

Jolanta KOWALSKA¹ i Dariusz DROŻDŻYŃSKI²

SPINOSAD JAKO INSEKTYCYD W ROLNICTWIE EKOLOGICZNYM - MOŻLIWOŚCI STOSOWANIA I MONITORING POZOSTAŁOŚCI

SPINOSAD AS INSECTICIDE IN ORGANIC FARMING - POSSIBILITIES OF USING AND MONITORING OF RESIDUES

Abstrakt: System rolnictwa ekologicznego wymaga stosowania ściśle określonych zasad produkcji roślinnej i zwierzęcej. Zostały one zawarte w unijnych i krajowych aktach prawnych. Spinosad nie znalazł się w Załączniku IIB Rozporządzenia (EWG) nr 2092/91 z dnia 24 czerwca 1991, w którym ujęto dozwolone substancje do ochrony upraw ekologicznych. W 2008 roku na mocy Rozporządzenia (EU) nr 404/2008 spinosad został wpisany do wspomnianego Załącznika IIB. Dotychczas w Polsce spinosad był stosowany głównie do zwalczania szkodników w szklarniowych uprawach roślin ozdobnych oraz wybranych szkodników w uprawach sadowniczych i warzywniczych. W krajach europejskich jego zastosowanie jest znacznie szersze. W artykule zamieszczono dane dotyczące możliwości stosowania spinosadu, który jest stosunkowo bezpieczny (z wyjątkiem pszczoł i trzmieli) dla owadów pożytecznych. Charakteryzuje się szerokim zakresem możliwości stosowania, wykazuje jedynie ograniczoną skuteczność w stosunku do niektórych gatunków chrząszczy, szkodliwych owadów ssących, siatkoskrzydłych oraz roztoczy. Uważa się, że spinosad jest produktem ulegającym szybkiej degradacji pod wpływem promieniowania słonecznego, jednak w najnowszej literaturze pojawiły się doniesienia o wykryciu w produktach żywnościowych jego pozostałości. W celu monitorowania jego pozostałości był on (suma spinosynu A i spinosynu D) ekstrahowany z próbek gleb mieszaniną acetonitylu i wody oraz oczyszczany z wykorzystaniem ekstrakcji ciecz-ciecz na kolumnkach Chem-Elut. Natomiast z materiału roślinnego ekstrakcję spinosadu przeprowadzono metodą QuEChERS. Następnie badane związki oznaczano metodą ultrasprawną chromatografię cieczową z detekcją na tandemowym detektorze mas (RP-UPLC-MS/MS). Odzyski z próbek wzbogaconych dodatkiem standardu analitycznego spinosadu (średnia z sumy spinosynu A i spinosynu D) na poziomie 0,01 mg kg⁻¹ wyniosły 93,2 i 99,8% odpowiednio dla gleby i materiału roślinnego (pomidory). Dolna granica oznaczalności dla spinosynu A i spinosynu D została ustalona na poziomie 0,01 mg kg⁻¹ dla obu typów materiałów.

Słowa kluczowe: spinosad, rolnictwo ekologiczne, zwalczanie szkodników, monitoring pozostałości

Rolnictwo ekologiczne jest promowane w różnorodny sposób, również poprzez wspieranie finansowe. Znalazło to swoje odbicie w Programach Rozwoju Obszarów Wiejskich przygotowanych na lata 2004-2006 oraz 2007-2013. Poprzez realizację programu rolnośrodowiskowego dotyczącego pakietu „Rolnictwo ekologiczne” polscy rolnicy mogą otrzymać pieniądze unijne. Dotacja taka jest przygotowana dla tych producentów rolnych, którzy, produkując, nie wpływają ujemnie na stan środowiska przyrodniczego. Przystąpienie do ekologicznego systemu produkcji rolniczej zobowiązuje producentów do przestrzegania zasad, które są zawarte w Rozporządzeniu EWG nr 2092/91 w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych. Krajowe ustawodawstwo również odwołuje się do tego aktu. W 2009 roku weszły znowelizowane akty prawne uchylające wspomniane Rozporządzenie (EWG) nr 2092/91 (obowiązuje Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r.) oraz wkrótce zaczną

