

Imidaklopid

Påverkan på skadegörare och nyttodjur i växtens närhet

Imidaclopid

The impact on insect pests and natural predators and pollinators

Katarina Lindholm & Louise Wyke



Alnarp 2011

Imidaklopid, påverkan på skadegörare och nyttodjur i växtens närhet

Imidaclopid, The impact on insect pests and natural predators and pollinators

Katarina Lindholm & Louise Wyke

Handledare: Mattias Larsson, SLU,
Område 2 Växtskyddsbiologi, LTJ- fakulteten

Bitr. handledare: Peter Andersson, SLU,
Område 2 Växtskyddsbiologi, LTJ- fakulteten

Examinator: Hans Lindqvist, SLU,
Område 3 Hortikultur, LTJ- fakulteten

Sveriges Lantbruksuniversitet, SLU

Självständigt arbete vid LTJ- Fakulteten

Område: Växtskyddsbiologi

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: G2E

Kurstitel: Självständigt arbete för hortonomprogrammet

Kurskod: EX0369

Program/utbildning: Hortonomprogrammet

Utgivningsort: Alnarp

Utgivningsår: 2011

Omslagsbild: Katarina Lindholm

Serienamn: Självständigt arbete vid LTJ-Fakulteten

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Imidaklopid, pollinatörer, nyttodjur, predatorer, systemisk bekämpning, bekämpningsmedel, insektsskadegörare

Sammanfattning

Användningen av bekämpningsmedel för privat bruk i Sverige är relativt liten i jämförelse med många andra länder och beror dels på den omfattande kemikalielagstiftningen men även på det tuffa klimatet som minskar antalet skadegörare. Men även här sker bekämpning med ämnen vars effekter på icke-målinsekter inte är helt klarlagda.

I denna studie har den systemiskt verkande insekticiden imidakloprid undersökts för att försöka klargöra hur ämnet, som främst används som bekämpning mot olika typer av löss, påverkar andra djur som kan komma i kontakt med det. De djur som valdes ut var pollinatören *Bombus terrestris*, fjärilslarven tillika växtätaren *Spodoptera littoralis* samt luspredatorn *Crysoperla carnea*. För att utföra studien odlades även en ansenlig mängd *Myzus persicae* upp för att kunna visa om imidakloprid verkligen var ett effektivt lusbekämpningsmedel.

Studien visade att imidakloprid inte kunde påvisas ha någon effekt, vare sig negativ eller positiv, på *Bombus terrestris* och *Spodoptera littoralis*. Däremot kunde testerna visa tendenser att *Crysoperla carnea* drabbades hårt av att leva av imidaklopridförgiftade bladlöss. *Crysoperla carnea* som levt i ogynnsam miljö hade signifikant lägre torrsvikt än kontrollen och gaskromatografi utförd på en död individ bekräftade att *Crysoperla carnea* tagit upp ämnet. Studien har också bekräftat det som återförsäljare av imidakloprid påstår, att imidakloprid är ett synnerligen effektivt bekämpningsmedel mot *Myzus persicae*.

Abstract

The use of pesticides for domestic use in Sweden is relatively small compared to many other countries and is partly due to the extensive chemical legislation but also to the harsh climate that reduces the number of pests. But even here pest control is achieved by means of compounds whose effects on non-target insects are not completely understood.

In this study the systemic acting insecticide imidacloprid was examined in an attempt to clarify the effects of this compound, which is mainly used for management of various types of aphids, on other animals that may come into contact with it. The animals selected were the pollinator *Bombus terrestris*, the caterpillar and herbivore *Spodoptera littoralis* and aphid predator *Crysoperla carnea*. To perform the study considerable amount of *Myzus persicae* were grown to show whether imidacloprid was indeed an effective aphid insecticide.

The study showed that imidacloprid could not be demonstrated to have an effect, either positive or negative, on *Bombus terrestris* and *Spodoptera littoralis*. However, the tests could show trends that *Crysoperla carnea* was affected by feeding on the imidacloprid poisoned aphids. The *Crysoperla carnea*, which survived in adverse environments, had significantly lower dry weight than controls, and gas chromatography of a dead individual confirmed that *Crysoperla carnea* did contain the substance. The study has also confirmed that which the retailer of imidacloprid has claimed, that imidacloprid is an extremely effective pesticide against *Myzus persicae*.

Tack till

Vi vill först och främst rikta ett stort och varmt tack till vår handledare, Mattias Larsson, för utmärkt vägledning samt till biträdande handledare, Peter Andersson, för att den konstruktiva kritiken och det kritiska ögat som hjälpt oss oerhört mycket på vägen.

Vi vill även tacka Hans Lindqvist för det fina arbete han gjort i egenskap av examinator.

Dessutom, ett speciellt Tack till:

Lindesro AB för alla insekterna och därtill medföljande goda råd

Hörhems handelsträdgård för de levnadsglada pluggplantorna.

Jan-Eric Englund för ovärderlig hjälp med statistiska analyser.

Karl-Johan Bergstrand för hjälpen med alla växthusrelaterade problem

Tomas Svensson för hjälpen med de praktiska bitarna

Elisabet Marling för de utmärkta spodopteralarverna

Sist, men inte minst, ett stort Tack till alla våra klasskamrater som har hjälpt till med att bolla idéer, ge feedback och input och stötta oss i denna svåra tid. Tack!

Innehållsförteckning

1 INTRODUKTION	8
1.1 Syfte	8
1.1.1 Frågeställningar	8
1.1.2 Avgränsningar	8
1.2 Teoretisk bakgrund	9
1.2.1 Imidaklopid	9
1.3 Target insects	10
1.3.1 Beskrivning <i>Myzus persicae</i>	10
1.4 Non target insects	10
1.4.1 Beskrivning <i>Chrysoperla carnea</i>	11
1.4.2 Beskrivning <i>Spodoptera littoralis</i>	11
1.4.3 Beskrivning <i>Bombus terrestris</i>	11
2 MATERIEL OCH METOD	12
2.1 Materiel	12
2.1.1 Tvångsförsökskammare, <i>B. terrestris</i>	12
2.1.2 Valförsökskammare, <i>B. terrestris</i>	13
2.1.3 Modellväxt	13
2.1.4 Testsubstans	14
2.2 Metod	14
2.2.1 Försöksupplägg <i>Myzus persicae</i>	14
2.2.1.1 Slutavläsning	15
2.2.2 Försöksupplägg <i>Chrysoperla carnea</i>	15
2.2.2.1 Slutavläsning	15
2.2.3 Försöksupplägg <i>Spodoptera littoralis</i>	16
2.2.3.1 Slutavläsning	16
2.2.4 Gaskromatografi och Masspektrometri	16
2.2.5 Försöksupplägg <i>Bombus terrestris</i>	17
2.2.5.1 Pilotförsök	17
2.2.5.2 Valförsök	17
2.2.5.3 Tvångsförsök	18

2.2.5.4 Slutavläsning	19
3 RESULTAT	19
3.1 <i>Myzus persicae</i>	19
3.2 <i>Chrysoperla carnea</i>	21
3.3 <i>Spodoptera littoralis</i>	23
3.4 <i>Bombus terrestris</i>	24
3.4.1 pilotförsök.....	25
3.4.2 Valförsök	25
3.4.3 Tvångsförsök	26
4 DISKUSSION	28
4.1 <i>Myzus persicae</i>	28
4.2 <i>Chrysoperla carnea</i>	29
4.3 <i>Spodoptera littoralis</i>	30
4.4 <i>Bombus terrestris</i>	31
4.4.1 Pilotförsök.....	31
4.4.2 Valförsök	31
4.4.3 Tvångsförsök	32
4.5 Allmänna reflektioner.....	32
4.6 Slutsatser.....	33
4.7 Avslutning.....	34
5 REFERENSER.....	35
5.1 Elektroniska källor	36

1 INTRODUKTION

1.1 Syfte

Huvudsyftet var att undersöka imidakloprids påvekan på skadegörare och nyttodjur i växtens närhet. Imidakloprid, en neonicotinoid, är idag en godkänd insekticid i ett stort antal länder och dess väldigt breda användnings område innefattar systemisk och direktverkan mot en rad olika skadegörare (Gentz et al, 2010). I Sverige saluförs imidakloprid till privatpersoner under varunamnet Provado av Bayer Garden som direktverkande spray och systemiskt verkande tabletter. Ämnet är bevisat giftigt för mask och andra marklevande organismer och rekommenderas därför inte för trädgårdsanvändning i tablettform, utan för krukade plantor. Sprejen däremot är direktverkande och kan användas i trädgård, dock är effekten kortvarig och måste upprepas (bayergarden.se).

Hypotesen var att samtliga insekter som lever i närheten av en växt behandlad med imidakloprid påverkas negativt. En av huvudfrågeställningarna är huruvida imidakloprid kan vandra ut i pollen samt nektar och därigenom påverka pollinatörer.

1.1.1 Frågeställningar

De frågeställningar som vi har valt att arbeta utifrån är:

- Är imidakloprid ett effektivt bekämpningsmedel mot persikobladdlus (*Myzus persicae*)?
- Påverkas växtätare som inte är målinsekter för imidakloprid av behandlingen?
- Påverkas insekter som är predatorer på bladlöss av behandlingen med imidakloprid?
- Tas imidaklopriden upp av och påverkar pollinatörer (Humlor)?
- Om humlan får välja, är den mer benägen att pollinera obehandlade plantor?

1.1.2 Avgränsningar

Mätningarna inkluderar inte vilka specifika mängder de olika insekterna innehåller, inte heller vilka faktiska mängder som växten innehåller från början, det har istället antagits att alla innehåller 0 % imidakloprid.

Imidaklopriden har inte tillsatts som sprej utan i tablettform i krukade plantor, eftersom logistiska problem har förhindrat användning av sprej, vi kan därför endast uttala oss om systemiska effekter på insekter, och inte eventuella direktverkande kontakteffekter av sprejad imidakloprid.

Vi låter inte bladlössen välja.

1.2 Teoretisk bakgrund

1.2.1 Imidaklopid

Det krävs mycket små mängder för att medlet ska ha en hög verkningsgrad (termiteweb.com) och bl.a. i Kalifornien är medlet godkänt för användning på friland där det används i stor utsträckning både i vin- och salladsodling mot skadegörare som växtsugare och skalbaggar. Trots medvetenheten om att ämnet lagras en längre tid i jorden och misstankarna om att det påverkar flera sorters nyttodjur används det i ca 100 länder (alibaba.com). Ett av orosmomenten är huruvida ämnet skulle orsaka CCD, colony collapse disorder hos bin (articlesbase.com). Även om det inte kunnat bevisas att det är imidaklopidets verkan så är detta en av anledningarna till att det slutligen blev förbjudet i Frankrike. Ämnet blev godkänt där 1994 och i slutet av 90-talet började biödare märka av allt större biförluster. 2006 hittades spårämnen av imidaklopid i 49% av kolonierna från 81 undersökningar, vilket ledde till förbudet (Chauzat et al, 2006).

