

Spinosad – badanie podatności na biodegradację w wodzie

Spinosad – ready biodegradability test in water

Streszczenie:

Wstęp

Spinosad jest insektycydem powstającym na skutek fermentacji bakteryjnej, stosowanym w rolnictwie ekologicznym. Opisywany jest jako bezpieczny dla środowiska środek o szerokim zastosowaniu. Jest podatny na fotodegradację, jednak dane na temat jego rozkładu w innych warunkach są wciąż niepełne. Celem badania było określenie podatności spinosadu na biodegradację w wodzie.

Materiały i metody

W doświadczeniu zastosowano metodę manometrycznej respirometrii wg Wytycznej OECD nr 301 F. Badanie prowadzono w ciemności przez 28 dni. Jako inokulum zastosowano osad czynny pochodzący z oczyszczalni ścieków komunalnych w Pszczynie.

Wyniki

Wyniki pokazały brak podatności spinosadu na rozkład w danych warunkach doświadczalnych. Wykazano również brak toksycznego wpływu spinosadu na inokulum bakteryjne.

Wnioski

Dane uzyskane w doświadczeniu wskazują na konieczność dalszych badań tej substancji w bardziej złożonych układach doświadczalnych.

Abstract:

Introduction

Spinosad is an insecticide that is produced as a result of bacterial fermentation and is used in organic farming. It is described as being an environmentally safe insecticide with a wide spectrum of use. Spinosad is fotodegradable but data on its degradation in other conditions are still incomplete. The aim of this study was to determine the ready biodegradability of spinosad in a water environment.

Materials and methods

In this study manometric respirometry was used (according to OECD Guideline No 301 F). The study was conducted in the dark for 28 days. An activated sludge taken from sewage treatment plant in Pszczyna was used as an inoculum.

Results

Results showed that spinosad is not ready biodegradable in water under study conditions. The study also showed no toxicity of spinosad to microbial inoculum.

Conclusion

The data attained during this study shows an necessity for further research under more complex study conditions.

Słowa kluczowe: spinosad, biodegradacja, respirometria manometryczna, inokulum bakteryjne

Keywords: spinosad, biodegradation, manometric respirometry, microbial inoculum

Wstęp

Spinosad jest insektycydem, mieszaniną dwóch makrocyklicznych laktonów: spinozyny A i spinozyny D. Stosowany jest m.in. do zwalczania gąsienic motyli, chrząszczy, much oraz niektórych pluskwiaków [1, 2, 3, 4]. Spinosad

jest produktem procesu fermentacji bakteryjnej mikroorganizmów *Saccharopolyspora spinosa* (*Actinomycetes*), które należą do promieniowców. Insektycyd ten działa kontaktowo oraz drogą pokarmową. Wykazuje działanie wgłębne na roślinach. Spinosad posiada dwa mechanizmy działania: wpływa na kanały chlorkowe związane

z receptorami kwasu gammaaminomasłowego (GABA), powodując zmniejszenie odpowiedzi neuronów na GABA oraz pobudza nikotynowe receptory cholinergiczne [5, 6]. GABA występuje w układzie nerwowym owada jako mediator hamujący rozprzestrzenianie się bodźca w neuronie odbiorczym, z kolei pobudzenie nikotynowych receptorów cholinergicznych prowadzi do wzbudzenia układu nerwowego owada. Suma tych mechanizmów powoduje mimowolne skurcze mięśni, skrajne wyczerpanie z drżenia, a na końcu paraliż szkodnika [7, 8, 9].

Spinosad w ochronie upraw stosowany jest od 1990 roku. Zaletą spinosadu jest bardzo niskie prawdopodobieństwo nabycia przez owady odporności na ten insektycyd. Od kilku lat spinosad może być stosowany w uprawach ekologicznych [7].

