



УНИВЕРЗИТЕТ „БИЈЕЉИНА“ БИЈЕЉИНА

Бијељина, Павловића пут бб – Дворови, тел/факс: 055/350-150; 351-101
ЖР: 1610250028490014; Raiffeisen Bank; Мат.бр.11066283;
ЛИБ:4403180380002; Шифра д. 85.42; www.ubn.rs.ba; info@ubn.rs.ba

СЕЛО И ПОЉОПРИВРЕДА

ЗБОРНИК РАДОВА

НАУЧНИ СКУП
са међународним учешћем

Бијељина, 2021



UNIVERZITET „BIJELJINA“ BIJELJINA

Bijeljina, Pavlovića put bb – Dvorovi, tel/faks: 055/350-150; 351-101

ŽR: 1610250028490014; Raiffeisen Bank; Mat.br.11066283;

JIB:4403180380002; Šifra d. 85.42; www.ubn.rs.ba; info@ubn.rs.ba

VILLAGE AND AGRICULTURE

PROCEEDINGS

OF THE SCIENTIFIC CONFERENCE
with Internacional Participation

Bijeljina, 2021

DEGRADACIJA TIAMETOKSAMA I METABOLITA KLOTIANIDINA U SUNCOKRETU: OD SEMENA DO CVETA

*Sonja Gvozdencac*¹, *Jelena Ovuka*², *Vojislava Bursić*³, *Gorica Vuković*⁴,
*Aleksandra Petrović*⁵, *Nikola Puvača*⁶, *Dušan Marinković*⁷, *Nenad*
*Šušnjar*⁸, *Radivoj Prodanović*⁹

Apstrakt

Cilj istraživanja je praćenje sudbne tiametoksama i klotianidina u biljkama suncokreta, nakon tretiranja semena ovim neonikotinooidom (preparatom Cruiser 600 FS). U ogledu su korišćeni hibridi suncokreta Oliva i Novak. Praćenje degradacije tiametoksama i metabolita

¹ Sonja Gvozdencac, dr, naučni saradnik, Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Maksima Gorkog 30, Novi Sad, Srbija, Tel: +381 21 4898 326, E-mail: sonja.gvozdencac@ifvcns.ns.ac.rs

² Jelena Ovuka, dr, naučni saradnik, Univerzitet Bijeljina, Poljoprivredni fakultet, Pavlovića put bb, 76300 Bijeljina, republika Srpska, BiH, Tel: +381 21 4898 250, E-mail: jelena.ovuka@ifvcns.ns.ac.rs

³ Vojislava Bursić, dr, vanredni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija, Tel: +381 63 8868456, E-mail: bursicv@polj.uns.ac.rs

⁴ Gorica Vuković, dr, viši naučni saradnik, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Nemanjina 6, Zemun, Srbija, Tel: +381 63 244 903, E-mail: goricavukovic@yahoo.com

⁵ Aleksandra Petrović, dr, vanredni profesor, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija, Tel: +381 63 8868456, E-mail: aleksandra.petrovic@polj.uns.ac.rs

⁶ Nikola Puvača, dr, vanredni profesor, Univerzitet Privredna akademija u Novom Sadu, Fakultet za ekonomiju i inženjerski menadžment u Novom Sadu, Cvećarska 2, 21000 Novi Sad, Srbija, Tel: +381 65 219 12 84, E-mail: nikola.puvaca@fimek.edu.rs

⁷ Dušan Marinković, dr, docent, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija, Tel: +381 63 8868456, E-mail: dusan.marinkovic@polj.uns.ac.rs

⁸ Nenad Šušnjar, dipl. ing., Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija, Tel: +381 63 8868456, E-mail: susnjarnad@yahoo.com

⁹ Radivoj Prodanović, dr, vanredni profesor, Univerzitet Privredna akademija u Novom Sadu, Fakultet za ekonomiju i inženjerski menadžment u Novom Sadu, Cvećarska 2, 21000 Novi Sad, Srbija, Tel: +381 65 892 73 96, E-mail: rprodanovic@fimek.edu.rs

klotianidina, je rađeno u cilju ispitivanja vremena razgradnje i njihovog prisustva u različitim fazama razvoja biljke (2 para pravih listova, 6 listova, zvezda, butonizacija i potpuno cvetanje). Metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom (LC-MS/MS) uz upotrebu karbofurana-D3 kao internog standarda, nakon QuEChERS ekstrakcije uzoraka biljke suncokreta, urađeno je određivanje ostataka tiametoksama i klotianidina. Nakon obrade podataka, dobijeni su podaci koji ukazuju da je do faze potpunog cvetanja došlo do razgranje neonikotinoida, odnosno da nije bilo njihove detekcije nakon faze butonizacije.

Ključne reči: tiametoksam, klotianidin, razgradnja, suncokret, LC-MS/MS

Uvod

Suncokret (*Helianthus annuus*) ili biljka Sunca (grčka reč: *helios*=Sunce), je zeljasta, jednogodišnja biljka iz familije *Asteraceae*. Pored uljane repice, soje i kikirikija, ubraja se među najvažnije uljarice u svetu. Značaj suncokreta proizlazi iz kvaliteta semena, koje, zavisno od tipa suncokreta, sadrži oko 43% ulja, 18% proteina, 26% celuloze, 10% neorganske materije i 3% minerala. Danas se suncokret uzgaja širom sveta, u preko 62 države. Glavni svetski proizvođači su Rusija, Ukrajina, Argentina, Indija, Kina, Francuska, Španija, Rumunija, SAD i Turska (Vratarić i sar., 2004). U Republici Srbiji suncokret se gaji na oko 230-250000 ha, sa tendencijom blagog pada tokom poslednjih godina.

