

П.Г. Жмінко<sup>1</sup>, Т.В. Юрченко<sup>1</sup>, М.Г. Проданчук<sup>1</sup>, М.Г. Повозніков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Державне підприємство Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України, м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України

## СУЧАСНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПОЛЮТАНТІВ ДЛЯ ПРЕДСТАВНИКІВ ВОДНОЇ І НАЗЕМНОЇ ЕКОСИСТЕМ ТА ВПРОВАДЖЕННЯ ЇХ У ПРАКТИКУ НАУКОВОГО ЦЕНТРУ ПРЕВЕНТИВНОЇ ТА РЕГУЛЯТОРНОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

**РЕЗЮМЕ.** У роботі наведено коротку історичну довідку щодо становлення та розвитку екотоксикології як науки, висвітлено основні сучасні методи і принципи дослідження гострої токсичності ксенобіотиків для представників водної та наземної екосистем, що рекомендовані ОЕСР (Організація економічного співробітництва та розвитку; Organization for Economic Cooperation and Development, OECD). Надано класифікацію гострої екотоксичності хімічних речовин для наземних і водних тест-систем. Окреслено подальший перспективний розвиток підрозділу, який буде спрямований на розширення екотоксикологічних досліджень за міжнародними методами ОЕСР і вимогами GLP.

**Мета.** Висвітлення основних методів і принципів визначення гострої токсичності для біологічних об'єктів водної та наземної екосистем, рекомендованих ОЕСР, та впровадження їх у практику Наукового центру.

**Матеріали та методи.** Робота ґрунтувалася на впровадженні міжнародних стандартів ОЕСР та принципів GLP. Використано та проаналізовано загальнодоступну електронну бібліотеку методів ОЕСР – розділ 2 Інструкції з випробування хімічних речовин.

**Результати та висновки.** У НЦ впроваджено у практику міжнародні методи визначення гострої токсичності поліутантів для нецільових об'єктів довкілля: ОЕСР 201 (Тест на пригнічення росту прісноводних водоростей та ціанобактерій); ОЕСР 202 (Тест на гостру іммобілізацію дафній), ОЕСР 203 (Тест на гостру токсичність для риб); ОЕСР 207 (Тест на гостру токсичність для земляних черв'яків); ОЕСР 213 (Тест на гостру токсичність для бджіл); ОЕСР 216 (Ґрунтові мікроорганізми: випробування на перетворення азоту); ОЕСР 217 (Ґрунтові мікроорганізми: випробування на перетворення вуглецю); ОЕСР 223 (Тест на гостру оральну токсичність для птахів). Розроблено системи якості та контролю екотоксикологічних досліджень, що дозволило отримати національну і міжнародну акредитацію щодо проведення вищезазначених досліджень. Подальша діяльність підрозділу спрямовуватиметься на розширення екотоксикологічних досліджень за міжнародними методами ОЕСР і дотриманням вимог GLP, що сприятиме розвитку екотоксикологічного напрямку як у науковому центрі, так і в Україні в цілому.

**Ключові слова:** екотоксикологія, пестициди та агрохімікати, біологічні тест-системи, методи ОЕСР, хороша лабораторна практика (GLP).

P. Zhminko<sup>1</sup>, T. Yurchenko<sup>1</sup>, M. Prodanchuk<sup>1</sup>, M. Povochnikov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

### MODERN METHODS FOR STUDYING ACUTE TOXICITY OF POLLUTANTS FOR REPRESENTATIVES OF AQUATIC AND TERRESTRIAL ECOSYSTEMS AND INTRODUCING THEM INTO PRACTICE OF THE RESEARCH CENTRE OF PREVENTIVE AND REGULATORY TOXICOLOGY

**ABSTRACT.** The paper provides a brief historical background on the formation and development of ecotoxicology as a science, reflects the main modern methods and principles for studying the acute toxicity of xenobiotics for representatives of aquatic and terrestrial ecosystems recommended by the OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). The classification of acute ecotoxicity of chemicals for land and water test systems is given.

Further perspective development of the unit, which will be aimed at expanding ecotoxicological research in accordance with international OECD methods and GLP requirements, has been outlined.

**Aim.** Revealing the main methods and principles recommended by the OECD for determining acute toxicity for biological objects of aquatic and terrestrial ecosystems and putting these methods and principles into practice of the Scientific Centre.

**Materials and Methods.** The work was based on the implementation of international OECD standards and GLP principles. The OECD public electronic library of methods, particularly section 2 of the Instructions for Testing Chemicals, was used and analysed.

**Results and Conclusions.** International methods for determining the acute toxicity of pollutants for non-target environmental objects were put into practice in the Scientific Centre, such as OECD 201 (Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test); OECD 202 (Daphnia sp. Acute Immobilisation Test); OECD 203 (Fish, Acute Toxicity Test); OECD 207 (Earthworm, Acute Toxicity Tests); OECD 213 (Honeybees, Acute Oral Toxicity Test); OECD 216 (Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test); OECD 217 (Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test); OECD 223 (Avian Acute Oral Toxicity Test). Systems for the quality and control of ecotoxicological studies have been developed, which made it possible to obtain national and international accreditation for the conduct of the above studies. Further activities of the department will be aimed at expanding ecotoxicological research using international OECD methods and compliance with GLP requirements, which will contribute to the development of ecotoxicological research both in the Scientific Centre and in Ukraine as a whole.