¹ Zakład Metod Biologicznych i Kwarantanny

² Zakład Badania Pozostałości Środków Ochrony Roślin

Instytut Ochrony Roślin - Państwowy Instytut Badawczy, ul. Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań, tel. 061 864 90 77, email: J.Kowalska@ior.poznan.pl

obowiązywać kompensacyjna polska Ustawa o rolnictwie ekologicznym. Rozporządzenie (WE) nr 834/2007 zawiera m.in. zasady ekologicznej produkcji roślinnej, zwierzęcej, przetwórstwa produktów ekologicznych oraz pozyskiwania surowców naturalnych ze stanowisk dziko rosnących. Przepisy wykonawcze do tegoż Rozporządzenia zawarto w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 889/2008. Zawiera ono trzynaście załączników. W drugim wymienione są dozwolone do produkcji pestycydy. Jest to lista, która również podlega pewnym zmianom, odzwierciedlającym aktualny stan badań. W 2008 roku został na tę listę wpisany spinosad, który dotychczas był jedynie rekomendowany przez IFOAM (Międzynarodowa Federacja Rolnictwa Ekologicznego). Umieszczenie spinosadu w Zał. IIB Rozporządzenia (EWG) nr 2092/91 stwarza znacznie większe możliwości ochrony upraw ekologicznych, gdyż spinosad charakteryzuje się szerokim spektrum podatnych na niego owadów.

Charakterystyka chemiczna i sposób działania spinosadu

Spinosad jest produktem procesu fermentacji bakteryjnej mikroorganizmów *Saccharopolyspora spinosa* (*Actinomycetes*) należących do promieniowców, których budowa jest czymś pośrednim pomiędzy bakteriami i grzybami. Ze względu na chemiczną budowę spinosadu jest on zaliczany do makrocyklicznych laktonów, A:D 65-69:35-5, jako II-rzędowy metabolit grzyba [1].

W skład spinosadu wchodzi dwa metabolity-makrocykliczne laktony: spinosyn A i spinosyn D o wzorach sumarycznych $C_{41}H_{65}NO_{10}$ + $C_{42}H_{67}NO_{10}$ [2].

Spinosad wykazuje działanie wgłębne na roślinach, jako substancja owadobójcza działa kontaktowo i przede wszystkim żołądkowo. Ze względu na specyfikę działania w organizmie owada zaliczany jest do insektycydów blokujących kanały chlorkowe związane z receptorami kwasu gamaaminomasłowego GABA - fenylopirazole. GABA występuje w układzie nerwowym owada jako mediator hamujący rozprzestrzenianie się bodźca w neuronie odbiorczym. Insektocydy, ingerując w wiązania GABA do synaptycznego receptora, zakłócają tym samym proces przenikanie jonów chloru. Wynikiem tego jest hamowanie potencjałów postsynaptycznych, a końcowym efektem paraliż szkodnika [3].

Charakterystyka biologiczna spinosadu

Spinosad jest stosowany w ochronie upraw od 1990 roku. Ponad 200 różnych gatunków roślin uprawnych jest chronionych tą substancją. Z powodzeniem jest wykorzystywany do zwalczania szkodników z rzędu Lepidoptera (motyle), szczególnie gąsienic *Heliothis virescens* (szkodnik tytoniu), *Helicoverpa zea* (szkodnik bawełny), *H. armigera*, z rodziny sówkowatych (*Spodoptera* spp.) i zwojkowatych (*Tortricidae* spp., np. owocówka jabłkowiec, owocówka śliwkowiec) [4-6]. Inne badania potwierdzają jego skuteczność również w stosunku do motyli [7] oraz chrząszczy [8]. Z sukcesem zwalcza muchy (*Musca domestica*) [9], szarańczaki (*Locusta* spp.) [10], pchełki (*Phyllotreta* spp.) [11], szkodniki magazynowe [12] oraz szkodniki zbóż (*Oulema* spp.).

Niektóre gatunki owadów wykazują zróżnicowaną wrażliwość na spinosad, np. pluskwiaki i chrząszcze roślinożerne. Możliwość ich zwalczania istnieje jedynie w czasie ich wczesnych stadiów larwalnych, kiedy to larwy konsumują duże ilości pokarmu

roślinnego. Spinosad wykazuje bardzo niewielki efekt dla roztoczy oraz szkodników o ssącym aparacie gębowym [13-15].

Zaletą tej substancji jest to, że prawdopodobieństwo nabycia przez owady odporności na te insektycydy jest niewielkie. Na przykład, w przypadku stonki ziemniaczanej i spinosadu wykazano, że mechanizmy odpowiadające u niej za nabycie odporności są inne w przypadku spinosadu niż w przypadku insektycydów zawierających imidachloprid czy innych insektycydów z grupy neonicotynoidowych [16]. Stonka ziemniaczana jest podmiotem badań dotyczących wykorzystania spinosadu w rolnictwie ekologicznym, gdzie jest ekonomicznie ważnym szkodnikiem. Uzyskane rezultaty są zadowalające [17-20].

