

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

ZAKLJUČNA NALOGA

KEMIČNO ZATIRANJE TUJERODNIH INVAZIVNIH
RASTLINSKIH VRST Z GLIFOSATOM IN NJEGOVI
POTENCIALNI VPLIVI NA ORGANIZME IN OKOLJE

DEJA JURGEC

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Zaključna naloga

**Kemično zatiranje tujerodnih invazivnih rastlinskih vrst z
glifosatom in njegovi potencialni vplivi na organizme in okolje**

(Chemical control of alien invasive plant species with glyphosate and its
potential effects on organisms and the environment)

Ime in priimek: Deja Jurgec

Študijski program: Biodiverziteta

Mentor: doc. dr. Živa Fišer Pečnikar

Koper, september 2018

Ključna dokumentacijska informacija

Ime in PRIIMEK: Deja JURGEC

Naslov zaključne naloge: Kemično zatiranje tujerodnih invazivnih rastlinskih vrst z glifosatom in njegovi potencialni vplivi na organizme in okolje

Kraj: Koper

Leto: 2018

Število listov: 53 Število slik: 3

Število referenc: 134

Mentor: doc. dr. Živa Fišer Pečnikar

Ključne besede: invazivne rastline, kemično zatiranje invazivnih rastlin, glifosat, vplivi glifosata

Izvleček: V nalogi so najprej opisane definicije tujerodnih invazivnih vrst ter njihova problematika. Podani so načini mehanskega, biotskega in kemičnega zatiranja invazivnih vrst, na kratko pa je opisano tudi, kaj je glifosat, v katerih pripravkih ga lahko najdemo in kako se je uporaba pripravkov na njegovi osnovi z leti večala. Iz izsledkov študij je razvidno, da je toksičnost različnih pripravkov na osnovi glifosata vrstno specifična in odvisna od številnih okoljskih dejavnikov, kot npr. pH, temperatura,...Prav tako je toksičnost odvisna od dodanih dodatkov. Opisane so snovi, ki jih imenujemo surfaktanti in jih dodajajo pripravkom za lažje prehajanje herbicida v rastline, ter kakšno nevarnost v okolju predstavljajo te snovi. Prav tako so opisani mehanizmi, ki so jih rastline po mnogih nanosih sčasoma razvile, da so postale odporne na spojine z glifosatom. Predstavljeni so tudi vplivi na živali. Pri čebelah lahko povzroči kognitivne težave pri obnovitvi prostorske informacije o vrnitvi v svoj panj. Pri deževnikih in mokricah je bila vidna zavrta rast organizmov, prav tako so glifosat in njegovi pripravki povzročili nenormalnosti pri razvoju rib. Iz teh informacij je razvidno, da glifosat predstavlja tveganje za okolje v primeru, da se njegovi učinki in uporaba v okolju sistematično ne spremljajo in nadzorujejo.

Key words documentation

Name and SURNAME: Deja JURģEC

Title of the final project paper: Chemical control of alien invasive plant species with glyphosate and its potential effects on organisms and the environment

Place: Koper

Year: 2018

Number of pages: 53 Number of figures: 3

Number of references: 134

Mentor: Assist. Prof. Źiva Fiřer Pečnikar, PhD

Keywords: invasive plants, chemical treating of invasive plants, glyphosate, effects of glyphosate

Abstract: The aim of the final project paper was to describe the definitions of alien invasive plant species as well as the problems of invasive species and methods of mechanical, biotic and chemical control of invasive plant species. The paper briefly describes what is glyphosate, in which formulas it can be found and how the use of formulas on the base of glyphosate has increased over the years. There is existing evidence that higher pH in contact with formulas can lead to greater adverse effects and that higher temperatures can also cause higher toxicity of the formulas. Substances known as surfactants are added to formulas to facilitate the transfer of herbicides to plants. The paper describes what are the harmful effects on animals and the environment, but also the mechanisms that the plants have developed over many years after many applications of herbicide from which they became resistant to glyphosate compounds. In bees it can cause cognitive problems in recovering of spatial information about returning to their hive. In earthworms and isopods, the growth of organisms was reduced, and glyphosate also caused abnormalities in the development of fish species. This information shows that glyphosate may present a risk to the environment if the effects and application in the environment are not systematically monitored and controlled.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici dr. Źivi Fiģer Pečnikar, za pomoč pri vsebinskem oblikovanju zaključne naloge ter za usmeritve med izdelavo zaključne naloge.

Zahvalila bi se tudi družini in prijateljem, ki so mi tekom študija stali ob strani.

KAZALO VSEBINE

1	UVOD.....	1
2	TUJERODNE INVAZIVNE RASTLINE.....	2
	2.1 DEFINICIJE IN ZNAČILNOSTI	2
	2.2 INVAZIVNE RASTLINE IN NAČINI NJIHOVEGA ZATIRANJA	4
	2.2.1 Mehanske oblike zatiranja invazivnih rastlin	4
	2.2.2 Biotski načini zatiranja invazivnih vrst	5
	2.2.3 Kemične metode zatiranja invazivnih rastlin	5
	2.2.3.1 Primeri načinov kemičnega zatiranja nekaterih bolj razširjenih invazivnih rastlin	7
	2.3 GLIFOSAT	8
	2.4. VPLIV GLIFOSATA NA ORGANIZME IN OKOLJE	10
	2.4.1 Mehanizem delovanja glifosata na rastline, žlahtnenje rastlin z odpornostjo na glifosat in razvoj odpornosti na tarčnih rastlinah	10
	2.4.2 Vpliv glifosata na živali.....	15
	2.4.2.1 Nevretenčarji (Invertebrata)	15
	2.4.2.2 Vretenčarji (Vertebrata).....	20
3	ZAKLJUČEK	32
4	LITERATURA IN VIRI.....	35

KAZALO SLIK IN GRAFIKONOV

Slika 1: Povečanje števila invazivnih vrst, vnesenih v Evropo v zadnjih 500 letih (Pyšek in sod. 2009)	3
Slika 2: Kemična struktura glifosata (Prasad in sod. 2009).....	9
Slika 3: Mehanizem delovanja glifosata na rastline (Schwember in sod., 2008).....	11

SEZNAM KRATIC

GSR – gensko spremenjene rastline

ITV – invazivne tujerodne vrste

WHO – svetovna zdravstvena organizacija (angl. World Health Organisation)

LC50 – letalna koncentracija, pri kateri pogine 50 % testne populacije ali

srednja smrtna koncentracija

FFS – fitofarmacevtska sredstva

1 UVOD

V zaključni nalogi je obravnavana problematika invazivnih tujerodnih vrst vključno z različnimi pleveli, zaradi katerih za njihovo zatiranje prihaja do množične uporabe herbicidov.

Skozi zaključno nalogo sem opisala načine zatiranja invazivnih tujerodnih rastlin s poudarkom na načinih kemičnega zatiranja vrst z glifosatom. V nadaljevanju so podani nekateri primeri invazivnih rastlin in na kakšen način jih zatiramo z mehanskimi, biotskimi in kemičnimi metodami. Iz leta v leto se povečuje uporaba kemičnih sredstev za zatiranje invazivnih vrst, še posebej tistih, ki povzročajo škodo v kmetijstvu. Eni izmed takšnih kemičnih snovi so pripravki na osnovi glifosata, ki so eni izmed največkrat uporabljenih herbicidov. V zaključni nalogi so zbrane ključne ugotovitve različnih študij o vplivih glifosata na netarčne organizme. Po opisu kemikalije glifosata sledijo nekateri zbrani podatki o negativnih vplivih glifosata ter pripravkov na njegovi osnovi, na dvoživke, členonožce, kolobarnike, ribe, ptice, človeka in druge sesalce. Cilj naloge je preučiti negativne učinke, ki jih glifosat lahko povzroča organizmom in kakšno tveganje spojina predstavlja v okolju ter kakšni so mehanizmi delovanja glifosata na rastline.

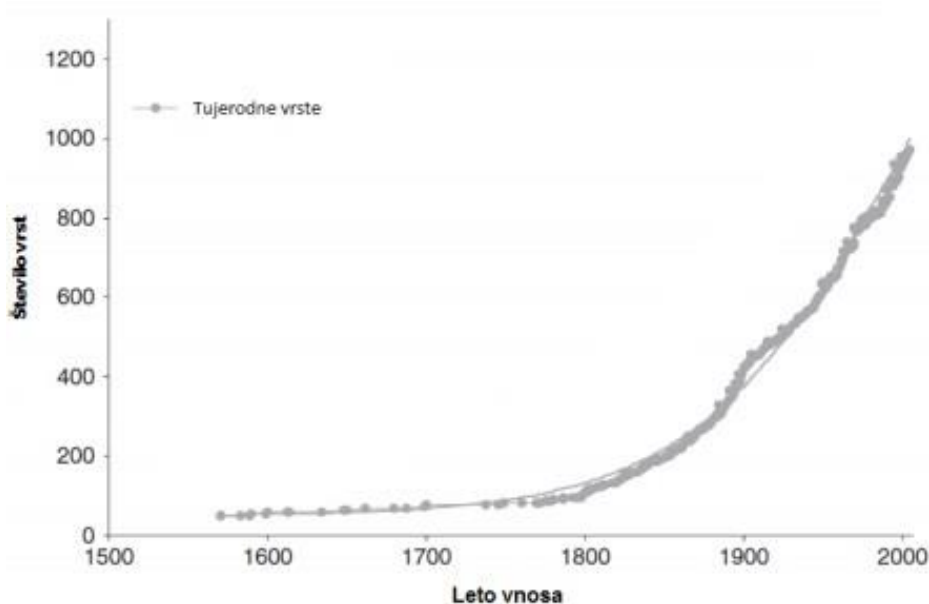
2 TUJERODNE INVAZIVNE RASTLINE

2.1 DEFINICIJE IN ZNAČILNOSTI

Po definiciji Ministrstva za okolje in prostor (www.mop.gov.si, datum dostopa: 19.7.2018) je "Tujerodna vrsta, vrsta, podvrsta ali takson nižje kategorije, ki je vnesena na območje zunaj njenega območja pretekle ali sedanje naravne razširjenosti, oziroma območja, ki bi ga ta dosegla z naravno disperzijo brez posrednega ali neposrednega človeškega vpliva. To vključuje katerikoli del organizma, spolne celice, semena, jajca ali druge dele organizmov, ki lahko preživijo in so sposobni razmnoževanja."

Invazivna tujerodna vrsta (ITV) pa je vrsta, katere ustalitev in širjenje ogroža biotsko raznovrstnost. Pri tem ogroža ekosisteme, habitate ali vrste in zdravje ljudi in negativno vpliva na gospodarstvo. Po Uredbi 1143/2014/EU je invazivna tujerodna vrsta tista, za katero je bilo ugotovljeno, da njen vnos ali širjenje ogrožata ali imata škodljive vplive na biotsko raznovrstnost in povezane ekosistemske storitve. Poleg škode, ki jo povzročajo biotski raznovrstnosti, lahko invazivne tujerodne vrste negativno vplivajo tudi na gospodarstvo in zdravje ljudi (Kus Veenvliet 2016).

Predvidevanje, katere rastline bodo postale invazivne in v katerih ekosistemih, je velikega pomena za okolje (Crawley 1987; Wade 1997); rastline, ki postanejo v naravi invazivne, motijo procese v ekosistemih in zmanjšajo zmožnost ekosistemov, da bi si ti opomogli po motnjah v njihovem okolju (Costanza in sod. 1997). V Sloveniji je po trenutnih ocenah naseljenih že 800 tujerodnih vrst, od tega več kot 50 invazivnih vrst rastlin in 40 vrst živali, gostota njihovega pojavljanja pa se povečuje (Mazej Grudnik 2014). Tujerodne rastlinske vrste, ki se pojavljajo v Sloveniji, izhajajo predvsem iz klimatsko primerljivih predelov, kot so vzhodni deli Azije, vzhod Severne Amerike, nekaj pa jih prihaja tudi iz južne poloble (Jogan in sod. 2012). Te rastlinske vrste so bile k nam zanesene kot gojene vrste, predvsem kot okrasne rastline (Jogan in sod. 2012). Študije tujerodnih vrst so sicer pokazale, da se izmed vseh vrst, ki dosežejo nova območja, približno 10 % ustali, le 10 % teh ustaljenih vrst pa kasneje postane tudi invazivnih. To statistično pravilo imenujemo tudi "the tens rule" (Mazej Grudnik 2014, cit. po Williamson 1997). V Sloveniji sicer pogostost pojavljanja tujerodnih invazivnih rastlin upada z upadanjem povprečne letne temperature. Med bolj ogrožene spadajo habitati do 600 metrov nadmorske višine (Zelnik 2012).



Slika 1: Povečanje števila invazivnih vrst, vnesenih v Evropo v zadnjih 500 letih (Pyšek in sod. 2009).

Številne tujerodne vrste uspevajo na obrežjih rek in na območjih, ki jih uvrščamo med vodovarstvena območja (Lešnik 2017). Obrečni in poplavni gozdovi v Sloveniji spadajo med gozdne habitatne tipe, ki veljajo za najbolj ogrožene zaradi vplivov, ki jih povzročajo invazivne tujerodne vrste. S tega stališča med najbolj ogroženo štejemo poplavne pasove nižinskih rek: Save v spodnjem toku, Ljubljanice, Krke, Drave in Mure. Predvsem ob Muri najdemo več kot sto metrov široke sestoje, v katerih skoraj ne najdemo več avtohtonih vrst, in kjer kar 90 odstotkov celotne biomase zeliščne plasti sestavljajo invazivne tujerodne vrste. Te v poznem poletju in jeseni oblikujejo skoraj neprehodne sestoje (Marinšek in Kutnar 2016).

Na vodovarstvenih območjih, kjer se invazivne vrste mnogokrat nahajajo, je prisoten splet okoliščin, ki slabša možnosti za uspešno zatiranje novih invazivnih vrst. Na teh območjih veljajo posebne omejitve glede razpoložljivih herbicidov, ki jih lahko uporabljamo, kar zmanjšuje možnosti za kemično zatiranje. Pogosto se prav tako dogaja, da novi pleveli izvirajo iz okolij, kjer so te rastline že razvile odpornost na herbicide, kar dodatno slabša možnosti njihovega zatiranja (npr. ZDA, Argentina, Južna Afrika) (Lešnik 2017).

Slabost režima Evropske unije, ki situacijo še poslabšuje, je tudi odprtost pri uvozu rastlin. Tveganje novih trgovskih poti pred uvozom namreč ni preverjeno. Zaradi povečanega obsega uvoza z drugih celin pa bo najverjetneje še naprej prihajalo do nadaljnjih izbruhov tujerodnih škodljivih organizmov (Benko-Beloglavec in sod. 2016). Vsako leto invazivne tujerodne rastline v Evropski uniji povzročijo škodo v višini 12,5 milijarde evrov (Mazej Grudnik 2014). V preteklem desetletju so sicer izbruhi nevarnih škodljivih organizmov, ki so bili povezani z uvozom in so veliko škode povzročili predvsem v gozdovih, nekoliko izboljšali družbeno ozaveščenost o stroških ter o posledicah nezadostne fitosanitarne zaščite (Benko-Beloglavec in sod. 2016).

V Sloveniji se večina izvedenih ukrepov odstranjevanja in nadzora tujerodnih vrst ukvarja predvsem z odstranjevanjem in omejevanjem vrst, ki so škodljivi organizmi na rastlinah, ki imajo velik kmetijski in s tem velik gospodarski pomen. Ukrepi za odstranjevanje invazivnih tujerodnih vrst, ki povzročajo škodo biotski raznovrstnosti, pa se zaenkrat ne izvajajo sistematično, prav tako za njihovo zatiranje še ne obstajajo vse zakonske podlage (Kus Veenvliet in Veenvliet 2017). Evropska unija se je v Uredbi (EU) št. 1143/2014 Evropskega parlamenta in Sveta o preprečevanju in obvladovanju vnosa in širjenja invazivnih tujerodnih vrst zavezala, da bo do leta 2020 prepoznala tujerodne invazivne vrste, jih razvrstila po pomembnosti, določila prednostne vrste za nadzor in iztrebljanje, ter preprečila pojavljanje in uveljavljanje novih invazivnih vrst in s tem zaustavila upadanje biotske raznovrstnosti (Mazej Grudnik 2014).

2.2 INVAZIVNE RASTLINE IN NAČINI NJIHOVEGA ZATIRANJA

2.2.1 Mehanske oblike zatiranja invazivnih rastlin

V Sloveniji se uporabljajo predvsem mehanske oblike zatiranja, ki so množično razširjene. Ena izmed metod mehanskega zatiranja vrst je puljenje celotnih osebkov (Roženberger in sod. 2017), s katerim lahko odstranjujemo tako manjše rastline kot drevesa. Puljenje rastlin je primeren način zatiranja manjših populacij do nekaj 100 kvadratnih metrov zelnatih rastlin in nekaterih drevesnih vrst (Šešerko 2015). Puljenje je priporočljivo izvajati spomladi ali zgodaj poleti, ko je zemlja še vlažna. S puljenjem je omogočeno selektivno odstranjevanje rastlin (Šešerko 2015).

Naslednja mehanična metoda je zadušitev rastlin. Pri njej mesto zatiranja za več rastnih sezon prekrijemo z dvojno ali trojno plastjo debele UV-stabilizirane prozorne ali črne folije (Šešerko 2015). Metoda prekrivanja s folijo je neselektivna metoda, primerna za manjša rastišča, gosto porasla z invazivnimi tujerodnimi vrstami, kjer je prisotno malo avtohtonega rastlinja (Šešerko 2015).

