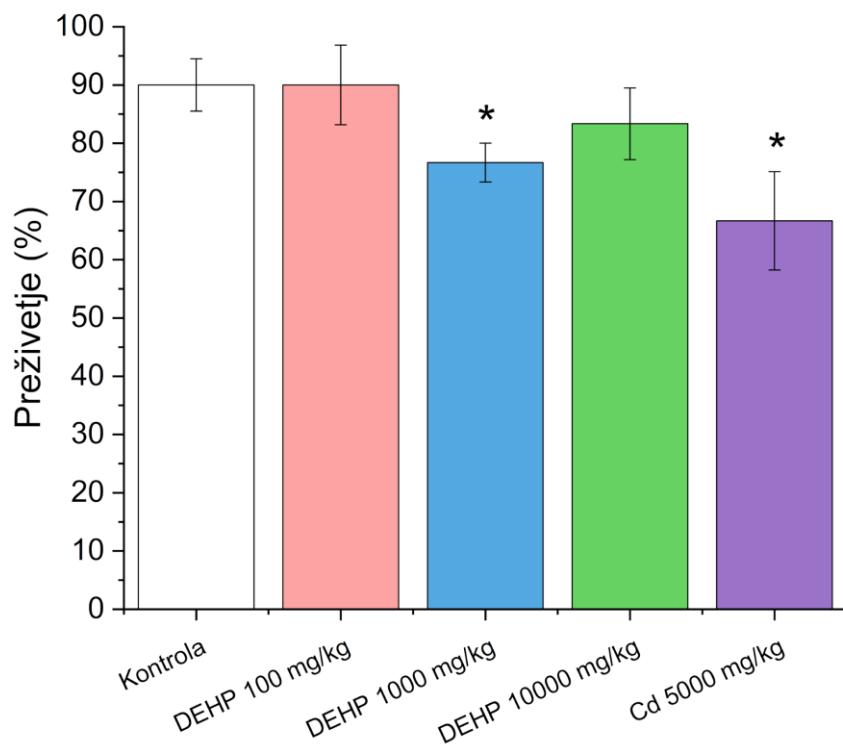
Dva tedna po združitvi samice in samca hroščev mokarjev v razmnoževalni plošči, smo v vsakem prekatu prešteli število jajčec in ličink.

### 3.3.7. Statistična analiza

Podatke smo grafično prikazali v programu OriginPro (OriginLab, ZDA). Stolpci oziroma pike na grafih prikazujejo povprečno vrednost s standardno napako. Vrednosti merjenih parametrov (preživetje, masa, levitev, razvoj) za živali, ki so bile izpostavljene DEHP in kadmiju smo primerjali s kontrolo. Za to smo uporabili statistični Mann-Whitney test, pri čemer smo kot statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolo ( $p < 0,05$ ) označili z zvezdico nad stolpcem/pikami na grafu.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Preživetje mokarjev



Graf 1: Preživetje mokarjev po 8 tednih izpostavitev DEHP in kadmiju v otrobih

## 4.2. Razvoj, masa in levitev mokarjev

TABELA 1: Podatki za število različnih razvojnih faz mokarja (ličinka, buba, hrošč) med izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih.

		<b>datumi meritev</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	
<b>dodani motilci</b>	<b>zapis štivila</b>	<b>lončka</b>	<b>9-jan.</b>	<b>16-jan.</b>	<b>23-jan.</b>	<b>30-jan.</b>	<b>6-feb.</b>	<b>13-feb.</b>	<b>20-feb.</b>	<b>27-feb.</b>	<b>5-mar.</b>
<b>kontrolna skupina</b>	1	5L	5L	5L	4L 1B	4L1B	3L1B1H	3L1H	<b>3B1H</b>	2B2H	
	2	5L	5L	5L	5L	5L	3L2B	2L1B2H	2B2H	1B3H	
	3	5L	5L	5L	5L	5L	4L1B	1L4B	4B1H	5H	
	4	5L	5L	5L	5L	5L	4L1B	2L3B	1L2B1H	1B3H	
	5	5L	5L	5L	5L	5L	5L	5L	5B	2B3H	
	6	5L	5L	5L	5L	4L1B	4L1B	2L2B1H	1L3B	1B4H	
<b>kadmij</b>	1	5L	5L	5L	5L	5L	5L	5L	<b>4L1B</b>	<b>4L1B</b>	
	2	5L	5L	5L	5L	4L1B	2L3B	2L1B2H	2L2H	2L2H	
	3	5L	5L	5L	5L	5L	2L3B	2L2B1H	2L1H	2L1H	
	4	5L	5L	4L	4L	4L	3L	3L	2L1B	1L2B	
	5	5L	5L	5L	5L	5L	5L	<b>3L1B</b>	<b>3L1B</b>	2L	
	6	5L	5L	4L	4L	4L	4L	<b>3L1B</b>	<b>2L2B</b>	<b>2L1H</b>	