**Key Words:** ecotoxicology, pesticides and agrochemicals, biological test systems, OECD methods, good laboratory practice (GLP).

**Вступ.** У сучасних умовах одними з поширених забруднювачів навколишнього середовища є засоби захисту рослин (пестициди і агрохімікати), які цілеспрямовано вносяться в довкілля і можуть перебувати в різних середовищах тривалий час, що може бути згубним для більшості представників агробіоценозу [1]. Значний внесок у забруднення води та ґрунту роблять також хімічні речовини різного призначення, стічні води промислових підприємств, фармацевтичних заводів, тваринницьких ферм, хімічні та біологічні відходи та ін. [2]. Для визначення потенційної небезпечності та попередження негативного впливу на об'єкти навколишнього середовища необхідна добре організована науково-дослідницька база з використанням сучасних, інформативних і валідованих методів досліджень токсичності та віддалених ефектів впливу, якими є методи ОЕСР (Організація економічного співробітництва та розвитку; Organization for Economic Cooperation and Development, OECD) та система контролю за станом навколишнього середовища.

У ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України» (надалі НЦ) за активної участі багатьох фахівців створено науковий підрозділ щодо вивчення впливу пестицидів і агрохімікатів на живі організми різних екосистем, що є нецільовими при застосуванні засобів хімізації та піддаються їхньому згубному впливові. Йдеться про такі біологічні види як бджоли та інші запилювачі, макро- і мікроорганізми ґрунту, хребетні та безхребетні мешканці водойм, дикі птахи, ссавці тощо. Зазначені біологічні об'єкти є важливими ланками агроекосистем та екосистем всієї планети. У сучасних умовах розвиток цього напрямку вкрай важливий, оскільки безпечне існування цих

**Introduction.** In modern conditions, plant protection products (pesticides and agrochemicals) are one of the most common environmental pollutants, which are deliberately introduced into the environment and can be in different environments for a long time, which can be detrimental to most representatives of agro-biocenosis [1]. Chemical substances for various purposes, wastewater from industrial enterprises, pharmaceutical plants, livestock farms, chemical and biological wastes, etc. also have a large contribution to water and soil pollution. [2]. To determine the potential hazard and prevent negative impacts on environmental objects, a well-organized research base such as the methods of the OECD (Organization for Economic Cooperation and Development) and an environmental monitoring system is required using modern, informative, and validated methods for studying toxicity and long-term effects of exposure.

At the State Enterprise Scientific Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety named after Academician L.I. Medved of the Ministry of Health of Ukraine, with the active participation of many specialists, a scientific unit was created to study the effect of pesticides and agrochemicals on living organisms of different ecosystems, which are non-targeted when using chemicals and are subject to their detrimental effects. We are talking about such biological species as bees and other pollinators, soil macro- and micro-organisms, vertebrate and invertebrate inhabitants of water bodies, wild birds, and mammals. These biological objects are important links in agroecosystems and ecosystems throughout the planet. In modern conditions, the development of this direction is especially important since the safe existence of these

організмів визначає якість усіх екосистем та якість життя людини.

**Історія розвитку екоотоксикології у світі та НЦ, основні положення.** Вперше в 1969 році Рене Траут об'єднав екологію і токсикологію та виділив екоотоксикологію (ecotoxicology) як самостійну науку. Насправді ця галузь знань поєднує в собі значно більше природничих наук. Це — хімія, біохімія, фізіологія, популяційна генетика. Екоотоксикологія як термін, що визначає самостійний науковий напрямок, введений у 1976 р. Коли при міжнародному науковому комітеті з проблем навколишнього середовища була організована спеціальна робоча комісія з екологічної токсикології, тоді ж і було затверджено офіційне визначення цього напрямку, який став складовою загальної токсикології, доповнюючи її [3].

Однією з відправних точок для утвердження цієї галузі як самостійної стало усвідомлення проблеми антропогенного забруднення навколишнього середовища від неконтрольованого використання пестицидів. Не останню роль в цьому зіграла книга (1962) «Silent Spring» Рейчел Карсон [4]. Авторка розповідала всьому світові про наслідки забруднення довкілля пестицидами, особливо ДДТ. У цій науково-популярній праці описано негативний вплив безладно застосованих отрутохімікатів на навколишнє середовище, особливу увагу вона приділила долі популяції диких птахів, які стали тривожним маркером щодо згубної дії пестицидів. Завдяки виходу у світ цього бестселера багатьом стало зрозумілим, що якість життя людства залежить від якості життя усіх представників живої природи.