Trwałość spinosadu w środowisku

Spinosad jest szybko degradowany poprzez działanie promieni słonecznych. Okres półtrwania spinosynu A wynosi od 1,6 do 16 dni w zależności od natężenia światła słonecznego. W sytuacji całkowitego braku nasłonecznienia okres półtrwania spinosynu A i D może wynosić co najmniej 200 dni. Po zastosowaniu spinosadu do wody zaobserwowano niewielki efekt hydrolizy i możliwość przetrwania tej substancji, natomiast po zastosowaniu spinosadu do wody poddawanej nasłonecznieniu występuje fotodegradacja. Na temat badań pozostałości tych substancji w jadalnych częściach roślin i glebie oraz dynamiki ich zanikania istnieje skąpa wiedza, dopiero od niedawna zajęto się tym zagadnieniem, gdyż przeważała opinia, że jest to substancja szybko degradowalna i tym samym niemożliwa do wykrycia. W najnowszej literaturze pojawiły się doniesienia o wykryciu w produktach żywnościowych jego pozostałości [21].

Badania pozostałości spinosynu A i spinosynu D, podstawowych składników spinosadu, przeprowadzono dwiema metodami. W badaniach gleby zastosowano ekstrakcję acetonitrylem z wykorzystaniem łaźni ultradźwiękowej, a następnie oczyszczania na kolumnkach ChemElut [22], natomiast w przypadku materiału roślinnego zastosowano metodę QuEChERS [23]. W przypadku matrycy roślinnej metodę w pełni zwalidowano dla pomidorów, truskawek, sałaty i pieczarek. Pozostałości spinosynu A i D oznaczano metodą ultrasprawną chromatografię cieczową z detekcją za pomocą tandemowego detektora masowego. Średnie odzyski dla gleby wzbogaconej standardem spinosadu wyniosły 93,2% z odchyleniem standardowym 7,8%, natomiast dla materiału roślinnego od 98,2% do 103,6% wraz z odchyleniem od 4,1% do 12,4% w zależności od badanej matrycy. Dolna granica oznaczalności dla spinosynu A i D została ustalona na poziomie 0,01 mg/kg dla wszystkich rodzajów materiałów.

Podziękowanie

Praca naukowa finansowana ze środków państwowych na naukę w latach 2007-2010 jako projekt badawczy Nr NN 310 4358 33.

Literatura

- [1] Mertz F.P i Yao R.C.: *Saccharopoly spora spinosa sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still*. Int. J. System. Bacteriol., 1990, **40**, 34-39.
- [2] Anonymus: Spinosad Technical Bulletin. Dow AgroSciences. 1997, 16 pp.
- [3] Salgado V.L.: *Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates*. Pesticide Biochem. Physiol., 1998, **60**, 91-102.