### LEGENDA ZA TABELO 1 IN 2:

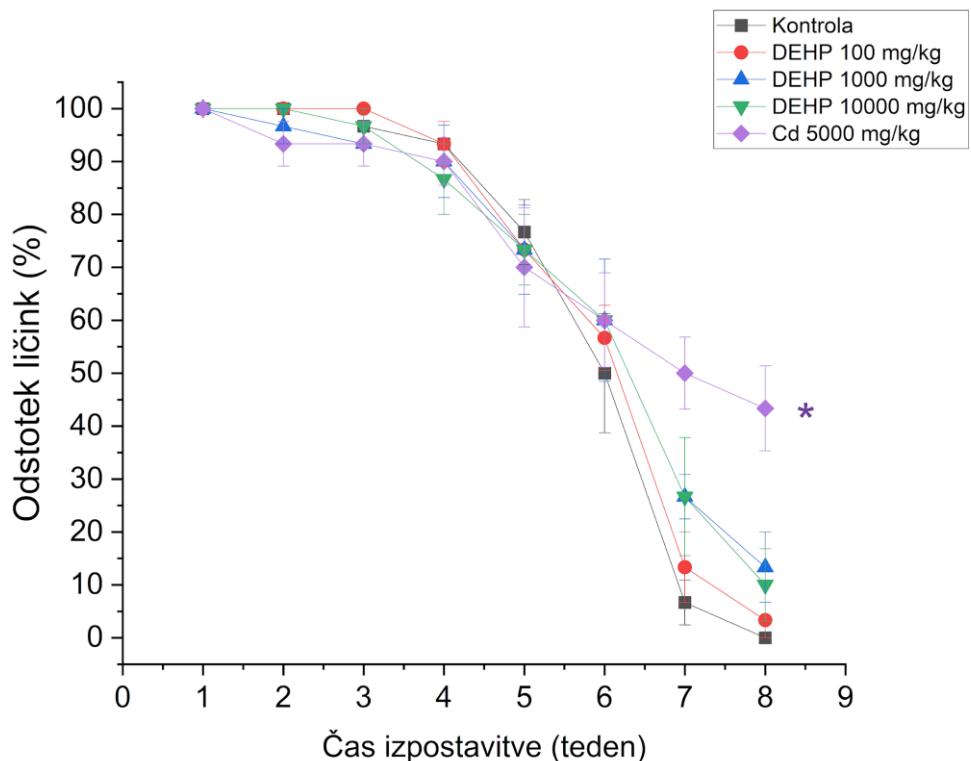
- L=ličinka/larva
- B=buba
- H=hrošč

TABELA 2: Podatki za število različnih razvojnih faz mokarja (ličinka, buba, hrošč) med izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih.

		<b>datumi meritev</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>
<b>dodani motilci</b>	<b>zapis števila lončka</b>	<b>9-jan.</b>	<b>16-jan.</b>	<b>23-jan.</b>	<b>30-jan.</b>	<b>6-feb.</b>	<b>13-feb.</b>	<b>20-feb.</b>	<b>27-feb.</b>	<b>5-mar.</b>
<b>DEHP (100 mg/kg)</b>	1	5L	5L	5L	5L	5L	3L2B	3L2B	2L1B2H	1L2B2H
	2	5L	5L	5L	5L	5L	5L	3L2B	4B1H	2B3H
	3	5L	5L	5L	5L	5L	3L2B	2L3B	3B1H	4H
	4	5L	5L	5L	5L	4L1B	4L1B	4L1H	1L3B1H	2B3H
	5	5L	5L	5L	5L	4L1B	4L	2L2B	3B1H	1B2H
	6	5L	5L	5L	5L	5L	3L2B	3L1B1H	1L2B2H	2B3H
<b>DEHP (1000 mg/kg)</b>	1	5L	5L	4L	4L	4L	4L	4L	2L2B	2L1B1H
	2	5L	5L	5L	5L	5L	3L1B	3L1B	1L2B1H	1L1B2H
	3	5L	5L	5L	5L	5L	5L	5L	1L4B	2B2H
	4	5L	5L	5L	5L	5L	4L1B	3L2B	1L2B2H	2B2H
	5	5L	5L	5L	5L	5L	4L1B	2L3B	2L2B1H	1L3H
	6	5L	5L	5L	4L	3L1B	2L2B	1L2B1H	1L1B2H	1B2H
<b>DEHP (10000 mg/kg)</b>	1	5L	5L	5L	5L	3L2B	3L1B1H	2L1B2H	2B2H	2B2H
	2	5L	5L	5L	5L	5L	5L	5L	3L2B	1L2B1H
	3	5L	5L	5L	5L	5L	4L1B	3L1B	3L	2L1B
	4	5L	5L	5L	5L	5L	4L1B	3L2B	1L3B1H	2B3H
	5	5L	5L	5L	5L	4L1B	3L1B	2L2B	2B2H	1B3H
	6	5L	5L	5L	4L 1B	4L1H	3L1B1H	3L1B1H	1L2B2H	3B2H