Відтоді науковців непокоять ризики, пов'язані з використанням пестицидів та інших токсичних речовин, не лише для людського здоров'я, а й для всієї екосистеми. Йдеться не про прямий вплив ксенобіотика, а опосередкований — через ґрунт, воду, продукти харчування. Також стало зрозумілим, що певні живі організми, з одного боку, страждають від впливу токсиканта, а з іншого — можуть бути індикатором цього впливу. Отже, питання впливу токсикантів вже були в полі зору науковців ще в 60-х роках минулого століття і дослідження в цій галузі почали розвиватися саме з того часу як у світі, так і в нашому НЦ.

У 70-х роках минулого століття в нашому

organisms determines the quality of all ecosystems and the quality of human life.

**The history of the development of ecotoxicology in the world and in the Scientific Centre, the main provisions.** For the first time in 1969, Rene Trout combined ecology and toxicology and singled out ecotoxicology as an independent science. In fact, this area of knowledge combines much more natural sciences. These are chemistry, biochemistry, physiology, population genetics. Ecotoxicology as a term defining an independent scientific direction was introduced in 1976. When a special working commission on ecological toxicology was organized under the international scientific committee on environmental problems, it was approved the official definition of this direction, which became an integral part of general toxicology, supplementing it [3].

One of the main starting points of this industry in the world was the awareness of the problem of anthropogenic environmental pollution from the uncontrolled use of pesticides which arose after the publication of the book *Silent Spring* by Rachel Carson in 1962 [4]. The author told the entire world about the consequences of environmental pollution with pesticides, especially with DDT. This popular science work describes the negative impact of indiscriminately applied pesticides on the environment, she paid special attention to the fate of wild bird populations, which have become an alarming marker regarding the destructive effects of pesticides. Thanks to the publication of this bestseller, it became clear to many that the quality of life of humankind depends on the quality of life of all representatives of wildlife.

Since then, scientists have been concerned about the risks associated with the use of pesticides and other toxic substances, not only for human health, but for the entire ecosystem. This is not about the direct influence of the xenobiotic, but about the indirect influence i.e. through the soil, water, food. It also became clear that certain living organisms, on the one hand, suffer from the effects of a toxicant, and on the other, can be an indicator of this effect. Consequently, the issues of the influence of toxicants were already in the field of view of scientists as early as the sixties of the last century, and

науковому закладі конкретно та цілеспрямовано переймалися проблемами впливу засобів захисту рослин саме на нецільові організми довкілля. Так, професор К.К. Врочинський у своїх дослідженнях виявив порушення поведінки гідробіонтів після токсичного впливу пестицидів і рекомендував використовувати їх як тест-об'єкт в експериментальній водній токсикології для оцінки небезпечності ксенобіотиків [5]. У своїх роботах науковець звертав увагу на накопичення пестицидів у кінцевих ланках біологічного ланцюга і попереджав: це може нашкодити здоров'ю людини. Спираючись на результати досліджень, професор К.К. Врочинський розробив заходи з охорони водойм та підземних вод від забруднення пестицидами [5].

У 80-х роках минулого сторіччя в роботах професорів В.М. Кавецького, В.П. Василюва, Є.І. Спино запропоновано оцінювати ризик застосування пестицидів у сільськогосподарських екосистемах за допомогою інтегрального агроекотоксикологічного індексу АЕТІ, що ґрунтується на поєднанні санітарно-гігієнічних властивостей політанта, швидкості його деградації та ґрунтово-кліматичних умов територій. За допомогою цієї моделі стало можливим встановлювати залежність екологічної небезпеки від пестицидного навантаження [4].

Наприкінці 1990-х та початку 2000-х років наші науковці Н.А. Риженко, О.М. Багацька, Т.В. Юрченко провели екотоксикологічні дослідження при застосуванні добрив на типових ґрунтах України [7]. Роботи були присвячені міграції токсичних металів у системі добриво-ґрунт-рослина під дією добрив та в умовах імпактного забруднення ґрунтів, оцінці ризику застосування добрив, фітотоксичності політантів. Автори запропонували прогностичні моделі оцінки ризику застосування добрив [8].

Екотоксикологія як широкий науковий напрямок охоплює:

- **екотоксикокінетику** – розглядає шляхи розповсюдження ксенобіотиків у навколишньому середовищі, джерела надходження, розподіл, перетворення;
- **екотоксикодинаміку** – досліджує конкретні механізми розвитку токсичного процесу, викликаного дією токсиканта в біоценозі;
- **екотоксикометрію** – ряд методичних прийомів, що дозволяють оцінити екотоксичність.

research in this area began to develop precisely since then, both in the world and in our Scientific Centre.

In the seventies of the last century, our scientific institution specifically and purposefully dealt with the problems of the impact of plant protection products on non-target environmental organisms. So, Professor K. Vrochinsky in his studies revealed a violation of the behaviour of hydrobionts after the toxic effects of pesticides and recommended using them as a test object in experimental aquatic toxicology to assess the danger of xenobiotics [5]. In his works, the scientist drew attention to the accumulation of pesticides in the final links of the biological chain and warned that this could harm human health. Based on the research results, Professor K. Vrochinsky developed measures to protect reservoirs and groundwater from pollution by pesticides [5].