Jedan od ograničavajućih faktora u proizvodnji suncokreta predstavljaju štetne insekatske vrste poput žičara i stenica (Jeschke et al., 2011). Poseban problem predstavljaju zemljišni insekti odnosno vrste čije larve provode deo svog razvića u zemljištu hraneći se podzemnim biljnim organima. Najznačajnije i najštetniji iz ove grupe su žičari (Coleoptera: fam *Elateridae*), upravo zbog višegodišnjeg životnog ciklusa, i dugog perioda koje larve (žičari) provde pod zemljom, kao i velike plodnosti ženki i potencijala za razmnožavanje odraslih (skočibube). Najefikasnije suzbijanje žičara postignuto je tretmanima semena gajenih biljaka, a među aktivnim materijama, najdelotvorniji su bile materije iz grupe neonikotinoida. Neonikotinoide karakteriše širok spektar delovanja na insekte sa usnim aparatom za bodenje i sisanje, kao i neke insekte sa usnim aparatom za grickanje. Otkrivanje neonikotinoida smatrano je

prekretnicom u istraživanju insekticida i u velikoj meri je olakšalo razumevanje funkcionalnih svojstava nikotinskih acetilholinskih receptora. Neonikotinoidi su razvijeni pre skoro četiri decenije. Po hemijskom sastavu predstavljaju grupu neuroaktivnih insekticida slične hemijske strukture i načina delovanja kao nikotin – prirodni insekticid sintetisan u biljkama iz familije *Solanaceae*, koji se dugo primenjivao za suzbijanje štetnih insekatskih vrsta (Kimura-Kuroda et al., 2012). Mehanizam delovanja nikotina leži u tome što je agonist nikotinskih receptora acetilholina. Agonisti su materije koje oponašaju delovanje određenih materija, te izazivaju određene reakcije. Tako nikotin oponaša dejstvo acetilholina na nikotinskim receptorima unutar nervnog sistema insekta. Na sličan način, neonikotinoidi parališu insekte blokirajući transport nervnih impulsa kroz nervni sistem insekata. Njihovim vezivanjem za nikotinske receptore acetilholinesteraze (nAChRs) dolazi do blokiranja transporta nervnih impulsa, što dovodi do tremora, grčenja, paralize i smrti (Ihara and Matsuda, 2018).

U proizvodnji suncokreta, njihova primena ogledala je bila najznačajnija u vidu tretmana semena. Na taj način seme je bilo zaštićeno nakon setve, a biljke iznikle iz takvog semena (Tomizawa and Casida, 2005) su i nakon nicanja u sebi su sadržale određene količine aktivne materije, te su bivale zaštićene i od napada štetnih insekata i nakon nicanja.

Sa aspekta poljoprivrede to je bila velika korist i dodatno produženoj dejstvo, međutim, vremenom su postal evidentni i negativni efekti sistemičnog delovanja neonikotinoida. Na primer, u uslovima visoke vlažnosti vazduha, usled prirodnog procesa gutacije, ponici iz tretiranog semena, na naličju listova luče tečnost koja, između ostalog, sadrži i neonikotinoide kojima je seme bilo tretirano. Gutaciona tečnost predstavlja izvor vode za mnoge insekte, uključujući polinatore, te je time njihovo stradanje dodatno povećano (Ihara and Matsuda, 2018). Time je otkriven jedan od negativnih aspekata upotrebe neonikotinoida, te je primeni određenih aktivnih materija 2013. godine, došao kraj (SANCO/10591/2013). Evropska komisija je donela prvo privremenu zabranu za aktivne materije imidakloprid, klotianidin i tiametoksam, a danas je njihova primena u potpunosti zabranjena na otvorenom prostoru.

U toku 2015. godine, izvršena je revizija i glasanje za njihovo uklanjanje sa tržišta i iz upotrebe. Takav predlog je podržan od strane 15 od 27

zemalja, 8 je bilo protiv i 4 uzdržane. Ekološke kampanje poput Prijatelja Zemlje (Friends of the Earth) takođe su bile “za” ukidanje, dok je Nacionalni savez poljoprivrednika (National Farmers Union) bio protiv (Cresswell, 2014). Tokom aprila 2015. godine, objavljena su dva članka o poljskim ogledima sa neonikotinoidima. Bila su to prva ispitivanja u kojima su neonikotinoidi realistično primenjeni kao zaštita semenskog materijala, a ne u vidu određenih doza primenjenih u laboratorijskim uslovima na pojedinačne pčele.

Sprovedena istraživanja su pokazala da je brojnost populacije divljih i medonosnih pčela prepolovljena; da vrsta solitarnih pčela *Osmia rufa* (*O. bicornis*) nije pravila gnezda; da su kod bumbara, *Bombus terrestris*, smanjeni rast i reprodukcija kolonija; da zdravstveno stanje kolonija medonosne pčele nije bilo ugroženo u većoj meri.