Ämnet är en neonicotinoid som påverkar insekters centrala och perifera nervsystem genom dess nikotinacetylkolinreceptorer (nAChRs) (Proença, 2005). Muskelreceptorerna förmedlar alla snabba synapsiska stimulanser på frivilliga muskler (Colquhoun, 2003). Detta antyder att muskler som bladlössen använder sig av aktivt förlamas och gör insekten oförmögen att fortsätta sitt angrepp. Tidigare försök visar att viktörlusten hos de insekter som sitter på behandlade plantor är densamma som hos de som svultits, därför har dödsorsaken ansetts vara svält. Tester har dock visat att effekten är reversibel; då bladlusen flyttas till ett obehandlat blad återupptas angreppet inom 24 timmar (Nauren, 1995).

Bland pollinatörer har tidigare försök på vuxna *C. carnea* visat att överlevnaden på nektar från behandlade plantor minskat drastiskt, från 79 % under 10 dagar till 14 % vid behandling med 6 g imidaklopid via jorden (Rogers, 2006).

I ett försök utfört av Mommaerts et al. (2008) har det visats att humlor matade med sockervatten innehållande imidaklopid (200 mg/l) ger en dödlighet hos humlorna på 100 %. Däremot i försök där solrosfrön doppats i imidaklopidlösning och drivits upp har man mätt upp till 10 µg imidaklopid/kg pollen och 6 µg imidaklopid/kg nektar i blommorna. Under den femdagarsperiod som experimentet utfördes mättes halterna imidaklopid som arbetarna i

genomsnitt fått i sig till 4,8 ng/dag. Detta var inte tillräckligt för att påverka varken överlevnad eller reproduktionsförmåga (Tasei, 2000).

Spodoptera littoralis larver utsatta för imidaklopid oralt gav LC50 värden på 17,7 µg/g mat i en studie utförd av Lagadic et al. (1993). I samma test visades även att larvernans matvanor inte påverkades av behandlingen och därmed att giftet inte kan detekteras av larven själv (Lagadic et al. 1993).

1.3 Målinsekter

Målinsekterna för imidaklopid är bladlöss, sköldlöss, mjöllöss, ullöss, trips, stinkflyn och stritar (bayergarden.se). I detta försök har därför *Myzus persicae*, som är en av de vanligare bladlössarterna i Sverige, använts. Detta både för att bekräfta ämnets effekt och för att se hur giftet påverkar lusens naturliga predatorer.

1.3.1 Beskrivning *Myzus persicae*

Myzus persicae, persikoblادلusen, är den skadeinsekt med högst förökningshastighet. Tack vare jungfrufödelse kan populationen tiodubblas inom loppet av sex dagar förutsatt att förhållandena är optimala. (Nedstam, 2007). De kan producera upp till 20 generationer under en sommar och har en effektiv spridning på 100 mil efter det att vingade bladlöss alstras. Övervintringen sker i form av ägg som läggs på *Prunus* arter under hösten (Capinera, 2005). På grund av deras förmåga att sprida virus och andra sjukdomar ihop med det faktum att de både är världsomfattande samt generalister, klassas de som ett av de värsta skadedjuret att få in i växthuskulturer.

1.4 Icke-målinsekter

”Icke-målinsekter” är de insekter utanför imidaklopidens verksamhetsområde som har växtens närområde som naturligt habitat. Detta inkluderar pollinatörer, målinsektens naturliga predatorer och övriga växtskadegörare. I denna undersökning representeras pollinatörgruppen av Jordhumlan (*Bombus terrestris*), bladluspredatorn är guldögonsländelarver (*Chrysoperla carnea*) och övriga växtskadegörare utgörs av det Egyptiska bomullsflyets (*Spodoptera littoralis*) larver.

1.4.1 Beskrivning *Chrysoperla carnea*

Guldögonsländan är ca 15 mm lång med karakteristiskt guldglänsande ögon och gröna nätvingar. Vuxna individer övervintrar på skyddade platser inomhus (Frukt og grønt rådgivningen, 2004). *C. carnea* har optimal förökning vid en temperatur på 20°C och en relativ luftfuktighet på 80% (Heyler, 2003). *C. carnea* har ägg som lätt kan identifieras då de hänger i långa trådar av stelnad vätska på undersidan av bladen (Sandhall, 2003).

Äggen läggs på försommaren i områden med stora bladluskolonier, när larverna kläckts lever de uteslutande på bladlöss. En larv kan, under sin 8-12 dagar långa levnadsperiod, äta mellan 200 och 500 bladlöss (Frukt og grønt rådgivningen, 2004). Den vuxna insekten lever på honungsdagg från bladlöss samt nektar och pollen (Sandhall, 2003).

I växthuskulturer som har problem med bladlöss är *C. carnea* ett vanligt förekommande biologiskt bekämpningsmedel som alternativ till kemiska preparat (Persson, 2010). *C. carnea* fungerar effektivast i relativt låga kulturer och bekämpar förutom bladlöss även andra skadegörare, såsom trips, vita flygare och även larver och ägg tillhörande skadegörare (Lindesro AB).

1.4.2 Beskrivning *Spodoptera littoralis*

Det egyptiska bomullsflyet är en fjäril med en vingbredd på 35-40 mm (lepidoptera.se) Den vuxna fjärilen är brungrå med mörka inslag (leps.it). Äggen läggs i stora mängder på värdväxtens blad och omedelbart efter kläckning ses larver i mängder. Efter en tid påträffas larverna ensamma, då de sitter i bladmassan och äter stora hål i knoppar och blad (vaxteko.nu). Larven är brun, med grå partier. Nyanser varierar mycket mellan olika fångstplatser och de olika utvecklingsstadierna (lepiforum.de) *S. littoralis* är en vanligt förekommande växtskadegörare i många länder runt medelhavet, i stora delar av Asien och Australien. Larven, som kan uppnå 40-45 mm längd har ett brett spektra av värdväxter, allt från bomull till banan och pelargon är uppskattad föda (vaxteko.nu). Under sommarmånaderna kan *S.littoralis* sprida sig norrut från medelhavet och observationer har gjorts i bl.a. Storbritannien (ukmoths.org.uk).

1.4.3 Beskrivning *Bombus terrestris*

Jordhumlan (*Bombus terrestris*) tillhör Hymenoptera Apocrita (underordningen midjesteklar) och ingår i familjen sociala bin. Arten är utbredd över hela det norra halvklotet. Förmågan till

egen värmeproduktion gör att de är verksamma tidigt på året, redan i temperaturer över 5°C, till och med i arktiska klimat (Nationalencycledien). Kolonierna inleds av solitära drottningar som övervintrar och etablerar ett bo där drottningen lägger befruktade ägg som kommer utvecklas till arbetare. Genom juvenilferomonet *neotenin* påverkar drottningen hur snabbt utvecklingen av larverna sker (Ribeiro, 1998) och den första kullen är i genomsnitt färdigutvecklade redan efter 22 dagar. Samhällets effektivitet beror på vilken tidpunkt de obefruktade äggen och därmed hanarna börjar produceras. För störst verkningsgrad krävs en senare produktion av hanar då detta ger större chans för tidigare och därmed resligare produktion av arbetare som kan pollinera (Åsberg, 1995). Samhällets tidiga och relativt långvariga aktivitet på ca 10 veckor gör dem till populära pollinatörer i växthuskulturer. Det krävs dock att kulturen producerar tillräckligt med pollen då detta samlas in som proteintillskott till larverna och motiverar arbetarnas aktivitet, samtidigt som det ska finnas tillräckligt med nektar, alternativt sockerlösning, som primär födokälla för humlorna själva (Lindesro AB).

2 MATERIEL OCH METOD

2.1 Materiel

2.1.1 Mindre försökskammare, *B. terrestris*

Försökskamrarna bestod i grunden av kammare avsedda för ljusförsök som sedan vidareutvecklats för att passa bättre för humleförsök. Detta innebar att kamrarna kläddes in med transparent plast för att möjliggöra maximalt ljusinsläpp och samtidigt hålla humlorna isolerade (se bild 1). Fyra kammare förbereddes genom att bekläs med plast. Detta gav kamrarna en yta på ca 4 m² vardera. Det var viktigt att humlorna upplevde miljön som lämplig för att ge så naturliga resultat som möjligt.



Bild 1 Kammare 1 från tvångsförsöken.

2.1.2 Valförsökskammare, *B. terrestris*

Den kammare som användes vid valförsök med *B. terrestris* var en växthusavdelning i ett vanligt växthus. Avdelningen var avgränsad till andra avdelningar med kraftiga transparenta plastväggar som var absolut humletäta. Ytan i avdelningen uppskattas till ca 30 m².

Kamrarnas enda svaghet var luftluckorna, när temperaturen gick upp så öppnades luckorna och humlorna kunde flyga ut och pollinera vilda växter utanför växthuset.

2.1.3 Modellväxt

Petunia "Superbells" (*Calibrachoa "Superbells"*) tillhör familjen *Solanaceae* (potatisväxter) och är en omtyckt utplanteringsväxt som saluförs i hela Sverige. Växten blommar från Maj tills då frosten kommer och trivs i soliga till halvskuggiga lägen. Den är dagsneutral men blommar effektivast vid maximal ljusexponering och trivs bäst i näringsrik jord (hornhems.se). Odlare upplever att detta släkte ofta drabbas av ohyra t.ex. bladlöss (Hörhems handelsträdgård), därför passade växten ypperligt för denna typ av experiment.

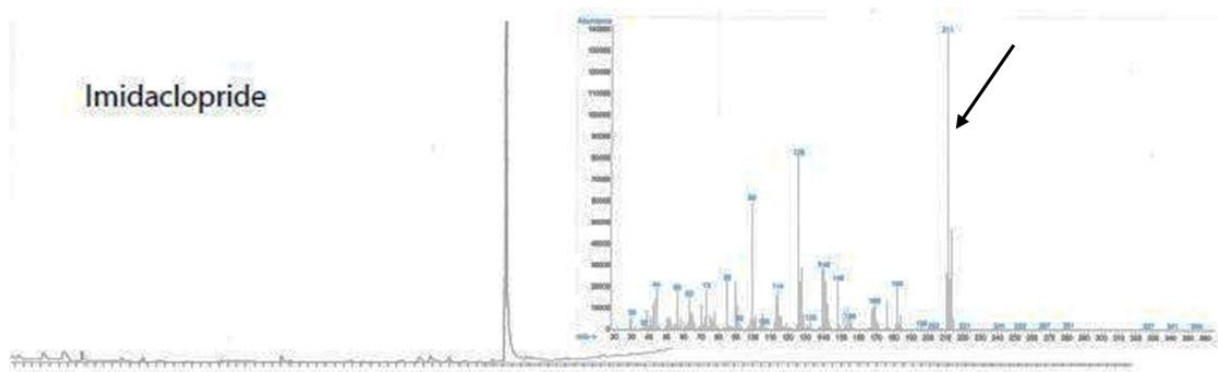
I detta experiment mottogs 256 pluggplantor av ovan nämnda sort. Dessa krukades i 15 cm krukor med specialjord från Hasselfors. Detta gjordes redan fredagen under första

försöksveckan (v.13). 5 veckor senare hade plantorna uppnått ett lämpligt utvecklingsstadium och därför kunde försöken påbörjas.

2.1.4. Testsubstans

Substansen kommer från Beyers Provadopinnar där imidaklopriden står för 2,5 viktprocent av enheten, så av de totala 2 g/ dos är 50 mg av detta imidakloprid. Enligt den toxologiska information som ges är LD50-värdet av oralt intag/ kg råtta > 5000 mg (bayergarden.se).

Under experimenten användes en enhet/ planta och då prover analyserades i gaskromatograf var det en topp på 211 som eftersöks (se figur 1).