Spinosad szybko rozkłada się pod wpływem działania promieni słonecznych. Po dodaniu tej substancji do wody i wystawieniu na działanie promieni słonecznych następuje jej fotodegradacja. Jeśli spinosad w wodzie nie jest poddany nasłonecznieniu obserwuje się niewielką hydrolizę. Wiedza na temat biodegradacji spinosadu w wodzie i glebie jest niewielka i do tej pory przeważała opinia, że jest to substancja podatna na rozkład, a tym samym niewykrywalna w jadalnych częściach roślin. Jednakże w świetle doniesień o wykryciu pozostałości spinosadu w produktach żywnościowych konieczne są szczegółowe badania jego podatności na degradację [10, 11].

Celem badania było określenie podatności na biodegradację w wodzie preparatu zawierającego w swoim składzie spinosad jako substancję aktywną.

Materiały i metody

Spinosad

Do zbadania podatności na biodegradację w wodzie wybrano jeden z najczęściej stosowanych w Polsce preparatów zawierających spinosad (zawartość substancji aktywnej – 22,8%).

Badanie podatności na biodegradację

W celu określenia podatności badanego preparatu na biodegradację w wodzie wykorzystano metodę manometryczną według Wytycznej OECD nr 301 F [12]. Metoda ta jest odpowiednia dla bardzo szerokiego spektrum substancji, a z uwagi na ciągłe mieszanie, rozproszenie badanej substancji lub preparatu jest utrzymywane na stałym poziomie przez cały okres badania. Zasada metody jest następująca: w zamkniętych butlach, w stałej temperaturze miesza się przez okres 28 dni zaszczepioną inokulum bakteryjnym, odmierzoną objętość pożywki, zawierającą znane stężenie badanej substancji lub preparatu. Zużycie tlenu jest obliczane albo przez pomiar ilości tlenu, potrzebnego do utrzymania stałej objętości gazu w butli

respirometru, albo przez zmiany objętości/ciśnienia w aparacie. Uwalniający się podczas badania CO₂ jest pochłaniany przez pochłaniacz (np. 45% roztwór wodorotlenku potasu). Ilość tlenu, która jest pobrana przez bakterie podczas biodegradacji substancji/preparatu (skorygowaną o tlen pobrany przez ślepą próbę z inokulum) dzieli się następnie przez zastosowane w doświadczeniu stężenie badanej substancji/preparatu. W ten sposób otrzymuje się wartość biochemicznego zapotrzebowania na tlen (BZT). Rozkład substancji/preparatu wyraża się jako procent teoretycznego zapotrzebowania na tlen (TZT), które oblicza się ze wzoru chemicznego substancji, lub – jeśli jest to mieszanina – jako procent chemicznego zapotrzebowania na tlen (ChZT). Równoległe prowadzone jest takie samo badanie dla substancji referencyjnej, która ma wysoką podatność na biodegradację. W niniejszym badaniu zastosowaną substancją referencyjną był octan sodu.

Osad doświadczalny

Inokulum drobnoustrojów otrzymano z osadu czynnego pochodzącego z oczyszczalni ścieków komunalnych w Pszczynie. Po przewiezieniu osadu do laboratorium był on kilkukrotnie płukany wodą wodociągową i dekantowany. Postępowanie takie eliminuje ewentualne osady mineralne i pozostałości organiczne. Następnie osad w zlewce uzupełniano medium doświadczalnym, które stanowiła pożywka mineralna, do objętości 4,5 dm³, intensywnie mieszano, pozostawiono na 30 minut, po czym ciecz z nad osadu dekantowano i powtarzano ponownie całą procedurę. Po wprowadzeniu medium doświadczalnego do osadu po raz trzeci, całość intensywnie napowietrzano.

Medium doświadczalne

Dla zapewnienia drobnoustrojom właściwego środowiska, sporządzono roztwory podstawowe makro- i mikroelementów (tab.1), z których przygotowano medium do przeprowadzenia doświadczenia. Z przygotowanych roztworów podstawowych makro- i mikroelementów pobrano odpowiednie objętości, które dokładnie wymieszano ze sobą i uzupełniono wodą destylowaną do objętości 1 litra.