Tokom marta 2017. godine, publikovan je članak u kom se tvrdi da postoje informacije koje upućuju na to da Evropska komisija (European commission) želi potpunu zabranu neonikotinoida, pozivajući se na visok akutni rizik po pčele. Odluka o zabrani je odložena za 2018. godinu. Tada je završena studija u vezi sa neonikotinoidima od strane EPA (Environmental Protection Agency). Navedeno se ogledalo u 4 stavke:

- preliminarna procena rizika samo za oprašivače objavljena za javnu procenu u januaru 2017. godini.
- potencijalne rane migracije polinatora u 2017. godini.
- preliminarna procena rizika za zdravlje ljudi izdata na javni komentar u 2017. godine.
- procena ekološkog rizika po polinatore objavljena za javni komentar u 2018. godini.

Insekti na razne načine doprinose opstanku ekosistema putem procesa poput kontrole određenih štetočina, kruženja hranljivih materija i oprašivanja. Oprašivači potpomažu reprodukciju skoro 85% svetskih cvetnica (Ollerton et al., 2011) i 35% svetske proizvodnje biljaka (Klein et al., 2007). Većinu oprašivača čine insekti, uključujući pčele, ose, muve, bube, mrave, leptire i moljce. Među ovim korisnim insektima, posebno se ističu medonosne pčele, koje su zaslužne za više od 15 milijardi dolara u ratarskoj proizvodnji godišnje (Morse i Calderone, 2000). Divlje pčele su takođe važni oprašivači, te doprinose proizvodnji mnogih useva. Ipak,

postoje brojni faktori koji ograničavaju njihovu delatnost, kao i njihov opstanak. Među njima, poslednjih godina, značajno mesto su zauzeli neonikotinoidi. Neonikotinoidi su do skoro bili najčešće korišćena grupa insekticida na svetu, sačinjavajući pritom oko 25% agrohemijskog tržišta, sa godišnjom prodajom u vrednosti od 1,9 milijardi samo u SAD. Pčele mogu biti izložene neonikotinoidima na brojne načine, uključujući direktan kontakt sa insekticidima na biljkama ili gutanjem kontaminiranog polena ili nektara. Međutim, prisustvo sistemskih insekticida u biljkama predstavlja poseban rizik za pčele, jer se hrane kontaminiranim nektarom i polenom, kojim hrane i svoje potomstvo.

Direktan kontakt sa pesticidom tokom folijarne aplikacije može biti najočigledniji način izlaganja pčelama ukoliko se prijemna pesticide izvodi vreme aktivnog leta, odnosno u periodu cvetanja biljaka. Izloženost ostacima neonikotinoida nastaje kada pčele posećuju cvetove ili hodaju po lišću koje je bilo tretirano insekticidom. Naime, ostaci klotianidina nanetog na lišće, zadržavaju se na tretiranoj površini i ostaju toksični za pčele između 5 i 21 dan (EPA, 2010).

Još jedan način na koji oprašivači, a među njima i pčele, mogu doći u kontakt sa neonikotinoidima jeste prašina koja se oslobađa pri setvi neonikotinoidima tretiranog semena. Pčelari u oblasti Baden-Württemberg, u Nemačkoj, pretrpeli su prolećne gubitke kolonija tako što je došlo do oslobađanja klotianidinske prašine tokom setve tretiranog semena uljane repice i kukuruza, te je ona dospela na obližnje parcele u cvetanju (De la Rua et al., 2009; Pistorius et al., 2009).

Medonosne pčele mogu biti izložene neonikotinoidima prilikom sakupljanja vode kako bi rashladile svoje košnice tokom toplih dana ili da bi razblažile med, kako bi prehranile potomstvo. I druge vrste pčela mogu biti izložene kontaminiranoj vodi. Na primer, neke pčele, koje prave gnezda u zemljištu, koriste vodu kako bi nakvasile tvrdo tlo pre nego iskopaju rupu za gnezdo. Takođe, mogu sakupljati vlažno zemljište, radi pravljenja pregradnih zidova ćelija unutar gnezda. Izvori vode za pčele mogu biti kontaminirani na više načina, a najčešće oticanjem hemikalija koje sadrže neonikotinoide, njihovim prekomernim raspršivanjem tokom aplikacije, driftom (zanošenjem) ili otpadnim vodama.

Osim na do sad navedene načine, u kontakt sa neonikotinoidima pčele mogu doći i preko gutacione tečnosti. Kako je napomenuto, to je tip vode koja se izlučuje po obodu listova u uslovima visoke vlažnosti zemljišta. Obično je prisutna u jutarnjim časovima kada pčele i dr. oprašivači mogu prikupljati kapljice ove tečnosti. Ukoliko je biljka nikla iz semena tretiranog neonikotinoidima, velike su šanse da će i gutaciona tečnost sadržati ove materije. Girolami et al. (2009) su utvrdili da gutaciona tečnost biljka niklih iz tretiranog semena kukuruza može da sadrže visoke koncentracije imidakloprida, klotianidina i tiametoksama, te da su ove kapljice visoko toksične za pčele.

Integralna zaštita bilja, za razliku od samostalne primene pesticida uopšteno, obuhvata upotrebu različitih metoda suzbijanja štetnih organizama, te pruža bezbedniji pristup zaštiti uz smanjenje uticaja pesticida na ne ciljane, korisne organizme. Pored poljoprivrede, oprašivači kao jedni od najkorisnijih insekata su važna karika u većini kopnenih ekosistema. Oprašuju biljke i doprinose stvaranju plodova i semena koji hrane sve, od ptica do medveda. Samim tim, veoma je važno očuvanje biodiverziteta polinatora, kako bi se time očuvala i poljoprivreda (Hopwood et al., 2016).