Figur 1 Imidakloprid, toppen återfås vid gaskromatografi. I figuren visas också ett masspektrogram från samma topp. Masspektrogrammet har en unik fördelning av fragment från imidaklopridmolekylen som kan användas för att identifiera ämnet i ett prov. Om fullständig separering av ämnet inte kunde åstadkommas i ett komplext extrakt (och därmed inte heller ett rent masspektrogram), kunde fortfarande ett framstående massfragment på 211 enheter (se pil) vid rätt retentionstid i gaskromatogrammet användas för att påvisa ämnet bland många andra ämnen.

2.2 Metod

2.2.1 Försöksupplägg *Myzus persicae*

40 plantor infekterades med bladlöss. Efter 2 dagar tillsattes imidakloprid till 20 av plantorna. Under dagarna som följde observerades skillnaden i dödlighet hos bladlöss på behandlade respektive icke behandlade plantor.

Syftet med försöket var att ta reda på om imidakloprid överhuvudtaget fungerar som bekämpning mot bladlöss.

2.2.1.1 Slutavläsning

För att få ett kvantitativt mått på antalet bladlöss hos de angripna plantorna räknades lössen på 5 slumpmässigt valda botten- samt mittenblad från plantan. Då bladlössen huvudsakligen parasiterar unga skott slumpades 5 toppskott samt 5 blommor fram, även på dessa räknades de levande lössen.

2.2.2 Försöksupplägg *Chrysoperla carnea*

Utgångsläget var 40 plantor. 20 plantor infekterades med bladlöss (*M. persicae*) och de resterande med egyptiskt bomullsfly (*S. littoralis*). Samtliga plantor isolerades var för sig i perforerade platspåsar. Efter 7 dagar tillsattes rekommenderad dos av provadopinnar till 10 av de bladlusangripna plantorna och 10 av de bomullsflyangripna plantorna. Efter ytterligare en vecka tillsattes ca en matsked guldögonsländeägg samt larver till varje planta.

Syftet med försöket var att undersöka om det fanns någon skillnad i populationsstorlekar av *C. carnea* mellan behandlad och icke behandlad planta.

C. carnea är vanligt förekommande i Sverige samtidigt som den används flitigt i biologisk bekämpning mot bladlöss. Därför anses denna predator fungera väl i försöken.

2.2.2.1 Slutavläsning

Vid avläsning samlades alla synliga *C. carnea* in från de olika grupperna. Antalet bladlöss räknades enligt följande:

5 slumpmässigt valda blad togs från vardera botten och mitten på plantan, dessutom räknades lössen på 5 slumpmässigt valda blommor och 5 slumpmässigt valda toppskott (se bild 2).



Bild 2 Lusinfesterad petuniatopp

2.2.3 Försöksupplägg *Spodoptera littoralis*

40 plantor infekterades med 5 st *S. littoralis* larver per planta. Efter 2 dagar tillsattes imidaklopid i form av provadopinnar till 20 av plantorna. Under de följande dagarna observerades dödligheten samt övrigt beteende hos larverna.

Syftet med försöket var att se om imidaklopid påverkar övriga djur som exempelvis betare, vilka lever på växtmaterial behandlat med ämnet.

2.2.3.1 Slutavläsning

Varje planta genomsöktes och antalet *S. littoralis* som hittades vägdes. Detta för att se om det finns någon tillväxtskillnad mellan de olika grupperna.

2.2.4 Gaskromatografi och Masspektrometri

Gaskromatografen är den mest använda metoden för att analysera organiska föreningar och är tillräckligt känslig för att hitta spår av ett ämne bland miljontals molekyler (bland 10^{-18} mol) (ne.se). Lösningen som ska identifieras förgasas och bärs med hjälp av en inert gas, vanligtvis helium eller kväve, längst en kolonn där en separation av ämnena sker beroende på ämnens flyktighet (edu.fi). De substanserna med låg kokpunkt följer lättare med bärgasen och kommer ut tidigare än de med högre. Ämnena sönderdelas och joniseras, varpå en masspektrometer i slutet av kolonnen detekterar alla ämnen genom att, beroende av dess massor, skilja jonerna åt. Var ämne har ett karakteristiskt fragmenteringsmönster vilket gör identifiering möjlig (oru.se).

Metoden användes för att studera om mätbara mängder av imidaklopid tagits upp i blommor respektive humlor, guldögonsländor, eller fjärilslarver. Endast ett prov från varje grupp analyserades kvalitativt, genom att extraheras med 500 mikroliter acetone (HPLC-grade renhet), av vilken 1 mikroliter sedan injicerades på gaskromatografen. För att separera olika beståndsdelar i extraktet, och kunna identifiera eventuell imidaklopid med hjälp av retentionstid (genomflödestid på kolonnen) och masspektrometri, användes ett temperaturprogram på kolonnen med start 80 grader C i tre minuter, följt av en höjning med 15 grader/minut till en sluttemperatur på 325 grader som bibehölls under 10 minuter.

2.2.5 Försöksupplägg *Bombus terrestris*

2.2.5.1 Pilotförsök

För att bekräfta att imidaklopid ökar dödligheten hos *Bombus terrestris* utfördes ett pilotförsök innan de ordinarie försöken. Detta var upplagt enligt följande:

Ovan nämnda kamrar, med en yta på ca 4 m² vardera användes. I varje kammare placerades ett minisamhälle humlor samt sockerlösning (C₁₂H₂₂O₁₁ och vatten). Varannan kammare agerade som kontroll utan något spår av gift, medan i de övriga tillsattes provado-pinnar till sockerlösningen, där koncentrationen var 0,1 g Imidaklopid/l.

4 dagar efter försökets början placerades ny sockerlösning i kamrarna med och utan imidaklopid, denna gång baserad på honung. Efter 7 dagar ökades ljusstyrkan i kamrarna genom att tända den lysrörsarmatur som fanns monterad där. Samma dag förbereddes en ny sockerlösning, också denna baserad på honung. Genom hela försökets gång har det varit kammare 1 och 3 som varit behandlade med imidaklopid.

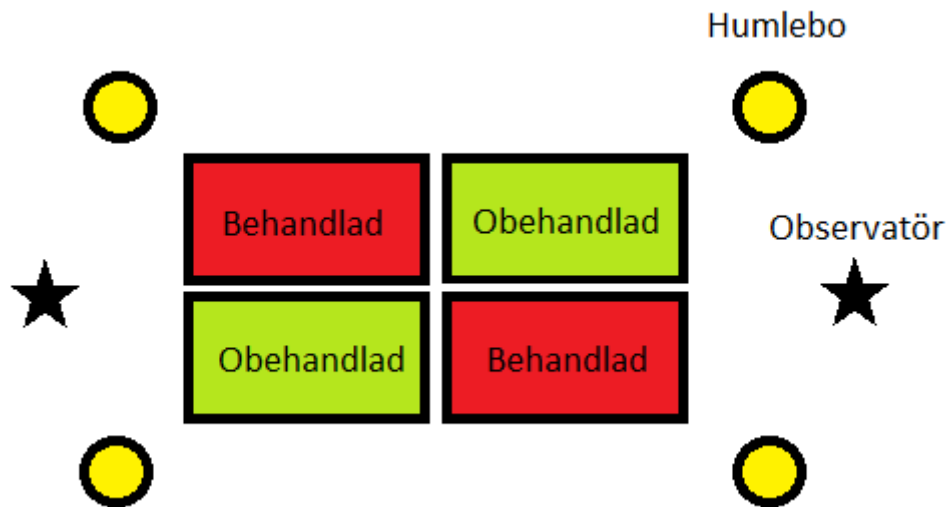
2.2.5.2 Försöksupplägg *Bombus terrestris*

I de experiment som utförts har jordhumlor i minisamhällen utan drottning, men med larver och ägg använts. Detta val grundar sig på det faktum att humlor är mindre känsliga än bin när det gäller krav på temperatur och ljusstillgång, dessutom är jordhumlebon lättare att få tag på och betydligt mer lättarbetade än bisamhällen.

2.2.5.3 Valförsök

Syftet med valförsöket var att undersöka hur humlor väljer då de kan välja mellan att pollinera imidaklopidbehandlade och obehandlade plantor.

I en kammare placerades 40 plantor, 20 obehandlade och 20 behandlade enligt figuren nedan (Fig. 2). I varje hörn placerades ett humlebo.

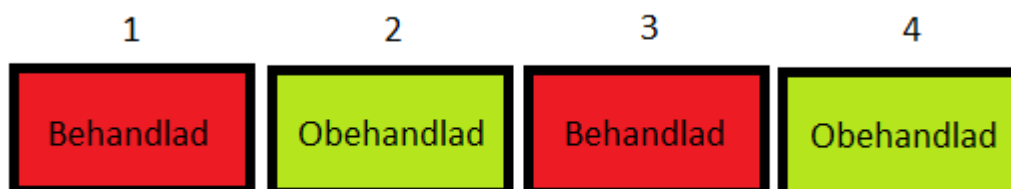


Figur 2. Placeringen av de olika delarna vid observation av humlornas pollineringsbeteende.

Humlornas beteende observerades under 4 timmar uppdelat på 2 dagar. Då observerades hur många gånger varje grupp besöktes. Besöken delades in i två kategorier: visat intresse och pollinerat.

2.2.5.4 Tvångsförsök

I fyra olika kammare placerades 15 plantor som antingen var behandlade eller obehandlade samt ett humlebo. Kammarna var placerade enligt figur 3, varannan fylldes med obehandlade blommor och varannan med behandlade. Dessa fick stå i en vecka för att sedan upprepas med nya humlor och nya plantor. Figuren nedan åskådliggör kamrarnas innehåll vid de olika försöken.



Figur 3. Kamrarnas innehåll under tvångsförsöken.

Målet med försöket var att se om det fanns någon skillnad i dödlighet när humlor var tvingade att leva på behandlade plantor i jämförelse med obehandlade.

2.2.5.5 Slutavläsning

Efter 8 dagar stängdes bona så att de sista humlorna fick flyga in. Bona placerades i frys över natten för att möjliggöra avläsning. I varje kammare samlades samtliga döda humlor in, räknades och placerades i frys i väntan på GC. Efter frysning öppnades bona upp och humlor samt larver samlades in. Larvdödigheten dokumenterades med kamera.

3 RESULTAT

3.1 *Myzus persicae*

Tabell 1. Medelvärde antal löss/ behandlad planta. Dessa värden har använts för att göra T-testet.

Medelvärde löss/planta i de olika behandlingarna				
Nr	Obehandlad	Imidaklopid	C.carnea	Imidaklopid och C.carnea
1	46	1,5	70,75	4
2	96,25	1,75	15,5	4,25
3	74,5	2,25	68,25	1,25
4	77	1,75	58,75	0,5
5	200,75	3,75	103,25	6,5
6	34,75	0,25	48	0,5
7	47,25	1,25	43,5	1,5
8	58,75	1,5	77,25	0
9	77,5	0,5	79	0
10	75,75	0,5	67,5	0,5
Summa	788,5	15	631,75	19

Imidaklopid hade en mycket stor effekt på bladluspopulationerna i alla behandlingar där ämnet tillsattes, med en genomsnittlig reduktion av bladluspopulationer på 98,1% i en jämförelse med obehandlade kontrollplantor. Detta kan jämföras med de 19,9 % av bladluspopulationen som dog på plantorna behandlade med *C. carnea*. Mellan behandlingarna med Imidaklopid (98,1 %) och de med Imidaklopid samt *C. carnea* (97,6 %) skiljde sig behandlingarnas effektivitet med 0,5 %. I T-testet mellan obehandlade plantor och plantor behandlade med *C. carnea* (tabell 1) fick vi ett P-värde på 0,356, vilket visar att det inte finns någon signifikant skillnad i överlevnad mellan *M. persicae* hos kontrollplantorna jämfört med de behandlade med *C. carnea*. Detta trots att det vid första anblicken ser ut att vara tillräcklig skillnad för ett signifikant resultat.