Drugi primerni mehanski načini za zatiranje ITV so še lomljenje enoletnih poganjkov z izkopavanjem, obročkanje, paša živine in odstranjevanje rastlin z rezanjem ali košnjo oziroma mulčenjem. Rezanje ali košnjo je priporočljivo izvesti vsaj trikrat ali štirikrat letno več rastnih sezon zapored, pred cvetenjem. Metoda ni primerna za invazivne vrste, ki imajo vegetativen način razmnoževanja, pri košnji oziroma mulčenju se namreč razreže rastline na drobne koščke, ki potencialno lahko predstavljajo vir za njihovo ponovno razrast (Šešerko 2015). Mehanski načini zatiranja v gozdovih pa so najučinkovitejši, če se kombinirajo še z ukrepi, kot so: malopovršinsko pomlajevanje, skrb za polnilno plast, uporaba gozdnogojitvenih sistemov, ki pospešujejo vrstno in strukturno pestrost sestojev ter pospeševanje in sajenje hitrorastočih, rastišču primernih domorodnih vrst (Roženberger in sod. 2017).

Običajno je mehansko zatiranje prvi pristop pri zatiranju invazivnih tujerodnih vrst. Predstavlja okolju prijazen način, njegova slabost pa je, da pri izvajanju zatiranja lahko prihaja do mešanja zgornjega sloja tal, kar lahko vodi do ponovnega vnosa invazivnih tujerodnih vrst preko semen, ki se nahajajo na površini tal, ali koreninskih delov, ki ostanejo v tleh (Šešerko 2015).

2.2.2 Biotski načini zatiranja invazivnih vrst

Biotsko lahko zatiramo vrste s tekmovalnim pritiskom drugih vrst, objedanjem z nekaterimi vrstami, ter preko delovanja fitopatogenih organizmov (Roženbergar in sod. 2017). Škodljive organizme pri tem odstranimo z živimi organizmi, ki predstavljajo njihove naravne sovražnike (Kus Veenvliet in Veenvliet 2017). Dober primer je vrsta glive *Verticillium alboatrum*, ki v umetno okuženih nasadih povzroča skoraj 100% smrtnost pri velikem pajesnu (*Ailanthus altissima* Mill.) (Roženbergar in sod. 2017). Ker tujerodne vrste v novem okolju običajno nimajo naravnih sovražnikov je za namene njihovega biotskega zatiranja potrebno vnesti dodaten nov tujerodni organizem. Vnosi novih tujerodnih organizmov pa lahko povzročijo dodatno škodo v primeru, da napadejo druge domorodne vrste. V Sloveniji je zato ta metoda strogo nadzorovana in urejena z Pravilnikom o biotičnem varstvu rastlin (Uradni list RS 45/2006) (Kus Veenvliet in Veenvliet 2017).

2.2.3 Kemične metode zatiranja invazivnih rastlin

Ukrepi kemičnega zatiranja vključujejo rabo pesticidov. Pesticidi se uporabljajo za zatiranje škodljivcev, plevelov in rastlinskih bolezni. Pesticidi so lahko izolirani iz rastlin in predstavljajo naravne snovi za zatiranje ali pa so umetni pripravki. V Sloveniji je raba pesticidov nadzorovana, njihovo rabo pa ureja Zakon o fitofarmacevtskih sredstvih (UPB 2, Uradni list RS 83/2012) (Kus Veenvliet in Veenvliet 2017). Uporaba kemičnih sredstev pa ni povsod dovoljena. V Sloveniji ni dovoljena v gozdovih, saj kemično zatiranje negativno vpliva na delovanje ekosistema, zmanjšuje število vrst in populacij organizmov ter potencialno škoduje zdravju ljudi. Drugod po svetu, predvsem v ZDA, pa je kemično zatiranje drevesnih vrst uveljavljeno in velja za najučinkovitejše (Swearingen 2009, cit. po Roženbergar 2017).

Poznanih je več metod uporabe in nanosa kemičnih snovi (Swearingen 2009).

Med kemijsko zatiranje uvrščamo foliarne nanose pri katerih se herbicidi nanašajo na listje drevesa (Badalamenti in La Mantia 2013). Pri drevesih se metoda priporoča tam, kjer je možno dostopati do vseh listov drevesa in kjer pri tem ni neposredne nevarnosti za učinkovanje herbicida na druge rastline. Za foliarne nanose se uporablja na primer herbicid na osnovi triklopira, ki ni aktiven v zemlji in ima ozek spekter delovanja (Roženberger 2017). Foliarna aplikacija je primerna za zatiranje gostih sestojev ITV, ki jih je mehansko težko zatirati. Tretiranje je najučinkovitejše v aktivni fazi rasti v času cvetenja ali tvorbe plodov, po mehničnem zatiranju, ko ITV na novo odženejo poganjke (Šešerko 2015). Glifosat se s foliarnimi nanosi hitro prenaša do korenin, kjer močno zavira rast korenin in drugih procesov (Duke in sod. 2012).

Naslednji način kemičnega zatiranja je tretiranje porezanih stebel. Ta metoda je uporabna tako za lesnate invazivne lesne vrste, kot za bolj odporne nelesnate invazivne tujerodne vrste. Za večino lesnatih rastlin je tretiranje stebel najbolj učinkovito v poznem poletju in jeseni, med avgustom in novembrom. Herbicid se nanese oziroma vbrizga neposredno na površino prereza stebela/debla, čim prej po rezanju (Šešerko 2015).

Metoda poseka in premaza panjev je preprosta metoda, kjer se drevo poseka in se herbicid nanese na panj v roku 15 minut od poseka, saj je v tem času na ostanku drevesa še najmanj obrambe za preprečitev širjenja herbicida na njem. Metoda se uporablja tam, kjer se drevo želi odstraniti že v prvem letu, brez dodatnega čakanja, da drevo samo odmre. Naslednje leto se opravi pregled in če se takrat ugotovi vegetativno odganjanje poganjkov na rastlini, se uporabijo še foliarni herbicidi. Pri metodi se uporabljajo predvsem herbicidi na osnovi triklopira in glifosata (Swearingen 2009).

Pri debelejših invazivnih rastlinah lahko uporabimo kemično metodo zaseka in nanosa. Pri tej metodi se s sekuro opravi rez, ki je obrnjen navzdol in pride do beljave. V rez se nanese herbicid, vendar je potrebno biti pri tem pozoren, da ta herbicid ne kaplja z mesta, kjer je bil nanešen. Zareze se naredijo na vsakih 2,5 cm premera tretiranega drevesa. Proizvajalci ravno za ta način tretiranja priporočajo glifosat (Swearingen 2009).

Pri posamičnih večjih drevesih predvsem v urbanem okolju, kjer rastlin ne moremo enostavno izkopati, se uporablja metoda injiciranja herbicida v drevesna tkiva. Metoda deluje enako kot metoda zaseka in nanosa, le da se s tem načinom v drevo vnese večjo količino herbicida, ki ga drevo nato raznese po svojih transportnih poteh tudi do korenin, ki propadejo v tolikšni meri da ne odganjajo več (Swearingen 2009).

2.2.3.1 Primeri načinov kemičnega zatiranja nekaterih bolj razširjenih invazivnih rastlin

Pelinolistna ambrozija (*Ambrosia artemisifolia* L.)

Ta rastlina kot plevel povzroča velike stroške v kmetijstvu, večjo gospodarsko škodo z občutnim zmanjšanjem pridelka predvsem v ekološkem kmetijstvu, kjer kemično zatiranje ni dovoljeno. Zatiranje te rastline je v Sloveniji obvezno od leta 2010 naprej (<http://www.uvhvvr.gov.si>, datum dostopa: 31.7.2018). Kemično zatiranje te vrste se v Sloveniji opravlja tako v poljščinah, trajnih nasadih, strniščih kot tudi na nekmetijskih zemljiščih za njeno zatiranje pa obstaja dovolj učinkovitih herbicidov (Škerbot 2010).

Za zatiranje ambrozije na strniščih in na drugih nekmetijskih zemljiščih se lahko učinkovito uporabljajo herbicidi na osnovi glifosata. Pripravki na osnovi glifosata lahko vsebujejo glifosat v različnih oblikah in koncentracijah, od česar zavisi količina uporabljenega pripravka (Požnenel 2017).

Zlata rozga (*Solidago canadensis* L.)

Uporaba herbicidov pri nas je dovoljena, če ne gre za uporabo v ekološkem kmetovanju in če ne gre za vodovarstvena območja. Pri škropljenju poprek prizadenemo tudi preostalo vegetacijo in v izpraznjenih mestih bo kasneje vrsta uspešnejša od drugih rastlin, zato je ta oblika tretiranja vprašljiva. Obstajajo navedbe, da se je zastopanost zlate rozge zmanjšala z mazanjem rastlin z 20% glifosatom v času malo pred cvetenjem rastlin (Eler 2018). V Sloveniji je za namene njenega tretiranja dovoljeno ponavljajoče škropljenje teh rastlin s herbicidi, vendar ne v bližini vode (Rozman 2016).

Japonski dresnik (*Fallopia japonica* Houtt.)

Japonski dresnik je samo s herbicidi z škropljenjem, premazovanjem in vbrizgavanjem herbicida v rastlino težko odstraniti, kljub začasnim učinkom herbicida se večje rastline postopno spet regenerirajo. Zato je potrebno večkratno ponavljanje škropljenja s kombiniranjem herbicidnih pripravkov več let zapored. Škropljenje je potrebno večkrat ponavljati in se izvaja 4 do 6 tednov. Priporočljivo ga je izvajati tri leta (Rozman 2016). Učinki herbicidov se kažejo kot največji nekoliko pred cvetenjem rastline (julija) (Eler 2018). Primerno za njegovo zatiranje je tudi injiciranje herbicidov (na primer glifosata) v steblo rastlin (Rozman 2016).

Veliki pajesen (*Ailanthus altissima* Mill.)

Za veliki pajesen obstaja več načinov zatiranja, en izmed učinkovitih načinov je kombinacija žaganja in premazovanja panjev z ustreznimi herbicidi. Ponekod za učinkovito navajajo tudi apliciranje herbicida v luknje, ki jih zvrtajo v deblo (Eler 2018). Za njegovo odstranjevanje kot najučinkovitejša metoda velja kar sekanje rastline, na štor pa je potem priporočljiv takojšen nanos (garlona ali glifosata) (Rozman 2016).

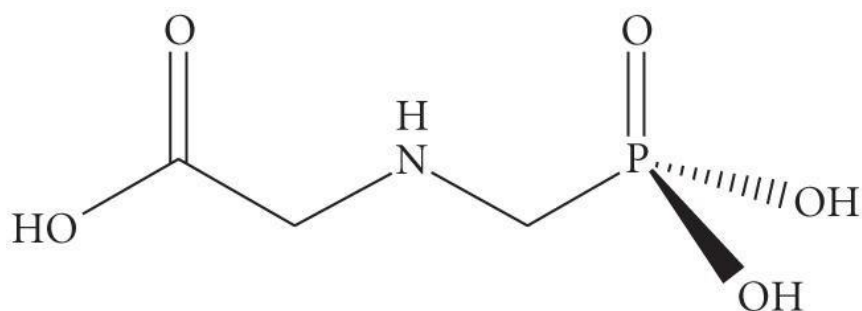
Raznozobi grint (*Senecio inaequidens* DC.)

Invazivna rastlina raznozobi grint, je kot mnogo grintov zelo strupen za človeka in živali, saj vsebuje za jetra nevarne pirolizidinske alkaloidne. Živali na paši se ga večinoma izogibajo, znani so med drugim tudi primeri zastrupitev in poginov zaradi njegovega uživanja. Toksini, ki se nahajajo v njegovem pelodu prehajajo ob paši čebel tudi v med (Eler 2018).

Na herbicide je zaradi ozkih listov zelo odporen. Nekoliko bolj občutljive na herbicide so mlade rastline kakšen mesec po kalitvi. Problem pri njegovem zatiranju predstavlja dejstvo, da med evropskimi parazitskimi žuželkami in glivami zaenkrat ni takšnih, ki bi mu izrazito škodovali (Eler 2018).

2.3 GLIFOSAT

Po kemični zgradbi je glifosat N-fosfinometil- glicin (Javornik 2014) ter predstavlja aktivno snov v številnih neselektivnih herbicidih (Hrastelj 2009). V obliki izopropilamino soli se pojavlja v herbicidih Boom efekt, Dominator ultra 360 SL, Roundup in Roundup ultra, v obliki amonijeve soli pa v herbicidu Touchdown system 4 ter v obliki kalijeve soli v herbicidu Touchdown energy (Hrastelj 2009). Na tržišču pa obstaja še mnogo drugih komercialnih pripravkov na osnovi glifosata v različnih oblikah. Po svetu se v naboru mnogih herbicidov trenutno proizvajajo največ herbicida s sistemskim delovanjem glifosata. Njegova uporaba po svetu se je z leti povečala, in sicer za 260-krat v zadnjih štiridesetih letih (s 3200 ton leta 1974 na 825 000 ton leta 2014) (Resolucija Evropskega parlamenta...2016). Kar 72% celotne količine glifosata, ki se je porabila v svetu od leta 1974 do leta 2014 pa je bilo nanešeno v zadnjih desetih letih. (Resolucija evropske komisije...2017).



Slika 2: Kemična struktura glifosata (Prasad in sod. 2009).

Herbicidi, izdelani na osnovi kemikalije glifosata so eni izmed najbolj uporabljenih kemikalij v kmetijski pridelavi. Glifosatni pripravki se uporabljajo tudi širše v gozdarstvu in v vrtnarske namene (Resolucija Evropske komisije...2016). Uporaba škropiv izdelanih na bazi glifosata se še naprej povečuje zaradi uvedbe gensko spremenjenih kmetijskih rastlin odpornih na glifosata. Z tem, ko se povečuje pridelava na herbicid odpornih rastlin se povečuje tudi uporaba pripravkov na osnovi glifosata. Primer enega izmed najbolj znanih pripravkov je Monsantoov pripravek Roundup, ki se množično uporablja v kmetijstvu (Howe in sod. 2004). Z odstranitvijo patentne zaščite, leta 2000, ki je veljala za glifosata so na trg vstopili številni novi pripravki herbicidov izdelanih na osnovi glifosata. Nekateri izmed novih pripravkov veljajo, za manj akutno toksične za netarčne organizme, kot prvotni pripravek Roundup original (Howe in sod.2004).

Nekatere izmed opravljenih študij kažejo na to, da imajo škropiva, osnovana na osnovi glifosata skupaj s površinsko aktivnimi snovmi ali surfaktanti, večji toksični vpliv na vodne organizme, kot je toksična sama glifosatna kislina (Folmar in sod.1979; Perkins in sod. 2000). Surfaktanti so snovi, ki so herbicidom dodane z namenom, da zmanjšajo površinsko napetost med dvema tekočinama ali med tekočino in trdnino (Rosen in Kunjappu 2012) ter pomagajo pri prehodu snovi v rastlino skozi kutikulo (Relyea 2011). V študijah je bilo dokazano, da toksičnost surfaktanta v pripravku z glifosatom variira glede na temperaturo, pH, vrste na katero vpliva, in stopnje razvoja živali, na katero vpliva (Folmar in sod. 1979; Mann in Bidwell. 1999). Eden izmed najpogosteje uporabljenih surfaktantov je polietoksilirani lojev amin ali drugače poimenovan POEA (Uren Webster in sod. 2014), ki je v Evropi prepovedan od leta 2016 (Komisija (EU) 2016/1313 o spremembi izvedbene uredbe (EU) št. 540/2011 glede pogojev za registracijo aktivne snovi glifosata). Vodni organizmi so na omenjen surfaktant bolj občutljivi kot kopenski organizmi (Van Bruggen in sod. 2018).

2.4. VPLIV GLIFOSATA NA ORGANIZME IN OKOLJE

Čeprav se glifosat namerno ne nanaša v tla, velike količine kemikalije dosežejo površino tal pri nanosu na rastline pri nanašanju herbicida, na zgodnje rastlinske faze rasti. Količina herbicida, ki pri tem postane dostopna mikroorganizmom v zemlji je odvisna od mnogih faktorjev. Odvisna je predvsem od vsebnosti hranil, temperature ter vlage v zemlji. Vloga teh parametrov sicer variira glede na izbrani tip herbicida (Weber in sod. 1993).

Vlaga tal in temperatura sta dejavnika, ki direktno vplivata na biološke procese v zemlji, med drugim na rastlinski metabolizem in mikrobnno degradacijo in s tem na bioaktivnost spojin in na obstojnost kemikalij v tleh (Weber in sod. 1993). Carlisle in Trevors (1988) omenjata, da lahko glifosat inhibira delovanje organizmov v prsti ali jih stimulira, kar je sicer odvisno od prsti in koncentracije herbicida, ki jo uporabimo. Ko je glifosat enkrat v okolju in če se absorbira v tla ga lahko razgradijo mikrobi in razpade v aminometilfosfonsko kislino (AMPA) (Borggaard in Gimsing, 2008).