In the 80s of the last century, it was proposed in the works of professors V. Kavetsky, V. Vasilyev, E. Spin to assess the risk of pesticide use in agricultural ecosystems using the integral agro-ecotoxicological index (AETI), based on a combination of the sanitary and hygienic properties of the pollutant, the rate of its degradation, and the soil and climatic conditions of the territories. Using this model, it became possible to establish the dependence of environmental hazard on the pesticide load [4].

In the late 1990s and early 2000s, our scientists N. Ryzhenko, O. Bahatska, T. Yurchenko conducted ecotoxicological studies with the use of fertilizers on typical soils of Ukraine [7]. The works were devoted to the migration of toxic metals in the fertilizer-soil-plant system under the action of fertilizers and under conditions of impact soil pollution, to the assessment of the risk of using fertilizers, as well as to the phytotoxicity of pollutants. The authors proposed predictive models for assessing the risk of fertilizer application [8].

Ecotoxicology as a broad scientific area covers:

- **ecotoxicokinetics**, which considers the distribution of xenobiotics in the environment, sources of entry, distribution, transformation;
- **ecotoxicodynamics**, which explores the

Саме в межах екотоксикометрії, протягом 50-ти річного розвитку цього напрямку світова наукова спільнота провела значну кількість досліджень, систематизувала методи досліджень, які стали міжнародно визнаними стандартами.

Уже на початку 80-х років минулого століття країнами членами Організації економічного співробітництва та розвитку (ОЕСР) розроблено методи щодо випробувань хімічних речовин на біологічних об'єктах навколишнього середовища з метою достовірності та міжнародної валідованості (уніфікації) даних випробувань [9].

Завдяки цим методам є можливість визначити вплив токсичних речовин на представників екосистем у лабораторних умовах.

**Мета.** Висвітлення основних методів і принципів визначення гострої токсичності для біологічних об'єктів водної та наземної екосистем, рекомендованих ОЕСР, та впровадження їх у практику Наукового центру.

**Матеріали та методи.** У світовій екотоксикологічній лабораторній практиці ці тести прийняті як стандартні протоколи проведення досліджень. У загальній базі даних у секції, що присвячена вивченню ефектів на біологічних об'єктах, станом на 2021 рік налічується 51 рекомендований метод. Зокрема це – вивчення гострої токсичності, контактної дії, хронічних ефектів, визначення репродуктивної токсичності тощо, які застосовуються на різних видах живих організмів (безхребетні, хребетні, рослини, бактерії), які є представниками різних екосистем, а також на різних стадіях їхнього розвитку. Також екотоксикометрія передбачає використання не тільки лабораторних методів досліджень, а й напівпольові та польові методи [9].

Таким чином, будь-які речовини, що використовуються в екосистемах, можуть бути дослідженими щодо їхнього впливу на біоту. Слід зазначити, що в екотоксикологічних експериментах розділяють два дослідні середовища: водну екосистему і наземну, для яких і визначають екотоксичність поллютантів. Ці екосистеми відрізняються відмінністю піддослідних організмів, особливостями проведення та методами досліджень.

У світовій екотоксикологічній лабораторній практиці для оцінки ризику впливу

specific mechanisms of the development of a toxic process caused by the action of a toxicant in a biocenosis;

– **ecotoxicometry**, that is, a number of methodological techniques that allow assessing ecotoxicity.

It is within the framework of ecotoxicometry, during the 50-year development of this area, that the world scientific community has conducted a large number of studies, systematized research methods that have become internationally recognized standards.

Already in the early eighties of the last century, member countries of the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) developed methods for testing chemicals on biological objects of the environment with the aim of reliability and international validation (unification) of test data [9].

Thanks to these methods, it is possible to determine the impact of toxic substances on representatives of ecosystems in the laboratory.

**Aim.** Revealing the main methods and principles recommended by the OECD for determining acute toxicity for biological objects of aquatic and terrestrial ecosystems, and putting these methods and principles into practice of the Scientific Centre.

**Materials and Methods.** In the world ecotoxicological laboratory practice, these tests are accepted as standard research protocols. In the general database in the section devoted to the study of effects on biological objects, as of 2021, there are 51 recommended methods. In particular, this is the study of acute toxicity, contact action, chronic effects, determination of reproductive toxicity, etc., which are used on diverse types of living organisms (invertebrates, vertebrates, plants, bacteria) that are representatives of different ecosystems, as well as on various stages of their development. Ecotoxicometry also involves the use of not only laboratory research methods, but semi-field and field methods [9].

Thus, any substances used in ecosystems can be investigated for their effect on biota. It should be noted that in ecotoxicological experiments, two experimental environments are separated, they are aquatic and terrestrial ecosystems, for which the ecotox-

поллютантів керуються наступними директивами:

Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/10329/2002/Керівний документ з наземної екотоксикології згідно з Директивою ради 91/414/EEC, SANCO/10329/2002 [10];

Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the context of the Directive 91/414/EEC, SANCO/3268/2001/Керівний документ з водної екотоксикології в контексті Директиви 91/414/EEC, SANCO/3268/2001 [11];

Guidance Document on Risk Assessment for Birds and Mammals Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/4145/2000/Керівний документ з оцінки ризику для птахів та ссавців відповідно до Директиви Ради 91/414/EEC, SANCO/4145/2000 [12].