Tabell 2. ANOVA med Obehandlad och imidaklopridbehandlad *M.persicae* Se bilaga för ytterligare information.

Source	DF	SS	MS	F	P
Imidakloprid	6	19354,6	3225,8	36,10	0,007
Error	3	268,1	89,4		
Total	9	19622,6			
S = 9,453 R-Sq = 98,63% R-Sq(adj) = 95,90%					

I ett ANOVA- test mellan obehandlade och plantor med både imidakloprid och *C.carnea* kunde ett P-värde på 0,007 utläsas. Detta visar att det är en signifikant skillnad i överlevnad hos *M. persicae* mellan behandling och kontroll. (Se tabell 2).

Tabell 3. T-test Obehandlad *M. persicae* mot *M. persicae* behandlad med *C. carnea*.

Two-sample T for Obehandlad vs C. carnea				
	N	Mean	StDev	SE Mean
Obehandlad	10	78,8	46,7	15
C. carnea	10	63,2	23,7	7,5
Difference = mu (Obehandlad) - mu (C. carnea)				
Estimate for difference: 15,7				
95% CI for difference: (-19,1; 50,5)				
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 0,95 P-Value = 0,356 DF = 18				
Both use Pooled StDev = 37,0352				

I T-testet där vi jämför Obehandlad med imidakloprid får vi ett P-värde som är 0,000. Detta visar att behandling med imidakloprid ger än klart försämrade levnadsmiljö för *M. persicae* jämfört med obehandlade plantor. Se tabell 4.

Tabell 4. T-test obehandlad *M. persicae* mot imidaklopridbehandlad *M. persicae*.

Two-sample T for Obehandlad vs Imidakloprid				
	N	Mean	StDev	SE Mean
Obehandlad	10	78,8	46,7	15
Imidakloprid	10	1,50	1,02	0,32
Difference = mu (Obehandlad) - mu (Imidakloprid)				
Estimate for difference: 77,3				
95% CI for difference: (46,3; 108,4)				
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = 5,24 P-Value = 0,000 DF = 18				
Both use Pooled StDev = 33,0253				

Dessutom genomfördes ett T-test mellan *C. carnea* och Imidakloprid där signifikansen visade sig vara betydande (se tabell 5).

Tabell 5. T-test imidaklopridbehandlad *M. persicae* mot *M. persicae* behandlad med *C. carnea*.

Two-sample T for Imidakloprid vs C carnea				
	N	Mean	StDev	SE Mean
Imidakloprid	10	1,50	1,02	0,32
C carnea	10	63,2	23,7	7,5
Difference = mu (Imidakloprid) - mu (C carnea)				
Estimate for difference: -61,67				
95% CI for difference: (-77,45; -45,90)				
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -8,21 P-Value = 0,000 DF = 18				
Both use Pooled StDev = 16,7922				

I T-testet mellan imidakloprid och imidakloprid + *C. carnea* fanns det ingen signifikant skillnad mellan behandlingarna. Detta resultat är inte förvånande då imidaklopridbehandlingarna inte bör skilja sig (se tabell 6).

Tabell 6. T-test imidaklopridbehandlad *M. persicae* mot *M. persicae* behandlad med imidakloprid och *C. carnea*.

Two-sample T for imidakloprid vs Imidakloprid+ C. carnea				
	N	Mean	StDev	SE Mean
imidakloprid	10	1,50	1,02	0,32
Imidakloprid+ C. carnea	10	1,90	2,23	0,71
Difference = mu (imidakloprid) - mu (Imidakloprid+ C. carnea)				
Estimate for difference: -0,400				
95% CI for difference: (-2,030; 1,230)				
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -0,52 P-Value = 0,612 DF = 18				
Both use Pooled StDev = 1,7345				

3.2 *Chrysoperla carnea*

Tabell 7. Återfunna *C. carnea* efter genomfört experiment.

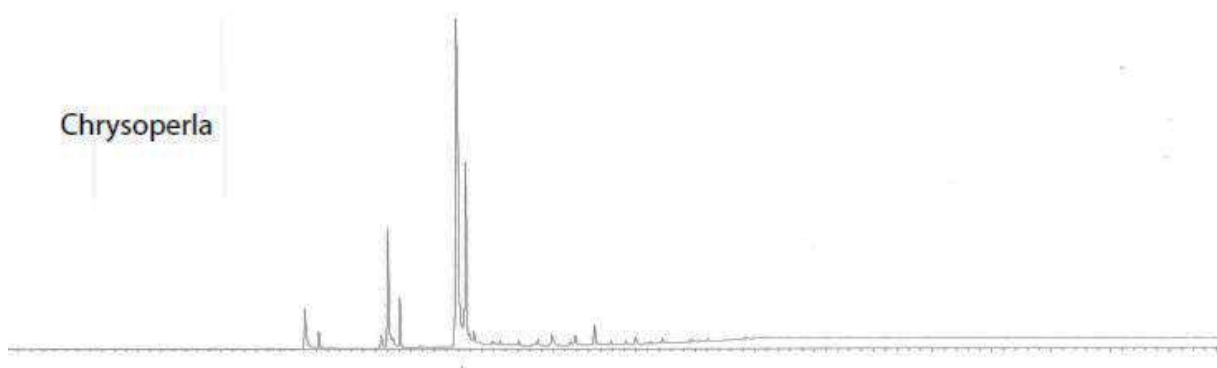
Återfunna <i>C. carnea</i>		
Grupp:	Behandlad	Obehandlad
Antal larver:	5	6
g/larv:	0,00382	0,00841
	0,00268	0,00437
	0,00512	0,00529
	0,00091	0,0077
	0,00078	0,00834
		0,00772
Total torrsvikt (g):	0,01331 g	0,04183 g
Medelvikt (g/ larv):	0,002662	0,006971667

Någon rimlig jämförelse på populationsstorlekarna av *C. carnea* på imidaklopidbehandlade respektive obehandlade plantor kunde inte göras, då endast en mycket liten andel larver kunde återfinnas (Tabell 7). I slutavläsningstillfället mellan de återfunna *C. carnea* larverna observerades emellertid en tydlig storleksskillnad. De larver som återfanns på behandlade plantor hade en markant mindre storlek. Efter vägning av samtliga individer kunde misstankarna bekräftas och efter utfört T-test intygades det att resultatet var signifikant (se tabell 8).

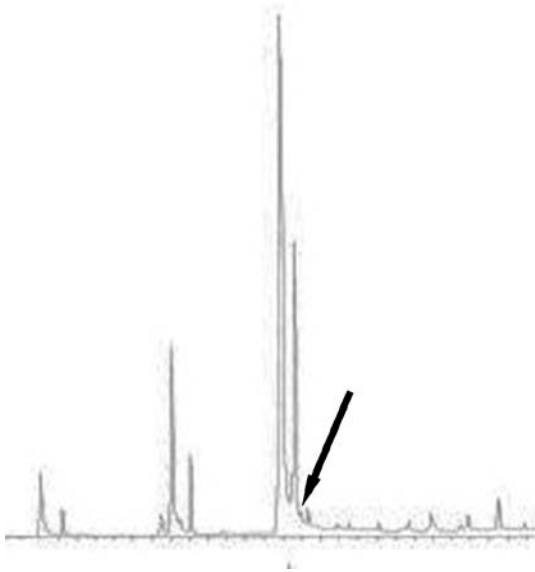
Tabell 8. T-test, jämförelse mellan behandlad och obehandlad *C. carnea*.

Two-Sample T-Test and CI: Behandlad; Obehandlad				
Two-sample T for Behandlad vs Obehandlad				
	N	Mean	StDev	SE Mean
Behandlad	5	0,00266	0,00187	0,00084
Obehandlad	6	0,00697	0,00171	0,00070
Difference = mu (Behandlad) - mu (Obehandlad)				
Estimate for difference: -0,00431				
95% CI for difference: (-0,00682; -0,00180)				
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -3,96 P-Value = 0,004 DF = 8				

En av de återfunna *C. carnea* larverna som fått leva på plantor behandlade med imidaklopid kördes i gaskromatografen. I detta fall kunde en mycket liten topp detekteras på 211. Detta innebär att ämnet tagits upp av predatoren och finns kvar i mycket små mängder i djuret (se figur 4 och 5).



Figur 4. GC-körning med imidaklopidbehandlad *C. carnea*. Litet imidaklopidutslag kan ses.



Figur 5. Pilen pekar på imidakloprid utslaget i *C. carnea*.

3.3 *Spodoptera littoralis*

Till skillnad från bladlössen verkade inte larverna av *S. littoralis* påverks nämvärt av imidakloprid, trots att de konsumerade stora delar av såväl behandlade som obehandlade plantor (se bild 3).



Bild 3. Imidaklopridbehandlad planta kaläten av *S. littoralis*.

Totalt antal utplacerade larver uppgick till 40 individer vid försökets början. Vid slutavläsning återfanns 70 - 87,5 % av larverna i de olika grupperna. Det gick inte att finna någon signifikant skillnad mellan återfunna larver i de olika grupperna (se tabell 9).

Vid jämförelse av medelvikten hos *S.littoralis* som varit behandlade med både imidaklopid och *C.carnea* och de plantor som bara varit behandlade med *C.carnea* fick vi P-värdet 0.048 (se tabell 10). Då P-värdet understiger 5 procent vid jämförelsen mellan dessa grupper kan vi konstatera att det är signifikant sämre för *S. littoralis* att leva i en miljö med endast *C.carnea* jämfört med en miljö innehållande både *C.carnea* och imidaklopid.

Tabell 9. Viktfördelningen mellan de olika behandlingarna.

Grupp	Antal återfunna larver/ grupp	Totalvikt (g/grupp)	Medelvikt (g/larv)
Spodoptera + Imidaklopid +Chr	28	15,091	0,561
Spodoptera + Chrysoperla	35	16,934	0,491
Spodoptera + Imidaklopid	32	14,179	0,461
Obehandlad	32	19,198	0,621

Tabell 10. P-värden vid jämförelse av medelvikten mellan de olika behandlingarna.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C	1	0.00220	0.00220	0.00220	0.07	0.791
I	1	0.02029	0.02029	0.02029	0.65	0.424
C*I	1	0.13052	0.13052	0.13052	4.21	0.048

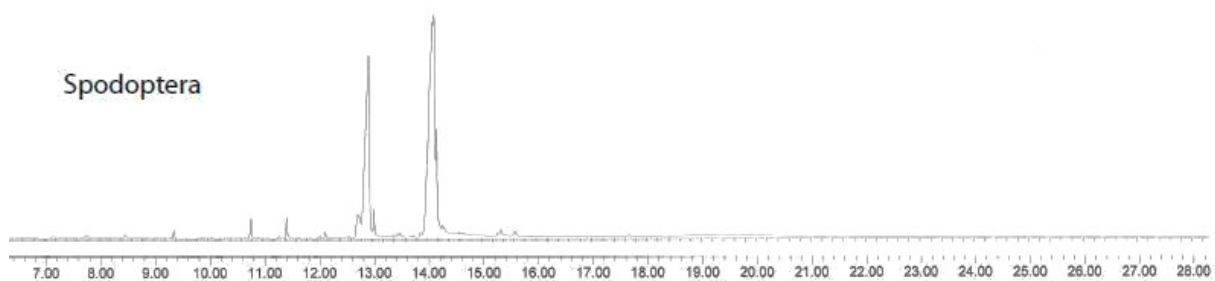
Vi kan, då P-värdet överstiger 5 procent i de andra jämförelserna varken bekräfta eller dementera att imidaklopid eller *C. carnea* var för sig skulle ha negativ effekt på tillväxt och överlevnad hos *S. littoralis*.