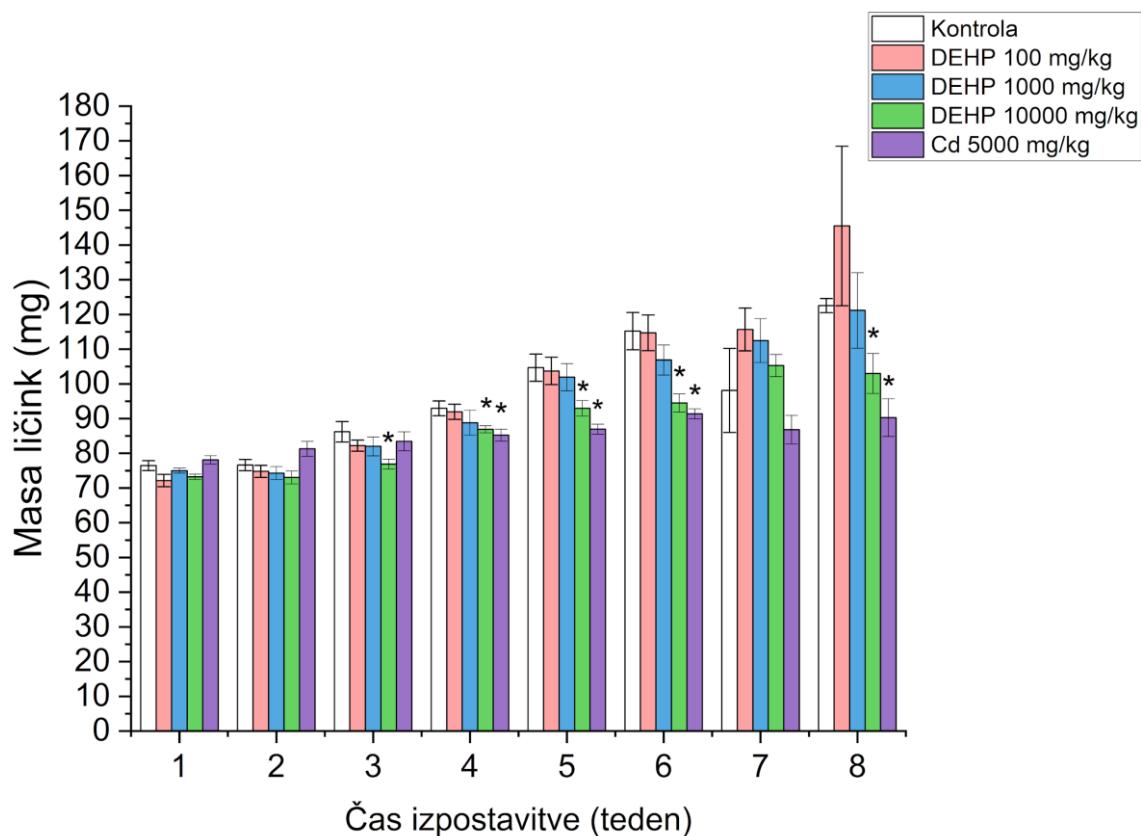
## 4.2.1. Razvojna faza ličinke

### 4.2.1.1. Odstotek ličink mokarjev med izpostavitvijo



Graf 2: Odstotek ličink mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih.

#### 4.2.1.2. Masa ličink mokarjev med izpostavitvijo

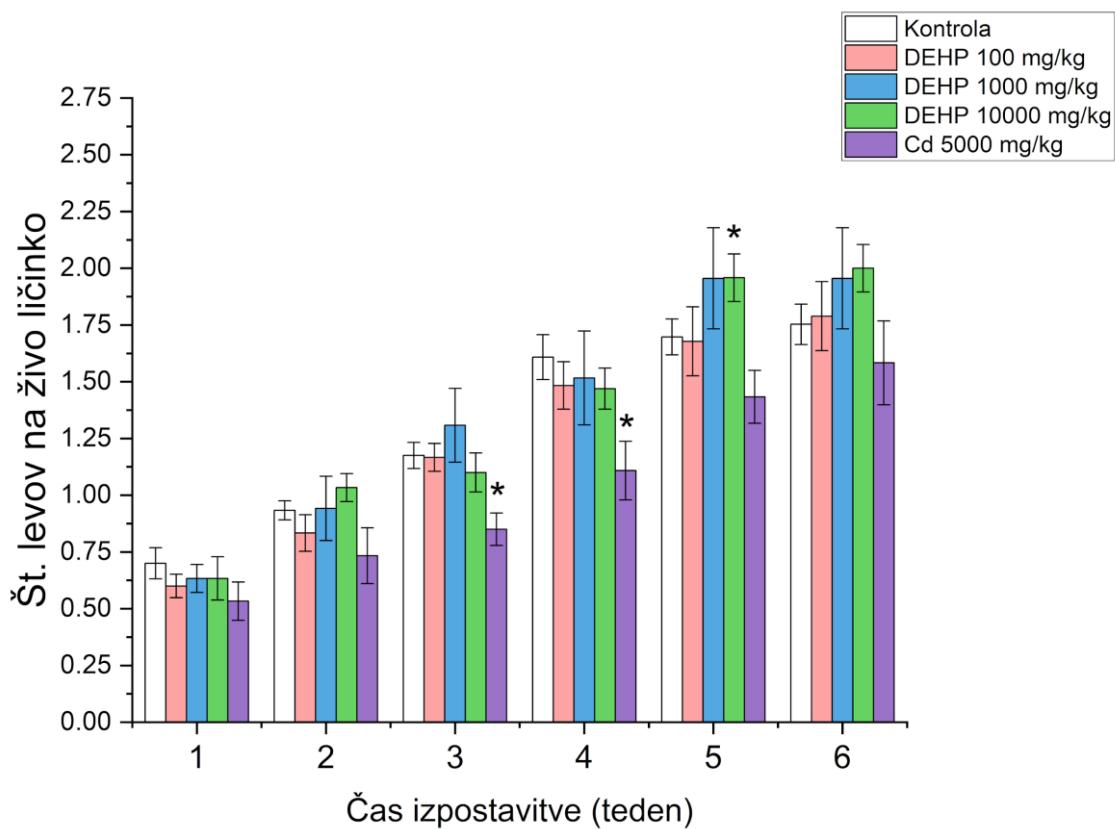


Graf 3:Masa ličink mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih

#### 4.2.1.3. Levitev ličink mokarjev med izpostavitvijo

TABELA 3: Podatki za levitev ličink mokarjev med izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih.