Sve gore navedeno je u okviru naših istraživanja imalo za cilj ispitivanje sudbine tiametoksama, u biljkama suncokreta, iz useva u kome je ista aktivna materija primenjena u vidu tretmana semena. U ogled su bili uključeni hibridi suncokreta Oliva i Novak. Pre setve, seme je tretirano preparatom na bazi tiametoksama, odnosno Cruiser 600 FS uz kombinaciju sa fungicidnim preparatom Apron XL 350 ES. Određivanje ostataka tiametoksama i metabolita klotianidina, imalo je za cilj da se ispita da li se vremenom i zavisno od faze biljke, ovaj neonikotinoid razgrađuje ili ostaje do faze cvetanja i na taj način predstavlja opasnost za polinatore.

Određivanje ostataka tiametoksama i klotianidina su nakon QuEChERS ekstrakcije uzoraka biljke suncokreta, urađeno tečnom hromatografijom sa tandem masenom spektrometrijom (LC-MS/MS) uz upotrebu karbofurana-D3 kao internog standarda.

Materijal i metod rada

Priprema uzorka. Ogled je postavljen po slučajnom blok sistemu, u usevu suncokreta na lokalitetu Rimski Šančevi u toku 2017. godine. Semena hibrida suncokreta Oliva i Novak su tretirani preparatom Cruiser 600 FS (tiametoksam 600 g/L). U određenim fazama rasta (2 para pravih listova, 6 listova, zvezda, butonizacija i potpuno cvetanje), uzorkovani su uzorci koji su stavljeni u zamrzivač do momenta analize.

Ekstrakcija neonikotinoida. Za analizu ostataka pesticida prema QuEChERS analitičkoj metodi EN 15662, izmeri se $2 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ u kivetu od 50 mL, doda se 100 μL internog standarda karbofurana-D3 i 10 mL acetonitrila. Kiveta se meša na vorteksu 1 minut. Acetonitril se koristi kao ekstrakcioni rastvarač u prisustvu smeše soli (4 g magnezijum sulfata, 1 g natrijum hlorida, 1 g natrijum citrata dihidrata i 0,5 g dinatrijum citrata seskvihidrata). Da bi ekstrakcija bila efikasna, odmah po dodavanju soli u kivetu, smeša se mućka intenzivno da bi se sprečilo zgrušavanje soli i povećala ekstrakcija. Nakon mućkanja uzorak se centrifugira 5 minuta na 4000 obrtaja. Drugi korak je prečišćavanje ekstrakta metodom disperzije ekstrakcije na čvrstoj fazi pomoću magnezijum sulfata, primarnih-sekundarnih amina (PSA) i C18. Uzme se alikvot od 6 mL ekstrakta i prenese u kivetu od 15 mL u kojoj se nalazi smeša PSA, MgSO_4 i C18. Uzorak se mućka na vorteksu 30 sekundi, a zatim centrifugira 10 minuta na 4000 obrtaja. Nakon centrifugiranja se uzima alikvot od 1 mL (filtrira se) i zakišeljava mravljom kiselinom. Potom sledi LC-MS/MS analiza.

Uslovi tačne hromatografije sa masenim spektrometrom za određivanje ostataka tiametoksama i klotianidina su dati u Tabeli 1.

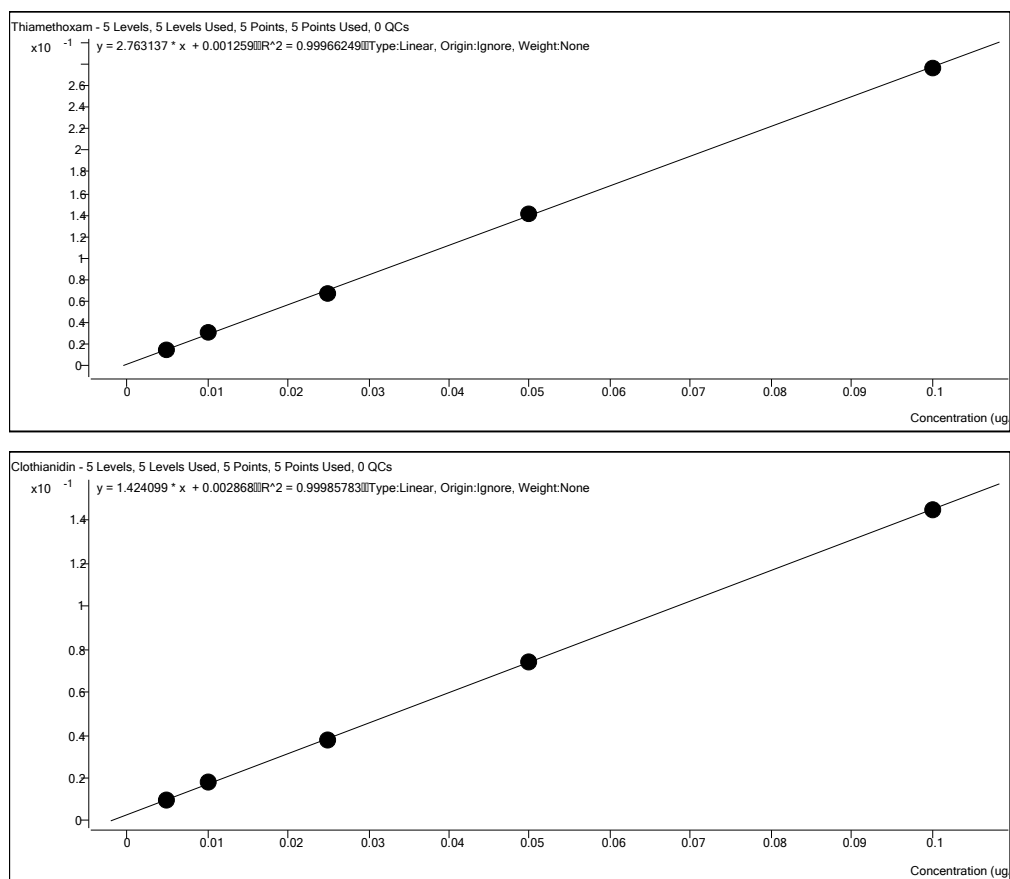
Tabela 1. Uslovi hromatografskog razdvajanja