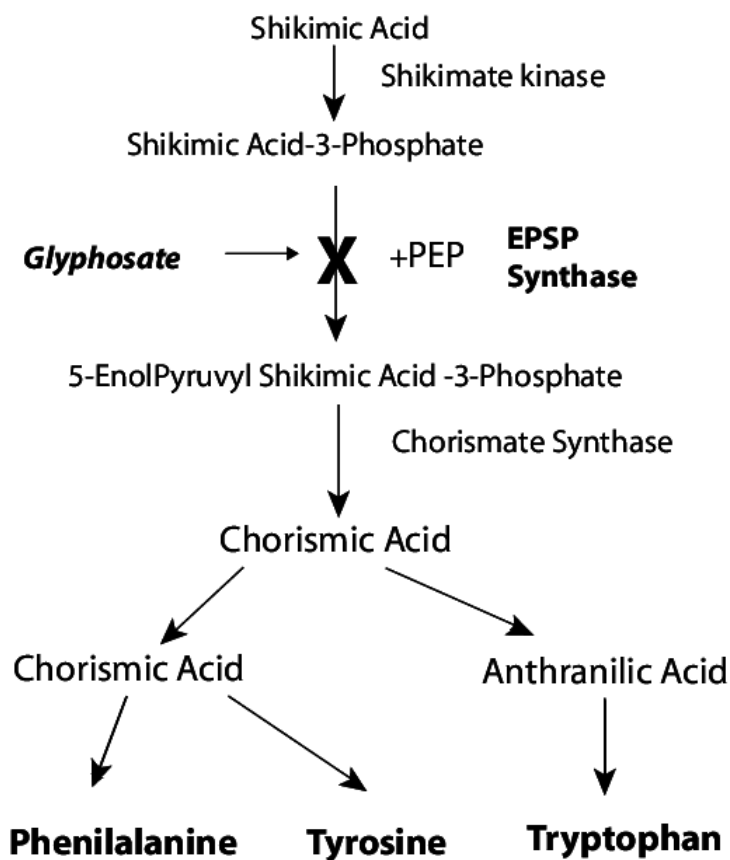
Znanstveniki so prav tako opazovali obstojnost kemikalije v okolju. Zaznana je bila večja obstojnost glifosata v hladnejših klimatih. V severnih klimatih, kjer so tla sezonsko čez zimo zamrznjena, je glifosat v tleh obstojen tudi čez zimo (Duke in sod. 2012). Večja obstojnost glifosata v tleh je na primer bila ugotovljena na Švedskem (Tortensson in sod. 2005) in Finskem (Muller in sod. 1981). V toplejših klimah, se glifosat na rastlinah ni obdržal dlje od rastne sezone, tudi po petnajstih letnih apliciranjih herbicida (Bromilow in sod. 1996).

2.4.1 Mehanizem delovanja glifosata na rastline, žlahtnenje rastlin z odpornostjo na glifosat in razvoj odpornosti na tarčnih rastlinah

2.4.1.1 Mehanizem delovanja glifosata na rastline

Glifosat povzroči propad številnih rastlin in bakterij, saj deluje tako, da moti sintezo aromatskih aminokislin tirozina, triptofana in feninina. Enkrat, ko ga absorbira rastlina se veže in blokira delovanje encima enolpiruvilšikimat-3-fosfat sintaze (EPSPS). EPSPS je encim na začetku šikimatne kislinske poti, ki spremeni karbohidratne prekurzorje, ki nastanejo pri glikolizi in pentoza fosfatni poti v aromatske aminokisliline in mnogo drugih pomembnih rastlinskih metabolitov. Encim se običajno nahaja znotraj kloroplastov, kjer katalizira reakcijo šikimat-3-fosfata (SP3) in fosfoenol piruvata, da tvori 5-enolpiruvilšikimat-3-fosfat (ESP). ESP je prekurzor aromatskih aminokislin kislin in hormonov, vitaminov, ter drugih esencialnih rastlinskih metabolitov. Strukturne podobnosti glifosata z fosfoenol piruvatom omogočajo glifosatu, da se veže na mesto vezave EPSPS, ter inhibira njegovo delovanje in prepreči njegov prenos do kloroplastov (www.glyphosate.eu, datum dostopa: 6.9.2018)

Oviranje delovanja šikimatne poti povzroči pomanjkanje aromatskih aminokislin v rastlini, kar sčasoma vodi v propad rastline (www.glyphosate.eu, datum dostopa: 6.9.2018)



Slika 3: Mehanizem in mesto delovanja glifosata na šikimatno pot v rastlinah (Schwember in sod. 2008)

2.4.2.2. Žlahtnenje rastlin z odpornostjo na glifosat in razvoj odpornosti na tarčnih rastlinah

Nekatere izmed invazivnih rastlin lahko razvijejo odpornost na herbicide. Primer take rastline je pelinolistna ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* Mill.), ki je ponekod že razvila odpornost na nekatere uporabljene herbicide. V Severni Ameriki so pri pelinolistni ambroziji zaznali njeno odpornost na desetkratni priporočeni odmerek glifosata, ki je pred tem zadoščal za njeno učinkovito zatiranje (Buttenschon in sod. 2008). Glifosat je sicer neselektivni herbicid, ki deluje na vse rastlinske vrste, vendar v naravi obstajajo variacije med vrstami glede na stopnjo njihove naravne odpornosti na herbicid (Duke in sod. 2012). Primeri drugih zaznanih rastlin, ki so že razvile odpornost so vrste *Eleusine indica* L., *Lolium rigidum* Gaud., *Amaranthus palmeri* S. Watson in *Euphorbia heterophylla* L. (www.sitem.herts.ac.uk, datum dostopa: 21.7.2018).

Po tem ko so postali znani mehanizmi delovanja herbicidov na metabolizem rastlin je to znanje pripomoglo k izolaciji ustreznih genov, ki kodirajo encime neobčutljive na herbicide in omogočajo toleranco na glifosat. Znanstveniki so izolirali tudi encime, ki razgradijo aktivno komponento herbicida- glufosinat. Z vnosom teh genov je bila dosežena popolna odpornost rastlin na herbicid (Javornik 2014).

Herbicidi preprečijo rast in razvoj rastlin ali povzročijo propad rastline tako, da delujejo na njene encimatske funkcije. Rastlina kot odgovor na delovanje herbicida nato proizvede spremenjen ciljni encim na katerega herbicid nima sposobnost učinkovanja. Rastlina lahko sama proizvede encim, ki ima sposobnost razgradnje herbicida ali pa lahko tvori fizične in fiziološke pregrade, ki onemogočijo sprejemanje nanešenega herbicida v njena tkiva in celice (Javornik 2014).

Za vzgojo rastlin tolerantnih na herbicide se lahko uporabi pristop z mutacijo ciljnega encima z obsevanjem ali uporabo somaklonske variabilnosti. Pri genskem spreminjanju se v rastline vnese mutirane gene za ciljni encim ali detoksifikacijske gene, ki razgradijo ali onesposobijo aktivno komponento herbicida (Javornik 2014).

S poznavanjem principov delovanja herbicida glifosata sta se razvili dve uspešni strategiji za vzgojo rastlin z odpornostjo na glifosat in sicer z vnosom gena *epsps*, ki je toleranten na glifosat, ter z vnosom gena za glifosat oksidoreduktazo (GOX), ki inaktivira herbicid. V komercialnih kultivarjih so v glavnem vključeni trije geni, ki omogočijo tolerantnost rastline na glifosat (Javornik 2014).

Prvi gen je gen, ki se imenuje *aroA(cp4)*. Ta kodira na glifosat toleranten encim EPSPS. Ta izvorno bakterijski encim EPSPS je visoko toleranten na glifosat. Gen *aroA(cp4)* kodira encim, ki izpolni vlogo v biosintezi aromatskih aminokislin kljub prisotnosti herbicida, medtem ko rastlinski endogen EPSPS, ostaja občutljiv na glifosat (Javornik 2014).

Naslednji gen, omogoča tolerantnost rastlin. Imenuje se *gox* gen in proizvaja encim glifosat oksidoreduktazo (GOX). Oksidoreduktaza razgradi glifosat. GOX encim deaktivira herbicidni učinek glifosata s pretvorbo glifosata v aminometilfosfonsko kislino (AMPA) in v glioksilat (Javornik 2014).

Naslednji gen ki ga poznamo in omogoča tolerantnost rastlin je gen *epsps*. Ta kodira na glifosat toleranten EPSPS encim. Ciljni EPSPS encim za glifosat se sintetizira v citoplazmi in se nato transportira v kloroplaste s pomočjo kloroplastnega prehodnega peptida CTP. Za učinkovito toleranco na glifosat se vključi sekvenca CTP v genski konstrukt, ki poleg prirejenega herbicidnega gena vključuje tudi ustrezne regulatorne sekvence za uravnavanje izražanja transgena (Javornik 2014).

Opisani na glifosat tolerantni geni so v številne rastline vneseni posamično ali skupaj z drugimi transgeni za namene uporabe herbicida ali kot selekcijski geni. V namene komercialne uporabe je najbolj znana soja z genom *aroAcp4*, Roundup Ready soja, v poljskih poskusih pa so znane številne rastline: repa, koruza, bombaž, topol, krompir, soja, tobak in druge. Najuspešnejša genska sprememba glede na obseg tržne pridelave je toleranca na glifosat v soji, saj Roundup-Ready soja predstavlja samo v ZDA okoli 80% celotnega pridelka soje (Javornik 2014).

V študijah toksičnosti in alergnosti encimov EPSPS in GOX za sesalce ni bilo ugotovljenih večjih prehranskih tveganj. Noben od encimov nima podobne aminokislinske sekvenčne sestave z alergeni ali toksini, oba pa se hitro inaktivirata s toploto. V *in vitro* gastričnih razmerah je bilo dokazano tudi, da se v blago kislinskih pogojih hitro razgradita in nista glikolizirana (Javornik 2014).

Akutni oralni toksikološki testi niso pokazali toksičnosti na živalih, ki so jih hranili z bakterijsko EPSPS ali GOX. Iz različnih poskusov in odločitev regulatornih agencij je razvidno, da prisotnost spremenjenega EPSPS encima in novega GOX encima v gensko spremenjenih organizmih ne vplivata na rast in razvoj rastline. Rastline tudi ne spremenita na način, da bi postala neprimerna za prehrano ljudi ali živali (Javornik 2014). Kljub varnosti gensko spremenjenih rastlin za uživanje si znanstveniki postavljajo vprašanja glede okoljskih tveganj, ki jih predstavljajo gensko spremenjene rastline tolerantne na herbicide ter glede varne uporabe GSR v okolju. Med najpomembnejšimi tveganji za okolje znanstveniki obravnavajo potencialno možnost povečanja kompetitivnosti GSR zaradi nove uvedene lastnosti. Nove lastnosti v rastlini, ki jih dodajajo GSR bi lahko pomagale rastlinam preživeti dlje časa v okolju, kot bi lahko v okolju preživele enake transgeno nespremenjene rastline (Javornik 2014).

S takšno prednostjo bi lahko GSR povečala zaplevljenost kmetijskih površin zaradi samosevcev pojave pa bi se lahko tudi nove prosto rastoče populacije v semi- naravnih habitatih. Razširjanje na herbicid tolerantnih transgenov iz GSR v spolno kompatibilne plevelne vrste bi lahko rezultiralo tudi v križancih, ki jih težko nadzorujemo v kmetijskih okoljih in semi-naravnih habitatih (Javornik 2014).

Prenos genov bi lahko potekel tudi med spolno kompatibilnimi transgeno spremenjenimi rastlinami, ki so tolerantne na različne herbicide. Pri tem bi lahko nastali križanci, v katerih bi bili združeni herbicidni transgeni zadolženi za odpornost na različne herbicide. To bi lahko vodilo do tolerance na več različnih vrst herbicidnih pripravkov. Ta pojav imenujemo tudi multipla toleranca Nadzor takšnih rastlin je zahtevnejši, kot nadzor rastlin tolerantnih samo na en herbicid (Javornik 2014).

Običajno v naravnem okolju kmetijske rastline in divje ter plevelne vrste med seboj izmenjujejo gene, pri tem pa lahko nastanejo križanci. Križanje plevelne divje vrste z GSR, ki ima v organizmu vključene gene za toleranco na herbicid, bi lahko rezultirali v nastanku plevela, odpornega na ta herbicid. Križanci z razvito multiplo toleranco bi lahko tvorili bazen transgenih rastlin iz katerega bi lahko prišlo do prenosa v divje sorodnike rastlin, zato je v primeru GSR tolerantnih na herbicid potrebno izvajati monitoring pretoka genov za nadzorovanje nezaželenih pojavov (Javornik 2014).

Kljub razvoju naravne odpornosti pri nekaterih rastlinah, velja glifosat za enega izmed najbolj uspešnih herbicidov. Z poskusi je bilo dokazano, da so herbicidi, ki so jih znanstveniki uporabili v seriji poskusov z glifosatom, mezotrionom, klopivalidom, MCPP in florasulam, močno zmanjšali biomaso invazivne ambrozije. Opazovano je bilo škropljenje v štirih listnih fazah razvoja. Glifosat je predstavljal edini herbicid, pri katerem je imel enak odmerek tudi enak učinek v vseh fazah razvoja rastline. Raziskava je vključevala tri faze razvoja od faze štirih listov pa do cvetenja. Preostali trije herbicidi so bili prav tako učinkoviti za zmanjšanje biomase ambrozije, vendar je bilo njihove odmerke za doseganje enakega učinka potrebno povečati, če so bile rastline tretirane v poznejših fazah (Buttenschon in sod. 2008).

V eni izmed raziskav so opazovali vpliv herbicida na višino rastlin iz rodu *Ambrosia*, vpliv na njihovo težo in težo njihovih semen. Glifosat je v tej raziskavi značilno zmanjšal velikost rastline za 55 % in težo rastline za 94 %, v primerjavi s kontrolo, ki ni bila tretirana z glifosatom. V primerjavi z drugima dvema herbicidoma, ki sta bila preizkušana v tej raziskavi, to sta Tribenuron metil in Imazamox, je glifosat zmanjšal rast rastline in njeno težo, mnogo bolj kot omenjena herbicida. Prav tako je glifosat v primerjavi z obema pripravkoma statistično značilno zmanjšal maso semen in stopnjo zmanjšanja teže teh semen glede na kontrolo, ki ni bila tretirana. Zmanjšanje teže v primerjavi z težo kontrolnih primerkov je bilo med 55 % in 59 % (Vrbničanin in sod. 2015).

2.4.2 Vpliv glifosata na živali

Pesticidi lahko živalim povzročijo različne negativne učinke, ki se lahko kažejo kot smrt in zmanjšana produkcija osebkov. Izpostavljenost toksičnim snovem povzroča tudi mnogo drugih učinkov, kot so skrajšana življenjska doba, mutacije na potomcih, zmanjšana teža organizmov, in spremembe v plodnosti, ter spremembe v času razvoja (Stark in sod. 2007). Rezultati nekaterih opravljenih študij v zadnjih desetih letih, so pokazali tudi, da ima glifosat škodljive učinke na ribe, dvoživke (Amphibia), polže (Gastropoda), deževnike (Annelida: Lumbricidae), krešiče (Coleoptera: Carabidae) in druge živalske vrste. Pri njih so se kazale spremembe, na njihovem razvojnem, morfološkem, fiziološkem področju ter na poteku biokemičnih reakcij v organizmu (Tate in sod. 2000; Smith 2001; Lajmanovich in sod. 2003; Cauble in Wagner 2005; Achiorno in sod. 2008).

V naslednjih poglavjih so opisani vplivi glifosata na nekatere izmed večjih skupin organizmov.

2.4.2.1 Nevretenčarji (Invertebrata)

Členonožci (Arthropoda)

Ker herbicidi vplivajo na vsebnost hranil v rastlinah in na njihove hormonske poti, ki sodelujejo pri obrambi pred plenilci, lahko vplivajo na to, da zmanjšajo zmožnost sprejema rastlin v herbivore (Bohnenblust in sod. 2013; Grossmann in sod. 2004). Po nanosu herbicida in po propadu rastlinskih združb lahko pride tudi do strukturnih sprememb habitatov v vegetaciji, ki jo naseljujejo členonožci in sprememb v vrstni sestavi rastlinskih združb. Vse to lahko spremeni običajno naseljenost členonožcev (Arthropoda) (Norris in Kogan 2005; Taylor in sod. 2006).

Al-Daikh in sodelavci (2016) so ugotovili, da se v zemlji po nanosu glifosata zmanjša aktivnost členonožcev. To zmanjšanje aktivnosti populacij v zemlji je rezultat manjše količine rastlinskih virov hrane po propadu rastlin z tretiranjem z glifosatom ter posledica spremembe habitatov. Vendar pa spremembe habitatov povzročajo tudi drugi herbicidi. Ker se po tretiranju zmanjša vrstna pestrost rastlin so predvidevali, da se bo lahko zmanjšalo tudi število insektov (Insecta). Ker se spremeni diverziteteta in količina rastlin na voljo oprasovalcem, so raziskovalci predvidevali, da se bo zmanjšala v splošnem gostota vseh oprasovalcev na tretiranem območju.

Na 750 m² je bilo v poskusu nanešene 0.63 kg aktivne snovi na hektar. Nato so vzorce zemlje prenesli v laboratorij, kjer so z posebno metodo pasti ugotavljali kako uporaba glifosata vpliva na aktivnost členonožcev v zemlji z različno stopnjo zmanjšanja njihove aktivnosti po nanosu herbicida. Število členonožcev v pasteh so pregledali po 24 urah. Pri insektih se je število ulovljenih živali zmanjšalo za 23.7% glede na stanje pred nanosom herbicida. Zmanjšanje skupno vseh členonožcev pa je predstavljalo 66,7% (Al-Daikh in sod.

Vendar je zmanjšanje aktivnosti zaznanih populacij, posledica manjše razpoložljivosti hrane in zmanjšane rastlinske površine in s tem sprememb habitatov, zaradi uporabe glifosata. Vendar pa spremembe habitatov povzročajo vsi herbicidi, ne samo glifosat. Z izračunom Shannon-Wienerjevega indeksa, ki je indeks za izražanje biotske raznovrstnosti v vzorcu ali združbi, so ugotovili tudi, da je indeks upadel iz 2.2 pred opravljenem tretiranju na 1.6 po tretiranju (Al-Daikh in sod. 2016).