Oznaczenie suchej pozostałości osadu

Aby zaszczepić roztwory odpowiednią objętością inokulum należy oznaczyć suchą pozostałość osadu. W tym celu z przygotowanego osadu pobrano próby (3x100 ml) i suszono je w temperaturze 105°C, aż do uzyskania stałej suchej masy. Sucha pozostałość osadu użytego w doświadczeniu wynosiła 286 mg/100 ml.

Przebieg doświadczenia

W badaniu zastosowano 17 butli do oznaczania BZT:

- butle 1-5 zawierały preparat w stężeniu 100 mg/l, inokulum bakteryjne i medium doświadczalne,

- butle 6-10 zawierały octan sodu (substancja referencyjna) w stężeniu 100 mg/l, inokulum bakteryjne i medium doświadczalne
- butle 11-15 zawierały wyłącznie inokulum bakteryjne i medium doświadczalne (próbą ślepa).

Zastosowano również 2 dodatkowe butle zawierające zarówno substancję referencyjną jak i badany preparat w celu zbadania toksycznego wpływu preparatu na inokulum. W kontroli toksyczności substancję referencyjną oraz badany preparat zastosowano w stężeniach 100 mg/l.

Badany preparat oraz octan sodu rozpuszczono w medium doświadczalnym, zmierzono pH roztworów i wprowadzono je do odpowiednich butli do oznaczania BZT. Po osiągnięciu przez wszystkie naczynia temperatury badania, tj. 22°C ich zawartość została zaszczerpiona przygotowanym osadem czynnym tak, aby stężenie cząstek stałych w badanych mieszaninach wynosiło 15 mg/l. Następnie w każdej butli umieszczono mieszadło magnetyczne. Jako pochłaniacz CO₂ zastosowano 45% KOH. W doświadczeniu zastosowano system do ciągłego pomiaru BZT – Sensomat Measurement System firmy AQUALYTIC. Codziennie przeprowadzano kontrolę prawidłowej temperatury oraz wydajności mieszania.

Aby badanie można było uznać za wiarygodne powinny być spełnione następujące kryteria wiarygodności:

- pobieranie tlenu przez ślepa próbę nie powinno być wyższe niż 60 mg/l w ciągu 28 dni badania,
- wartość pH na końcu doświadczenia powinna zawierać się w granicach 6-8,5.

Jeśli wartość pH na końcu doświadczenia nie mieści się w granicach podanych powyżej i jednocześnie zużycie tlenu przez badaną substancję jest mniejsze niż 60% to badanie należy powtórzyć stosując mniejsze stężenie badanej substancji [12].

Oznaczenia azotanów i azotynów

Ponieważ badany preparat zawiera spinosad, w skład którego wchodzi azot, konieczne było wykonanie oznaczenia azotanów i azotynów w 0 i 28 dniu doświadczenia, aby możliwe było skorygowanie ilości pobranego tlenu o tlen pobrany na procesy nitryfikacji. Azotany oznaczono zgodnie z Polską Normą PN-82/C-04576.08. Zasada metody oparta jest na reakcji azotanów znajdujących się w analizowanej próbce z salicylanem sodowym w środowisku stężonego kwasu siarkowego. W reakcji tej powstaje kwas nitrosalicylowy, który po zalkalizowaniu przechodzi w formę zjonizowaną o intensywnie żółtym zabarwieniu. Pomiaru intensywności tego zabarwienia dokonuje się spektrofotometrycznie [13]. Azotyny oznaczono zgodnie z Polską Normą PN-EN 26777. W reakcji azotynów znajdujących się w próbce z 4-aminobenzenosulfonamidem w obecności kwasu ortofosforowego powstaje

różowe zabarwienie. Pomiaru absorbancji dokonuje się przy długości fali wynoszącej 540 nm [14].

Oznaczenie ChZT

Aby obliczyć procent rozkładu badanego materiału należy znać jego TZT. W przypadku preparatów, które oprócz substancji aktywnej zawierają w swoim składzie inne związki, obliczenie TZT może być kłopotliwe. Dlatego do obliczenia procentu rozkładu badanego preparatu zastosowano ChZT. ChZT oznaczono metodą dwuchromianową. Metoda ta polega na określeniu liczby miligramów dwuchromianu potasowego w przeliczeniu na O₂, zużytego na utlenianie związków organicznych i niektórych związków nieorganicznych obecnych w analizowanej próbce. Utlenianie przeprowadza się w środowisku kwasu siarkowego w obecności siarczanu srebra jako katalizatora [15].