Instrument	Agilent 6410B QQQ
Kolona	Zorbax XDB-C18
Jonski izvor	Multimod, MMI
Tip jonizacije	+ESI
Drying gas flow/ and T	5 ml/min /325 °C
Vaporizer temp./ Nebulizer gas	220 °C/48 psi
Opseg merenja masa	m/z 70-2000
Autosampler	h-ALS-SL+, model G1367D
Zapremina injektovanja uzoraka	Vinj=10 µL
Tip injektovanja/ Binarna pumpa	sa ispiranjem/ BinPump-SL, model G1312B
Odnos mobilnih faza: V/V	50/50
Protok	0,5 mL/min,
Mobilna faza	A: 0,1% HCOOH u MeOH; B: 0,1% HCOOH u vodi
Odnos mobilne faze	A:B=70:30
Termostat i temperatura kolone	Column-SI, Model G1316B, 40 °C

Izvor: *Autori*

Parametri validacije. Određivanje prisustva neonikotinoidea, urađeno je validovanom metodom u skladu sa SANTE/12682/2019. Linearnost je obuhvaćena kalibracionom krivom na pet nivoa obogaćenja, odnosno na 0,005; 0,01; 0,025; 0,05 i 0,1 µg/mL. Dobijeni koeficijenti korelacije u matriksu, oba neonikotinoidea su bili iznad 0,99. Na slikama 1 i 2 date su kalibracione krive tiametoksama i klotianidina.