Pri vrsti tenčičarici vrste *Chrysoperla Externa* (Neuroptera: Chrysopidae) so bili odkriti tumorji pri ženskih osebkih in v moških abdomnih. Pri tej študiji so opravili laboratorijski poskus pri katerem so v testu toksičnosti uporabili pripravek Glyfoglex 48, zato rezultatov ne moremo neposredno povezati z glifosatom, temveč tudi z snovmi, ki so dodane pripravku. Pripravili so raztopine z 192 mg aktivne snovi (glifosata) na liter destilirane vode. Jajčeca vrste *Sitotroga Cerealella* (Insecta: Lepidoptera) z katerimi so kasneje hranili eksperimentalno vrsto *C. Externa* so bila pomočena v pripravljeno raztopino za 60 sekund. K raztopini je bila dodana tudi snov, ki omogoča boljši oprijem herbicida na jajčeca. Jajčeca pomočena z glifosatom so nato ponudili kot hrano vrsti *C. Externa*. Osebke so hranili z približno 100 jajčeci dnevno. Nato so opazovali kako uživanje glifosata vpliva na njihovo plodnost v njihovi odrasli dobi. Po dolgoročni izpostavljenosti so se pokazale negativne posledice (Schneider in sod., 2009).

Rodnost in plodnost sta po izvedenem poskusu močno upadli. Osebki, ki so bili hranjeni z glifosatom so proizvedli nenormalna in manjša jajčeca. Prav tako so odrasli osebki razvili tumorje v abdominalni regiji, spremembe so bile večje pri ženskih osebkih, kot pri moških. Vendar znanstveniki priznavajo, da laboratorijskih poskusov ne morejo enačiti z poskusi opravljenimi v naravi. Raziskovalci so kljub temu predvidevali, da imajo populacije, ki so dlje časa izpostavljene glifosatu, večje negativne posledice na osebkih, kot po kratkotrajni izpostavljenosti. Po kratkotrajni izpostavljenosti na osebkih ni bilo vidnih negativnih učinkov. Prav tako se je po izpostavljenosti zmanjšala stopnja njihovega preživetja. Pri sekciji ženskih osebkov, je bilo ugotovljeno, da imajo ti nenormalne ovarije z debelejšimi granulami okrog foliklov. Opažena je bila tudi hiperplazija v območjih tumorjev osebkov obeh spolov (Schneider in sod. 2009).

Pri vinski mušici (*Drosophila melanogaster*) sta pripravka Roundup in Pondmaster povzročila povečano pojavnost recesivnih letalnih mutacij, ki so se večinoma pojavljale pri moških osebkih. Frekvenca pojavljanja teh letalnih mutacij je bila od tri do šestkrat večja pri vinskih mušicah, ki so bile izpostavljene tem pripravkom, kot pri mušicah, ki herbicidu niso bile izpostavljene. V poskusu sta bila uporabljena pripravka Roundup in Pondmaster. Kemikalije so bile pomešane z destilirano vodo v koncentracijah med 0,1 mg/L in 10,000 mg/L. Nato so v posode dodali larve. Samci, ki so bili, kot larve tretirani z pripravki, so bili parjeni z ženskimi osebki. Parili so jih tako dolgo da so dobili 6 legel iz vsakega samca. Tako Roundup kot Pondmaster sta povečala frekvenco pojavljanja letalnih napak v larvalnih spermatocitih pri osebkih (Kale in sod. 1995).

Pri enakonožcih (Crustacea:Isopoda) in mokricah (Isopoda:Oniscidea) so v laboratorijskih poskusih izpostavljenosti pripravku Roundup dokazali, da so imeli osebki manjšo telesno težo pri nekaterih je prišlo tudi do smrtnosti. Testi so bili izvedeni v laboratorijskih pogojih v steklenih posodicah. Test je trajal 7 dni cilj eksperimenta pa je bil preučiti učinke koncentracij na osebke, ki so za njih neletalne. Koncentracije uporabljenega pripravka Roundup so znašale 50 in 25 mg/L. V zelene koncentracije pripravka so pomočili filter papir za 8 do 10 minut, nato so ga sušili za 5 minut. V posodo z filter papirjem so nato dodali 10 osebkov. Hrano v testnih posodicah so dodajali vsakih 24 ur. Iz rezultatov je bilo razvidno, da so moški osebki bolj odporni, kot ženski. Pri osebkih so se pojavljala tudi nihanja telesne teže. Že izpostavljenost majhnim koncentracijam, je povzročila spremembe v hranjenju in metabolnih aktivnostih. Pri osebkih se je pojavljala tudi visoka smrtnost. Ti negativni učinki na enakonožce in mokrice imajo dolgoročno lahko vpliv na stanje prsti saj so ti organizmi pomembni pri nastanku humusa in prezračevanju tal (Mohamed in sod. 1992).

Balbuena in sodelavci (2015) so v svojih raziskavah izpostavili z hranjenjem medonosne čebele (*Apis mellifera*) koncentracijam glifosata, ki naj bi predstavljale vrednosti, neletalne za te organizme. Koncentracije, ki so bile uporabljene so bile 0 mg, 2,5 mg, 5 mg, 10 mg glifosata na liter saharozne raztopine. Vsaka čebela je pri tem zaužila približno 50 µl 2 mol/l saharozne raztopine z ali brez glifosata Tako, da so bile koncentracije uporabljene na čebelo 0 ng, 125 ng, 250 ng in 500 ng glifosata na čebelo. Ugotovili so, da so čebele, hranjene z raztopino, ki je vsebovala 10 mg glifosata na liter, potrebovale več časa da so priletele do svojega panja, kot čebele, ki so bile tretirane z manjšimi koncentracijami ali kontrolni osebki. Prav tako njihov način leta ni bil direkten, kot je običajno. Negativni učinki so bili vidni tudi pri koncentracijah mnogo manjših od 10 mg.

Na podlagi teh rezultatov so predvidevali, da bi lahko koncentracije, ki se običajno uporabljajo v kmetijstvu negativno vplivale na kognitivne sposobnosti čebel, ki jih te uporabljajo za to da v možganih obnovijo prostorsko informacijo o tem, kako se najučinkoviteje vračati nazaj v svoj panj. Zato domnevajo, da bi lahko takšni negativni učinki dolgoročno predstavljali zmanjšano učinkovitost celotne skupnosti v kateri živijo. Vendar so bili zaključki narejeni na majhnem številu čebel zato rezultatov ne moremo posplošiti (Balbuena in sod. 2015).

Pri domačih medonosnih čebelah, ki so bile hranjene z 2.5 mg glifosata v litru raztopine, ki predstavlja normalno količino herbicida za uporabo tako za zatiranje vodnih plevelov v nekaterih državah, kot za zatiranje kopenskih plevelov, so znanstveniki ugotovili, da ta vpliva na njihovo delovanje gustoreceptorjev in sposobnost učenja (Balbuena in sod.,2015). Herbert in sodelavci so leta 2014 ugotovili, da akutna izpostavljenost subletalnim koncentracijam glifosata poslabša kratkoročni spomin osebkov.

Rezultati, ki so jih Balbuena in sodelavci (2015) pri opazovanju medonosnih čebel opazili, so nakazovali na to, da se tudi po enkratni izpostavljenosti čebel koncentracijam glifosata (pri 3,7 mg/l) upočasnijo vračanje čebel iz mesta hranjenja do panja. Glifosat, ki so ga zaužile med hranjenjem je vplival na prostorske informacije, ki so jih do tedaj imele shranjene v spominu. Večja kot je bila zaužita koncentracija, bolj je bila negativno učinkovana njihova sposobnost navigiranja v prostoru.

Čebele so se kljub temu, da so se hranile z saharozno raztopino sladkorja z vsebnostmi glifosata vračale na raztopino za hranjenje. Prav tako so se čebele hranile z cvetnim prahom, ki je vseboval koncentracije glifosata. Kontaminiran cvetni prah ali nektar v rastlinah lahko tako čebele nosijo nazaj v panje, v katerih lahko pride do akumulacije večjih količin glifosata, ki bi nato lahko imele negativne učinke na celotno skupnost čebel (Balbuena in sod. 2015).

Rubio in sodelavci (2014) so zasledili sledi glifosata tako v organskem medu kot v primerkih ne-organskega medu. Glifosata pa niso našli samo v vzorcih medu, kjer so se čebele hranile z rastlinami na kmetijskih površinah, ampak tudi v primerkih medu, kjer so se čebele hranile na divji flori.

Deževniki (Annelida: Lumbricidae) in gliste (Nematoda)

Gaupp-Berghausen in sodelavci (2015) so pripravili zemljo v kateri so opazovali vpliv pripravka Roundup na dve vrsti deževnikov *Lumbricus terrestris* (Annelida: Lumbricidae) in *Aporrectodea caliginosa* (Annelida:Lumbricidae). Za poskus so bile v zemljo posajene tri vrste: *Dactylis glomerata* L. *Trifolium repens* L in *Taraxacum officinale*, ki so pogoste vrste na kmetijskih površinah. Tri tedne po zasaditvi rastlin so v to zemljo dodali deževnike. Osem tednov po zasaditvi rastlin, je bila vegetacija poškopljena z koncentracijo pripravka Roundup Alpee, ki je bila manjša kot je priporočena vrednost za uporabo. Zemlja je bila tretirana z 7,2 ml pripravka Roundup, ki vsebuje 7,2 g glifosata naliter pripravka. Tretiranje je potekalo dva dneva zapored, kar je skupno v dveh dneh zneslo 14,4 ml pripravka. Kasneje dva dneva po prvih dveh nanosih je bilo nanešenega še 10 ml pripravka Roundup Speed, ki vsebuje 7,2 g glifosata na liter pripravka.

Ugotovili so, da je aktivnost kopanja rogov in s tem mešanja zemlje pri vrsti *L. Terrestris* (Annelida: Lumbricidae) skoraj prenehala tri tedne po nanosu herbicida, medtem ko na aktivnost delovanja vrste *A. Caliginosa* nanos herbicida ni vplival. Reprodukcijska sposobnost tretiranih osebkov glede na kontrolo, ki z herbicidom ni bila tretirana je bila zmanjšana za 56%. En teden po nanosu herbicida se je pričela zmanjševati aktivnost vrste *L. Terrestris*. Ena izmed razlag za zmanjšano aktivnost delovanja vrste *L. Terrestris* je ta, da so se deževniki izogibali rastlinam kontaminiranim z pripravkom, ki so po odmrtnosti ostale na površini. V raziskavi so opazovali tudi stanje kokonov (Gaupp-Berghausen in sod.2015).

Stopnja razvoja mladih deževnikov iz kokonov se je prav tako zmanjšala. Razvoj deževnikov iz kokonov v mlade osebkove je upadel iz 43% pri kontrolnem poskusu netretiranem z pripravki, na 17% vseh izvaljenih osebkov v tretirani zemlji za vrsto *L. Terrestris*. Pri vrsti *A. Caliginosa* je upadla stopnja izvalitve iz 71% pri kontroli, na 32% v tretirani zemlji. Zaradi uporabe herbicida lahko pride do povečane koncentracije nitratov v zemlji. Koncentracija nitratov v zemlji se je v tej raziskavi povečala za 1592 %, koncentracija fosfatov pa za 127%. Tako velike količine hranil predstavljajo potencialno tveganje, da prebitki hranil uidejo v potoke, reke, ali podvodna zajetja. Ti prebitki hranil v zemlji so tudi posledica propada rastlinske plasti nad zemljo, ki pred tem absorbira večino hranil iz zemlje (Gaupp-Berghausen in sod.2015).

Zmanjšana rodnost je bila opažena tudi pri vrsti deževnika *Eisenia fetida* (Annelida: Lumbricidae), kjer so deževniki bili v mešanici zemlje, kjer je bilo 75% zemlje in 25% govejih iztrebkov. Pri nanosu so uporabili pesticid Glycel 41, 2-3 litra pripravka na hektar površine. 2-3 litra vsebuje približno 480 g glifosata na liter pripravka. Herbicid, ki je bil nanešen na zemljino površino je znašal 2 mg glifosata na kg zemlje, ter pri drugem poskusu 8 mg glifosata na kg zemlje. Deževniki so tem koncentracijam bili izpostavljeni 28 dni, v zemlji pa so se tudi razmnoževali. Po 28 dneh so odrasle osebkove odvzeli iz zemlje in jih stehali, medtem ko so kokone pustili v zemlji in še nekaj mesecev zapored pregledovali zemljo ter iskali mlade osebkove. Herbicid je močno zmanjšal težo osebkov pri tretiranju z glifosatom vendar ni vplival na njihovo smrtnost ter reprodukcijo (Yasmin in D'Souza 2007).

Negga in sodelavci (2012) so raziskovali nevrotoksične učinke glifosata na glistah, kjer so ugotovili, da izpostavljenost glifosatu povzroča propad nevronov pri glistah vrste *Caenorhabditis elegans* (Nematoda). Osebkovi so bili pripravku Touchdown izpostavljeni v zemlji sicer v laboratorijskih pogojih kronično za 24 ur ter akutno, pri tem so bili pripravku izpostavljeni 30 minut. Vsaki testni koncentraciji je bilo izpostavljenih 5000 glist. Najvišja koncentracija uporabljena v poskusu je bila znotraj priporočenih vrednosti za uporabo (do 10 % glifosata). Pri 2.7% ni bilo tako velikega zmanjšanja nevronov, kot pri 9.8% glifosata. Kronična izpostavljenost je povzročila degeneriranje nevronov, vendar do propada nevronov ni prišlo pri akutni izpostavljenosti.

Pri koncentracijah glifosatne kisline med 0,1 in 10 mg se je izkazalo, da te zavirajo rast deževnikov vrste *Aporrectoden caliginosa*. Poskus je bil opravljen v zemlji v vnaprej pripravljenih posodah. Zemlja je bila poškropljena z glifosatom. Koncentracije, ki so bile uporabljene pri škropljenju so bile 0.7, 1.4, 2.8 gramov aktivne snovi na hektar. Opazovali so rast osebkov, ki so pripravku v zemlji bili izpostavljeni 100 dni. Pripravke so dodajali vsakih 14 dni. Opazili so zmanjšanje telesne teže osebkov med približno 20 dnevi izpostavljenosti do 50 dni izpostavljenosti koncentracijam. Od 50 dni poskusa naprej do 100 dneva poskusa se je masa osebkov ponovno pričela večati (Springett in Gray 1992).

2.4.2.2 Vretenčarji (Vertebrata)

Dvoživke (Amphibia)

Herbicide Roundup je obstajal na trgu že dvajset let preden je bila okrog leta 1990 objavljena prva študija o vplivih tega pripravka na dvoživke (Relyea 2011). Dokazano je bilo, da imajo komercialni pripravki z dodanimi surfaktanti, predvsem surfaktantom POEA bolj toksičen vpliv na dvoživke kot sam glifosat. Surfaktanti tako pri rastlinah omogočijo lažji prehod snovi preko listov, pri ribah in larvah dvoživk pa natrgajo njihove škrge, kar vodi do zadušitve (Relyea 2011).

Za preučevanje učinkov glifosata so kasneje raziskovalci mnogokrat uporabili dvoživke. Dvoživke so primerne za preučevanje akutne in kronične toksičnosti različnih formul škropiv v vodnem okolju ter za preučevanje njihovih vplivov na endokrini sistem teh organizmov. Dvoživke so za vključitev v raziskave o vplivih glifosata še posebej primerne saj je na vodno okolje vezano njihovo razmnoževanje in njihov zgodnji razvoj, kar jih naredi dovzetne za toksične vplive kontaminantov iz vode. Njihova mrestišča najdemo v plitvih vodnih telesih blizu kmetijskih zemljišč, ki mnogokrat vsebujejo večje količine kemikalij. Največje koncentracije glifosata so bile zaznane ravno v takšnih manjših vodnih telesih (Howe in sod. 2004).

V študijah na dvoživkah so znanstveniki ugotovili, da so nekateri pripravki iz glifosata, kot sta na primer pripravka Touchdown in Roundup Bioactive manj akutno toksična za larvalne faze dvoživk, kot prvotni pripravek na bazi glifosata Roundup (Mann in Bidwell 1999).

Pri larvalnih stadijih nekaterih vrst žab iz rodu *Rana* (Amphibia:Anura) je prišlo ob stiku s kemikalijo čez nekaj časa do pogina. Pri tistih osebkih, ki so preživeli je bila zavrta njihova rast, saj pri njih ni prišlo do metamorfoze v razvoju. V raziskavah so preučevali akutno toksičnost komercialnega pripravka Kleeraway Grass and Weed Killer z aktivno spojino glifosatom v obliki izopropilamino soli. Pripravek je vseboval 0,75% glifosata. Akutno toksičnost so preverjali pri paglavcih vrste *Pseudacris triseriata* in *Rana blairi*. Preverjali so ali pripravek vpliva na rast in preživetje osebkov. V poskusu so bili paglavci nameščeni v plastičnih kontejnerjih ter nameščeni v laboratorijskih pogojih (Smith 2001).

Prvo preverjanje učinkov je potekalo en teden po izvalitvi paglavcev. Drugo preverjanje je potekalo približno mesec dni kasneje samo na vrsti *R. Blairi*. Paglavci so bili izpostavljeni kontroli, 0,1 koncentracije (1/10 pripravka Kleeraway, 9/10 raztopine pa je predstavljala deionizirana voda), 0,01 koncentracije, 0,001, in 0,0001 koncentracije. Vsake raztopine z določeno koncentracijo pripravka je bilo pripravljene 2000 mL za prvi eksperiment. Vsake raztopine za drugi eksperiment pa je bilo pripravljene 1000 mL. V 200 mL vsake mešanice z različnimi vsebnostmi koncentracij so bili položeni 4 paglavci. Vsak poskus tretiranja z vsako koncentracijo je bil ponovljen petkrat. Smrtnost je bila pri paglavcih v vseh dodanih koncentracijah herbicida popolna, razen v kontrolnem poskusu, kjer pripravek ni bil prisoten in pri koncentraciji 0,0001 zato so za kasnejše raziskave subletalnih učinkov na osebkih bili uporabljeni samo paglavci iz teh dveh skupin (Smith 2001).