Jämförelsen mellan de olika grupperna med avseende på antalet återfunna larver med hjälp av ett envägs ANOVA test fick vi ett P-värde som ligger klart över gränsen på 5 procent, därför kan vi dra slutsatsen att det inte finns någon signifikant skillnad i överlevnad mellan de olika grupperna (se tabell 11). Detta styrker vårt resultat att varken *C. carnea* eller imidaklopid har en direkt synlig effekt på *S. littoralis*.

Tabell 11. Envägs ANOVA över de återfunna larverna

One-way ANOVA: sp, lm; Sp; sp, chr; sp,lm,chr					
Source	DF	SS	MS	F	P
Factor	3	2,475	0,825	1,17	0,333
Error	36	25,300	0,703		
Total	39	27,775			
S = 0,8383 R-Sq = 8,91% R-Sq(adj) = 1,32%					

Ett flertal av de larver som återfanns homogeniserades och kördes i gaskromatografen. Detta eftersom vi tyvärr blandat ihop de båda behandlingsgrupperna. Diagrammet visar att ingen av de homogeniserade larverna innehöll spår av imidakloprid (se figur 6).

Figur 6 GC-körning med *S. littoralis*. Ingen imidaklopridtopp återfanns.

3.4 *Bombus terrestris*

3.4.1 Pilotförsök

Tyvärr gav inte experimentet något som helst resultat, men det gav mycket värdefull erfarenhet som användes i de senare experimenten. Se diskussion för mer information.

3.4.2 Valförsök

I den genomförda observationen visade *B. terrestris* ett mycket litet intresse för våra växter över huvud taget. Detta återspeglas i det låga antalet faktiska observationer som gjorts (se tabell 12) trots det relativt långa tidsspannet. Med dessa observationer till grund kan vi konstatera att det inte finns någon skillnad i humlornas beteende. De är lika benägna att besöka en behandlad planta som en obehandlad.

Tabell 12. Observerade humlor som pollinerat eller visat intresse under valförsöket.

Valförsök Humla			
Visat intresse		Pollinerat	
Behandlad	Obehandlad	Behandlad	Obehandlad
2	5	6	7

Denna slutsats stöds av det höga P-värdet på 0,444 som Chi-2 testet ger oss i tabell 13.

Tabell 13. Chi-2 test över valförsök *B. terrestris.*, behandlad och obehandlad.

Chi-Square Test: Behandlad; Obehandlad			
Expected counts are printed below observed counts			
	Behandlad	Obehandlad	Total
1	2	5	7
	2,80	4,20	
	0,229	0,152	
2	6	7	13
	5,20	7,80	
	0,123	0,082	
Total	8	12	20
Chi-Sq = 0,586; DF = 1; P-Value = 0,444			

3.4.3 Tvångsförsök

I denna observation visade humlorna ett större intresse för växterna än tidigare. Trots att humlorna fick stå i kammarna i 8 dagar kunde mycket liten skillnad i dödlighet påvisas. För det första hade vi förväntat oss en mycket högre dödlighet än vad som faktiskt var fallet (se tabell 14).

Tabell 14. Antalet återfunna humlor från respektive kammare efter tvångsförsöken.

Antal återfunna döda humlor		
	Försök 1	Försök 2
Kammare 1	1	0
Kammare 2	2	7
Kammare 3	1	5
Kammare 4	0	5

För att undersöka om det kunde finnas någon skillnad mellan de 2 olika försöken gjordes ett T-test som bevisar att det inte fanns någon skillnad. P-värdet uppgick till 0,127 (Se tabell 15).

Tabell 15. T-test över tvångsförsök med *B. terrestris*.

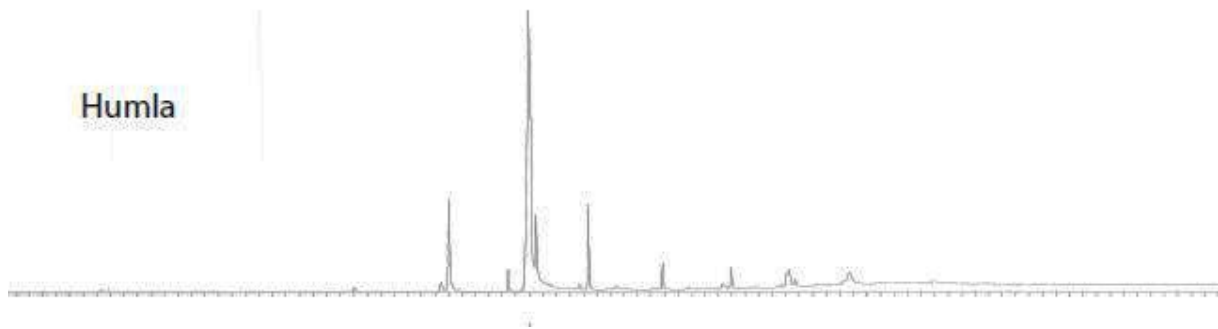
Two-sample T for Försök 1 vs Försök 2				
	N	Mean	StDev	SE Mean
Försök 1	4	1,000	0,816	0,41
Försök 2	4	4,25	2,99	1,5
Difference = mu (Försök 1) - mu (Försök 2)				
Estimate for difference: -3,25				
95% CI for difference: (-8,18; 1,68)				
T-Test of difference = 0 (vs not =): T-Value = -2,10 P-Value = 0,127 DF = 3				

För att se om det fanns någon skillnad mellan i dödligheten mellan de olika behandlingarna gjordes ett ANOVA test. Våra värden gav P-värdet 0,622 mellan de olika behandlingarna. Detta visar att ingen signifikant skillnad i dödlighet hos humlor utsatta för imidaklopid (se tabell 16).

Tabell 16. ANOVA test över tvångsförsök med *B. terrestris*, återfunna döda i respektive kammare, behandlad mot obehandlad.

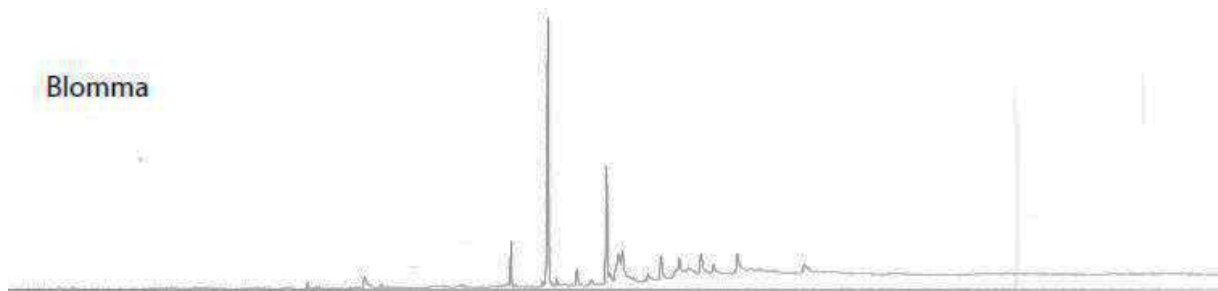
One-way ANOVA: Försök versus kamamre					
Source	DF	SS	MS	F	P
kamamre	3	16,38	5,46	0,65	0,622
Error	4	33,50	8,38		
Total	7	49,88			
S = 2,894 R-Sq = 32,83% R-Sq(adj) = 0,00%					

I figur 7 åskådliggörs ämnesinnehållet i humlor från tvångsförsöket. Humlorna hade uteslutande fått pollinera växter behandlade med imidaklopid. På den plats där ett typiskt imidaklopidmassfragment borde ha funnits (211) saknades detta helt. Alltså kan slutsatsen att det inte finns någon imidaklopid i humlorna dras.



Figur 7. GC-körning med humlor behandlade med imidakloprid. Ingen imidaklopridtopp återfanns.

För att undersöka om det fanns någon imidakloprid i de blommor som humlorna pollinerade kördes en gaskromatografi även på dessa. Inte heller här kunde någon imidaklopridtopp detekteras (se figur 8).



Figur 8. GC-körning av blommor från plantor behandlade med imidakloprid. Ingen imidaklopridtopp återfanns.

4 DISKUSSION

4.1 *Myzus persicae*

De resultat som kom fram i samband med försöken med *M. persicae* leder till att vi drar slutsatsen att imidakloprid är ett mycket effektivare bekämpningsmedel mot *M. persicae* än *C. carnea*. Vi kan också, med stöd av våra data säga att imidakloprid definitivt är ett mycket effektivt bekämpningsmedel mot *M. persicae*.

En viktig faktor som kan ha påverkat våra resultat är den långa transporten som våra bladlöss fick göra. Lössen specialbeställdes från Holland och lagrades därför en längre tid i en frigolitlåda med kylelement. De låg i förpackningar om 2000st på 5 blad. Detta kan ha haft en negativ effekt på bladlusens allmänkondition då det inte fanns någon vidare tillgång på mat.

Detta kan i sin tur ha lett till att det var väldigt stor variation mellan hur många levande löss som hamnade på varje växt.

Växtvalet, *Calibrachoa "Superbells"*, har varit perfekt till denna typ av försök. Denna växt är väldigt omtyckt av vår växtsugare. Just därför kan vi inte utesluta möjligheten att andra stammar har flyttat in och på något sett konkurrerat med våra *M. persicae* då det fanns tydliga tecken på att vissa av våra plantor angreps av bladlöss redan under påskhelgen. Men om detta har någon påverkan på det slutgiltiga resultatet låter vi vara osagt.

4.2 *Chrysoperla carnea*

Det ytterst låga P-värdet på 0,004 (se tabell 7) styrker vår tes att imidaklopriden påverkar de naturliga predatorer som lever i imidaklopridbehandlade bladlöss närhet.

En av de återfunna larverna från en behandlad planta kördes i gaskromatograf. Det resultat vi fick ut bekräftar att ämnet var närvarande. Detta stödjer att det faktiskt är imidaklopridet som har en påverkan.

Det finns, som vi ser det, två teorier som kan förklara varför just *C. carnea* drabbats så hårt av att leva i imidaklopridbehandlad miljö. Den första är att chrysoperlans låga vikt förklaras av svält. Låg tillgång på byten står i direkt förhållande till hur stora predatorerna kan växa sig. På de plantor som behandlats med imidakloprid kunde en markant minskning av mängden bladlöss observeras, och de få bladlöss som levde uppvisade förgiftningssymtom.