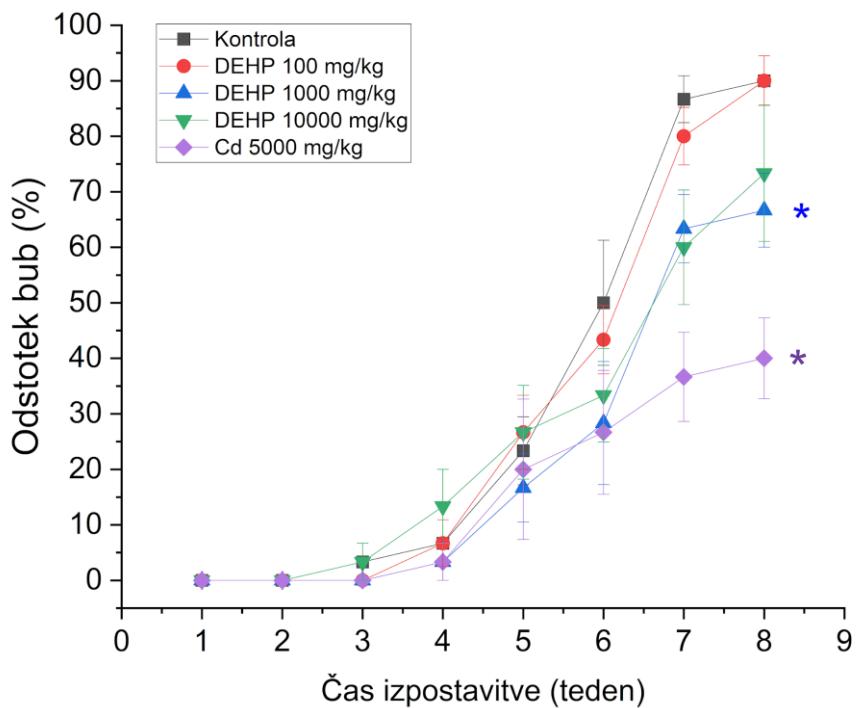
	datum							
	9-jan.	16-jan.	23-jan.	30-jan.	6-feb.	13-feb.	20-feb.	27-feb.
<b>KONTROLA-1</b>	0/5	3/5	1/5	1/4	1/4	1/3	1/3	0/0
	0/5	3/5	2/5	1/5	2/5	0/3	0/2	0/0
	0/5	4/5	1/5	2/5	2/5	0/4	0/1	0/0
	0/5	3/5	1/5	1/5	2/5	0/4	0/2	0/1
	0/5	3/5	2/5	1/5	2/5	1/5	0/5	0/0
	0/5	5/5	0/5	1/5	3/4	0/4	0/0	0/1
<b>DEHP 100-1</b>	0/5	3/5	2/5	0/5	2/5	1/5	1/5	1/4
	0/5	3/5	1/5	0/5	0/5	2/2	1/2	0/2
	0/5	4/5	1/5	0/5	0/5	1/2	0/2	0/2
	0/5	3/5	0/4	0/4	3/4	0/3	0/3	0/2
	0/5	2/5	2/5	1/5	2/5	0/5	1/3	0/3
	0/5	1/5	0/4	2/4	0/4	1/4	0/3	1/2
<b>DEHP 1000-1</b>	0/5	3/5	1/5	1/5	2/5	0/3	2/3	0/2
	0/5	3/5	0/5	3/5	2/5	0/5	0/3	0/0
	0/5	3/5	2/5	1/5	2/5	0/3	0/2	0/0
	0/5	4/5	1/5	1/5	2/4	1/4	0/4	1/1
	0/5	2/5	1/5	2/5	0/4	1/4	0/2	0/0
	0/5	3/5	2/5	2/5	1/5	1/4	0/3	0/1
<b>DEHP 10000-1</b>	0/5	3/5	1/5	1/4	1/3	0/2	0/1	1/1
	0/5	0/5	0/5	3/5	1/4	0/3	0/2	1/2
	0/5	2/5	3/5	1/5	1/4	1/3	1/3	0/1
	0/5	4/5	2/5	2/5	1/5	0/3	0/2	0/0
	0/5	2/5	1/5	1/4	1/3	0/2	0/1	0/0
	0/5	5/5	0/5	0/5	4/5	0/4	0/4	0/0
<b>Cd 5000-1</b>	0/5	3/5	1/5	0/5	2/3	2/3	0/2	0/0
	0/5	1/5	4/5	0/5	1/5	3/5	0/5	1/3
	0/5	4/5	1/5	0/5	1/5	3/4	0/2	1/3
	0/5	4/5	2/5	0/5	2/5	1/4	1/3	0/1
	0/5	3/5	2/5	2/5	1/4	0/3	0/2	0/0
	0/5	4/5	2/5	0/4	2/4	2/3	0/2	0/1



Graf 4: Prikaz levitve ličink mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih

## 4.2.2. Razvojna faza bube

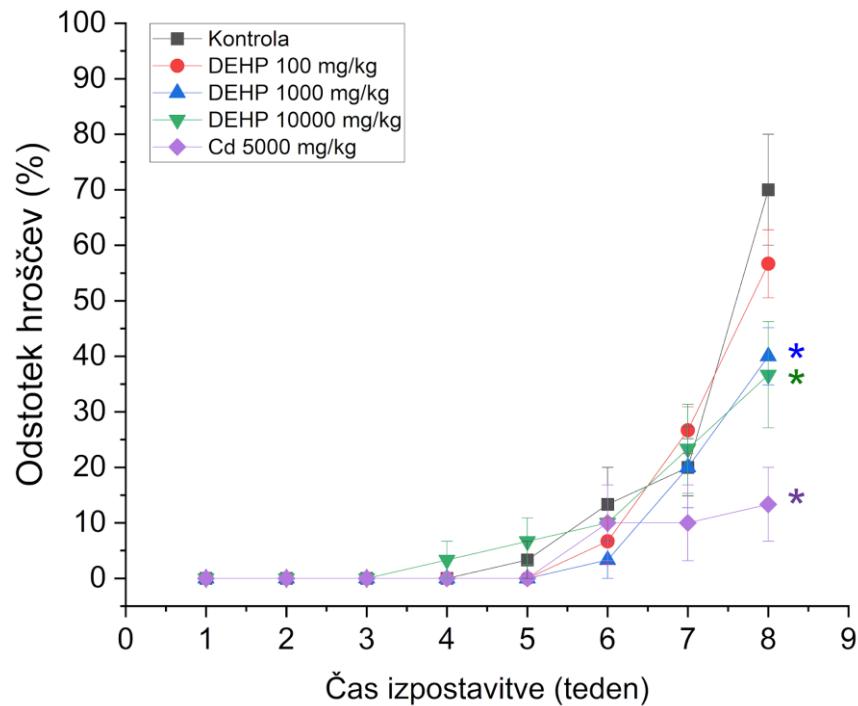
### 4.2.2.1. Odstotek bub mokarjev med izpostavitvijo