Обов'язковою умовою належних екотоксикологічних досліджень токсичності поллютантів для біологічних тест-систем є суворе дотримання стандартів GLP («Good Laboratory Practice», Належна лабораторна практика), які включають систему норм, правил та вказівок, спрямованих на забезпечення узгодженості та достовірності результатів лабораторних досліджень.

**Практична діяльність екотоксикологічного підрозділу НЦ.** Практична діяльність екотоксикологічного підрозділу НЦ пов'язана з дослідженнями з визначення гострої токсичності пестицидів і агрохімікатів для нецільових об'єктів агроecosystem та екосистем у цілому.

У НЦ валідовано та введено в роботу 8 методів ОЕСР:

ОЕСР 201 (Тест на пригнічення росту прісноводних водоростей та ціанобактерій);

ОЕСР 202 (Тест на гостру іммобілізацію дафній);

ОЕСР 203 (Тест на гостру токсичність для риб);

ОЕСР 207 (Тест на гостру токсичність для земляних черв'яків);

ОЕСР 213 (Тест на гостру токсичність для бджіл);

ОЕСР 216 (Грунтові мікроорганізми: випробування на перетворення азоту);

ОЕСР 217 (Грунтові мікроорганізми: випробування на перетворення вуглецю);

ОЕСР 223 (Тест на гостру оральну токсичність для птахів).

icity of pollutants is determined. These ecosystems differ in the difference between the test organisms, the features of the conduct and research methods.

In the world ecotoxicological laboratory practice, the following directives are used to assess the risk of exposure to pollutants:

Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/10329/2002 [10];

Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the context of the Directive 91/414/EEC, SANCO/3268/2001 [11];

Guidance Document on Risk Assessment for Birds and Mammals Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/4145/2000 [12].

A prerequisite for proper ecotoxicological studies of the toxicity of pollutants for biological test systems is strict adherence to GLP (Good Laboratory Practice) standards, which include a system of norms, rules and guidelines aimed at ensuring the consistency and reliability of the results.

#### **Practical activities of the ecotoxicological division of the Scientific Centre**

The practical activity of the ecotoxicological unit of the Scientific Centre is related to the studies of determining the acute toxicity of pesticides and agrochemicals for non-target objects of agroecosystems and ecosystems in general.

The Scientific Centre validated and put into operation eight OECD methods, namely:

OECD 201 (Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test);

OECD 202 (Daphnia sp. Acute Immobilisation Test);

OECD 203 (Fish, Acute Toxicity Test);  
OECD 207 (Earthworm, Acute Toxicity Tests);

OECD 213 (Honeybees, Acute Oral Toxicity Test);

OECD 216 (Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test);

OECD 217 (Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test);

OECD 223 (Avian Acute Oral Toxicity Test).

According to these methods, internal

Згідно з цими методами були розроблені внутрішні стандартні операційні процедури (далі СОП), СОПи на апаратуру та процеси, які необхідні для виконання вищезазначених методів. У даній роботі ми коротко зупинимося на найважливіших моментах впроваджених методів досліджень.

**Методи та принципи визначення екотоксичності полютантів для водної екосистеми.**

**ОЕСР 203. Процедура тестування хімічних речовин на рибах – гупі (*Poecilia reticulata*), тест на гостру токсичність.**

Принцип методу: риби піддаються впливу досліджуваної речовини протягом 96 год. в різних концентраціях.

Смертність реєструється на 24-у, 48-у, 72-у і 96-у год., визначається концентрація досліджуваної речовини, що викликає загибель 50 % особин, що становлять тестову групу ( $LC_{50}$ ). Риба піддається впливу випробовуваної хімічної речовини протягом 96 годин у статичних, напівстатичних або проточному режимі. Окрім смертності, фіксуються видимі відхилення, пов'язані із зовнішнім виглядом та поведінкою риб [13].

**ОЕСР 202. Процедура тестування хімічних речовин на ракоподібних – дафніях (*Daphnia magna*), тест на гостру токсичність.**

Принцип методу: молоді дафнії, яким на початку тесту має бути менше 24 годин, піддаються дії досліджуваної речовини в широкому діапазоні концентрацій протягом 48 годин.

Імобілізація (знерухомлення) дафній реєструється через 24 години та 48 годин і порівнюється з контрольними значеннями. Результати аналізуються для того, щоб розрахувати  $EC_{50}$  через 48 годин. Визначення  $EC_{50}$  через 24 години є необов'язковим. Також фіксуються сублетальні ефекти протягом досліду [14].

**ОЕСР 201. Процедура тестування хімічних речовин на водоростях – хлорела (*Chlorella*), тест на затримку росту.**

standard operating procedures (hereinafter referred to as SOPs) were developed, namely SOPs for equipment and processes necessary to perform the above methods. In this paper, we will briefly dwell on the most important points of the implemented research methods.