Obliczenie stopnia biodegradacji

Według wytycznej OECD [12], aby obliczyć stopień biodegradacji (stopień rozkładu badanej substancji lub preparatu wyrażony procentowo), najpierw należy obliczyć BZT substancji referencyjnej i badanej. BZT oblicza się w następujący sposób: zużycie tlenu w próbce wyrażone w mg tlenu / l koryguje się o tlen pobrany w próbce ślepej i ewentualnie o tlen pobrany na reakcje nitryfikacji (jeśli zachodzą). Wynik dzieli się przez zastosowane stężenie badanej substancji/preparatu. Tak otrzymane BZT dzielone jest przez TZT lub ChZT (jeśli niemożliwe jest obliczenie TZT) i mnożone przez 100 wg wzoru [12]:

$$\% \text{rozkladu} = \frac{BZT (\text{mgO}_2 / \text{mg badanej substancji})}{TZT \text{ lub ChZT } (\text{mgO}_2 / \text{mg badanej substancji})} \cdot 100$$

TZT zostało obliczone dla substancji referencyjnej na podstawie jej wzoru sumarycznego. Dla związku o wzorze: C_hH_{cl}CL_{cl}N_nNa_{na}O_oP_pS_s TZT bez nitryfikacji powinno wynosić:

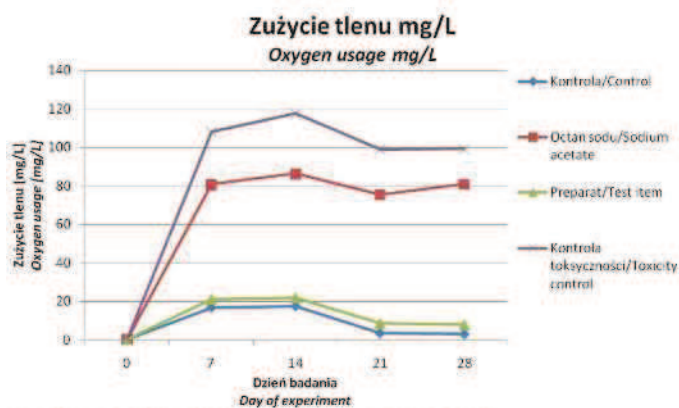
$$TZT_{\text{NH}_4} = \frac{16[2c + 1 / 2(h - cl - 3n) + 3s + 5 / 2p + 1 / 2na - o] \text{ mg / mg}}{M}$$

gdzie M = masa cząsteczkowa

Wyniki i ich omówienie

Kryteria wiarygodności

W przeprowadzonym badaniu spełnione zostały wszystkie wyżej wymienione kryteria wiarygodności. Wyniki pH dla wszystkich badanych próbek przedstawiono w tabeli 2. Średnie zużycie tlenu w 0, 7, 14, 21 i 28 dniu analizy dla badanych próbek przedstawia rycina 1.



Rys. 1. Średnie zużycie tlenu w badanych próbkach w trakcie doświadczenia

Fig. 1. Mean oxygen usage in tested samples during the experiment

Nitryfikacja

Zarówno w dniu 0 jak i w dniu 28 doświadczenia przeprowadzono oznaczenia chemiczne stężenia azotanów i azotynów w roztworach zawierających badany preparat. Analiza wykazała, że w dniu 0 stężenie azotanów wynosiło 0,0356 mg/l, azotyny były nieoznaczalne. W dniu 28 zarówno azotany jak i azotyny były nieoznaczalne, dlatego poprawka na pobieranie tlenu w procesie nitryfikacji została pominięta w obliczeniach.