En anledning till att vi återfann så få larver kan vara det faktum att inte alla *Chrysoperla*ägg kläcks samtidigt, utan efterhand. *C. carnea* används utav den anledningen som långtidsbekämpning i långa växthuskulturer. Det innebär att den tillsatta matskeden *Chrysoperla*ägg inte kan ge upphov till en specifik mängd larver inom ett så pass kort tidsintervall som våra försök pågick.

Den andra teorin är den att imidaklopriden ackumulerades i *Chrysoperla* likt kvicksilvret ackumulerades i havsörnen. *S. littoralis* som är en växtätare hinner få i sig väldigt mycket växtmaterial innan den får i sig så höga doser att den skulle påverkas, men nästa steg i näringskedjan, *C. carnea* som lever av förgiftade bladlöss, löper en betydligt högre risk att få i sig livshotande mängder. Det faktum att vi har hittat spårbara mängder imidakloprid i *Chrysoperla* stödjer teorin att ämnet ackumulerats, men vi kan inte vara säkra på att det är ämnet som orsakat viktnedgången eller själva svälten.

Toppen som ses i figur 7 hade gärna fått vara större för en tydligare utläsning av ämnet i *C. carnea*. Sådan här problematik kan härledas till att vi faktiskt inte vet vilket lösningsämne som är mest lämpat för imidaklopid och att vi inte vet huruvida gaskromatografi är den mest effektiva metoden för att analysera ämnet.

En problematik som vi stött på i samband med analysen av dessa data är det faktum att imidaklopid påverkar den här typen av biologisk bekämpning negativt, men samtidigt är ämnet mycket effektivare bekämpning mot bladlöss än vad *C. carnea* är. Vi antar att detta speglar hela den debatt som idag finns mellan kemikalieanhängare och förespråkare för naturligare alternativ. Det var tråkigt att se att *C. carnea* i jämförelse med imidaklopid inte ens orkade upp i 50% av skadebekämpningen. Men det skall, och bör, tilläggas att ingen av oss hade någon som helst erfarenhet av *C. carnea* sedan tidigare och detta kan ha påverkat hur behandlingen tog.

4.3 *Spodoptera littoralis*

Resultaten överstämmer inte med de hypoteser vi hade innan försökets början. Vår förväntning var att se kraftigt försämrad tillväxt och överlevnad hos de grupper som blivit behandlade. Den effekt vi har påvisat kan eventuellt härledas till att larverna äter mer i en mer stressad miljö. Vi kan anta att de plantor behandlade med både imidaklopid och *C. carnea* återskapar de levnadsförutsättningar som *S. littoralis* har i sin naturliga levnadsmiljö och att den därför har högre tillväxthastighet.

Vi anser att de resultat som har framkommit i vårt försök med *S. littoralis* är överraskande, med inte helt oväntade. Då larven är en naturlig predator på tobak och därför inte påverkas av det giftiga nikotinet i tobaksplantan kan vi anta att den även har en resistens mot neonikotinoider.

Den dåliga signifikansen är givetvis ett problem och enda sättet att komma ifrån detta hade varit att utföra ett nytt test med fler replikat. Vi hoppas att någon tittar vidare på detta och får klarhet i hur *S. littoralis* reagerar på olika miljöfaktorer.

Efter gaskromatografien kunde inget spår av ämnet utläsas (se figur 8). Detta resultat visar både att ämnet varken har någon effekt eller faktiskt tas upp av larven. Detta finner vi vara mycket egendomligt då vi i bladlusförsöket fann spår av imidaklopid i växtmaterialet som påverkar bladlössen negativt. Då borde en larv som får i sig mångdubbelt mer förgiftad

växtmassa innehålla spårbara mängder imidaklopid, särskilt eftersom *C. carnea* som parasiterat på giftiga bladlöss innehåller imidaklopid.

Men, det finns en liten chans att alla de larver som homogeniserades och kördes i gaskromatografen inte innehöll någon imidaklopid eftersom de kan ha kommit från kontrollgruppen. I samband med vägningen lyckades vi nämligen blanda alla larver, kontroll och behandling i samma låda och det var för sent när vi insåg vårt misstag.

4.4 *Bombus terrestris*

4.4.1 Pilotförsök

Pilotförsökets obefintliga resultat kan härledas till två stora problem: Vår okunskap kring humlornas matvanor och humlornas avsaknad av aktivitet. Men det gav oss stor insikt i dels hur svårt det är att arbeta med djur och även hur vi i våra riktiga försök skulle hantera humlebona. Det finns en rad saker som vi kunde ha gjort bättre, att börja med att ge humlorna en kraftig honungslösning är en av dem. Då vi började med att försöka mata dem med sockerlösning förlorade vi mycket tid och humlorna blev slöa. Dessutom var det ganska kallt i kamrarna i samband med försöket och vi tände inte den extra belysningen förrän det var dags för de riktiga försöken. Även detta kan ha påverkat humlornas aktivitet negativt.

4.4.2 Valförsök

Ingen signifikans kunde spåras i den data som vi fick ut ur valförsöket. Detta kan bero på en rad olika faktorer. En av anledningarna till humlornas ointresse kan vara distraktionen av vildväxande blommande örter som växte utanför växthuset. Så snart luftluckorna gick upp minskade mängden humlor i avdelningen markant. Många humlor tycktes dessutom endast cirkulera i rummet utan att utföra något arbete. Att vi inte såg någon som helst skillnad mellan behandlingarna kan härledas till att vi inte kunde se några spår av imidaklopid i själva blomman vid gaskromatografen. Om det fanns någon imidaklopid i växten så kan det ha varit i så små mängder att humlorna inte känt av det. Ett sätt att komma runt detta problem hade varit att inte tillsätta imidaklopiden så långt innan själva försöket; det kan vara så att ämnet redan hade brutits ned. Vi kunde också ha tillsatt imidaklopiden i högre doser, det är möjligt att en tablett/ planta var för lite för att ge utslag. Men, det skall tilläggas att vi har följt den rekommenderade dosen, vilken var fullt tillräcklig för en i det närmaste total kontroll av bladluspopulationen. Det är i vilket fall som helst glädjande att se att rekommenderad dos inte påverkar de pollinerande insekterna.

4.4.3 Tvångsförsök

Inte heller i denna studie fick vi ut några resultat som pekar mot att imidaklopid skulle ha en skadlig effekt på pollinatörer, trots att de bara fick pollinera de plantor som var behandlade.

En anledning till den dåliga signifikansen på våra värden är de få replikaten. Om denna typ av studie upprepas rekommenderas betydligt fler replikat. Lika så bör man vid sådant tillfälle säkerställa att kamrarna är täta så att humlorna garanterat inte besöker varandra. Antalet växter per kammare anser vi vara tillräckligt då våra plantor var relativt stora, men ett annat växtval hade varit att rekommendera för att minimera risken att humlorna lockas iväg. Ett sådant växtval hade varit *Taraxacum* sect. *Ruderalia* eller någon likande blomma som är lättpollinerad, väldoftande och har hög pollenavkastning.

Våra resultat leder oss till slutsatsen att det inte går att påvisa att imidaklopid skulle ha någon påverkan på överlevnaden hos denna typ av pollinatörer.

Gaskromatografavläsningen tyder på att inga spår av ämnet tagits upp av humlorna (se figur 4), men inte heller av blommorna (se figur 5). Detta leder oss åter igen till slutsatsen att imidaklopid inte påverkar pollinatörerna i en imidaklopidbehandlad växts närhet.

4.5 Allmänna reflektioner

Ett problem vi har stött på under försökens gång är svårigheten att lösa ut imidaklopid. Ämnet är extremt polärt och att använda aceton som lösningsmedel behöver inte vara det mest optimala. Det är tvärtom mycket möjligt att det finns mer lämpade lösningsmedel för imidaklopid, men vi har valt aceton då detta ämne trots allt gav utslag och var lätt handha och få tag på.

Några andra reflektioner som har slagit oss under försökets gång är svårigheten att arbeta med biologiska försök. Det blir sällan som man tänk sig då varken växter eller djur svarar på tilltal eller gör som man vill. Vikten av att ha en reservplan kan inte nog poängteras, allt som kan gå fel kommer också att göra det och ofta på ett sätt som man aldrig kunnat föreställa sig.

Det faktum att ingen av oss har någon konkret erfarenhet av odling av annueller som petunior eller behandling med *C. carnea* sedan tidigare har vi känt att det inte bara har varit försöken som har varit experimentartade, utan även förarbetet så som att driva upp pluggplantorna och hantera skadedjuren har skett under högst experimentartade omständigheter. Det finns nog inga petunior drivna av odlare som någonsin skulle få samma behandling.

4.6 Slutsatser

Är imidaklopid ett effektivt bekämpningsmedel mot persikobladdlus (*Myzus persicae*)?

Ja, imidaklopid är ett mycket effektivt bekämpningsmedel mot *M. persicae*.



Bild 1. Efter avslutade experiment kunde denna tydliga skillnad ses mellan de plantor behandlade med imidaklopid respektive de plantor behandlade med bladlöss. Skillnaden märktes redan efter några dagar.

Påverkas växtätare som inte är målinsekter för imidaklopid av behandlingen? De påverkas säkert av bekämpningsmedlet, men ej tillräckligt mycket för att vi i denna studie skall kunna bevisa det.

Påverkas insekter som är predatorer på bladlöss av behandlingen med imidaklopid? Ja, den naturliga och rekommenderade predatoren *C. carnea* påverkas negativt av kemisk bekämpning med imidaklopid.

Tas imidaklopiden upp av pollinatörer (Humlor)? Nej, inte heller kan vi bevisa att den finns själva blomman och därmed nektarn och på så sätt skulle vara skadlig för pollinatörer.

Om humlan får välja, är den mer benägen att pollinera obehandlade plantor? Nej, ingen signifikans kunde utläsas att humlorna skulle ha en preferens, vilket kan förklaras med ovanstående punkt, att imidaklopidet inte går ut i blomman alls.

4.7 Avslutning

Resultaten från våra undersökningar har inte visat att imidaklopid skulle ha en skadlig effekt på pollinatörer eller växtätare, dock på dess målinsekts naturliga fiende. Att använda ämnet som systemiskt verkande tillskott i trädgård anser vi därför vara olämpligt. För att bibehålla en god biologisk mångfald och gynna en stark population av naturliga predatorer är det att föredra att inte heller skada de nyttodjur som finns i växtens närhet.