**Methods and principles for determining the ecotoxicity of pollutants for the aquatic ecosystem.**

**OECD 203 (Fish, Acute Toxicity Test). Procedure for Testing Chemicals on Guppies (*Poecilia reticulata*).**

Principle of the method: fish are exposed to the test substance for 96 hours in different concentrations.

Mortality is recorded at the 24th, 48th, 72nd and 96th hours, the concentration of the test substance is determined, which caused the death of 50% of the individuals that make up the test group ( $LC_{50}$ ). The fish are exposed to the test chemical for 96 hours in static, semi-static or flow modes. In addition to mortality, visible deviations associated with the appearance and behaviour of fish are recorded [13].

**OECD 202 (*Daphnia sp.* Acute Immobilisation Test). Procedure for Testing Chemicals on *Daphnia* Crustaceans (*Daphnia magna*).**

Principle of the method: young daphnia, which should be less than 24 hours old at the start of the test, are exposed to the test substance in a wide range of concentrations for 48 hours.

Immobilization of daphnia is recorded after 24 hours and 48 hours and compared with control values. The results are analysed to calculate the  $EC_{50}$  after 48 hours. Determination of  $EC_{50}$  after 24 hours is optional. Sublethal effects are also recorded during the experiment [14].

**OECD 201 (Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test).**



Принцип методу полягає в кількісному визначенні зростання та інгібування росту водоростей на підставі вимірів їхньої біомаси залежно від концентрації і часу дії.

Водоростеву біомасу визначають як суху кількість водоростей на 1 л досліджуваного розчину [15]. Результатом тестування є інгібування росту, виражене як логарифмічне збільшення біомаси (середньої специфічної швидкості росту) протягом періоду дії.

Із середніх значень специфічних швидкостей росту, зареєстрованих у серії тестових розчинів, концентрація, що викликає певний відсоток пригнічення росту (наприклад, 50 %) визначається і виражається як  $ErCx$  ( $ErC_{50}$ ).

В якості додаткового параметра відгуку рекомендується використовувати приріст зміни біомаси наприкінці тестування щодо її значення на початку експерименту. Від приросту, зареєстрованого в серії досліджуваних розчинів, концентрація, що викликає певне пригнічення росту (наприклад, 50 %), визначається і виражається як  $EyCx$  (наприклад,  $EyC_{50}$ ). У результаті тестування можна зафіксувати найменш ефективну концентрацію (LOEC) і неефективну концентрацію (NOEC) [15].

Виконання дослідів з визначення водної екотоксичності хімічних речовин регламентується «Guidance Document On Aqueous-Phase Aquatic Toxicity Testing Of Difficult Test Chemicals. Series On Testing And Assessment № 23» [16], який містить вказівки щодо випробування хімічних речовин, аби встановити їхню токсичність для водної екосистеми. Це керівництво застосовується для водних досліджень розчиненої фракції досліджуваних хімікатів. Ця фракція є найактуальнішим показником, оскільки взаємозв'язки ефектів при випробуваннях впливу на водну екосистему, як правило, найкраще виявляються, коли підтверджені аналітичними методами концентрації при експозиції розчиненої досліджуваної хімічної речовини.

**Методи визначення екотоксичності полутантів для наземної екосистеми.**

*ОЕСР 213. Процедура тестування хімічних речовин на медоносних бджолах (*Apis mellifera*), тест на гостру оральну токсичність.*

Принцип методу: дорослі

*Procedure for Testing Chemicals on Algae – Chlorella.*

The principle of the method is to quantify the growth and growth inhibition of algae from measurements of their biomass in dependence of concentration and time of action.

Hydrogen biomass is defined as the dry amount of algae per 1 litre of the test solution [15]. The test result is growth inhibition, expressed as a logarithmic increase in biomass (average specific growth rate) over the period of action.

From the average values of specific growth rates recorded in a series of test solutions, the concentration that causes a certain percentage of growth inhibition (e.g. 50%) is determined and expressed as  $ErCx$  ( $ErC_{50}$ ).

As an additional response parameter, it is recommended to use the increase in biomass change at the end of testing relative to its value at the beginning of the experiment. From the increase recorded in a series of test solutions, the concentration causing a certain growth inhibition (e.g. 50%) is determined and expressed as  $EyCx$  (e.g.  $EyC_{50}$ ). As a result of testing, it is possible to fix a less effective concentration (LOEC) and an ineffective concentration (NOEC) [15].

The performance of experiments to determine the aquatic ecotoxicity of chemicals is regulated by the “Guidance Document on Aqueous-Phase Aquatic Toxicity Testing of Difficult Test Chemicals. Series On Testing and Assessment No. 23” [16], which contains guidelines for testing chemicals to determine their toxicity to the aquatic ecosystem. This guide applies to aqueous studies of the dissolved fraction of the chemicals under study. This is the most relevant metric because effect relationships in aquatic ecosystem exposure tests tend to be best shown when confirmed by analytical methods on exposure concentrations of a dissolved test chemical.

**Methods for determining the ecotoxicity of pollutants for the terrestrial ecosystem.**

*OECD 213 (Honeybees, Acute Oral Toxicity Test). Procedure for Testing Chemicals on Honeybees (*Apis mellifera*).*

Method principle: adult





робочі медоносні бджоли піддаються широкому діапазону доз досліджуваної речовини, диспергованої в розчині сахарози.