Graf 5: Odstotek bub mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih

## 4.2.3. Razvojna faza hrošča

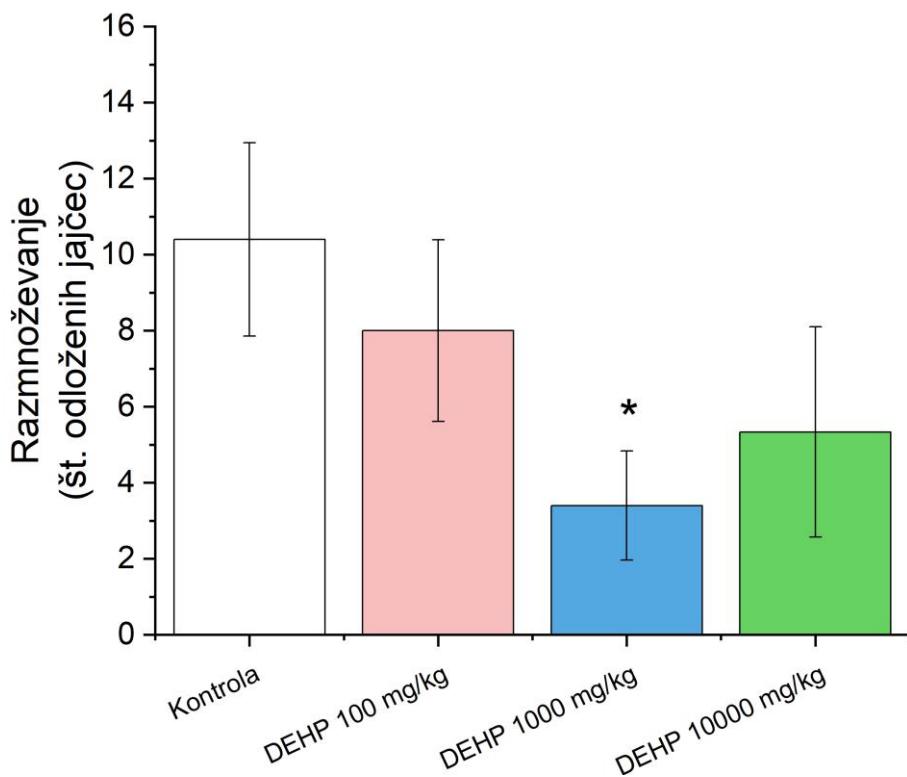
### 4.2.3.1. Odstotek hroščev mokarjev med izpostavitvijo



Graf 6: Odstotek odraslih hroščev mokarjev med 8-tedensko izpostavitvijo DEHP in kadmiju v otrobih

## 4.4. Razmnoževanje odraslih hroščev mokarjev

### 4.4.1. Povprečno število potomcev na skupino, ki je bila izpostavljena različnim koncentracijam kemikalij DEHP in kadmija



Graf 7: Povprečno število potomcev na skupino, ki je bila izpostavljena različnim koncentracijam kemikalij DEHP in kadmija

## 5. ANALIZA REZULTATOV

### 5.1. Preživetje mokarjev

Ugotovili smo, da je v kontrolni skupini preživel 90 % izpostavljenih živali, kar je v skladu s predhodnimi raziskavami z mokarji (neobjavljeni rezultati). Test z mokarji je veljaven, če je smrtnost v kontrolni skupini < 10 %.

V primeru izpostavitve kemikaliji DEHP v otrobih smo ugotovili značilno zmanjšano preživetje mokarjev. O podobnem učinku poročajo tudi Kim in sod. (2019) pri različnih talnih nevretenčarjih. Preživetje po 8-tednih izpostavitve 1000 mg DEHP/kg v otrobih je bilo 75 %, kar je značilno zmanjšano v primerjavi s kontrolo. Ugotovili smo, da je povišana smrtnost predvsem na račun ličink, ki so poginile med izpostavitvijo. Pri višji koncentracijah DEHP (10000 mg/kg) nismo opazili značilno povečane smrtnosti, čeprav je preživetje rahlo upadlo v primerjavi s kontrolo. Vzrok za to pa bi lahko bil kemične narave – morda pri 1000 mg DEHP/kg otrobov nastajajo razpadni produkti, slednji pa so bolj strupeni za organizme zato pa smo pri tej koncentraciji opazili tudi povečano smrtnost živali. Značilno zmanjšano preživetje pri 1000 mg DEHP/kg bi lahko razložili tudi kot učinek hormeze, tj. toksikološki pojav pri katerem izpostavitev nizkim koncentracijam kemikalije oz. odmerkom stresa povzroči biološki odziv (npr. smrtnost), ki je večji kot pri višjih koncentracijam (Rix in sod., 2022).

Zmanjšano preživetje je bilo opaženo tudi v primeru izpostavitve kadmiju (5000 mg/kg), tj. < 70 %. Do podobnih ugotovitev so prišli tudi Nasarella in sod. (2003) pri dvokrilcu *Phormia regina* izpostavljenemu kadmiju.