Rezultati so pokazali, da bi uporaba pripravkov na vodni vegetaciji lahko imela negativne vplive na obe vrsti. Iz teh rezultatov so predvidevali, da bi lahko pripravki vplivali na njihovo populacijsko dinamiko, preko sprememb smrtnosti osebkov. Pri koncentraciji 0,0001 kjer so ostali osebki, ki so preživeli, ni bilo opaženega nobenega vpliva na rast paglavcev. Glede na te ugotovitve predvidevajo, da akutna izpostavljenost majhnim koncentracijam pripravka ne vpliva na njihovo uspešnost v okolju v prihodnosti (Smith 2001, Cauble in Wagner 2005).

Mnogi znanstveniki sicer zagovarjajo dejstvo, da je pripravek Roundup hitro razgradljiv v tleh. Ta podatek je resničen, saj je njegova razpolovna doba, kot tudi razpolovna doba surfaktanta POEA približno od 7 do 70 dni v vodi (Giesy in sod. 2000). Težavo predstavlja dejstvo, da večina paglavcev umre že prvi ali drugi dan po nanosu formule. Formula Roundup se sicer uporablja samo za zatiranje kopenskih rastlin vendar pa predstavlja veliko nevarnost za paglavce v primeru, da pride do izlitijskega v naravna vodna telesa (Relyea 2011).

Relyea (2005) je v poskusih v naravnem ribniku izpostavil tri skupine severnoameriških vrst paglavcev pogojem, ki so bili podobni naravnemu okolju v naravnih ribnikih. V različnih ribnikih so bili različni tipi prsti, ki imajo sposobnost vezave pesticidov. Cilj raziskave je bil ugotoviti, kakšni so učinki pesticidov v pogojih, ki so čim bolj podobni stanju v naravi, saj so želeli zajeti čimveč okoljih pogojev, ki jih laboratorijski poskusi ne zajamejo. Vsak ribnik, kjer so eksperimenti potekali je vseboval 1000 litrov vode. Dva dni po namestitvi paglavcev v ribnik je bil dodan pripravek Roundup (ta pripravek je vseboval surfaktant POEA). Na površino vode je bilo poškropljene 3,8 mg aktivne snovi na m². To je koncentracija, ki je večja od tistih, ki so jih po do takrat znanih raziskavah običajno našli v naravi. Najvišja v naravi zabeležena koncentracija do tedaj je bila 2,6 mg glifosata na liter vode. V teh poskusih kljub temu, da so se potrudili posnemati naravne pogoje iz okolja, manjkajo predatorji te vrste in z tem stres predatorstva, ki bi lahko osebkom povzročal večjo smrtnost od običajne. Prav tako pri vrstah ni bilo prisotnega stresa, ki nastaja zaradi kompeticije, saj so to vrste, ki v naravi lahko sočasno bivajo v istem prostoru brez kompeticije med osebki. Po treh tednih je bila opažena smrtnost od 96 do 100% vseh izpostavljenih paglavcev, ne glede na tip in vrsto prisotne zemlje.

V drugem poskusu je direktnemu pršenju z pripravkom Roundup izpostavil še tri vrste juvenilnih brezrepnih dvoživk, ki pa so že bile v po-metamorfoznem stanju. Poskus je bil izvajan v laboratorijskih pogojih, namen direktnega pršenja pa je bil ugotoviti, kakšni so vplivi pripravka na osebke če med tretiranjem rastlin pride ta v direkten stik z žabami. Žabe je poškropil z 6,5 mL pripravka Roundup. Direktno pršenje je povzročilo 79% smrtnost vseh juvenilnih osebkov in paglavcev v enem dnevu (Relyea 2005).

Ti rezultati so kazali na škodljivost formule Roundup za živali. Živali dolgo niso veljale za organizme, ki bi jim formula lahko povzročala škodo saj pripravek Roundup tarčno deluje na šikimatno pot, ki jo najdemo samo pri rastlinah, glivah in nekaterih mikroorganizmih. Z rezultati so znanstveniki dokazali, da ima ta pripravek velik vpliv tudi na smrtnost dvoživk, ki bi lahko privedla do zmanjšanja celotnih populacij dvoživk. Vprašanje, ki so si ga postavili tudi ti raziskovalci je bilo ali je visoko smrtnost povzročil glifosat ali surfaktant POEA, ker tega v tej študiji niso dokazovali so na koncu študije samo predvidevali, da ima najverjetneje večji uničevalni vpliv surfaktant POEA (Relyea 2005).

Chen in sodelavci (2004) so v laboratorijskih poskusih ugotovili, da višji pH v stiku z herbicidom Vision povzroča večjo smrtnost, kot nižji pH pri vrsti *Rana pipiens* in *Simocephalus vetulus*. Testirani sta bili pri koncentracijah 0,75 in 1,50 mg glifosatne kisline na liter pripravka. Ta pripravek vsebuje surfaktant POEA. Paglavci so bili nameščeni v 250 ml vode z dodanim herbicidom. Toksičnost pripravka je bila večja pri 7,5 pH, kot pri testiranem 5.5 pH-ju. Tudi pri najnižjem nanosu herbicida pri koncentraciji 0,75 mg/L je bila pri visokem pH-ju in pri pomanjkanju hrane opažena 100% smrtnost osebkov. Ti rezultati podpirajo splošno znano tezo, da več stresnih faktorjev v interakciji med seboj, povečuje negativen učinek, ki ga tako, kot drugi prisotni stresorji povzročijo v vodnem okolju.

Kasneje so Wojtaszek in sodelavci (2004) opravili poskuse v naravnem okolju v Ontario (Kanada), zato, da bi bile okoliščine poskusa čimbolj podobne tistim v naravnem okolju. Testirani so bili larvalni stadiji žab pri vrstah *Rana clamitans* in *Rana pipiens*. Uporabljen je bil pripravek Vision. Na površino vode je bil nanešen pripravek Vision, z koncentracijami, ki so vsebovale od 0,29 do 14,3 mg glifosata na liter pripravka. Primerjali so kontrolno območje, ki ni bilo tretirano z herbicidom, z območjem, ki je bilo tretirano z 1.43 mg aktivne snovi (glifosata) na liter pripravka. *Rana clamitans* se je izkazala za bolj občutljivo izmed obeh vrst. Pri nanešenih koncentracijah nad 1.43 mg aktivne snovi na liter pripravka je prišlo do popolne smrtnosti osebkov. Herbicid, ima še bolj toksične učinke na organizme v primeru stresa, ki mu ga istočasno povzroča predatorstvo (Relyea in sod. 2005).

Ribe

Langiano in Martinez (2008) sta na neotropski ribi *Prochilodus lineatus* (Actinopterygii: Prochilodontidae) ugotovili, da je ta vrsta ribe bolj občutljiva na vplive glifosata, kot nekatere druge vrste na primer *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygii: Salmonidae) in atlantski losos (*Salmo salar*) (Actinopterygii: Salmonidae). Pri svojih poskusih sta uporabili pripravek Roundup. Vrsto sta izpostavili kratkotrajnim laboratorijskim testom. Osebki so bili koncentracijam pripravka 7,5 in 10 mg/L izpostavljeni 6, 24 in 96 ur po katerih sta ocenili vplive teh koncentracij, ki niso letalne za vrsto. Pripravek Roundup vsebuje 360 g glifosata na liter pripravka. Ribe so bile nameščene v 100 litrskih akvarijih v vsakem pa je bilo 8 rib. 8 rib je bilo izpostavljeno vsaki koncentraciji. Testirali so še koncentracije 15, 20 in 30 mg/l pripravka in kontrolo. Roundup pri tem poskusu ni vplival na osmotsko ravnotežje v ribah. Koncentracija pripravka pri kateri je poginila polovica testirane populacije je po 6 urni izpostavljenosti znašala 20.84 mg/l, po 24 urni izpostavljenosti pripravku je znašala 17,32 mg/l, po 96 urni izpostavljenosti pa 13.69 mg/l. Prav tako sta povzeli, da so koncentracije, ki niso škodljive pri vrstah v zmernih klimatih lahko letalne za neotropske vrste. Pri vrsti ribe, ki sta jo preučili sta opazili histološke poškodbe v jetrih, ki bi lahko škodovala njihovem normalnem delovanju (Langiano in Martinez, 2008). Jetra rib so mnogokrat poškodovana zaradi polutantov saj sodelujejo pri spremembi in izločanju ksenobiotikov (Thophon in sod. 2003).

Kratkotrajne izpostavljenosti rib različnim koncentracijam Roundup pripravkov, so pokazale na spremenjene vrednosti količin celičnih antioksidantov, zvišal se je oksidativni stres v DNA, proteinih in lipidih (Uren Webster in sod., 2014). Oksidativni stres je vrsta stresa, ki se v organizmih pojavi zaradi povečanih količin škodljivih reaktivnih kisikovih zvrsti. Pojavi se, v primeru prevelikih pretvorb radikalov ali slabšega učinkovanja antioksidativnih sistemov (Osredkar 2012). Ribe so bile izpostavljene 21 dnevnem laboratorijskem testu pri 0,01, 0,5, in 10 mg glifosatne kisline na liter pripravka Roundup ter 10 mg glifosata na liter pripravljene raztopine v testu, kjer je bil prisoten čisti glifosat. 10 mg glifosata na liter raztopine je zmanjšalo produkcijo jajčec pri ženskih osebkih vendar se ni zmanjšala stopnja oploditve pri osebkih, zato so predvidevali, da kemikalije niso vplivale na spermatogenezo pri moških osebkih. Tako pripravek Roundup kot glifosat sta pri 10 mg/l pripravka povečala smrtnost v zgodnjih fazah embrijev. Vendar koncentracija 10 mg/l ni verjetna, da bi se pojavila v naravnih vodnih okoljih (Uren Webster in sod. 2014).

Pri ribah v tekočih vodah so ugotovili manjšo bioakumulacijo koncentracij glifosata kot pri ribah v stoječi vodi (WHO 2005). Pripravek Roundup velja za trideset krat bolj toksičnega za ribe, kot je toksičen sam glifosat (Servizi in sod. 1987). Vrednost ocene akutne toksičnosti glifosata za ribe močno variira. Zabeležena koncentracija različnih pripravkov z glifosatom, ki ubijejo 50 procentov populacije testnih živali (LC50), pri ribah znaša med 10 mg/l do 1000 mg/l, odvisno od vrste ribe in od testnih pogojev, ki so jim osebki bili izpostavljeni (Cox 1995). Kako bo glifosat vplival na ribe je odvisno tudi od starosti osebkov. Juvenilni osebki namreč kažejo večjo občutljivost na spojine glifosata, kot

odrasli osebki. Roundup pripravek je na primer 4-krat bolj toksičen za juvenilne osebke in manjše ribice vrste *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygi: Salmonidae), kot za odrasle osebke te vrste (Folmar in sod. 1979).

Pri ribah je tokstičnost odvisna tudi od tipa vode v kateri živijo. Glifosat se je pri vrsti ribe *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygi: Salmonidae) izkazal za dvajsetkrat bolj toksičnega v mehkih vodah kot je bil toksičen na to vrsto v trdih vodah (Cox 1995). Pri ribah je za večjo toksično moč glifosata pomembna tudi prehranjenost rib. Lačne ribe so bolj dovzetne za negativne učinke, ki jih povzroča glifosat. Dovolj hranjeni osebki rib vrste *Jordanella floridae* (Actinopterygii: Cyprinodontidae) so kazali 10-krat večjo odpornost na učinkovanje glifosata, kot so bile odporne nehranjene ribe. V poskusu so ribe bile izpostavljene koncentracijam čistega glifosata in sicer 0, 0.1, 1.0, 10 in 30 mg glifosata na liter pripravljene vodne raztopine. Glifosat se je izkazal za skoraj netoksičnega pri koncentracijah manjših od 30 mg/l. Ribe so bile hranjene v 23 litrskih akvarijih (Holdway in Dixon 1988).

Toksičnost glifosata na ribe pa se povečuje tudi z višjo temperaturo vode, ki so ji osebki izpostavljeni. Pri vrstah *Oncorhynchus mykiss* (Actinopterygi: Salmonidae) in *Lepomis macrochirus* (Actinopterygii: Centrarchidae) se je toksičen vpliv podvojil pri temperaturah med 7 in 17°C (Folmar in sod. 1979). Tretiranje rastlin na obrečnih predelih z glifosatom lahko indirektno vpliva na povišanje temperature vode. Zaradi odstranjenega obrečne vegetacije, ki drugače omogoči delno zasenčenje nad vodo pa lahko ponavljajoče tretiranje rastlin z herbicidom ob rekah, vodi do dolgoročnih negativnih posledic zaradi večjih toksičnih vplivov glifosata v vodi. Povečane temperature lahko sicer že same po sebi negativno vplivajo na nekatere vrste rib, na primer na juvenilne osebke lososa (Actinopterygii: Salmonidae) (Cox 1995).

Čeprav kot najpomembnejše znanstveniki navajajo vrednost pri kateri pogine 50% populacije so študije na vrsti šarenki *Oncorhynchus mykiss* in vrstah iz rodu *Tilapia* (Actinopterygii: Cichlidae) pokazale, da že polovica ali tretjina koncentracije LC50, ki je koncentracija pri kateri pogine polovica testne populacije, povzročajo motnje pri njihovem normalnem plavanju. Spremembe v njihovem obnašanju lahko povečajo tveganje, da ribo ujamejo plenilci, prav tako lahko vplivajo na njihovo učinkovitost pri hranjenju, migracijah in reprodukciji osebkov. Ribe so bile pripravkom izpostavljene 4 dni. Uporabili so različne koncentracije herbicida Vision z 10% surfaktanta in herbicid Vision z 15% surfaktanta. Herbicid Vision vsebuje 480 g izopropilamino soli na liter pripravka. Koncentracije pri katerih so se pričele dogajati večje spremembe pri ribah so bile 37,5 mg/L pripravka Vision 10% in 13.5 mg/L Vision 15%. Poskus je bil izveden v laboratorijskih pogojih v akvarijih, kjer je vsaki koncentraciji bilo izpostavljenih 10 rib. Testi so bili izvedeni v posodah z 20 litrov pripravljenega medija. Ugotovili so, da se toksičnost pripravkov zmanjšuje z zmanjševanjem koncentracije surfaktanta v pripravku.

Osebk pri koncentracijah 1.35, 2.7, 6.75 mg/L pripravka Vision z 15% surfaktanta, niso kazali nobenih znakov nenormalnega obnašanja v 4 dneh izpostavljenosti. Spremembe v obnašanju rib so bile opažene med izpostavljenostjo 13.5 in 21.6 mg/L pripravka. Po 24 urni izpostavljenosti je prišlo do krožnega nepredvidljivega plavanja 25% vseh osebkov pri teh dveh koncentracijah. Po 48 urah je na dnu posod obležalo 50% rib, z dihanjem, ki je bilo hitrejše od normalnega, in po 72 ter 96 urah izpostavljenosti je dihanje pri teh ribah postalo močno oteženo. Koncentracije pri katerih so se pričele pojavljati te večje spremembe pri ribah so bile 37.5 mg/L pripravka Vision 10 (Morgan in sod. 1991).

Koncentracije herbicidov v naravi so bile merjene v vodnih tokih, kjer je bilo prisotno direktno pršenje po zraku. Maksimalne koncentracije, ki so jih v naravi zaznali v tekočih vodah po direktnem pršenju so 0.27 mg/L glifosata in 0.02 mg/L glifosata. Pri takšnih koncentracijah so raziskovalci ugotovili, da te ne vplivajo na izogibanje juvenilnih osebkov pred plenilci. V raztopinah z tako koncentracijo so predvidevali, da juvenilni osebk nebi zapustili habitatov v hitro tekočih vodah, kontaminiranih z takimi koncentracijami (Morgan in sod. 1991).

Szarek in sodelavci so leta 2000 izvedli raziskovalne študije na krapih (*Cyprinus Carpio*). Osebk so bili izpostavljeni pripravku Roundup z vsebnostjo 205 mg glifosata na liter ali 410 mg glifosata na liter pripravka. Uporabili so 72 osebkov te vrste. Ribe so bile razdeljene v tri testne skupine. Kontrolno skupino, kjer osebk niso bili tretirani, skupino, kjer so bile ribe izpostavljene eno uro 0.05% vodne raztopine, ki je vsebovala 205 mg glifosata na liter, in tretja skupina, kjer so bile ribe izpostavljene pol ure 0,1% raztopini, kjer je bilo 410 mg glifosata na liter. Poskusi so potekali v laboratorijskih pogojih. Ker so koncentracije, ki so bile uporabljene v tem poskusu velike so bile letalne za vse osebk tako po pol urni, kot eno urni izpostavljenosti. Pri preučevanju hepatocit po izpostavljenosti so bile te močno poškodovane. Pri obeh navedenih koncentracijah je pripravek povzročil poškodbe mitohondrijev in prav tako poškodbe celičnih membran v mitohondrijih (Szarek in sod. 2000).