Смертність реєструють щодня протягом принаймні 48 годин і порівнюють із контрольними значеннями. Якщо рівень смертності зростає від 24 до 48 годин, тоді як контрольна смертність залишається на рівні  $\leq 10\%$ , доцільно продовжити тривалість тесту максимум до 96 годин. Результати аналізуються для того, щоб розрахувати  $LD_{50}$  через 24 години та 48 годин, а в разі продовження дослідження – через 72 години та 96 годин [17].

*ОЕСР 207. Процедура тестування хімічних речовин на дощових черв'яках (Eisenia foetida), тест на гостру токсичність.*

Принцип методу: утримання дощових черв'яків у зразках точно визначеного (стандартного) штучного ґрунту, до якого застосовано діапазон концентрацій досліджуваної речовини.

Смертність оцінюється через 7 та 14 днів після застосування. В дослідженні слід використовувати одну концентрацію, яка не призведе до смертності, концентрації, що викликають часткову загибель, та одну, що призведе до загальної смертності. Результати аналізують та розраховують  $LD_{50}$  за 14 днів експозиції [18].

*ОЕСР 223. Процедура визначення гострої пероральної токсичності для птахів – перепілки (Coturnix japonica).*

Принцип методу: тест розбивається на кілька окремих етапів. На кожному етапі птахам одночасно згодують одну дозу (мг/кг маси тіла птиці) досліджуваної речовини, вводячи її в зоб або передшлунок.

Залежно від етапу досліду окремі птахи можуть отримувати різні дози або декільком птахам згодують одну і ту ж дозу (тобто одна доза на даній стадії випробувань дублюється повтореннями). Для тестових речовин, для яких висока токсичність малоімовірна, рекомендується проводити дослід з однією дозою (лімітуючою дозою – 2000 мг/кг), яку вводять декільком птахам. Якщо речовина токсична,

worker honeybees are exposed to a wide range of doses of the test substance dispersed in a sucrose solution.

Mortality is recorded daily for at least 48 hours and compared with control values. If the mortality rate rises from 24 to 48 hours while the control mortality remains at  $\leq 10\%$ , it is reasonable to extend the duration of the test to a maximum of 96 hours. The results are analysed to calculate the  $LD_{50}$  at 24 hours and 48 hours, and if the study is continued, at 72 hours and 96 hours [17].

*OECD 207 (Earthworm, Acute Toxicity Tests). Procedure for Testing Chemicals on Earthworms (Eisenia foetida).*

Principle of the method: keeping earthworm in samples of a well-defined (standard) artificial soil, to which a range of concentrations of the test substance is applied.

Mortality is assessed in 7 and 14 days after application. The study should use one concentration that will not result in mortality, concentrations that will cause partial death, and one that will result in total mortality. The results are analysed and  $LD_{50}$  is calculated for 14 days of exposure [18].

*OECD 223 (Avian Acute Oral Toxicity Test). Test Procedure for Birds – Quail (Coturnix japonica).*

The principle of the method: the test is divided into several separate stages. At each stage, the birds are simultaneously fed one dose (mg/kg of body weight of the bird) of the test substance, injected into the crop or fore stomach.

Depending on the stage of the trial, individual birds may receive different doses, or several birds may be fed the same dose (i.e. one dose at this stage of the trial is duplicated by repetitions). For test substances for which high toxicity is unlikely, it is recommended to test with a single dose (limiting dose – 2000 mg/kg) administered to several birds. If the substance is toxic, instead of the



замість варіанта досліду з лімітуючою дозою рекомендується застосовувати послідовну схему досліду. Етапи 1 і 2 цієї схеми не вимагають повторень, а на етапах 3 і 4 дози дублюють повторно. На етапі 1 діапазон випробовуваних доз встановлюють на оптимально доступній (відомій) оцінці  $LD_{50}$  (наприклад, величиною, визначеною для гризунів). Дози для наступних етапів – на рівнях смертності, що виявилися на всіх попередніх, отже, величину  $LD_{50}$  і кут нахилу кривої доза-ефект розраховують одночасно.

Після введення доз речовини за птахами спостерігають протягом 14 днів, аби встановити рівень смертності. Іноді може знадобитися подовження терміну спостережень, залежно від того, чи є ознаки віддаленого впливу. Поетапний дослід найпростіше ставити при тестуванні речовин, що викликають загибель протягом декількох днів. У цьому випадку немає необхідності очікування 14 днів, щоб перейти до наступного етапу, хоча спостереження за всіма птахами потрібно продовжувати. Смертність, виявлена після закінчення невеликого проміжку часу, може знадобитися для визначення величин доз для випробувань на наступних етапах досліду (зазвичай можна використовувати термін три дні). Птахів, які мають наявні ознаки болю або страждань, піддають евтаназії. Даних, отриманих протягом перших трьох днів досліду, зазвичай достатньо для встановлення чи відновиться стан птиці, чи відбуватиметься подальший розвиток інтоксикації та настане її загибель. Розрахунок робочих оцінок вимірюваних величин вже на 3-й день етапу досліду дозволяє завершити дослід і провести всі дозування протягом коротшого часу. Якщо дані 3-го дня свідчать про можливість подальшого збільшення смертності птахів, розрахунок робочої величини  $LD_{50}$  можна відкласти, поки не стане зрозумілим, що стан всіх птахів відновився після токсичного впливу речовини. У деяких випадках очікування продовжують до 14 днів, перш ніж переходити до наступного етапу. Остаточний розрахунок величини  $LD_{50}$  проводять, ґрунтуючись на даних, зібраних за підсумками всіх стадій досліду.