### 5.2. Razvoj in rast mokarjev

#### 5.2.1. Vpliv kadmija

Kadmij izrazito vpliva na mokarje - razvoj je upočasnjen (podaljša se razvoj ličink). Po 8 tednih izpostavitve je odstotek ličink višji kot v kontrolah, kot tudi katerikoli koncentraciji DEHP. Masa ličink mokarjev izpostavljenih kadmiju med 8-tedensko izpostavitvijo upada v primerjavi s kontrolo, kar je lahko posledica manjšega prehranjevanja z otrobi oziroma zaradi večje porabe energije, ki jo organizem porablja za procese detoksifikacije ali razstrupljanja (Maryanski in sod., 2002). Dodatno je pojavnost bub v primeru kadmija manjša kot v kontroli, podobno je tudi odstotek razvitih odraslih hroščev po 8-tedenski izpostavitvi zgolj 10 %. Ti rezultati so v skladu z ugotovitvami Nasarella in sod. (2003), ki poročajo o upočasnjenem oziroma ustavljenem razvoju pri dvokrilcu *Phormia regina*, izpostavljenemu kadmiju. Opazili smo tudi značilno zmanjšano število levitev ličink mokarja v primeru izpostavitve kadmiju, kar je v skladu z drugimi raziskavami, ki poročajo, da se v primeru stresa organizem manj ali več levi (Greenberg in Ar, 1996).

## 5.2.2. Vpliv DEHP

V primeru izpostavitve DEHP smo opazili rahel trend upočasnjenega razvoja mokarjev - po 8 tednih je odstotek ličink rahlo večji kot v kontroli, podobno smo opazili tudi zmanjšan odstotek bub in hroščev, kar pomeni, da se je manj ličink preobrazilo v bube in kasneje v hrošče. O podobnih učinkih na razvoj po izpostavitvi DEHP poročajo tudi Aviles in sod. (2019) pri molju *Spodoptera littoralis*. Nasprotno pa recimo Brown in sod. (1996) poročajo, da izpostavitev DEHP ni vplivala na razvoj dvokrilca *Chironomus riparius*.

Dodatno smo ugotovili, da se od 5. tedna izpostavitev dalje mase ličink mokarjev značilno zmanjšujejo z naraščajočo koncentracijo DEHP v otrobih. Na podlagi tega domnevamo, da testirane kemikalije vplivajo na presnovne procese testnih organizmov, kar pomeni manj rezervnih snovi, ki so potrebne za uspešno preobrazbo organizma. O podobnih učinkih DEHP na maso testne živali poročajo tudi Aviles in sod. (2019) pri molju *S. littoralis*.

Najvišja testirana koncentracija DEHP v otrobih (10000 mg/kg) je značilno vplivala na levitev ličink mokarjev – opazili smo večje število levov na živo žival kot v kontroli, kar dokazuje, da DEHP predstavlja stres za organizem.

Na podlagi vseh rezultatov domnevamo, da so opaženi učinki predvsem posledica presnovnih motenj v organizmu zaradi vpliva testiranih kemikalij, možno pa je tudi tarčno delovanje kemikalij na hormonalni sistem mokarjev. Glede na hormonalni sistem žuželk lahko iz podatkov domnevamo, da bi DEHP lahko vplival na levitveni hormon in tudi na delovanje juvenilnega hormona, ki je odgovoren za reguliranje razvoja žuželk. Juvenilni hormon v normalnih okoliščinah upočasnjuje prehod med posameznimi razvojnimi fazami in s tem preprečuje prezgodnje preobrazbe, ki lahko vodijo v prezgodnjo smrt ali sterilnost odraslih osebkov. Rahlo podaljšana doba preobrazbe bi lahko bila posledica povečanega delovanja juvenilnega hormona zaradi učinka kemikalije DEHP. Nivo juvenilnega hormona nismo spremljali, bi pa to lahko storili v bodoče in bi nam tako pomagalo pri razlagi rezultatov.

Domnevamo, da bi lahko testirani kemikaliji imeli podoben učinek/vpliv tudi na druge organizme, hkrati bi lahko predstavljeni nevarnost tudi za ljudi.

## 5.3. Razmnoževanje mokarjev

### 5.4.1. Vpliv kadmija

Protokol za spremeljanje razmnoževanja odraslih hroščev mokarjev smo kot prvi optimizirali in tudi uporabili v konkretnem poskus s temi organizmi. Pri poskusnih organizmih, ki so bili izpostavljeni kadmiju, smo opazili visoko smrtnost odraslih hroščev, zato jih večinoma ni bilo mogoče združiti v pare, z izjemo enega para, ki v časovnem obdobju dveh tednov ni imel potomcev. V primeru izpostavitve kadmiju so se organizmi tudi manj prehranjevali, kar je vodilo v to, da niso imeli dovolj energije za druge procese, kot je razmnoževanje



Slika 37: Hrošč mokarja



Slika 36: Iskanje jajčec mokarja

### 5.4.2. Vpliv DEHP

Pri poskusnih organizmih, ki so bili izpostavljeni različnim koncentracijam kemikalije DEHP, smo opazili zmanjšano število potomcev v primerjavi s kontrolo. Opazili smo izrazit upad števila potomcev pri koncentraciji 1000 mg DEHP/kg. Število potomcev se z večanjem koncentracije DEHP v otrobih manjša. O zmanjšanem razmnoževanju talnih nevretenčarjev, izpostavljenih DEHP v zemlji, poročajo tudi Kim in sod. (2019).



Slika 39: Ličinka mokarja pod lupo



Slika 38: Iskanje jajčec mokarja s pinceto

## 6. ZAKLJUČEK

### 6.1. Vrednotenje hipotez

- a) Kemikalija DEHP bo vplivala na preživetje mokarjev

Hipoteza potrjena - preživetje mokarjev je bilo značilno zmanjšano v primeru DEHP, tj. 1000 mg/kg.