ChZT i TZT

ChZT dla preparatu oznaczone metodą dwuchromianową wynosiło 0,74 mg tlenu/mg preparatu i taką wartość wykorzystano do obliczenia stopnia biodegradacji. W przypadku substancji referencyjnej posłużono się TZT, które dla octanu sodu wynosi 0,78 mg tlenu/mg substancji referencyjnej. Średnie zużycie tlenu zarejestrowane przez analizator oraz zużycie tlenu dla każdej pojedynczej butli w czasie trwania doświadczenia przedstawia tabela 3.

Rozkład octanu sodu

Octan sodu zastosowany jako substancja referencyjna spełnił kryteria wysokiej podatności na biodegradację [16] i stwierdzono całkowity jego rozkład na końcu doświadczenia.

Średnie BZT dla octanu sodu wynosiło: 0,6396 mg tlenu/mg octanu sodu w 7 dniu doświadczenia, 0,689 mg tlenu/mg octanu sodu w dniu 14, 0,719 mg tlenu/mg octanu sodu w 21 dniu i zrównało się z TZT na końcu doświadczenia, dając 100% rozkład substancji referencyjnej. Badanie wykazało, że rozkład octanu sodu wynosił: 82% w 7 dniu trwania doświadczenia, 88,33% w 14 dniu, 92,18% w 21 dniu oraz 100,00% w ostatnim dniu doświadczenia.

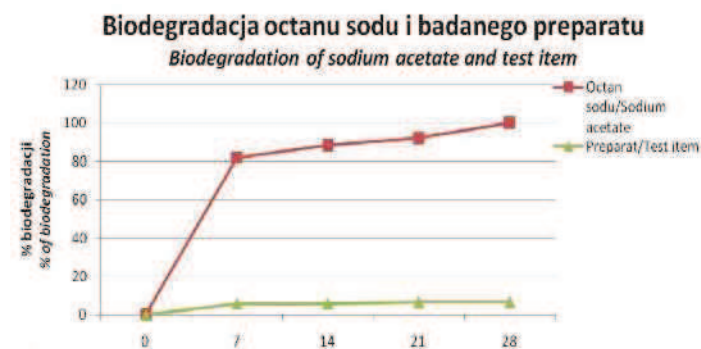
Rozkład i toksyczność spinosadu

Średnie BZT dla badanego preparatu wynosiło: 0,043 mg tlenu/mg preparatu w 7 dniu doświadczenia i odpowied-

nio: 0,044, 0,0502 i 0,05 mg tlenu/mg preparatu w 14, 21 i 28 dniu.

Z kolei rozkład preparatu przedstawiał się następująco: 5,81% po 7 dniach, 5,95% po 14 dniach, 6,78% po 21 dniach i 6,76% po 28 dniach badania. Zaobserwowano, że badany preparat rozkładał się bardzo powoli, a między 21 i 28 dniem doświadczenia jego rozkład osiągnął fazę plateau. Krzywa rozkładu badanego preparatu niewiele zmienia się w czasie 28 dni trwania doświadczenia i praktycznie od samego początku do końca pozostaje na tym samym, niskim poziomie. Od 14 dnia doświadczenia można zaobserwować spadek zużycia tlenu we wszystkich badanych próbkach, co może świadczyć o zamieraniu populacji mikroorganizmów. Kontrola toksyczności nie wykazała toksycznego wpływu preparatu na inokulum (pobór tlenu w butlach oznaczonych jako kontrola toksyczności był większy niż pobór tlenu w butlach z substancją referencyjną), [16].

Krzywą rozkładu octanu sodu i badanego materiału przedstawia rycina 2.



Rys. 2. Procent rozkładu substancji referencyjnej i badanego preparatu w kolejnych dniach badania

Fig. 2. Percent of biodegradation of reference substance and item in the following days of experiment

Dyskusja

Do badania wybrano preparat zawierający spinosad, a nie czystą substancję aktywną ze względu na praktyczne zastosowanie tego typu preparatów w rolnictwie. Należy zwrócić uwagę na fakt, że dodatki stosowane w formulacjach mogą mieć wpływ na stabilność oraz rozpuszczalność spinosadu, a tym samym na jego biodostępność.