Slika 1. Kalibracione krive tiametoksama i klotianidina



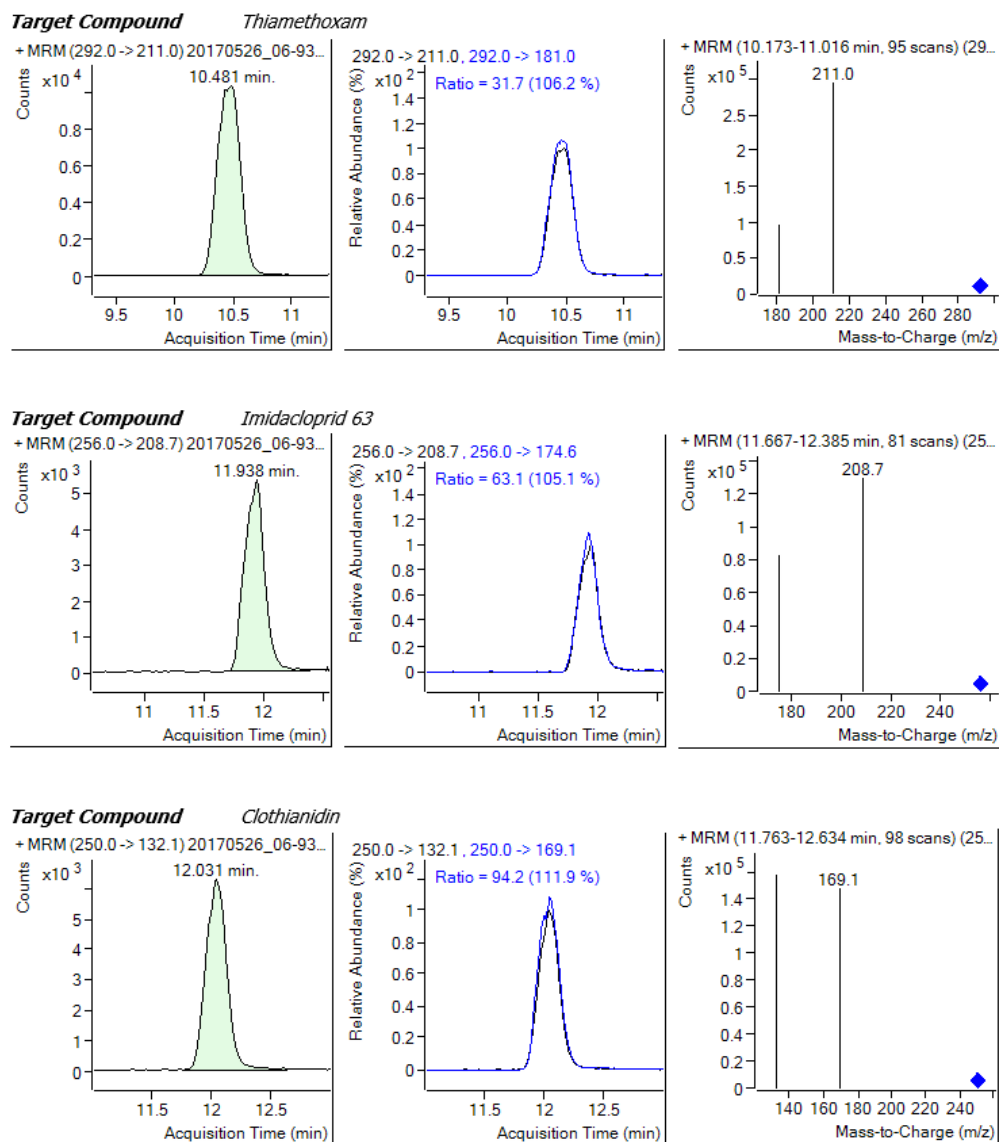
Izvor: *Autori*

Granica kvantifikacije (LOQ) je postavljena na nivo 0,001 mg/kg, dok su LOD vrednosti (limiti detekcije) matematičkim putem izračunate pomoću MassHunter softvera, na osnovu odnosa signal/šum ≤ 3 . Ovaj parametar je izračunat na osnovu standardne devijacije visine pika i visine šuma u hromatogramu za najnižu koncentraciju kalibracionog rastvora.

Prinos ekstrakcije je ispitan tehnikom standardnog dodatka blank uzorka, tako da je proveren prinos ekstrakcije na pet koncentracionih nivoa, u okviru linearnost.

Uzimajući u obzir da tiametoksam pokazuje zajednički metabolički put sa klotianidinom (tiametoksam mu je prekursor) (Papp, 2010), u okviru rada, obuhvaćeno je ispitivanje njegovog sadržaja.

Slika 2. MRM prelazi neonikotinoida



Izvor: Autori

Dobijeni prinosi ekstrakcije svih analita su bili u opsegu od 94,6 do 107,8%. Ponovljivost metode je ispitana pripremanjem jednog uzorka u šest ponavljanja na istom koncentracionom nivou. Ponovljivost je ispitana za sve matrikse i za sve analite. Dobijeni rezultati su statistički obrađeni pomoću Microsoft Excel 2013 i dobijena vrednost %RSD je upoređena sa kriterijumom SANTE/12862/2019 dokumenta (%RSD≤20%) za pesticide.

Rezultati rada i diskusija

Validovanom LC-MS/MS multirezidualnom metodom, kvantifikovane su vrednosti neonikotinoida u ispitivanim genotipovima suncokreta i tabelarno prikazane (Tabele 2 i 3).

Tabela 2. Ostaci pesticida (mg/kg) neonikotinoida u genotipu suncokreta NOVAK

Tretmani	Tiametoksam	Klotianidin
Faza rasta: 2 para prvih listova		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,5393	0,0217
Faza rasta: 6 listova		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0161	0,0000
Faza rasta: zvezda		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0011	0,0001
Faza rasta: butonizacija		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0009	0,0000
Faza rasta: puno cvetanje		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0008	0,0000

*0,000 su vrednosti ispod LOD

Izvor: *Autori*

Tabela 3. Ostaci pesticida (mg/kg) neonikotinoida u genotipu suncokreta OLIVA

Tretmani	Tiametoksam	Klotianidin
Faza rasta: 2 para prvih listova		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,2817	0,0203
Faza rasta: 6 listova		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0110	0,0011
Faza rasta: zvezda		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0060	0,0007
Faza rasta: butonizacija		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0003	0,0005
Faza rasta: puno cvetanje		
Kontrola	0,0000	0,0000
Apron + Cruiser	0,0000	0,0000

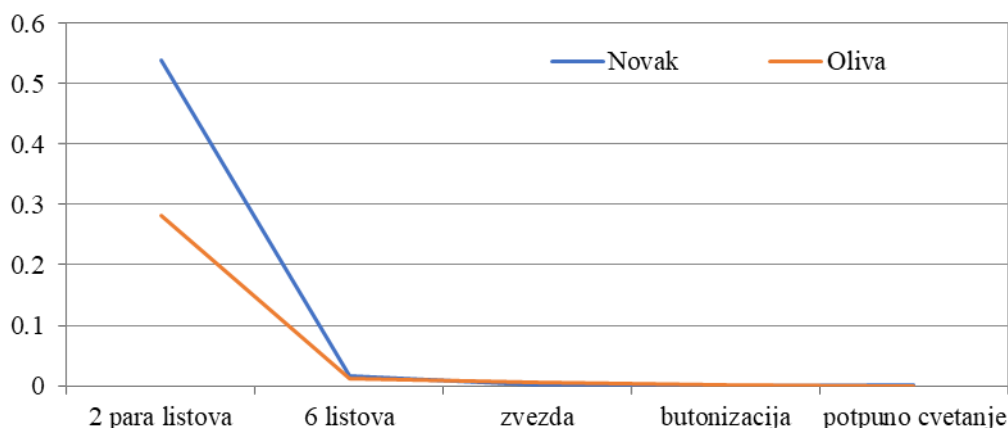
*0,000 su vrednosti ispod LOD

Izvor: *Autori*

Kao podrška Komisiji za sprovođenje uredbi (EU) br. 485/20135 od 24. maja 2013.godine, o izmeni sprovođenja uredbe (EU) br. 540/2011, u pogledu uslova za odobravanje aktivnih supstanci klotianidin, tiametoksam i imidaklopid, SANCO/10591/2013, recenzija 8, 27. aprila 2018. godine, zabranjuje upotrebu i prodaju semena tretiranog sredstvima za zaštitu bilja koja sadrže te aktivne supstance.