Cavalcante in sodelavci (2008) so ovrednotili genotoksične učinke po akutni izpostavljenosti glifosatu osebkov vrste *Prochilodus lineatus* po 6, 24 in 96 urni izpostavljenosti 10 mg/l pripravka Roundup (360 g glifosata na liter raztopine). Eksperiment je bil zveden v 100 litrski posodi z 6 ribami in dodano vodo. Poskus je potekal v laboratorijskih pogojih. Raziskave so pokazale, da je bila povzročena velika škoda v DNA že po 6 urni izpostavljenosti. Po 24 urni izpostavljenosti so se poškodbe DNA spet zmanjšale, kar so pripisali verjetnemu delovanju popravljalnih sistemov v DNA. Vendar so v DNA škržnih celic, poškodbe, ki jih je povzročil pripravek Roundup ostale enako velike čez celoten poskus. Možna razlaga, ki so jo podali kot vzrok temu, je da imajo celice škrž počasnejše popravljalne mehanizme v DNA in zato so lahko poškodovane škržne celice dlje časa ostale prisotne v škržnem tkivu. Ugotovitve študije so torej pokazale, da Roundup povzroča genotoksične poškodbe v eritrocitih in v škržnih celicah.

Ptice (Aves)

Glifosat je akutno toksičen za ptice, vendar samo v velikih količinah. LC50 za ptice mnogokrat znaša nad 4000 mg glifosata na kg zaužite hrane (WHO 1994). Z takimi koncentracijami pa ptice v naravi običajno ne pridejo v stik.

Glifosat lahko povzroča indirektne vplive na ptice. Ker uniči rastline, ustvari velike spremembe v strukturi rastlinskih združb. Spremenjene rastlinske združbe vplivajo na ptice, saj jim rastline zagotavljajo hrano, zavetje in primeren prostor za ustvarjanje gnezd (Cox 1995). Vendar na spreminjanje združb ne vpliva samo glifosat, vendar vsak herbicid po nanosu na rastlinske združbe.

V splošnem lahko fitofarmacevtska sredstva po večletni uporabi porušijo naravno verigo organizmov, ki se hranijo z drugimi in so tudi sami hrana naslednjim organizmom. Ptice so v prehranskih verigah precej visoko zaradi tega spadajo med bolj obremenjene organizme posameznega ekosistema. Kot organizmi so občutljive na delovanje FFS, saj v njihovem telesu prihaja do bioakumulacije teh snovi, po drugi strani pa so ranljive tudi zaradi sesutja prehranskih verig in propada habitatov, kjer gnezdijo (Urek in sod. 2012).

Pri tretiranju 4-5 let starega popolnoma posekanega območja v kraju Maine USA, je bilo poškropljeno območje z helikopterjem z pripravkom Roundup, kjer so uporabili 4.7 litrov aktivne snovi zmešane z 42.1 litrov vode na hektar. Tretiranje območja je vplivalo na parjenje populacij ptic še do treh let po tretiranju. Skupna gostota ptic se je po tretiranju zmanjšala za 36%, zaradi zmanjšanja habitatne raznovrstnosti. Najbolj občutljive vrste na tretiranje so bile vrste *Geothlypis trichas*, *Melospiza lincolni* in *Empidonax alnorum* zato se je njihovo število najbolj zmanjšalo (Santillo in sod., 1989)

V manj kot 7 let starem posekanem gozdu v Oregonu v Kanadi, posajenim z *Pseudotsuga menziesii* je na nekatere pareče se populacije ptic vplival predvsem zaradi gosto izvedenega škropljenja z pripravkom Roundup z stopnjo nanosa 0,8 kg aktivne snovi na hektar. Dve leti po nanosu herbicida, so si gostote ptic, ki jim je grmovje predstavljalo življenski prostor za gnezdenje in prehrano, opomogle, sočasno z tem, ko so si opomogle tudi populacije grmičevja (Morrison in Meslow 1984).

Človek in drugi sesalci (Chordata: Mammalia)

V resoluciji komisije Evropske unije o podalšanju odobritve aktivne snovi glifosata (2016) so opisana dejstva o prisotnosti glifosata in njegovih ostankov v vodi, prsti, hrani in pijači, neživilskih izdelkih ter v človeškem telesu (npr. v urinu in materinem mleku). Glifosat se ponekod nahaja tudi v pitni vodi vendar v zelo majhnih koncentracijah, ki pri dnevnem vnosu niso škodljive za ljudi (WHO 2005). V zadnjih dvajsetih letih je bilo odkrito tudi dejstvo, da glifosat najverjetneje učinkuje na več metabolnih poti vretenčarjev, vključno s hepatorenalno okvaro in na ravnovesje hranil zaradi kelatnega delovanja glifosata (Resolucija Evropskega

parlamenta...2016). Hepatorenalne okvare so ugotovili pri miših, ki so jih hranili z koruzo, ki je bila posajena na poljih, ki so bila tretirana z pripravkom Roundup in sicer z tremi litri pripravka na hektar. Pripravek je vseboval 540 g glifosata na liter uporabljenega pripravka. Koruza je bila gensko spremenjena. Herbicid je bil raztopljen tudi v njihovi pitni vodi. Poskusi so bili laboratorijski, za poskus pa so izbrali 100 ženskih in 100 moških osebkov. Pitna voda, ki so jo živali imele na voljo je vsebovala različne koncentracije gifosata 50 ng/l glifosata, 400 mg/l glifosata in 2.25 g/l glifosata. Poskus je trajal dve leti. Pri ženskih osebkih se je pojavilo večje število tumorjev v mlečnih žlezah (Seralini in sod. 2014).

Mednarodna agencija za raziskave raka (IARC) je marca leta 2015 glifosat uvrstila med snovi, ki so verjetno rakotvorne za ljudi in sicer na podlagi določenih dokazov raka pri ljudeh po njihovi dejanski izpostavljenosti glifosatu ter na podlagi zadostnih dokazov raka iz študij pri laboratorijskih živalih pri katerih so opazili pojave genotoksičnosti in oksidativnega stresa. Poleg resnih pomislekov o rakotvornosti glifosata obstajajo tudi domnevanja o motnjah endokrinega sistema, ki jih glifosat povzroča v človeških celičnih linijah (IARC 2015). IARC je svoje ugotovitve povzel na podlagi študij različnih avtorjev. Med drugim po študiji Flowerja in sodelavcev (2004), ki so poročali o primerih otroških primerov raka, ki so bili povezani z nanašanjem pesticida staršev teh otrok. Analize so bile opravljene na skupini 17357 otrok nanašalcev pesticida v Iowi.

Prav tako so v raziskavah osebkov, ki so v Ekvadorju živeli na območjih, kjer je potekalo škropljenje z pripravki na osnovi glifosata našli pojavnost večih poškodb DNA (lomljenje DNA vijačnice). Krvne celice, so bile preučene po dveh tednih in dveh letih po nanosu. Vendar so dve leti po zadnjem zračnem pršenju z pripravkom glifosata njihovi kariotipi bili spet normalni. (Paz-y-Mino in sod. 2007).

Prav tako je odbor Evropske agencije za kemikalije sklenil, da na podlagi razpoložljivih podatkov, glifosata nebi smeli uvrščati med snovi, ki povzročajo gensko škodo ali motnje pri reprodukciji (Resolucija Evropske komisije...2017).

V isti resoluciji Evropska komisija navaja tudi, da se pojavljajo dvomi o verodostojnosti študij, ki so bile vključene med dokazi Evropske agencije za varnost hrane in Evropske agencije za kemikalije. Med dokazi, ki jih je Evropska komisija proučila so bile namreč študije podjetja Monsanto, ki je eden izmed glavnih proizvajalcev herbicidov na bazi glifosata (Resolucija evropskega parlamenta...2017).

V nekaterih člankih znanstveniki dojemajo glifosat kot toksikološko in okoljsko varen pesticid. Imel naj bi majhen toksičen učinek na sesalce, kratko razpolovno dobo v okolju, in ekstremno majhno aktivno delovanje v zemlji glede na njegovo vezavo na minerale (Duke in sod. 2003). Zaradi hitre razgradnje v okolju po mnenju nacionalnega inštituta za javno zdravje ne ogroža podtalnice, vendar pa velja za strupenega za vodne organizme (NIJZ, datum dostopa: 21.7.2018). Mesto učinkovanja, ki ga glifosat inhibira, to je encim 5-enolpiruvil-šikimat-3-fosfat-sintaza, imajo samo zelene rastline, nekatere glive in omejeno število mikroorganizmov. Ta encim je potreben za sintezo esencialnih aromatskih aminokislin kot so na primer tirozin in triptofan (Duke in sod. 2012).

Ker se glifosat uporablja tudi pred spravilom kmetijskih pridelkov za desikacijo, pri čemer se pospeši zorenje in olajša spravilo pridelka, to povzroča večje vsebnosti ostankov herbicida v končnem pridelku. Desikacija je sušenje pridelka. Temu so preko hrane kasneje izpostavljeni tudi ljudje. Zaradi teh metod se pojavlja večja kontaminiranost slame pri tretiranih rastlinah, kar pomeni, da ta kasneje ni primerna za krmo živali. (Resolucija evropskega parlamenta...2016). Vendar je od 74305 testiranih vzorcev sadja, zelenjave in žitaric, ki jih je EFSA testirala iz 27 različnih evropskih držav glifosat bil zaznan v samo 0,04% vseh (EFSA, 2009). Med 6761 analiziranih vzorcev hrane pa je letos 19 vzorcev torej 0.28% vseh preseгло dovoljene vrednosti v vzorcih hrane (EFSA 2017).

Epidemološke študije, ki jih je do sedaj bilo opravljenih že mnogo opisujejo, da obstaja povezanost med psihološkimi boleznimi in senzomotoričnimi primanjkljaji oseb po izpostavljenosti pripravku Roundup. Rezultati kažejo da je nevrotoksičen in lahko vpliva na razvoj možganov ter posledično na obnašanje osebkov v odrasli dobi pri miših. V študiji v kateri so znanstveniki to raziskovali je bilo vključenih 18 osebkov. 6 osebkov je bilo hranjenih z 250 mg , 6 osebkov pa z 500 mg glifosata na kilogram teže dnevno. Študije so bile akutne in kronične, akutne študije so trajale 6 tednov in kronične študije 12 tednov. Miši so bile dnevno izpostavljene takim koncentracijam od juvenilnih faz osebkov, do odrasle dobe živali. Pri njih se je pojavljala anksioznost in depresija. Pri akutni izpostavljenosti po 6 tednih, ni prišlo do zmanjšanja teže osebkov medtem, ko pri kronični izpostavljenosti je, prav tako se je zmanjšala lokomotorna aktivnost osebkov. Rezultati raziskav so pokazali tudi, da v nasprotju z akutno izpostavljenostjo, kronična izpostavljenost miši sproži zmanjšanje telesne teže organizma in zmanjša njihove gibalne aktivnosti. Iz podatkov študije so znanstveniki zaključili da izpostavljenost glifosatu od mladostne razvojne faze miši do njihove odrasle dobe vodi v nevrološke spremembe in spremembe obnašanja, saj prihaja do prizadetosti nevroloških razvojnih procesov. V študijah na podganah so Ait-Bali in sodelavci (2017) ugotovili tudi, da glifosat izzove oksidativni stres v specifičnih predelih podganjih možgan, na primer v cerebralnem korteksu in hipokampusu (Ait-Bali in sod. 2017).

Pri osebah, ki se zaužili pripravke Roundup, so glifosat zasledili v možganih ter v cerebrospinalni tekočini, kar je pokazalo, da lahko glifosat prečka tudi možgansko bariero. Pri preučenih osebah so bile zaužite koncentracije pripravka Roundup 235 ml pripravka, ki je vseboval 85 g glifosata, 50-100 ml pripravka Roundup z vsebnostjo 18-36 g glifosata ter 200-250 ml Roundupa z vsebnostjo 72-91 g glifosata (Menkes in sod. 1991; Sato in sod. 2011).

Pri odraslih, ki so opravljali nanos pesticidov na kmetijskih površinah so opazili pogostejšo pojavljanje depresije, otrplosti, oslabiljenega delovanja encima acetilholinesteraze, in slabše sposobnosti koncentracije kot pri ljudeh podobne starosti, ki niso bili v stiku z kemikalijo (Callahan in sod. 2014).

Richard in sodelavci (2005) so opazili, da je Roundup toksičen tudi za celice JEG3, ki so celice človeške placente. V raziskavah so te placentalne celice izpostavili, koncentracijam, ki so manjše, kot v običajni kmetijski uporabi za obdobje 18 ur. Testirali so vplive glifosata in pripravka Roundup pri manjših koncentracijah na aromatazo, encim, ki je odgovoren za sintezo estrogena. Herbicidi na osnovi glifosata motijo delovanje aromataze. V raziskavi so ugotovili, da imata tako pripravek Roundup kot glifosat, vplive na endokrine funkcije v organizmu. V laboratorijskem poskusu je bil uporabljen Roundup z vsebnostjo 360 gramov glifosatne kisline na liter pripravka. Pripravljeni sta bili raztopina z 2% glifosata in raztopina z 2% pripravka Roundup. Testi so trajali 18, 24 in 48 ur. Toksičnost se je povečevala z časom izpostavljenosti. In koncentracija pri kateri je poginila polovica testiranih celic je bila pri uporabi pripravka Roundup 1.8-krat manjša, kot pri uporabi glifosata.

Glifosat se lahko vmeša tudi v delovanje citokrom P450 encimov, ki so med drugim sposobni presnove ksenobiotikov (Nelson, 1998). V laboratorijskem poskusu, kjer so ugotovili negativno delovanje na aktivnost citokrom P450 encimov so uporabili pripravek Roundup, ki je vseboval 360 g glifosatne kisline na liter pripravka. Bolj negativno delovanje na aromatazno delovanje encima, je povzročil pripravek Roundup in ne toliko glifosat sam (Richard in sod. 2005). To lahko deluje sinergistično z motnjo biosinteze aromatskih aminokislin črevesnih bakterij. Zaradi tega so bile opisane motnje normalnega delovanja črevesnih bakterijskih združb.

Testi pri katerih je prišlo do motnje delovanja črevesnih bakterij so bili opravljeni v laboratorijskih pogojih, pri koncentraciji 0.075 in 0.30 mg glifosata na mililiter pripravka in pri teh koncentracijah je bila zavrta rast bakterij (Shehata in sod. 2013; Krüger in sod. 2013). Glifosat se lahko obnaša kot analog aminokisline glicin in je zato lahko pomotoma vključen v peptide med procesom sinteze proteinov (Samsel in Seneff 2016). Če v določenih encimih, ki so zadolženi za transport železa, pride do zamenjave glicina z glifosatom lahko pride do ovirane absorpcije železa in do oviranega privzema vitamina B12 (Köster in Böhm, 1992). Omenjeno stanje so znanstveniki opazili pri bakterijah *Escherichia coli* in drugih mikrokih (Samsel in Seneff 2016).

Zamenjava glicina z glifosatom lahko vodi v nastanek bolezni, kot so diabetes, debelost, astma, kronična obstruktivna pljučna bolezen, pljučni edem, Alzheimerjeva bolezen, hipotiroidizem in adrenalna insuficienca, lupus, Parkinsonova bolezen, ne-hodgkinov limfom, hipertenzija, glavkom, osteoporoza in odpoved ledvic (Samsel in Seneff 2016). Strokovnjaki v nekaterih državah članic Evropske unije so ocenjevali vplive glifosata na ljudi in ugotovili, da epidemiološke študije kažejo na nekoliko povečano tveganje za pojav ne-Hodgkinovega limfoma. Ne-Hodgkinov limfom je vrsta raka krvotvornih organov in bezgavk, multiplega mieloma in glioma. Vendar pa naj te epidemiološke študije ne bi bile zadostne za izključitev naključja ali vpliva drugih dejavnikov. Njihova ponovna presoja se je zaključila s tem da glifosat ni genotoksičen in ne imunotoksičen (<http://www.nijz.si>, datum dostopa: 21.7.2018). Ne glede na obširnost študij pred registracijo aktivne snovi pa je nemogoče natančno vnaprej predvidevati vse možne škodljive učinke snovi v prihodnosti (Perharič 2017).

Knezevich in Hogan (1983) sta pri kronični izpostavljenosti glifosatu pri miših (Rodentia: Murinae) opazila pojav limforetikularnih tumorjev, ki so se večkrat pojavljali pri ženskih osebkih. Pri podganah (Muridae: Rattus), ki so bile v laboratorijskih poskusih hranjene z glifosatom se je zmanjšalo število proizvedenih semenčic. Druge posledice, ki so jih opazili po hranjenju z glifosatom so bile še prisotnost driske, motnje v dihanju, izcedek iz nosu, zavrtja rast, zmanjšana telesna teža in povečana smrtnost. Pri ženskih osebkih je bilo vidnih več splavov fetusev. Pri rojenih osebkih pa je bila vidna manjša teža in manjša velikost legla rojenih osebkov (WHO 1994).

Populacija osebkov iz rodu glodalcev *Peromyscus* (Cricetidae) se je na območju, ki je bil tretiran z glifosatom zmanjšala za kar 83 procentov vendar na njihovo reproduktivno uspešnost nanos ni vplival. V netretiranem območju zraven območja poškropljenega z herbicidom je bila večja gostota osebkov, kot v poškropljenem območju. Raziskava je potekala na gozdnem območju, ki je bilo pred tem posekano, po poseku pa je bilo kar 70% površine tretirane z glifosatom z namenom, da se pred ponovno posaditvijo iglavcev, zmanjša količina kompeticijskih listopadnih vrst in grmičevja. 21 hektarjev preučevane površine je bilo tretirane z škropljenjem iz zraka. Pri tem je bilo uporabljene 1.2 kg aktivne snovi na hektar, preostalih 17 hektarjev območja je bilo ročno poškropljenega z 1.1 kg aktivne snovi glifosata na hektar površine (Ritchie in sod. 1987).