- [4] Anastas P., Kirchoff M. i Williamson T.: *Spinosad - a new natural product for insect control*. Green Chemistry August, 1999, <http://www.rsc.org.greenchem>
- [5] Pluciennik Z. i Olszak R.W.: *Spinosad w zwalczaniu niektórych szkodników w sadach*. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 2005, **45**, 1004-1008.
- [6] Thompson G. i Hutchins S.: *Spinosad - a new class of fermentation derived insect control agents*. Pesticide Outlook, 1999, **10**(12), 78-81.
- [7] Hines R.L. i Hutchison W.D.: *Evaluation of action thresholds and spinosad for lepidopteran pest management in Minnesota cabbage*. J. Econom. Entomol., 2001, **94**(1), 190-196.
- [8] Galvan T.L., Koch R.L. i Hutchison W.D.: *Toxicity of indoxacarb and spinosad to the multicolored Asian lady beetle, Harmonia axyridis, via three routes of exposure*. Pest. Manage. Sci., 2006, **62**(9), 797-804.
- [9] Scott J.G.: *Toxicity of spinosad to susceptible and resistant strains of house flies, Musca domestica*. Pesticide Sci., 1998, **54**, 131-133.
- [10] Amarasekare K.G. i Edelson J. V.: *Effect of temperature on efficacy of insecticides to differential grasshopper (Orthoptera: Acrididae)*. J. Econom. Entomol., 2004, **97**, 1595-1602.
- [11] Elliott R., Benjamin M. i Gillott C.: *Laboratory studies of the toxicity of spinosad and deltamethrin to Phyllotreta cruciferae (Coleoptera: Chrysomelidae)*. Canad. Entomol. (Ottawa), 2007, **139**(4), 534.
- [12] Fang L. i Subramanyam B.: *Activity of spinosad against adults of Rhyzopertha dominica (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) is not affected by wheat temperature and moisture*. J. Kansas Entomol. Soc., 2003, **76**, 529-532.
- [13] Thompson G.D., Dutton R. i Sparks T.C.: *Spinosad - a case study: an example from a natural products discovery programme*. Pest Manage. Sci., 2000, **56**, 696-702.
- [14] Cowles R.S. i in.: *Inert formulation ingredients with activity: toxicity of trisiloxane surfactant solutions to twospotted mites*. J. Econ. Entomol., 2000, **93**(2), 180-188.
- [15] Tjosvold S.A. i Chaney W.E.: *Evaluation of reduced risk and other biorational miticides on the control of spider mites (Tetranychus urticae)*. Acta Horticult., 2001, **547**, 93-96.
- [16] Mota-Sanchez D., Hollingworth R.M., Grafius E.J. i Moyer D.D.: *Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the Colorado potato beetles, Leptinotarsa decemlineata (Say)*. Pest. Manage. Sci., 2006, **62**(1), 30-37.
- [17] Pawińska M.: *Skuteczność insektycydów nowej generacji w zwalczaniu stonki ziemniaczanej Leptinotarsa decemlineata (Say)*. Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl., 2007, **47**(1), 340-351.
- [18] Kowalska J.: *Laboratory studies of the activity of spinosad against Leptinotarsa decemlineata (Say) depending on different temperature*. ISOFAR/IFOAM/Organic World Congr. Proceed., Modena 18-20 June 2008, vol. (1), organic crop production: 532-535.
- [19] Kühne S., Kowalska J., Priegnitz U. i Moll E.: *The effect of spinosad on the control of Colorado potato beetle (Leptinotarsa decemlineata Say) in organic farming*. Mitteilungen des Julius Kühn-Institutes. **56**. Deutsche Pflanzenschutztagung, 22-25.09.2008, Kiel, Niemcy.
- [20] Kühne S., Priegnitz U., Ellmer F., Moll E. i Kowalska J.: *Feldversuche zur Wirkung von Spinosad-, Neem- und B.t.t.-Präparaten auf die Regulierung des Kartoffelkäfers (Leptinotarsa decemlineata Say) - 10. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau*. http://orgprints.org/view/projects/int_conf_2009_wita.html
- [21] Thompson D.G., Harris B.J., Buscarini T.M. i Chartrand D.T.: *Fate of spinosad in litter and soils of a white spruce plantation in central Ontario*. Pest. Manage. Sci., 2002, **58**(4), 397-404.
- [22] Drożdżyński D. i Folkman W.: *Determination of metamitron residues in sugar beet plants and soil applying solid-supported liquid-liquid extraction followed by gradient RP-HPLC*. Chem. Anal. (Warsaw), 2006, **51**, 439-446.
- [23] Anastassiades M., Lehota S.J., Stajnbaher D. i Schenck F.J.: *Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "Dispersive Solid-Phase Extraction" for the determination of pesticide residues in produce*. J. Associat. Anal. Community Int., 2003, **86**, 412-431.

SPINOSAD AS INSECTICIDE IN ORGANIC FARMING - POSSIBILITIES OF USING AND MONITORING OF RESIDUES

Abstract: The organic farming requires of strictly defined plant and animal production's rules. All of them are included in both the Polish and European legal acts and in the private standards of organic associations. Spinosad was not included in the Annex IIB of Regulation EWG No. 2092/91, where are listed all substances permitted to use in protection of organic crops. In 2008 year spinosad was added to the mentioned Annex. In Poland spinosad

is used to control only of selected pests in orchards, vegetables and ornamental plants. In the European countries this substance is applied against many others pests. Efficacy of spinosad is different and depends on mode of application and species of pest. In the article are presented data about spectrum of action of spinosad, which is relatively safe for beneficial organisms with exceptions of bees. Spinosad is very promising insecticide against injuries insects, the limited efficacy was observed for some beetles, the sucking insects, the lacewings and the mites, only. This product can be easy degraded by sunlight, but in the newest literature has appeared information on detection of residues of spinosad in food. In order of monitoring of spinosad it was (sum of spinosyn A and spinosyn D) extracted from soil samples using acetonitrile - water mixture and cleaning by solid supported liquid-liquid extraction (SLE, Chem-Elut) and from plant material using QuEChERS method followed by reverse phase ultra performance liquid chromatography analysis with quadrupole mass detection (RP-UPLC-MS/MS). Recoveries for the samples spiked with spinosad at the level of 0.01 mg/kg averaged 93.2 and 99.8% for soil and plant material, respectively. The limit of quantification for spinosyn A and spinosyn D were 0.01 mg/kg for both types of materials.

Keywords: spinosad, organic farming, control of pests, residues monitoring