Grafički prikaz tiametoksama, prikazuju kretanje tiametoksama u genotipovima Novak i Oliva (Grafik 1).

Grafikon 1. Prisustvo tiametoksama u različitim fazama biljke suncokreta (mg/kg)



Izvor: *Autori*

Posmatrano po hibridima, nije uočena značajna razlika u prisustvu rezidua. Značajna razlika u reziduama je uočena samo između fenofaza suncokreta. Na osnovu dobijenih podataka, može se zaključiti da su količine tiametoksama bile ispod limita detekcije od faze butonizacije.

Rezultati naših istraživanja su u saglasnosti sa rezultatima Schöning i Schmuck (2003), koji su ispitivali prisustvo rezidua imidakloprida i njegovih metabolita u listovima, laticama, polenu i nektaru uljane repice i suncokreta, nakon tretmana semena. Navedeni autori nisu kvantifikovali ostatke imidakloprida i njegovih metabolita u bilo kom uzorkovanom materijalu. Shodno tome, zaključili su da u medonosne pčele izložene zanemarljivim nivoima ostataka imidakloprida prilikom ishrane na biljkama izniklim iz tretiranog semena.

Zaključak

U prvoj fazi uzrokovanja, aktivna materija tiametoksam detektovana je u najvišoj količini u vrednostima od 0,2817 do 0,5393 mg/kg u svim genotipovima čije seme je tretirano preparatom Cruiser. Značajno niže količine tiametoksama u intervalu od 0,011 do 0,020 mg/kg su detektovane u fazi 6 para pravih listova.

Metabolit klotianidin, takođe je detektovan u najvišoj količini prilikom prvog uzorkovanja (0,0217 mg/kg - Novak i 0,0203 mg/kg - Oliva). U

narednim očitavanjima je prisutan do faze punog cvetanja u hibridu Oliva i Novak do faze butonizacije.

Podaci ukazuju da je do faze potpunog cvetanja došlo do razgranje neonikotinoide, odnosno da nije bilo njihove detekcije nakon faze butonizacije. Ovakvi podaci navode na pomisao da biljka suncokreta ne bi predstavljala opasnost za polinatore, ali naravno pravo stanje stvari bi se dobilo potpunijim analizama koje bi uključivale analize polena i nektara pomenutih genotipova.

Literatura

1. Cresswell, J. (2014): *On the natural history of neonicotinoids and bees*. Functional Ecology, Vol 28, Issue 6, 1311-1312.
2. De la Rúa, P., Jafé, R., Dall'Olio, R., Muñoz, I., Serrano, J. (2009): *Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees*. Apidologie 40(3):263–284.
3. EFSA (2013): *Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance spinetoram*. EFSA Journal 2013; 11 (5): 3220.
4. EPA (2010): Memorandum: Clothianidin Registration of Prosper T400 Seed Treatment on Mustard Seed (Oilseed and Condiment) and Poncho/Votivo Seed Treatment on Cotton, prepared by J. DeCant and M. Barrett. 99 pp. Washington, D.C.: EPA–OPPTS.
5. Girolami, V., Mazzon, L., Squatini, A., Mori, N., Marzaro, M., Dibernardo, A., Greatti, M., Giorio, C., Tapparo, A. (2009): *Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees*. Journal of Economic Entomology 102(5):1808–1815.
6. Hopwood, J., Code, A., Vaughan, M., Biddinger, D., Shepherd, M., Hofman Black, S., Lee-Mäder, E., Mazzacano, C. (2016): *How neonicotinoids can kill bees: The science behind the role these insecticides play in harming bees*. 2nd Ed. 76 pp. Portland, OR: The Xerces Society for Invertebrate Conservation.

7. Ihara, M., Matsuda, K. (2018): *Neonicotinoids: molecular mechanisms of action, insights into resistance and impact on pollinators*. Current Opinion in Insect Science, Vol. 30, pp 86-92.
8. Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M., Elbert, A. (2011): *Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 2897–2908.
9. Kimura-Kuroda, J., Komuta, Y., Kuroda, Y., Hayashi, M., Kawano, H. (2012): *Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats*. PLoS One. 2012; 7(2): e32432.
10. Klein, A.M., Vaissiere, B.E., Cane, J.H., Stefan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharntke, T. (2007): *Importance of pollinators in changing landscapes for 62 How Neonicotinoids Can Kill Bees world crops*. Proceedings, Royal Society B: Biological Sciences 274(1608):303–313.
11. Morse, R. A., Calderone, N. W. (2000): *The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000*. Bee Culture. The Magazine of American Beekeeping 128(3):1–15.
12. Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S. (2011): *How many flowering plants are pollinated by animals?* Oikos 120(3):321–326.
13. Papp, Ž. (2010). *Voltometrijska karakterizacija i određivanje odabranih neonikotinoida primenom različitih elektroda na bazi ugljenika*, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine.
14. Pistorius, J., Bischof, G., Heimbach, U., Stähler, M. (2009): *Bee poisoning incidents in Germany in spring 2008 caused by abrasion of active substance from treated seeds during sowing of maize*. In *Hazards of Pesticides to Bees*. 10th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group (Julius-Kühn-Archiv 423), edited by P. A. Ooman and H.M. Tompson, 118–126. Quedlinburg, Germany: Julius Kühn-Institut.
15. SANCO/10591/2013. Addendum to the Review report for the active substance thiamethoxam.