V eni izmed študij, kjer so raziskovali poškodbe DNA v kostnem mozgu miši, ki so bile izpostavljene glifosatu, so odkrili precejšnje povečanje v številu kromosomskih delecij in poškodb, v primerjavi z kontrolami. V raziskavah so v miših (Rodentia: Murinae) odkrili tudi uničena tkiva v hipofizi, ščitnici, talamusu, testisih in adrenalnih žlezah, kot tudi na večjih organih (Samsel in Seneff 2016).

Glifosat so kasneje raziskovalci zaznali tudi v črevesju, jetrih, mišicah in ledvicah goveda. Izpostavljenost sesalcev glifosatu lahko povzroča izgubo mitohondrijskega transmembranskega potenciala in povzroča pojav oksidativnega stresa v ledvicah in možganih (Astiz in sod. 2009).

3 ZAKLJUČEK

V zaključni nalogi so zbrane ugotovitve iz večih raziskav znanstvenikov o tem kakšne so posledice množične uporabe pripravkov z glifosatom. Poudariti je potrebno, da je večina raziskav, ki so opravljene v naravnem okolju ter so povzete v tej nalogi, opravljenih v tujih državah. Poskusov, ki bi jih na to temo opravili slovenski znanstveniki skorajda ni, zato lahko o vplivih različnih koncentracij glifosata na organizme pri nas potegnemo le nekaj vzporednic iz raziskav, ki prihajajo iz drugih držav Evropske unije. Koncentracije glifosata, ki so v Evropski uniji dovoljene za uporabo, so namreč v vseh državah v podobnih ravneh. Mnogo raziskav je povzetih po raziskavah opravljenih v Ameriki in Avstraliji, kjer so dovoljeni tudi drugačni načini tretiranja rastlin, kot jih dovoljuje Evropska unija. Tako je v Avstraliji dovoljeno škropljenje rastlin tudi z letali, zaradi česar je prizadetih več netarčnih organizmov, pri tem veliko škode utrpijo na primer dvoživke. Mnogo raziskav je bilo opravljenih v laboratorijskih pogojih, ki pa ne vključujejo vseh okoljskih faktorjev, ki lahko vplivajo na stanje organizma v naravi. Herbicid se lahko v okolju preden pride v stik z osebkami, razprši po površini tal, se delno razgradi, nekaj se ga veže v zemljo ali pa ostane na rastlinah. Celotna koncentracija, ki se uporabi pri zatiranju rastlin, ne pride direktno v tla, zato je laboratorijske poskuse težko primerjati z usodo in vplivi herbicida vnešenega v okolje.

Mednarodna agencija za raziskave raka (IARC) je uvrstila glifosat med potencialno rakotvorne spojine za ljudi na podlagi že obstoječih raziskav. Z njegovimi negativnimi učinki na okolje in organizme se ukvarja tudi Evropska komisija. Pred začetkom razmišljanja o kakršni koli ukinitvi katerega izmed herbicidov je potrebno oceniti, ali obstaja dovolj dobra alternativa za uporabo drugega, manj nevarnega sredstva, pri katerem so že preverjeni njegovi potencialni vplivi na okolje. V nasprotnem primeru se lahko v nekaj letih pokažejo negativni učinki, drugih uporabljenih herbicidov, ki bi v primeru prepovedi uporabe pripravkov na osnovi glifosata, zamenjali ta herbicid. Ti lahko predstavljajo večjo tveganje za okolje, kot herbicidi, ki so trenutno na voljo na tržišču. Prav tako bi za isti učinek morda bilo potrebno kombinirati več sredstev. Dejstvo je, da so v kmetijstvu herbicidi nujno potrebni, saj se s pomočjo zatiranja plevelov in invazivnih rastlin v posevkih povečuje količina pridelanih poljščin, kar pa je nujno, da lahko kmetje ostajajo konkurenčni na trgu. Ker trenutno manj škodljive alternative na trgu ni, bi količina pridelka ob prepovedi tega herbicida lahko močno upadla.

Pri ocenjevanju negativnih učinkov pripravkov z glifosatom morajo države upoštevati tudi podnebje, v katerem se nahajajo. Visok pH in temperatura okolja prispevata mnogo k večji toksičnosti spojin. S temi informacijami bi države lahko bolje ocenile ali je na nekem območju uporaba herbicida primerna. V Sloveniji imamo to delno urejeno s tem, da uporaba herbicidov ni dovoljena v gozdovih ter v obvodnih pasovih in v območjih, kjer je prisotno ekološko kmetovanje. S tem lahko delno zaščitimo okolje pred negativnimi učinki v bolj občutljivih ekosistemih. Glede na mnoge raziskave učinki glifosata pri enakih koncentracijah nimajo povsod enakega vpliva.

Znanstveniki so ugotovili, da na obstojnost glifosata v zemlji vpliva tudi temperatura. Pri nižjih temperaturah ostaja glifosat dlje časa nerazgrajen in vezan v zemlji. Tako je glifosat ostal v severnih klimatih (na Švedskem in Finskem) v zemlji obstojen tudi čez zimo v zamrznjenih tleh, kar povzroči dolgotrajnejše kopičenje herbicida v tleh. V toplejši klimi ima glifosat krajšo razpolovno dobo, zato bi morda lahko imel manj negativnih učinkov na okolje. Vendar so znanstveniki v novejših študijah ugotovili, da so strupeni tudi produkti, ki nastanejo pri razgradnji glifosata, ki nastajajo pri razpadu formul z glifosatom.

Ker k večji strupenosti formul prispevata pH tal in vode v katerih se spojina nahaja so informacije o kislosti zemlje v Sloveniji prav tako pomembna informacija.

Potreben bi bil tudi večji nadzor nad tem, kakšne negativne učinke povzročajo surfaktanti v okolju. Ti naj bi imeli večji negativni učinek v pripravkih, kot sam glifosat. Z zamenjavo in iznajdbo novih manj škodljivih surfaktantov bi se morda lahko znižala škodljivost pripravkov na netarčne organizme.

Glede škodljivosti spojin z glifosatom na človeka je bilo opravljenih mnogo študij predvsem na različnih kmetijskih populacijah, ki so formule z glifosatom uporabljale pogosteje zato je bilo lažje opazovati učinke po kronični izpostavljenosti pripravkom. V Sloveniji o tem ni bilo opravljenih še nobene samostojne študije. Pri kronični izpostavljenosti glifosatu, so znanstveniki opazili pojavljanje ne-Hodkinovega limfoma. Glifosat bi lahko imel vpliv tudi na pojav bolezni, kot so Alzheimerjeva bolezen, Parkinsonova bolezen, lupus, diabetes, debelost, adrenalna insuficienca, pljučni edem, glavkom, osteoporoza in še mnoge druge bolezni.

V Sloveniji je v smeri o škodljivosti raziskav glifosata opravljenih malo študij. Še manj obstaja raziskav, ki ponazarjajo dejansko stanje organizmov v realnih okoljskih razmerah, ki so v stiku z to spojino. Zato o vplivih herbicidov na osnovi glifosata na favno pri nas le težko sodimo. V tej nalogi so v večini izbrani raziskani negativni učinki herbicida, saj sem želela izpostaviti tveganja, ki jih lahko predstavlja uporaba nekega herbicida takrat, kadar se njihovi učinki v okolju sistematično ne spremljajo in ocenjujejo. Celovite študije, ki bi zajele vse okoljske faktorje, ki na organizme vplivajo skupaj z delujočim pripravkom glifosata na točno določenem območju je sicer težko izvesti. V Sloveniji zato zaenkrat še ne obstajajo strategije s pomočjo katerih bi podrobneje spremljali negativne učinke na netarčnih organizmih.

Pri oceni škodljivosti spojin z glifosatom bi bilo potrebno upoštevati tudi, da niso vsi organizmi enako občutljivi na vplive pripravkov na osnovi glifosata. Dvoživke tako spadajo med bolj občutljive organizme, saj v nekaterih vodnih okoljih, ki so lahko v bližini kmetijskih zemljišč poteka njihovo razmnoževanje in zgodnji razvoj. Dvoživke so sicer močno občutljive na toksičnost kontaminantov v vodi zato lahko nastane težava če pripravki z glifosatom zaidejo v vodna zajetja, kjer se nahajajo mrestišča.

Po drugi strani je iz raziskav razvidno da večje koncentracije glifosata, ki bi bile smrtno za ptice težko najdemo v naravi. Lahko pa tretiranje rastlin indirektno vpliva na ptice z spremembami rastlinskih združb, ki se zgodijo po tretiranju v splošnem z vsemi herbicidi, lahko pride do izgube virov hrane, izgube habitatov in gnezdišč. Spremembe rastlinskih združb imajo velik vpliv tudi na številčnost členonožcev na nekem območju. Ob propadanju rastlinskih združb lahko pride do množičnega zmanjšanja njihovih populacij.

Tako kot organizme pa bi bilo v okolju potrebno spremljati tudi razvoj odpornosti pri plevelih. Z razvojem odpornosti na herbicide pri plevelih se je do sedaj iz leta v leto večala količina uporabljenih herbicidov, kar pa bi dolgoročno predstavljalo velike negativne posledice za okolje.

4 LITERATURA IN VIRI

- Achiorno C.L., de Villalobos C., Ferrari L., 2008. Toxicity of the herbicide glyphosate to *Chordodes nobilii* (Gordiida, Nematomorpha). *Chemosphere* 71: 1816–1822
- Ait- Bali Y., Ba-Mhamed S., Bennis M. 2017. Behavioral and Immunohistochemical Study of the Effects of Subchronic and Chronic Exposure to Glyphosate in Mice. *Front behavioral neuroscience*. 11: 146. www.ncbi.nlm.nih.gov (datum dostopa: 15.7. 2018)
- Ahrens W. H. 1994. *Herbicide Handbook*. 7th ed. Champaign, II: Weed science Society of America: 352
- AL-Daikh E.B., Mabrouk A.E.L., Roby A.S.M.H E.L. 2016. Effect of glyphosate herbicide on the behavior of soil arthropods in non-organic tomato system. *Advance in agriculture and biology*. 5(1): 14-19.
- Astiz M., de Alaniz M.J., Marra C.A. 2009. Effect of pesticides on cell survival in liver and brain rat tissues. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72 (7): 2025-2032
- Badalamenti E., La Mantia T. 2013. Stem-injection of herbicide for control od *Ailanthus altissima* (Mill) Swingle: a practical source of power for drilling holes in stems. *iForest* 6:123-126
- Balbuena M.S., Tison L., Hahn M.L., Greggers U., Menzel R., Farina W.M.2015. Effects of sublethal doses of glyphosate on honeybee navigation. *The Journal of Experimental Biology* 218: 2799-2805
- Benko-Beloglavec A.B., Groznik K., Orešek E. 2016. Invazivne tujerodne vrste v okviru predpisov o zdravstvenem varstvu rastlin, Invazivne tujerodne vrste v gozdovih ter njihov vpliv na trajnostno rabo ibozdnih virov. V: Zbornik prispevkov posvetovanja z mednarodno udeležbo XXXIII. Gozdarski študijski dnevi: 3-10
- Bohnenblust E., Egan, J.F., Mortensen D., Tooker J., 2013. Direct and indirect effects of the synthetic-auxin herbicide dicamba on two lepidopteran species. *Environmental Entomology* 42: 586–594.
- Borggaard O.K., Gimsing L.A., 2008. Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest management science* 64: 441-456
- Bromilow R. H., Evans A. A., Nicholls P. H.; Todd A. D., Briggs G. G.1996. The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years. *Pesticide science* 48: 63–72.
- Buttenschon R.M., Waldispühl S., Bohren C., Simončič A., Lešnik M., Leskovšek R., 2008. Navodila za zatiranje ter preprečevanje širjenja pelinolistne ambrozije (*Ambrosia artemisiifolia*)

Callahan C.L., Al-Batanony M., Ismail A.A., Abdel-Rasoul G., Hendy O., Olson J.R. 2014. Chlorpyrifos exposure and respiratory health among adolescent agricultural workers. *International journal of Environmental Research and Public Health* 11: 13117–13129.

Carlisle S.M., Trevors J.T. 1988. Glyphosate in the environment. *Water, air and soil pollution* 39 (3-4): 409-420.

Cauble K., Wagner R.S. 2005. Sublethal effects of the herbicide glyphosate on amphibian metamorphosis and development. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 75: 429–435.

Cavalcante D. G. S. M., Martinez C. B. R., Sofia S. H. 2008. Genotoxic effects of Roundup on the fish (*Prochilodus lineatus*). *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 655 (1): 41-46 <http://links.giveawayoftheday.com/b-ok.org/> (datum dostopa: 1.8.2018)

Chen C.Y., Hathaway K.M, Folt C.L. 2004. Multiple stress effects of Vision herbicide, pH, and food on zooplankton and larval amphibian species from forest wetlands. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 823-831.

Costanza R., R. d'Arge R., de Groot R., Farber S., Grasso M., Hannon B., Limburg K., Naeem S., O'Neill R.V., Paruelo J., Raskin R.G., Sutton, P. Van den Belt M. 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387:253-260

Cox C. 1995. Glyphosate, Part 2: Human Exposure and ecological effects. *Journal of pesticide reform* 15(4). <http://www.sequoiaforestkeeper.org> (datum dostopa: 15.7. 2018)

Crawley M.J. 1987. What makes a community invasible? 26th Symposium of The British ecological society. *Colonization, succession, and stability*: 429-454

Cummins J., Ho MW. 2005. Glyphosate Toxic and Roundup Worse. The Institute of Science in Society. Report 07/03/05. <http://www.i-sis.org.uk> (datum dostopa: 1.8.2018)

Donald W. S. 2016. *Ecotoxicology essentials, Environmental contaminants and their biological effects on animals and plants*: 427-428.

Duke, S. O., Baerson S. R., Rimando A. M. 2003. Glyphosate. *Encyclopedia of Agrochemicals*

Duke S.O.; Lydon J., Kosinen C. W., Moorman T.B., Chaney L. R., Hammerschmidt R. 2012. Glyphosate effects on plant mineral nutrition, Crop rhizosphere microbiota, and plant Disease in Glyphosate resistant crops. *Journal of agricultural and food chemistry* 60: 10375-10397

EFSA- European food safety authority. The 2016 european union report on pesticide residues in food. *EFSA Journal* 16:7. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com> (datum dostopa: 1.9.2018)

Eler K. 2018. Invazivne rastline in kmetijstvo www.program-podezelja.si (datum dostopa: 5.6.2018)

Flower K.B., Hoppin J.A., Lynch C.F., Blair A., Knott C., Shore D.L. 2004. Cancer risk and parental pesticide application in children of Agricultural Health Study participants. *Environmental and Health Perspect* 112(5):631–5.

Folmar L.C, Sanders H.O, Julin A.M. 1979. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 8:269–278.

Gaupp-Berghausen M., Hofer M., Rewald B., Zaller J.G. 2015. Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific reports* 5: 1-9 . www.nature.com (datum dostopa: 10.7.2018)

Giesy JP, Dobson S, Solomon K.R. 2000. Ecotoxicological risk assessment for Roundup herbicide. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 167:35–120

Glyphosate: mechanism of action. 2013. www.glyphosate.eu (datum dostopa: 6.9.2018)

Haney R.L, Senseman S.A, Hons F.M, Zuberer D.A. 2000, Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed science* 48:89-93

Herbert, L. T., Vázquez, D. E., Andréas, A. and Farina, W. M. 2014. Effects of field-realistic doses of glyphosate on honeybee appetitive behaviour. *Journal of Experimental biology*. 217: 3457-3464

Holdway D.A. in D.G. Dixon. 1988. Acute toxicity of permethrin or glyphosate pulse exposure to larval white sucker (*Catostomus commersoni*) and juvenile flagfish (*Jordanella floridae*) as modified by age and ration level. *Environmental Toxicology and Chemistry* 7:63-68

Howe C. M., Berrill M., Pauli B. D., Helbing C. C., Werry K., Veldhoen, N. 2004. Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23: 1928-1938.

Hrastelj M. 2009. Letalni in subletalni učinki imidakloprida, fosfalona in glifosata pri medonosni čebeli (*Apis mellifera* L.). Magistrsko delo. Univerza v Ljubljani

IARC monographs, Some organophosphate pesticides and herbicides 2017. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 112: 321-399.

Infrastrukturni center za pedologijo in varstvo okolja
<http://soil.bf.unilj.si/index.php?page=icpvo/povez> (datum dostopa: 6.8.2018).

Rozman S. 2016. Invazivne rastline v kmetijski krajini. Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano. <https://www.program-podezelja.si/> (datum dostopa: 4.8.2018)

Javornik B. 2014. Tržna pridelava gensko spremenjenih rastlin. Dosedanji dosežki komercialne pridelave transgenih rastlin:30-58.

Jayasumana C., Gunatilake S., Senanayake P. 2014. Glyphosate, hard water and nephrotoxic metals: Are they the culprits behind the epidemic of chronic kidney disease of unknown etiology in Sri Lanka? *International Journal of Environmental Research and Public Health* 11: 2125–2147

Jogan N., Bačič M., Krajnšek Strgulc S. 2012. Tujerodne in invazivne rastline v Sloveniji. *Neobiota Slovenije*: 161-182

Kale P.G., Petty B.T. Jr, Walkers S., Ford J.B., Dehkordi N., Tarasia S., Tasić B.O., Kale R., Sohni Y.R. 1995. Mutagenicity testing of nine herbicides and pesticides currently used in agriculture. *Environmental and molecular mutagenesis* 25 (2):148-153.