Warto zaznaczyć, że badanie podatności spin osadu na biodegradację prowadzone było przez cały czas w ciemności, dlatego wyklucza się tutaj fotodegradację, co w warunkach naturalnych jest trudne do uniknięcia. Cleveland i wsp. [17] badali hydrolizę spinosadu w środowisku wodnym, w ciemności. Uzyskane przez nich wyniki wskazywały na brak hydrolizy w środowisku kwaśnym i obojętnym. Natomiast w środowisku alkalicznym okres półtrwania spinosyny A i D wyniósł odpowiednio 200 i 259 dni.

Ten sam zespół przeprowadził badania nad fotodegradacją spinozyny A i D w środowisku wodnym. Uzyskane wyniki wskazywały na wysokie tempo fotodegradacji zarówno spinozyny A jak i D. Okres półtrwania wynosił 0,9 dnia dla spinozyny A i 0,8 dnia dla spinozyny D. Degradacja spinosadu w środowisku naturalnym będzie zatem wypadkową jego fotodegradacji i biodegradacji. Dlatego wyniki otrzymane w warunkach laboratoryjnych nie będą wiernie odzwierciedlały losów spinosadu w środowisku, w którym jest on narażony na działanie promieni słonecznych. Są jednak ważną informacją na temat jego podatności na rozkład pod wpływem działania inokulum bakteryjnego.

Należy pamiętać, że niska podatność na biodegradację w wodzie nie oznacza, że preparat nie jest biodegradowalny [16]. Zastosowanie wyselekcjonowanych szczepów drobnoustrojów pozwala na uzyskanie wysokiego stopnia rozkładu nawet tych substancji, które w warunkach naturalnych są bardzo trudno biodegradowalne. Duże znaczenie ma również środowisko, w którym prowadzone są badania biodegradacji, a także warunki w jakich próbka się znajduje.

W niniejszym doświadczeniu badano podatność spinosadu na biodegradację w wodzie, jednak z punktu widzenia ekotoksykologii równie istotny jest wpływ tej substancji na ekosystem glebowy. Danych na temat losów spinosadu w glebie dostarcza doświadczenie Thompsona i wsp. [18], w którym określony został między innymi okres półtrwania spinozyny A w glebie na terenie lasu iglastego. Uzyskany wynik 12,4 dnia był podobny do wyniku uzyskanego dla spinozyny A przez Hale i wsp. [19] w badaniu metabolizmu aerobowego w glebie piaszczysto-gliniastej i ilastogliniastej. Hale obliczył, że okres półtrwania spinozyny A wynosi odpowiednio 9 i 16 dni, natomiast okres półtrwania spinozyny D wynosił około 16 dni w obydwóch rodzajach gleby. Jednak uzyskane w powyższych badaniach wyniki różniły się od wyników uzyskanych przez Thompsona i wsp. [20] w doświadczeniu przeprowadzonym w prowincji Ontario w Kanadzie. Badanie zostało przeprowadzone na plantacji świerka białego (*Picea glauca*). Uzyskane okresy półtrwania spinozyny A były znacznie krótsze i wynosiły 2 dni – dla odsłoniętej spod ściółki piaszczysto-gliniastej gleby pod sklepieniem koron drzew, oraz 4,1 dnia – dla tej samej gleby, ale na stanowisku otwartym (bez wysokich drzew). Zaobserwowane różnice mogą wynikać z różnych profili glebowych, a także różnic w mikroflorze występujących w glebach poddanych badaniom.

Cleveland i wsp. [17] przeprowadzili z kolei badania metabolizmu anaerobowego spinozyny A i D w środowisku wodnym z obecnością osadu. Zastosowali spinozyny znakowane radioizotopowo. Z ich obserwacji wynika, że okres półtrwania spinozyny A i D w tych warunkach wyno-

si odpowiednio 160 i 240 dni, a dodatkowo związki te szybko adsorbują do osadu.

W innym badaniu anaerobowego metabolizmu spinozyn A i D w środowisku wodnym zaobserwowano, że w ciągu 14 dni większość spinozyny A i D przeszła do osadu, a okres półtrwania wynosił 161 dni dla spinozyny A i 250 dni dla spinozyny D [21].