16. SANTE/1282/2019. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues and analysis in food and feed.
17. Schöning, R., Schmuck, R. (2003): *Analytical determination of imidacloprid and relevant metabolite residues by LC MS/MS*. Bulletin of Insectology 56 (1): 41-50.
18. Tomizawa, M., Casida, J. E. (2005): *Neonicotinoids insecticide toxicology: mechanisms of selective action*. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 45:247–6.
19. Vratarić, M., Jurković, D., Ivezić, M., Pospišil, M., Košutić, S., Sudarić, A., Josipović, M., Čosić, J., Mađar, S., Raspudić, E., Vrgoč. D. (2004): *Suncokret Helianthus annuus L.*, Poljoprivredni institut Osijek, Hrvatska.

DEGRADATION OF THIAMETHOXAM AND ITS METABOLITE CLOTHIANIDIN IN SUNFLOWER: FROM SEED TO FLOWER

Sonja Gvozdenc¹, Jelena Ovuka², Vojislava Bursić³, Gorica Vuković⁴, Aleksandra Petrović⁵, Nikola Puvača⁶, Dušan Marinković⁷, Nenad Šušnjar⁸, Radivoj Prodanović⁹

Abstract

The goal of this study is to monitor the fate of thiamethoxam and clothianidin, in sunflower plants, after treating the seeds with this neonicotinoid (Cruiser 600 FS). Olive and Novak sunflower hybrids were used in the experiment. Monitoring of degradation of thiamethoxam and clothianidin was done in order to examine the time of degradation and

¹ Sonja Gvozdenc, PhD, Research Associate, Institute of Field and Vegetable Crops, Institute of National Importance for the Republic of Serbia, Maksima Gorkog 30, Novi Sad, Serbia, Tel: +381 21 4898 326, E-mail: sonja.gvozdenc@ifvcns.ns.ac.rs

² Jelena Ovuka, PhD, Research Associate, University of Bijeljina, Faculty of Agriculture, Pavlovića put bb, 76300 Bijeljina, Republika Srpska, BiH, Tel: +381 21 4898 250, E-mail: jelena.ovuka@ifvcns.ns.ac.rs

³ Vojislava Bursić, PhD, Associate Professor, University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Serbia, Tel: +381 63 8868456, E-mail: bursicv@polj.uns.ac.rs

⁴ Gorica Vuković, PhD, Senior Research Associate, University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Nemanjina 6, Zemun, Serbia, Tel: +381 63 244 903, E-mail: goricavukovic@yahoo.com

⁵ Aleksandra Petrović, PhD, Associate Professor, University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Serbia, Tel: +381 63 8868456, E-mail: aleksandra.petrovic@polj.uns.ac.rs

⁶ Nikola Puvača, PhD, Associate Professor, University of Business Academy in Novi Sad, Faculty of Economics and Engineering Management in Novi Sad, Cvečarska 2, 21000 Novi Sad, Serbia, Tel: +381 65 219 12 84, E-mail: nikola.puvaca @ fimek.edu.rs

⁷ Dušan Marinković, PhD, Assistant Professor, University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Serbia, Serbia, Tel: +381 63 8868456, E-mail: dusan.marinkovic@polj.uns.ac.rs

⁸ Nenad Šušnjar, B.Sc. ing., University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Serbia, Serbia, Tel: +381 63 8868456, E-mail: susnjarnad@yahoo.com

⁹ Radivoj Prodanović, PhD, Associate Professor, University of Business Academy in Novi Sad, Faculty of Economics and Engineering Management in Novi Sad, Cvečarska 2, 21000 Novi Sad, Serbia, Tel: +381 65 892 73 96, E-mail: rprodanovic @ fimek.edu.rs

their presence in different phases of the plant (2 pairs of true leaves, 6 leaves, stars, budding and full flowering).

Thiamethoxam and clothianidin residues were determined by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) using carbofuran-D3 as an internal standard, after the QuEChERS extraction of sunflower plant samples.

Obtained data indicate that the neonicotinoids branched to the stage of complete flowering, ie that they were not detected after the budding phase.

Keywords: Thiamethoxam, clothianidin, degradation, sunflower, LC-MS/MS

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна и универзитетска библиотека
Републике Српске, Бања Лука

63(082)

НАУЧНИ скуп са међународним учешћем "Село и пољопривреда"
(2021 ; Бијељина)

Зборник радова / Научни скуп са међународним учешћем
Село и пољопривреда, Бијељина, 2021. ; [главни и одговорни
уредник Боро Крстић ; уредници Сретен Јелић, Мирослав
Недељковић]. - Бијељина : Универзитет "Бијељина", 2021 (Бања
Лука : Дневне независне новине). - 344 стр. : илустр. ; 24 cm

На спор. насл. стр.: Proceedings of the Scientific Conference with
International Participation Village and Agriculture, Bijeljina, 2021. -
Текст ћир. и лат. - Тираж 100. - Напомене и библиографске
референце уз текст. - Библиографија уз сваки рад. - Abstracts.

ISBN 978-99976-956-1-1

COBISS.RS-ID 134252545