Knezevich, A.L and Hogan, G. K. 1983. A chronic feeding study of glyphosate in mice. *Bio/Dynamic Inc. Report No. 77-2011.*

Komisija (EU) 2016/1313 o spremembi izvedbene uredbe (EU) št. 540/2011 glede pogojev za registracijo aktivne snovi glifosat

Köster, W. & Böhm B. Point mutations in two conserved glycine residues within the integral membrane protein Fh affect iron (III) hydroxamate transport. *Molec.*

Krüger M, Shehata A.A, Schrödl W, Rodloff A. 2013. Glyphosate suppresses the antagonistic effect of *Enterococcus* spp. on *Clostridium botulinum*. *Anaerobe* 20: 74-78

Krüger M., Schledorn P., Schrödl W., Hoppe H.W., Lutz W., Shehata A. W. 2014. Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *Environmental and Analytical Toxicology*: 2-5.

Kus V.J., Veenvliet P. 2017. Zatiranje tujerodnih vrst- tujerodne vrste, Projekt life Artemis, <https://www.tujerodne-vrste.info/> (datum dostopa:15.6.2018)

Kus V.J., Veenvliet P. 2016. Predstavitev Uredbe 1143/2014/EU in razlaga, kaj izvajanje Uredbe prinese izbranim deležnikom. Poročilo o izvedbi III. faze projektne naloge Osveščanje o invazivnih tujerodnih vrstah, Uredbi (EU) št. 1143/2014 o preprečevanju in obvladovanju vnosa in širjenja invazivnih tujerodnih vrst in o odstranitvi orjaškega dežena. <http://www.mop.gov.si/> (datum dostopa: 4.7.2018)

Lajmanovich R.C., Sandoval M.T., Peltzer P.M. 2003. Induction for mortality and malformation in *Scinax nasicus* tadpoles exposed to Glyphosate formulations. *Bulletin of Environmental and Contamination Toxicology* 70: 612–618.

Langiano V.C., Martinez C.B.R. 2008. Toxicity and effects of a glyphosate-based herbicide on the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 147(2): 222-231.

Lešnik, M. 2017. Obvladovanje pojava invazivnih rastlin (neofitov) in ohranjanje biodiverzitete na vodovarstvenih območjih.

Lewontin R.C., 1965. Selection for colonizing ability. *The Genetics of Colonizing Species*. Academic Press, San Diego, California: 77–91.

Lugowska K. 2018. The effects of Roundup on gametes and early development of common carp (*Cyprinus carpio* L.) *Fish Physiology and Biochemistry* 44: 1109-1117.

Mann R.M, Bidwell JR.. 1999. The toxicity of glyphosate and several glyphosate formulations to four species of southwestern Australian frogs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 36:193–199

Marinšek A., Kutnar L. 2016. Invazivne tujerodne rastlinske vrste v poplavnih gozdovih ob Muri. Go for Mura, Upravljanje gozdnih habitatnih tipov in vrst v izbranih območjih

Natura 2000 ob Muri: 16-21.

Masters R.A. in Sheley R.L. 2001. *Journal of Range Management* 54:502-517

Mazej Grudnik Z. 2014. Predstavitev problematike invazivnih tujerodnih vrst. Delavnica na temo tujerodnih invazivnih vrst <http://www.mop.gov.si/> (datum dostopa: 14.7.2018)

Maqueda C., Undabeytia T., Villaverde J., Morillo E. 2017. Behaviour of glyphosate in a reservoir and the surrounding agricultural soils. *Science of the total environment*: 593–594, 787–795

Mendola P., Selevan S. G., Gutter S., Rice D. 2002. Environmental factors associated with a spectrum of neurodevelopmental deficits. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews* 3: 188–197

Menkes D.B., Temple W.A., Edwards I.R. 1991. Intentional self-poisoning with glyphosate containing herbicides. *Human and experimental toxicology* 10: 103–107.

Ministrstvo za okolje in prostor. <http://www.mop.gov.si/> (datum dostopa: 21.7.2018)

Mohamed A.I., Nair G.A., Kassam H.H., Abbas H.L. 1992. Effects of pesticides on the survival, growth and oxygen consumption of *Hemilepistus reaumuri* (Audouin & Savigny 1826) (Isopoda Oniscidea). *Tropical Zoology* 5:145-153.

Morgan J.D., Vigers G.A. 1991. Acute avoidance reactions and behavioral responses of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to Garlon 4, Garlon 3A and Vision herbicides. *Environmental toxicology and Chemistry* 10:73-79.

Morrison, M. L., and E. C. Meslow. 1984. Responses of avian communities to herbicide-induced vegetation changes. *Journal of Wildlife Management* 48:14-22.

Muller M. M., Rosenberg C., Siltanen, H.; Wartiovaara T. 1981. Fate of glyphosate and its influence on nitrogen cycling in two Finnish agricultural soils. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 27: 724–730.

Negga R., Stuart J. A., Machen M. L., Salva J., Lizek A.J., Richardson S.J. 2012. Exposure to glyphosate and/or Mn/Zn-ethylene-bis-dithiocarbamate containing pesticides leads to degeneration of gamma-aminobutyric acid and dopamine neurons in *Caenorhabditis elegans*. *Neurotoxicity research* 21: 281–290

Nelson D.R. 1998. Cytochrome P450 nomenclature. *Methods in Molecular Biology* 107: 15-24

Nilsson G. 1985. Interactions between glyphosate and metals essential for plant growth. *The Herbicide Glyphosate*: 35–47.

Norris R.F., Kogan M. 2005. Ecology of interactions between weeds and arthropods. *Annual Review of Entomology* 50:479-503. <http://links.giveawayoftheday.com> (datum dostopa. 12.7.2018)

Osredkar J. Oksidativni stres. 2012. *Zdravniški vestnik* 81:393-406.

Paganelli A., Gnazzo V., Acosta H., López S.L., Carrasco A.E. 2010. Glyphosate based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chemical Research in Toxicology* 23: 1586-1595

Paz-y-Mino C., Arévalo M., Sanchez M.E., Leone P.E. 2004. Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP 1A1 gene in Ecuador. *Mutation research* 562 (1-2):77-89.

Perharič L., 2017. Potek ocenjevanja glifosata na ravni Evropske unije. 3. Kongres slovenskega toksikološkega društva: Okoljska onesnažila in komunikacija tveganja. <http://www.nijz.si> (datum dostopa: 21.7.2018)

Perkins P.J, Boermans H.J, Stephenson G.R. 2000. Toxicity of glyphosate and triclopyr using the frog embryo teratogenesis assay–*Xenopus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 19:940–945

Perkovič J., Petruša K., Berlec M., Zadravec-Zaletel L., Jereb B. 2014. Preživetje otrok z nevroblastomom zdravljenih v Sloveniji v dveh obdobjih. Zdravniški vestnik 83/3: 209- 216

Pesticides Propertis Database. <https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/373.htm>
(datum dostopa: 21.7.2018)

Poletta G.L, Larriera A, Kleinsorge E, Mudry M.D. 2009. Genotoxicity of the herbicide formulation Roundup (glyphosate) in broad-snouted caiman (Caiman latirostris) evidenced by the Comet assay and the Micronucleus test. Mutation research 672: 95-102

Požnel A. 2017. Zatiranje pelinolistne ambrozije v letu 2017. Kmetijsko gozdarski zavod Nova Gorica. <https://www.kmetijskizavod-ng.s> (datum dostopa: 31.7.2018)

Pravilnik o biotičnem varstvu rastlin (Uradni list RS 45/2006)

Premru V. 2017. Akutna ledvična okvara in akutna odpoved ledvic. <https://www.onko-nefrologija.si> (datum dostopa: 21.7.2018).

Rejmanek M. in Robinson D.M. 1996. What attributes make some plant species more invasive. Ecology 77:1655-166

Relyea R.A. a 2005. The lethal impacts of Roundup and predatory stress on six species of North American tadpoles. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 48:351–357

Relyea R. A. b 2005. The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians. Ecological applications 15(4): 1118-1124. <http://links.giveawayoftheday.com> (datum dostopa: 1.8.2018)

Relyea R.A.2011. Amphibians are not ready for Roundup. Wildlife Ecotoxicology: Forensic Approaches, Emerging topics in ecotoxicology: 267-300. www.biology.pitt.edu (datum dostopa: 22.7.2018).

Resolucija Evropskega parlamenta o osnutku izvedbene uredbe Komisije o podaljšanju odobritve aktivne snovi glifosata. 2016. Ur. (ES) št. 1107/2009 Evropskega parlamenta in Sveta o dajanju fitofarmaceutskih sredstev v promet ter o spremembi Priloge k Izvedbeni uredbi (EU) št. 540/2011

Resolucija Evropskega parlamenta z dne 24. oktobra 2017 o osnutku izvedbene uredbe Komisije o obnovitvi odobritve aktivne snovi glifosata v skladu z Uredbo (ES) št. 1107/2009 Evropskega parlamenta in Sveta o dajanju fitofarmaceutskih sredstev v promet ter o spremembi priloge k Izvedbeni uredbi (EU) št. 540/2011

Richard S., Moslemi S., Sipahutar H., Benachour N., Seralini G.E. 2005. Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. <http://booksc.org> (datum dostopa: 1.8.2018)

- Ritchie C., Harestad A.S., Archibald R. 1987. Glyphosate treatment and deer mice in clearcut and forest. *Northwest Science* 6(3):199-202.
- Rosen M.J in Kunjappu J.T.2012. *Surfactants and Interfacial Phenomena* (4th ed.).Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons.
- Roženbergar D., Nagel T., Urbas B., Marion L., Brus R. 2017: Nekateri ukrepi za omejevanja širjenja visokega pajesena (*Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle) in smernice za gozdnogojitveno ukrepanje ob vdoru potencialno invazivnih tujerodnih drevesnih vrst v ohranjene gozdove v Sloveniji. *Gozdarski vestnik* 75:1-18
- Rubio F., Guo E., Kamp L. 2014. Survey of glyphosate residues in honey, corn and soy products. *Journal of Environmental Analytical Toxicology* 5: 249.
- Samsel A., Seneff S. 2016. Glyphosate pathways to modern diseases. Amino acid analogue of glycine in diverse proteins. *Journal of Biological Physics and Chemistry* 16: 9-46.
- Sanborn M., Bassil K., Vakil C., Ker K., Ragan K. 2012. Systematic Review of Pesticide Health Effects. Ontario College of Family Physicians of Canada.
- Santillo D.J., Leslie JR. D.M., Brown W.P.1989. Response of songbirds to glyphosate-induced habitat changes on clearcut. *The journal of wildlife management* 53: 64-71.
- Sato C., Kamijo Y., Yoshimura K., Ide T. 2011. Aseptic meningitis in association with glyphosate- surfactant herbicide poisoning. *Clinical Toxicology* 49:118–120.
- Schneider M.I.,Sanchez N., Pineda S., Chi H., Ronco A. 2009. Impact of glyphosate on the development, fertility and demography of *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae): Ecological approach. *Chemosphere* 76 (10): 1451-1455
- Schwember A.R. 2008. An update on genetically modified crops. www.researchgate.net (datum dostopa: 6.7.2018)
- Seralini G.E., Clair E., Mesnage R., Gress S., Defarge N., Malatesta M., Hennequin D., Spiroux de Vendomois J. 2014. Republished study: long- term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup- tolerant genetically modified maize.*Environmental Sciences Europe* 26 (14): 1-17
- Servizi J.A Gordon R.W., Martens D.W. 1987. Acute toxicity of Garlon 4 and Roundup herbicides to salmon, Daphnia, and trout. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 39:15-22
- Shehata A.A, Schrödl W., Aldin A.A, Hafez H.M, Krüger M .2013. The effect of glyphosate on potential pathogens and beneficial members of poultry microbiota in vitro. *Current Microbiology* 66: 350-358

Slika 1: Pyšek P., Lambdon W. P., Arianoutsou M., Kühn I., Pino J. in Winter M. 2009. Alien Vascular Plant of Europe. Chapter 4. DAISIE. Handbook of Alien Species in Europe. Springer Science.

Slika 2: Prasad S., Srivastava S., Singh M., Shukla Y. 2009. Clastogenic effects of glyphosate in bone marrow cells of Swiss albino mice.

Smith G.R. 2001. Effects of acute exposure to a commercial formulation of glyphosate on the tadpoles of two species of anurans. Bulletin of Environmental contamination and toxicology 67: 483–488

Spear L.P.2000. The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. Neuroscience and Biobehavioral Reviews 24:417–463

Springett J.A., Gray R.A.J.1992. Effect of repeated low doses of biocides on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* in laboratory culture. Soil Biology and Biochemistry 24(12): 1739-1744

Stark J.D., Sugayama R.L., Kovaleski A. 2007. Why demographic and modeling approaches should be adopted for estimating the effects of pesticides on biocontrol agents. BioControl 52: 365–374.

Stout L.D., Ruecker P.A. 1990. Chronic study of Glyphosate administered in feed to Albino rats. Monsanto

Szarek J., Siwicki A., Andrzejewska A., Terech-Majewska E., Banaszkiwicz T. 2000. Effects of the herbicide Roundup on the ultrastructural pattern of hepatocytes in carp (*Cyprinus carpio*). Marine environmental research 50 (1): 263-266.

Swearingen J. 2009. Fact sheet: Tree of Heaven, Weeds Gone Wild: Alien Plant Invaders of Natural Areas. Plant conservation Alliance's Alien Plant Working Group: 5

Šešerko M. 2015. Zatiranje in odstranjevanje invazivnih tujerodnih vrst rastlin- problematika ravnanja z odstranjenim rastlinskim materialom. Ministrstvo za okolje in prostor. www.mop.gov.si (datum dostopa: 10.6.2018)

Škerbot I. 2010. Pelinolistna ambrozija (*Ambrosia artemisiifolia* L.). Kmetijski zavod Celje <http://www.kmetijskizavod-celje.si/> (datum dostopa: 1.8.2018)

Tate T.M., Jackson R.N., Christian F.A. 2000. Effects of glyphosate and dalapon on total free amino acids profiles of *Pseudosuccinea columella* snails. Bulletin of Environmental contamination and toxicology 64: 258–262.

Taylor R.I., Maxwell B.D, Boik R.J. 2006. Indirect effects of herbicides on bird food resources and beneficial arthropods. Agriculture Ecosystems Environment. 116: 157-164.

Thophon S., Kruatrachue M., Upatham E.S., Pokethitiyook P., Sahaphong S., Jaritkhuan S. 2003. Histopathological alterations of white seabass, *Lates calcarifer*, in acute and subchronic cadmium exposure. *Environmental pollution* 121: 307-320

Tortensson L., Börjesson E., Stenström J. 2015. Efficacy and fate of glyphosate on Swedish railway embankments. *Pest management science* 61: 881-886.
<http://links.giveawayoftheday.com> (datum dostopa: 10.7.2018)

Tsui, M.T., Wang W.X, Chu L.M. 2005. Influence of glyphosate and its formulation (Roundup) on the toxicity and bioavailability of metals to *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Pollution* 138:59-68.

Uprava RS za varno hrano, veterinarstvo in varstvo rastlin <http://www.uvhvvr.gov.si/> (datum dostopa: 31.7.2018)

Uredba (EU) št. 1143/2014 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 22. oktobra 2014 o preprečevanju in obvladovanju vnosa in širjenja invazivnih tujeodnih vrst

Urek G., Knapič M., Zemljič Urbančič M., Škerlavaj V., Simončič A., Persolja J., Rak Cizej M., Radišek S., Lešnik M. 2012. Raba FFS in preučitev možnosti za njihovo racionalnejšo uporabo v Sloveniji. <https://www.dlib.si> (datum dostopa: 5.8.2018)

Uren Webster T. M., Laing V.L., Florance H., Santos E.M. 2014. Effects of Glyphosate and its Formulation, Roundup, on Reproduction in Zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental science and technology* 48(2): 1271-1279

Van Bruggen A.H.C., He M.M., Shin K., Mai V., Jeong K.C., Finckh M.R., Morris J.G. Jr. 2018. Environmental and health effects of the herbicide glyphosate. *Science of the total environment* 616-617: 255-268 <http://www.asacim.org.ar> (datum dostopa: 15.7.2018).

Vrbničanin S., Božič D., Pavlovič D., Stojićević D., Jovanović-Radovanov K., Jevtić M., Stokić K. 2014. The influence of tribenuron-methyl, imazamox and glyphosate on biological production of *Ambrosia artemisiifolia* L. Proceedings of the 7th Congress on Plant Protection "Integrated Plant Protection - a Knowledge-Based Step Towards Sustainable Agriculture, Forestry and Landscape Architecture" : 107-110.

Zakon o fitofarmacevtskih sredstvih (UPB 2, Uradni list RS 83/2012)

Zelnik I. 2012. The presence of invasive alien plant species in different habitats: case study from Slovenia. *Acta Biologica Slovenica* 55 (2): 25-38

Yasmin S., D'Souza, D. 2007. Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia fetida*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 79: 529-532

Wade M. 1997. Predicting plant invasions: making a start. *Plant invasions: studies from North America and Europe*. 1-18

Wardle D.A, Parkinson D. 1990. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant and soil* 122 (1): 21-28.

Weber J.B., Best J.A., Gonese J.U. 1993. Bioavailability and bioactivity of sorbed organic chemicals. *Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil*. Madison, WI: American Society of Agronomy and Soil Science Society of America: 153-196
<http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/047126363X>. (datum dostopa: 1.8.2018)

WHO (World Health Organization), 1994. Glyphosate. *Environmental Health Criteria*. 159: 1 -177.

WHO (World health organization). 2005. Glyphosate and AMPA in drinking-water.
www.who.int/ (datum dostopa: 22.7.2018).

Wojtaszek B.F, Staznik B, Chartrand D.T, Stephenson G.R, Thompson D.G. 2004. Effects of Vision® herbicide on mortality, avoidance response, and growth of amphibian larvae in two forest wetlands. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23:832–842

World Health Organization, 1994. United Nations Environment Program, International Labor Organization. Glyphosate. *Environmental Health Criteria #159*. www.who.int (datum dostopa: 20.7.2018).