Wyniki badań losów spinosadu w różnych warunkach pokazują, że dobrze degraduje on w warunkach nasłonecznienia, dobrego natlenienia i szybciej rozkłada się w środowisku wodnym niż w glebie. Z kolei anaerobowe warunki osadów w zbiornikach wodnych sprzyjają długotrwałemu utrzymywaniu się spinosadu w takim środowisku. Niniejsze doświadczenie pokazuje, że badany preparat w kontakcie z inokulum bakteryjnym pochodzącym z prawidłowo działającej oczyszczalni ścieków nie jest podatny na rozkład. Zatem istnieje obawa, że spinosad może gromadzić się w osadach i innych miejscach bez dostępu światła słonecznego i w pewnym momencie osiągnąć stężenie, w którym będzie ujemnie wpływał na środowisko naturalne, dlatego potrzebne są dalsze badania w tym kierunku. Preparat nie wykazał jednak toksyczności w stosunku do mikroorganizmów.

Wnioski

Z przeprowadzonego doświadczenia można wyciągnąć następujące wnioski:

- preparat zastosowany w badaniu ma niską podatność na biodegradację w wodzie w porównaniu z octanem sodu, który jest substancją o wysokiej podatności na biodegradację,
- badania degradacji i kumulacji preparatów spinosadu powinny być rozszerzone o nowe metody i kontynuowane, by móc stwierdzić jednoznacznie ich wpływ na środowisko.

TABELE:

Tab. 1. Skład medium hodowlanego zastosowanego w doświadczeniu

Roztwór	Substancja	Stężenie [g/l]
A	KH_2PO_4	8,50
	K_2HPO_4	21,75
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	33,40
	NH_4Cl	0,50
B	CaCl_2	27,50
C	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	22,50
D	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,25

Tab. 2. pH w badanych roztworach na początku i na końcu doświadczenia

Badana substancja	Powtórzenie	pH na początku doświadczenia	pH na końcu doświadczenia	średnia na końcu doświadczenia
Kontrola	1	7,05	7,66	7,65
	2		7,62	
	3		7,64	
	4		7,66	
	5		7,65	
Octan sodu	1	7,46	8,52	8,50
	2		8,5	
	3		8,49	
	4		8,52	
	5		8,48	
Preparat	1	7,39	7,64	7,67
	2		7,67	
	3		7,67	
	4		7,7	
	5		7,66	
Kontrola toksyczności	1	7,52	8,73	8,69
	2		8,65	

Tab. 3. Zużycie tlenu [mg/l] w poszczególnych butlach w trakcie doświadczenia

Badana substancja	Powtórzenie	Dzień doświadczenia			
		7	14	21	28
		Zużycie tlenu [mg/l]			
Kontrola	1	18	18	3	3
	2	15	15	3	3
	3	17	18	4	2
	4	17	18	3	3
	5	16,5	18	4	3
	$\bar{x} \pm SD$	16,7±1,10	17,4±1,34	3,4±0,55	2,8±0,45
Octan sodu	1	80,9	87	74,9	80,9
	2	81	86,5	76	80,9
	3	80,5	87	76	80,5
	4	80	86	75	81
	5	80,9	85	74,6	81
	$\bar{x} \pm SD$	80,66±0,42	86,3±0,84	75,3±0,66	80,86±0,21
Preparat	1	21	21	8	8
	2	21	21	9,5	8
	3	21	22	8	7
	4	22	23	8,6	8
	5	20	22	8	8
	$\bar{x} \pm SD$	21±0,71	21,8±0,84	8,42±0,66	7,8±0,45
Kontrola toksyczności	1	108	117	98,9	100
	2	108	118	99	98
	$\bar{x} \pm SD$	108±0,00	117,5±0,71	98,95±0,07	99±1,41