5 REFERENSER

Ribeiro M.F., Velthuis H.H.W., Duchateau M.J & Tweel I. van der., (1998), Feeding frequency and caste differentiation in *Bombus terrestris* larvae. Diss: Nederländerna, Utrecht University

Åsberg S. (1995), Stor jordhumla *Bombus terrestris* som pollinerare av tomater i växthus. Växtskyddsblad, SLU, Institutionen för växtskyddsvetenskap

Gentz M C., Murdoch G. & King G. F., (2010), Tandem use of selected insecticides and natural enemies for effective, reduced-risk pest management. *Biological control*, vol. 52, s. 208-215

Colquhoun D., Shelley C., Hatton C., Unwin N. & Sivilotti L., (2003), Nicotinic acetylcholine receptors. *Burger's Medicinal Chemistry*, vol. 2, Drug Discovery and Drug Development, Kapitel 11, s. 357-405

Proença P., H., Castanheira F., Pinheiro J., Monsanto P.V., Marques E.P. & Nuno Vieira D., (2005), Two fatal intoxication cases with imidacloprid: LC/MS analysis, *Forensic Science International*, vol. 153, s.75–80

Nauren R. (1995), Behavior modifying effects of low systemic concentrations of imidacloprid on *Myzus persicae* with special reference to an antifeeding response. *Pesticide science*, vol. 44, s. 145-153

Rogers M.A., Krischik V.A. & Martin L.A., (2006), Effect of soil application of imidacloprid on survival of adult green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), used for biological control in greenhouse. *Biological control*, vol. 42, s. 172-177

Mommaerts V., Platteau G., Boulet J., Sterk G. & Smagghe G., (2008), *Tricoderma*-based biological control agents are compatible with the pollinator *Bombus terrestris*: A laboratory study. *Biological control*, vol. 46, s. 463-466

Tasei J.N., Lerin J. & Ripault G., (2000), Sub-lethal effect of imidacloprid on bumblebees, *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae), during a laboratory feeding test. *Pest management science*, vol. 56, s. 784-788

Lagadic L., Bernart L. & Leicht W., (1993), Topical and oral activities of imidacloprid and cyfluthin against susceptible laboratory strains of *heliotes-virescens* and *Spodoptera-littoralis*. *Pesticide science*, vol. 38, s. 323-328

Frugt og grønt rådgivningen (2004), Billedatlas og ordbog, skade og nytteinsekter i frugttrær, bærbuske og jordbær. Odense, Frugt og grønt rådgivningen. s. 131-134. ISBN: 87-89051-38-6

Pettersson M.L. (2010), Faktablad om växtskydd- trädgård. Skadegörare i växthuskulturer- Biologisk och kemisk bekämpning. SLU. ISSN: 0281-8566

Sandhall Å. (2003), Vänner och fiender i trädgården- Småkryp till nöje, nytta och nackdel. Interpublishing Stockholm. ISBN: 91-86448-44-7

Heyler N., Brown K. & Cattlin N.D., (2003), The royal horticultural society: a colour handbook of biological control in plant protection. Manson publishing. ISBN: 1-874545-28-6

Chauzat, M. P., J. P. Faucon, A. C. Martel, J. Lachaize, N. Cougoule and M. Aubert. 2006. Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. *J. Econ. Entomol.* 99 (2): 253-262

5.1 Elektroniska källor

Capinera J.L., University of Florida (2005), Featured Creatures, hemsida. [online] (11-04-2011)
Tillgänglig: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/aphid/green_peach_aphid.htm [10-2005]

Nationalencyklopedin, hemsida. [online] (08-04-2011) Tillgänglig:
http://www.ne.se/lang/n%C3%A4tvingar?i_h_word=guld%C3%B6gonsl%C3%A4nda [08-04-2011]

Lindesro AB, hemsida. [online] (08-04-2011) Tillgänglig:
<http://lindesro.se/produktblad/chrysoperla.pdf> [15-02-2011]

Lindesro AB, hemsida. [online] (08-04-2011) Tillgänglig:

<http://lindesro.se/produktblad/humlor.pdf> [15-02-2011]

Nedstam B. (2007), Bladlöss i växthus. Jordbruksverket. Tillgänglig:

http://www.sjv.se/download/18.503f0cbf121c38d50598000520/abladl%25C3%25B6ss2_ver10%5B1%5D.pdf [2007]

Bayer Garden, hemsida. [online] (11-04-2011) Tillgänglig:

http://www.bayergarden.se/sv/produkter/vaxtskyddsmedel/provado_insektspinnar.html [2011]

Hörnhems handelsträdgård, hemsida. [online] (12-04-2011) Tillgänglig:

<http://www.hornhems.se/1/1.0.1.0/5/1/> [09-02-2009]

Nationalencyklopedin, hemsida. [online] (12-04-2011) Tillgänglig:

<http://www.ne.se/lang/gaskromatografi> [12-04-2011]

Örebro universitet, hemsida. [online] (12-04-2011) Tillgänglig:

<http://www.oru.se/Forskning/Forskningsmiljoer/miljo/MTM/Forskningslaboratorier-vid-MTM/Gaskromatografi---Masspektrometri-/> [10-11-2009]

Utbildningsstyrelsen Helsingfors, hemsida. [online] (12-04-2011) Tillgänglig:

http://www.edu.fi/laboratorieanalyser/analysmetoder/2_5_gaskromatografi [30-03-2011]

Lindesro AB, hemsida. [online] (13-04-2011) Tillgänglig:

<http://www.lindesro.se/produktblad/chrysoperla.pdf> [15-02-2011]

Moths and Butterflies of Europe and North Africa, hemsida. [online] (13-04-2011)

Tillgänglig: <http://www.leps.it/indexjs.htm?SpeciesPages/SpodoLitto.htm> [03-04-2011]

Växteko, hemsida. [online] (13-04-2011) Tillgänglig:

http://www.vaxteko.nu/html/sll/sjv/utan_serietitel_sjv/UST87-1/UST87-1AV.HTM [1987]

Bestimmungshilfe für die in Europa nachgewiesenen Schmetterlingsarten, hemsida. [online] (13-04-2011) Tillgänglig: http://www.lepiforum.de/cgi-bin/lepiwiki.pl?Spodoptera_Littoralis [20-01-2011]

UK moths, hemsida. [online] (13-04-2011) Tillgänglig: <http://www.ukmoths.org.uk/show.php?bf=2386> [2011]

Article database, hemsida. [online] (24-05-2011) Tillgänglig: <http://www.articlesbase.com/business-articles/uses-of-imidacloprid-837191.html> [24-05-2011]

Termiteweb, hemsida. [online] (24-05-2011) Tillgänglig: <http://www.termiteweb.com/imidacloprid/>

Bilaga 1. Rådata från försöket med *S. littoralis*.

<i>S. littoralis</i> + <i>C. carnea</i>			
Nr	antal	vikt	Medel
1	3	1,793	0,597667
2	3	1,016	0,338667
3	4	1,653	0,41325
4	4	1,212	0,303
5	3	1,888	0,629333
6	4	1,783	0,44575
7	4	2,438	0,6095
8	3	1,544	0,514667
9	3	1,986	0,662
10	4	1,621	0,40525
Total	35	16,934	0,491908

<i>S. littoralis</i> + Imidaklopid + <i>C. carnea</i>			
Nr	Antal	Vikt	Medel
1	4	1,579	0,39475
2	2	1,774	0,887
3	4	2,73	0,6825
4	2	1,395	0,6975
5	4	1,984	0,496
6	2	1,185	0,5925
7	3	1,18	0,393333
8	2	0,602	0,301
9	1	0,668	0,668
10	4	1,994	0,4985
Total	28	15,091	0,561108

<i>S. littoralis</i> + Imidaklopid			
Nr	Antal	vikt	Medel
1	4	1,328	0,332
2	2	1,321	0,6605
3	3	1,515	0,505
4	4	1,026	0,2565
5	3	1,095	0,365
6	3	2,37	0,79
7	3	0,685	0,228333
8	4	1,379	0,34475
9	4	2,38	0,595
10	2	1,08	0,54
Total	32	14,179	0,461708

Obehandlad			
Nr	Antal	Vikt	Medel
1	4	1,801	0,45025
2	3	1,345	0,448333
3	4	2,682	0,6705
4	2	1,697	0,8485
5	4	3,263	0,81575
6	3	2,144	0,714667
7	3	1,871	0,623667
8	2	1,817	0,9085
9	4	1,554	0,3885
10	3	1,024	0,341333
Total	32	19,198	0,621

Bilaga 2. Data från försök med *M. Persicae*, Obehandlade plantor.

Obehandlad	Botten	Mitten	Blomma	Topp	Summa	Medel/ planta
Planta 1:						
Total antal löss	70	6	60	48	184	46
Medel/ område	14	1,2	12	9,6	9,2	
Planta 2:						
Total antal löss	62	72	139	112	385	96,25
Medel/ område	12,4	14,4	27,8	22,4	19,25	
Planta 3:						
Total antal löss	73	55	95	75	298	74,5
Medel/ område	14,6	11	19	15	14,9	
Planta 4:						
Total antal löss	67	50	123	68	308	77
Medel/ område	13,4	10	24,6	13,6	15,4	
Planta 5:						
Total antal löss	107	164	129	403	803	200,75
Medel/ område	21,4	32,8	25,8	80,6	40,15	
Planta 6:						
Total antal löss	61	3	45	30	139	34,75
Medel/ område	12,2	0,6	9	6	6,95	
Planta 7:						
Total antal löss	52	23	61	53	189	47,25
Medel/ område	10,4	4,6	12,2	10,6	9,45	
Planta 8:						
Total antal löss	37	14	90	94	235	58,75
Medel/ område	7,4	2,8	18	18,8	11,75	
Planta 9:						
Total antal löss	36	55	105	114	310	77,5
Medel/ område	7,2	11	21	22,8	15,5	
Planta 10:						
Total antal löss	50	60	112	81	303	75,75
Medel/ område	10	12	22,4	16,2	15,15	

Bilaga 3. Data från försök med *M. Persicae*, Imidaklopridbehandlade plantor.

Imidakloprid	Botten	Mitten	Blomma	Topp	Summa	Medel/ planta
Planta 1:						
Total antal löss	1	1	3	1	6	1,5
Medel/ område	0,2	0,2	0,6	0,2	0,3	
Planta 2:						
Total antal löss	2	0	4	1	7	1,75
Medel/ område	0,4	0	0,8	0,2	0,35	
Planta 3:						
Total antal löss	5	1	2	1	9	2,25
Medel/ område	1	0,2	0,4	0,2	0,45	
Planta 4:						
Total antal löss	0	0	5	2	7	1,75
Medel/ område	0	0	1	0,4	0,35	
Planta 5:						
Total antal löss	0	1	8	6	15	3,75
Medel/ område	0	0,2	1,6	1,2	0,75	
Planta 6:						
Total antal löss	0	0	1	0	1	0,25
Medel/ område	0	0	0,2	0	0,05	
Planta 7:						
Total antal löss	1	1	1	2	5	1,25
Medel/ område	0,2	0,2	0,2	0,4	0,25	
Planta 8:						
Total antal löss	1	0	3	2	6	1,5
Medel/ område	0,2	0	0,6	0,4	0,3	
Planta 9:						
Total antal löss	0	0	0	2	2	0,5
Medel/ område	0	0	0	0,4	0,1	
Planta 10:						
Total antal löss	0	1	1	0	2	0,5
Medel/ område	0	0,2	0,2	0	0,1	

Bilaga 4. Data från försök med *M. Persicae*, plantor behandlade med *C. carnea*.