- b) Razvoj mokarjev, izpostavljenim DEHP, bo počasnejši kot v kontrolni skupini.

Hipoteza potrjena - Razvojni cikel mokarjev je bil upočasnjen v primerjavi s kontrolo - opazili smo rahel trend porasta odstotka ličink in upad odstotka bub ter hroščev po 8. tednih izpostavitve DEHP.

- c) Ličinke mokarjev bodo zaradi izpostavljenosti DEHP bolj pridobivale na masi.

Hipoteza ovržena - ličinkam mokarjev izpostavljene DEHP upada masa glede na kontrolno skupino ličink.

- d) Število levitev ličink mokarja izpostavljenih DEHP bo manjše.

Hipoteza ovržena - število levov na ličinko se ni spremenilo med izpostavitvijo DEHP.

- e) Izpostavljenost ličink mokarjev kadmiju bo negativno vplivala na preživetje, maso, levitev in razvojni cikel.

Hipoteza delno potrjena - dokazali smo, da je preživetje po osmem tednu izpostavitve kadmiju zmanjšano. Masa je bila tudi zmanjšana, levitve pa so bile nespremenjene. Razvojni cikel je bil upočasnjen.

- f) Razmnoževanje hroščev, ki se bodo razvili med izpostavitvijo DEHP in kadmiju, bo slabše kot v kontroli.

Hipoteza potrjena - število potomcev je bilo zmanjšano pri vseh skupinah izpostavljenih DEHP, še posebno v primeru 1000 mg/kg in 10000 mg/kg, v primerjavi s kontrolo. V primeru kadmija potomcev praktično ni bilo.

## 6.2. Predlogi in načrti za nadaljnje raziskave

### -vpliv različnih koncentracij DEHP in kadmija na razvoj potomcev - multigeneracijski učinki

Po pridobljenih jajčecih, nastalih kot potomci poskusnih hroščev, ki so bili izpostavljeni kemičnim spojinam, bomo opazovali njihov razvoj. Zanimalo nas bo, če se bodo posledice, nastale pri starševskih organizmih, prenesle na potomce.

## 7. VIRI IN LITERATURA

### Literatura

- Aviles, A., Boulogne, I., Durand, N., Maria, A., Cordeiro, A., Bozzolan, F., ... & Siaussat, D. (2019). Effects of DEHP on post-embryonic development, nuclear receptor expression, metabolite and ecdysteroid concentrations of the moth *Spodoptera littoralis*. Chemosphere, 215, 725-738.
- Brown, D., Thompson, R. S., Stewart, K. M., Croudace, C. P., & Gillings, E. (1996). The effect of phthalate ester plasticisers on the emergence of the midge (*Chironomus riparius*) from treated sediments. Chemosphere, 32(11), 2177-2187.
- Greenberg, S., & Ar, A. (1996). Effects of chronic hypoxia, normoxia and hyperoxia on larval development in the beetle *Tenebrio molitor*. Journal of insect physiology, 42(11-12), 991-996.
- Gregor Belušič , Jasna Dolenc Koce , Martina Turk , Miloš Vittori , Polona Zalar. Biologija 2, o zgradbi in delovanju organizmov. Založba mladinska knjiga. 2018
- Kim, D., Cui, R., Moon, J., Kwak, J. I., & An, Y. J. (2019). Soil ecotoxicity study of DEHP with respect to multiple soil species. Chemosphere, 216, 387-395.
- Maryanski, M., Kramarz, P., Laskowski, R., & Niklinska, M. (2002). Decreased energetic reserves, morphological changes and accumulation of metals in carabid beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to zinc-or cadmium-contaminated food. Ecotoxicology, 11, 127-139.
- Nasarella, M. A., Stoffolano Jr, J. G., Stanek III, E. J., Kostecki, P. T., & Calabrese, E. J. (2003). Hormesis and stage specific toxicity induced by cadmium in an insect model, the queen blowfly, *Phormia regina* Meig. Environmental Pollution, 124(2), 257-262.
- Planelló, R., Herrero, O., Martínez-Guitarte, J. L., & Morcillo, G. (2011). Comparative effects of butyl benzyl phthalate (BBP) and di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on the aquatic larvae of *Chironomus riparius* based on gene expression assays related to the endocrine system, the stress response and ribosomes. Aquatic toxicology, 105(1-2), 62-70.
- Pradhan, A., Olsson, P. E., & Jass, J. (2018). Di (2-ethylhexyl) phthalate and diethyl phthalate disrupt lipid metabolism, reduce fecundity and shortens lifespan of *Caenorhabditis elegans*. Chemosphere, 190, 375-382.
- Preda, C., Ungureanu, M. C., & Vulpoi, C. (2012). Endocrine disruptors in the environment and their impact on human health. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 11(9).

- Rix, R. R., Guedes, R. N. C., & Cutler, G. C. (2022). Hormesis dose–response contaminant-induced hormesis in animals. *Current Opinion in Toxicology*, 30, 100336.
- Soin, T., & Smagghe, G. (2007). Endocrine disruption in aquatic insects: a review. *Ecotoxicology*, 16, 83-93.
- Yildirim, N. C., Ak, T. P., & Samaras, O. (2021). Toxicological effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate in *Gammarus pulex*: a biochemical and histopathological assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 44442-44451.
- You, H. H., & Song, G. (2021). Review of endocrine disruptors on male and female reproductive systems. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 244, 109002.