LITERATURA

- [1] Płucienik Z., Olszak R.W.: Spinosad w zwalczaniu niektórych szkodników w sadach. *Progr. Plant Protect./Post. Ochr. Rośl.* 2005; 45: 1004-1008.
- [2] Thompson G., Huthins S.: Spinosad-a new class of fermentation derived insect control agents. *Pesticide Outlook* 1999; 10(12): 78-81.
- [3] Hines R.L., Hutchison W.D.: Evaluation of action thresholds and spinosad for lepidopteran pest management in Minnesota cabbage. *J. Econom. Entomol.* 2001; 94(1): 190-196.
- [4] Galvan T.L., Koch R.L., 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.
- [5] Baxter S.W., Chen M., Dawson A., Zhao J.Z., Vogel H., Shelton A.M., Heckel D.G., Jiggins C.D. Mis-spliced transcripts of nicotinic acetylcholine receptor alpha6 are associated with field evolved spinosad resistance in *Plutella xylostella* (L.). *PLoS Genet.* 2010; 6(1):e1000802. Epub 2010 Jan 8.
- [6] Watson G.B. Actions of Insecticidal Spinosyns on γ -Aminobutyric Acid Responses from Small-Diameter Cockroach Neurons. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2001; 71 (1); 20-28.
- [7] Kowalska J., Drożdżyński D.: Spinosad jako insektycyd w rolnictwie ekologicznym – możliwości stosowania i monitoring pozostałości. *Proceedings of ECOpole 2009*; 3(1): 71-75.
- [8] Mertz F.P., Yao R.C.: Sacharopolyspora spinosa sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *Int. J. System. Bacteriol.* 1990; 40: 34-39.
- [9] Salgado V.L.: Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pesticide Biochem. Physiol.* 1998; 60: 91-102.
- [10] Mandal K., Jyot G., Singh B. Dissipation kinetics of spinosad on cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) under subtropical conditions of Punjab, India. *Bull Environ Contam Toxicol* 2009; 83: 808-811.
- [11] Sharma A., Srivastava A., Ram B., Srivastava P. C. Dissipation behaviour of spinosad insecticide in soil, cabbage and cauliflower under subtropical conditions. *Pest Manag Sci* 2007; 63: 1141-1145.
- [12] OECD Guideline for testing of chemicals No 301 F (1992); Ready biodegradability: Manometric Respirometry.
- [13] Polska Norma nr PN-82/C-04576.08, (1982); Woda i ścieki. Badania zawartości związków azotu. Oznaczanie azotu azotanowego metodą kolorymetryczną z salicylanem sodowym.
- [14] Polska Norma nr PN-EN 26777, (1999): Jakość wody. Oznaczanie azotynów. Metoda absorpcyjnej spektrometrii cząsteczkowej.
- [15] Norma PN-74/C-04578. Woda i ścieki. Badanie zapotrzebowania tlenu i zawartości węgla organicznego. Oznaczanie chemicznego zapotrzebowania tlenu (ChZT) metodą dwuchromianową.
- [16] Introduction to the OECD guidelines for testing of chemicals section 3. Principles and strategies related to the testing of degradation of organic chemicals. July 2003, dostępny pod adresem: <http://www.oecd.org/dataoecd/38/2/5598432.pdf> [pobrano 02.01.2012].
- [17] Cleveland C.B., Bormett G.A., Saunders D.G., Powers F.L., McGibbon A.S., Reeves G.L., Rutherford L., Balcer J.L. Environmental fate of spinosad. 1. Dissipation and degradation in aqueous systems. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 3244-3256.
- [18] Thompson D.G., Harris B.J., Lantaigne L.J., Buscarini T.M., Chartrand D.T. Fate of spinosad in litter and soils of a mixed conifer stand in the Acadian forest region of New Brunswick. *J Agric Food Chem.* 2002; 50(4):790-795.
- [19] Hale K.A. Portwood D.E. The aerobic soil degradation of spinosad – a novel natural insect control agent. *J. Environ. Sci. Health, B* 1996; 31(3): 477-484.
- [20] Thompson D.G., Harris B.J., Buscarini T.M., 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.
- [21] Kollman W.S. Environmental fate of Spinosad. Department of Pesticide Regulation, Sacramento, California, 2002, dostępny pod adresem: http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/spinosad_fate.pdf [pobrano 10.01.2012].