C. carnea	Botten	Mitten	Blomma	Topp	Summa	Medel/ planta
Planta 1:						
Total antal löss	6	47	84	146	283	70,75
Medel/ område	1,2	9,4	16,8	29,2	14,15	
Planta 2:						
Total antal löss	12	2	28	20	62	15,5
Medel/ område	2,4	0,4	5,6	4	3,1	
Planta 3:						
Total antal löss	16	15	163	79	273	68,25
Medel/ område	3,2	3	32,6	15,8	13,65	
Planta 4:						
Total antal löss	24	26	68	117	235	58,75
Medel/ område	4,8	5,2	13,6	23,4	11,75	
Planta 5:						
Total antal löss	23	74	172	144	413	103,25
Medel/ område	4,6	14,8	34,4	28,8	20,65	
Planta 6:						
Total antal löss	8	10	122	52	192	48
Medel/ område	1,6	2	24,4	10,4	9,6	
Planta 7:						
Total antal löss	8	17	108	41	174	43,5
Medel/ område	1,6	3,4	21,6	8,2	8,7	
Planta 8:						
Total antal löss	18	37	126	128	309	77,25
Medel/ område	3,6	7,4	25,2	25,6	15,45	
Planta 9:						
Total antal löss	32	54	129	101	316	79
Medel/ område	6,4	10,8	25,8	20,2	15,8	
Planta 10:						
Total antal löss	15	29	116	110	270	67,5
Medel/ område	3	5,8	23,2	22	13,5	

Bilaga 5. Data från försök med *M. Persicae*, Imidaklopid och *C. carnea* behandlade plantor.

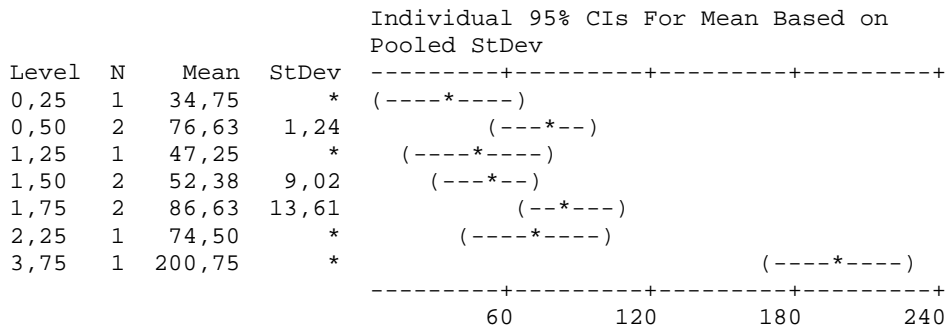
C. carnea + imidaklopid	Botten	Mitten	Blomma	Topp	Summa	Medel/ planta
Planta 1:						
Total antal löss	4	1	5	6	16	4
Medel/ område	0,8	0,2	1	1,2	0,8	
Planta 2:						
Total antal löss	5	1	3	8	17	4,25
Medel/ område	1	0,2	0,6	1,6	0,85	
Planta 3:						
Total antal löss	0	0	4	1	5	1,25
Medel/ område	0	0	0,8	0,2	0,25	
Planta 4:						
Total antal löss	0	0	0	2	2	0,5
Medel/ område	0	0	0	0,4	0,1	
Planta 5:						
Total antal löss	0	0	7	19	26	6,5
Medel/ område	0	0	1,4	3,8	1,3	
Planta 6:						
Total antal löss	0	0	0	2	2	0,5
Medel/ område	0	0	0	0,4	0,1	
Planta 7:						
Total antal löss	2	2	1	1	6	1,5
Medel/ område	0,4	0,4	0,2	0,2	0,3	
Planta 8:						
Total antal löss	0	0	0	0	0	0
Medel/ område	0	0	0	0	0	
Planta 9:						
Total antal löss	0	0	0	0	0	0
Medel/ område	0	0	0	0	0	
Planta 10:						
Total antal löss	0	0	2	0	2	0,5
Medel/ område	0	0	0,4	0	0,1	

Bilaga 5 ANOVA *M. persicae*.

Jämförelse mellan imidaklopridbehandlad och obehandlad.

Source	DF	SS	MS	F	P
Imidakloprid	6	19354,6	3225,8	36,10	0,007
Error	3	268,1	89,4		
Total	9	19622,6			

S = 9,453 R-Sq = 98,63% R-Sq(adj) = 95,90%



Pooled StDev = 9,45

Grouping Information Using Fisher Method

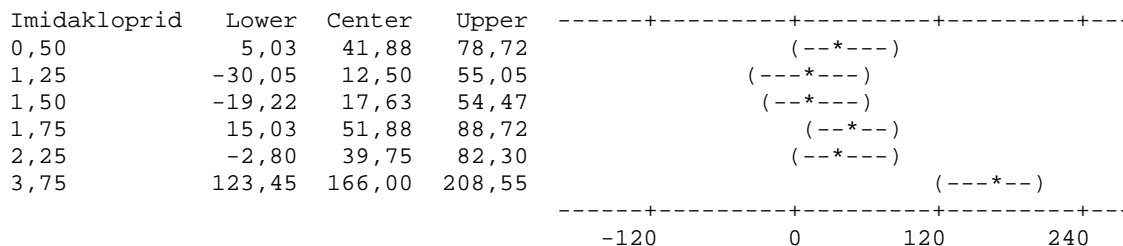
Imidakloprid	N	Mean	Grouping
3,75	1	200,75	A
1,75	2	86,63	B
0,50	2	76,63	B C
2,25	1	74,50	B C D
1,50	2	52,38	C D
1,25	1	47,25	C D
0,25	1	34,75	D

Means that do not share a letter are significantly different.

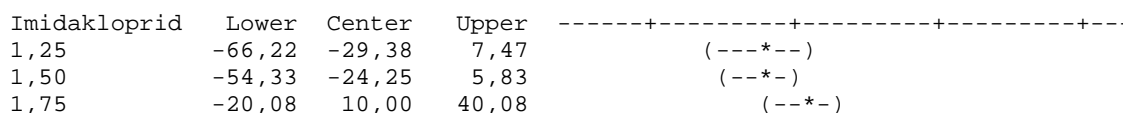
Fisher 95% Individual Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Imidakloprid

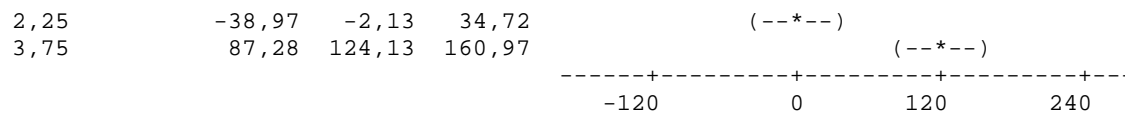
Simultaneous confidence level = 76,22%

Imidakloprid = 0,25 subtracted from:

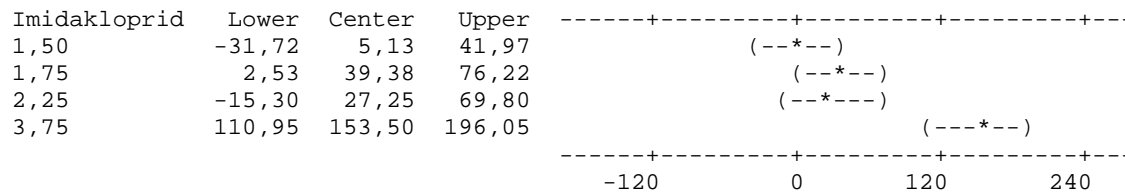


Imidakloprid = 0,50 subtracted from:

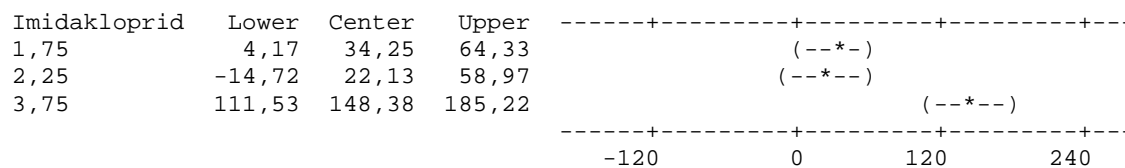




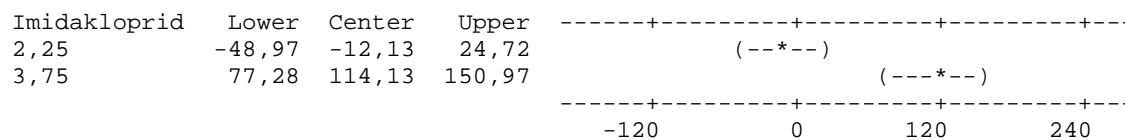
Imidakloprid = 1,25 subtracted from:



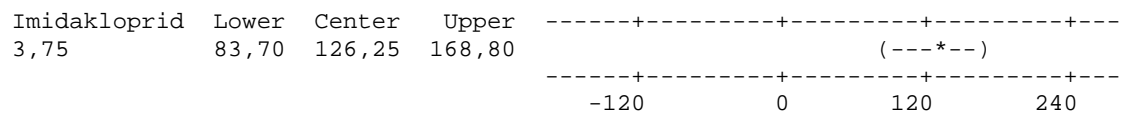
Imidakloprid = 1,50 subtracted from:



Imidakloprid = 1,75 subtracted from:



Imidakloprid = 2,25 subtracted from:



Bilaga 6. ANOVA mellan behandlad och obehandlad grupp i tvångsförsöken.

One-way ANOVA: Försök versus kamamre

Source	DF	SS	MS	F	P
kamamre	3	16,38	5,46	0,65	0,622
Error	4	33,50	8,38		
Total	7	49,88			

S = 2,894 R-Sq = 32,83% R-Sq(adj) = 0,00%

Individual 95% CIs For Mean Based on Pooled StDev

Level	N	Mean	StDev	CI
1	2	0,500	0,707	(-----*-----)
2	2	4,500	3,536	(-----*-----)
3	2	3,000	2,828	(-----*-----)
4	2	2,500	3,536	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
-4,0 0,0 4,0 8,0

Pooled StDev = 2,894

Grouping Information Using Tukey Method

kamamre	N	Mean	Grouping
2	2	4,500	A
3	2	3,000	A
4	2	2,500	A
1	2	0,500	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of kamamre

Individual confidence level = 98,48%

kamamre = 1 subtracted from:

kamamre	Lower	Center	Upper	CI
2	-7,787	4,000	15,787	(-----*-----)
3	-9,287	2,500	14,287	(-----*-----)
4	-9,787	2,000	13,787	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
-8,0 0,0 8,0 16,0

kamamre = 2 subtracted from:

kamamre	Lower	Center	Upper	CI
3	-13,287	-1,500	10,287	(-----*-----)
4	-13,787	-2,000	9,787	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
-8,0 0,0 8,0 16,0

kamamre = 3 subtracted from:

kamamre	Lower	Center	Upper	CI
4	-12,287	-0,500	11,287	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
-8,0 0,0 8,0 16,0

Grouping Information Using Fisher Method

kamamre	N	Mean	Grouping
2	2	4,500	A
3	2	3,000	A
4	2	2,500	A
1	2	0,500	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Fisher 95% Individual Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of kamamre

Simultaneous confidence level = 84,70%

kamamre = 1 subtracted from:

kamamre	Lower	Center	Upper	
2	-4,035	4,000	12,035	-----+-----+-----+-----+-- (-----*-----)
3	-5,535	2,500	10,535	(-----*-----)
4	-6,035	2,000	10,035	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----+-- -6,0 0,0 6,0 12,0

kamamre = 2 subtracted from:

kamamre	Lower	Center	Upper	
3	-9,535	-1,500	6,535	-----+-----+-----+-----+-- (-----*-----)
4	-10,035	-2,000	6,035	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----+-- -6,0 0,0 6,0 12,0

kamamre = 3 subtracted from:

kamamre	Lower	Center	Upper	
4	-8,535	-0,500	7,535	-----+-----+-----+-----+-- (-----*-----)
				-----+-----+-----+-----+-- -6,0 0,0 6,0 12,0