## Spletni viri

- <https://www.ivr.si/skodljivec/mokarji/>
- <https://zivalipripouku.weebly.com/mali-mokar.html>
- <http://scurkasticno.si/mokarji>
- <https://en.wikipedia.org/wiki/Mealworm>
- <https://journals.biologists.com/jeb/article/226/16/jeb245522/325872/Mapping-the-nutritional-landscape-in-the-yellow>
- <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/znc-2017-0033/html>
- <https://www.europarl.europa.eu/news/sl/headlines/society/20130121ST005418/hormonski-i-motilci-poslanci-zelijo-boljso-zascito-pred-nevarnimi-kemikalijami>
- <https://zsszaupnikvzd.si/baza-znanja/obremenitve-pri-delu/kemijske/hormonski-motilci/>
- [https://sl.wikipedia.org/wiki/Hormonski\\_motilec](https://sl.wikipedia.org/wiki/Hormonski_motilec)
- [https://www.niehs.nih.gov/sites/default/files/health/materials/endocrine\\_disruptors\\_508.pdf](https://www.niehs.nih.gov/sites/default/files/health/materials/endocrine_disruptors_508.pdf)
- <https://liveforheartwarming.com/blog/tezke-kovine-v-okolju-in-njihov-vpliv-na-zdravje-ljudi/>
- <https://nijz.si/moje-okolje/varnost-zivil/dioksini-vprasanja-in-odgovori/>
- [https://sl.wikipedia.org/wiki/Poliklorirani\\_bifenili](https://sl.wikipedia.org/wiki/Poliklorirani_bifenili)
- <https://www.eionet.europa.eu/gemet/sl/concept/6485>
- [https://en.wikipedia.org/wiki/Benzo\(a\)pyrene](https://en.wikipedia.org/wiki/Benzo(a)pyrene)
- <https://nijz.si/wp-content/uploads/2022/12/bisfenoli.pdf>
- <https://brez-gso.svoboda.si/wp-content/uploads/sites/4/2017/03/Pesticidi-kot-hormonski-motilci-in-njihov-vpliv-na-okolje.pdf>
- <https://www.sciencedirect.com/topics/xbiochemistry-genetics-and-molecular-biology/alkylphenol>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10147072/>
- <https://echa.europa.eu/sl/hot-topics/phthalates>
- <https://echa.europa.eu/documents/10162/060d4981-4dfb-4e40-8c69-6320c9debb01>
- <https://www.eatcrickster.com/blog/mealworm-facts>
- <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/insect-hormone>

## Viri slik

- Vir slike 1: ([https://sl.wikipedia.org/wiki/Poliklorirani\\_bifenili](https://sl.wikipedia.org/wiki/Poliklorirani_bifenili))
- Vir slike 2: (<https://sl.wikipedia.org/wiki/Dioksini>)
- Vir slike 3: ([https://en.wikipedia.org/wiki/Benzo\(a\)pyrene](https://en.wikipedia.org/wiki/Benzo(a)pyrene))
- Vir slike 4: (<https://www.news-medical.net/health/Bisphenol-A-%28BPA%29-Health-Effects.aspx>)
- Vir slike 5: (<https://en.wikipedia.org/wiki/Alkylphenol>)
- Vir slike 6: (<https://resources.arcmachines.com/cadmium-in-welding-avoiding-long-term-health-risks-ami/>)
- Vir slike 7: ([https://en.wikipedia.org/wiki/Bis\(2-ethylhexyl\)\\_phthalate](https://en.wikipedia.org/wiki/Bis(2-ethylhexyl)_phthalate))
- Vir slike 8: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004565351930832X>)
- Vir slike 9: (<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1532045621000296>)
- Vir slike 11: (<https://www.cakalnedobe.si/nasvet/hormonski-motilci-v-kozmetiki/>)
- Vir slike 16: ([https://www.researchgate.net/figure/The-Hypothalamic-Pituitary-Thyroid-axis-including-the-roles-of-thyrotropin-releasing\\_fig2\\_257006752](https://www.researchgate.net/figure/The-Hypothalamic-Pituitary-Thyroid-axis-including-the-roles-of-thyrotropin-releasing_fig2_257006752))
- Vir slike 18: (<https://bs.wikipedia.org/wiki/Testosteron>)
- Vir 20: (<https://www.britannica.com/animal/beetle/Form-and-function>)
- Vir slike 21: (<https://www.pinterest.com/pin/258182991118356357/visual-search/?x=16&y=16&w=318&h=191&cropSource=6&surfaceType=flashlight>)
- Vir slike 22: [https://www.google.com/search?sca\\_esv=968f5892fb3c0ad5&sxsrf=ACQVn0-3a7DmdVQ-GfcEzJpF9o-hwVH5Kw:1710601770928&q=razvojni+cikel+mokarjev&tbo=isch&source=lnms&sa=X&ved=2ahUKEwjDz6GXipmEAxWW0gIHhbLbB08Q0pQJegQICBAB&biw=1488&bih=742&dpr=1.25#imgrc=AF1rBi1Ne5I8hM](https://www.google.com/search?sca_esv=968f5892fb3c0ad5&sxsrf=ACQVn0-3a7DmdVQ-GfcEzJpF9o-hwVH5Kw:1710601770928&q=razvojni+cikel+mokarjev&tbo=isch&source=lnms&sa=X&ved=2ahUKEwjDz6GXipmEAxWW0gIHhbLbB08Q0pQJegQICBAB&biw=1488&bih=742&dpr=1.25#imgrc=AF1rBi1Ne5I8hM)
- vir slike 23: (<https://www.mladina.si/152384/cokoladne-bonboniere-z-murni-in-piskoti-s-prahom-iz-mokarjev>)
- Vir slike 24: (<https://www.zps.si/nasveti-in-vodniki/licinke-na-krozniku-kot-opcija-za-trajnostno-prehranjevanje-2021-07-14>)
- Vir slike 34: (<http://www.entomologitaliani.net/public/forum/phpBB3/viewtopic.php?t=65135>)