Смертність є головним і основним підсумком тесту, в контролі вона повинна бути дуже малою. Потрібно стежити за станом здоров'я і умовами утримання контрольних птахів, щоб результати випробувань не викликали сумнівів [19].

experiment with a limiting dose, it is recommended to use a sequential design of the experiment. Steps 1 and 2 of this scheme do not require repetitions, and in steps 3 and 4, the doses are re-duplicated. In step 1, the dose range tested is set to the optimally available (known)  $LD_{50}$  estimate (e. g., determined for rodents). Doses for subsequent stages are at the mortality levels found at all previous ones, therefore, the  $LD_{50}$  value and the slope of the dose-response curve are calculated simultaneously.

After dosing the substance, the birds are observed for 14 days to determine the mortality rate. Occasionally, an extension of the follow-up period may be required depending on whether there is evidence of remote exposure. Staged experiments are easiest to set up when testing substances that cause death within a few days. In this case, there is no need to wait 14 days to move on to the next stage, although all birds should be observed. Mortality detected after a brief period may be required to determine the dose values for tests at subsequent stages of the experiment (usually a period of three days can be used). Birds showing signs of pain or suffering are euthanized. The data obtained during the first three days of the experiment is usually sufficient to establish whether the state of the bird will be restored, or whether further development of intoxication will occur and then its death will occur. The calculation of working estimates of the measured values already on the third day of the experiment stage allows you to complete the experiment and make all dosages in a shorter time. If the 3-day data indicate the possibility of a further increase in bird mortality, the calculation of the working  $LD_{50}$  value can be deferred until it is clear that all birds have recovered from the toxic exposure to the substance. In some cases, waiting continues up to 14 days before moving on to the next stage. The final calculation of the  $LD_{50}$  value is made based on the data collected at the end of all stages of the experience.

Mortality is the main and principal result of the test and in the control one it should be small. The health status and conditions of control birds should be monitored so that the test results are not in doubt [19].

Птахи, що виявляють у ході досліду відчутні ознаки болю і страждань, підлягають евтаназії. При проведенні експериментів необхідно максимально дотримуватися правил гуманного поводження з тваринами, зазначених у Directive 2010/63/EU [16].

*ОЕСР 216. Процедура тестування хімічних речовин на ґрунтових мікроорганізмах, тест на трансформацію азоту.*

Принцип методу: у просіяний ґрунт додають порошкоподібне рослинне борошно та обробляють досліджуваною речовиною або не обробляють (контроль).

Для випробовування пестициду чи агрохімікату рекомендується мінімум дві тестові концентрації, їх слід вибирати по відношенню до найвищої концентрації, яка очікується при застосуванні речовини в польових умовах. Після 0, 7, 14 днів та 28 днів інкубації зразки оброблених та контрольних ґрунтів екстрагують відповідним розчинником та визначають кількості нітратів у екстрактах. Швидкість утворення нітратів у оброблених зразках порівнюють із швидкістю утворення їх у контролі, обчислюють відсоток відхилення обробленого ґрунту від контролю. Усі тести проводять принаймні 28 днів. Якщо на 28-й день різниця між обробленими та необробленими ґрунтами дорівнює або перевищує 25 %, вимірювання продовжують максимум до 100 днів. Результати тестів з багаторазовими концентраціями аналізуються за допомогою регресійної моделі і обчислюються значення  $EC_{50}$ ,  $EC_{25}$  та/або  $EC_{10}$  [21].

*ОЕСР 217. Процедура тестування хімічних речовин на ґрунтових мікроорганізмах, тест на трансформацію  $CO_2$ .*

Принцип методу ОЕСР 217: у попередньо просіяний ґрунт додають досліджувану речовину. Для випробовування агрохімікату рекомендується мінімум дві тестові концентрації, їх слід вибирати відповідно до найвищої концентрації, передбаченої норми витрати на полі. Після 0, 7, 14 та 28 днів інкубації зразки оброблених та контрольних ґрунтів змішують з глюкозою та вимірюють частоту дихання протягом 12 годин поспіль. Частота дихання виражається в кількості виділеного вуглекислого газу (мг діоксиду вуглецю/кг сухого ґрун-

Birds that show tangible signs of pain and suffering during the experiment are subject to euthanasia. When conducting experiments, it is necessary to observe the rules of humane treatment of animals specified in Directive 2010/63/EU [16] as much as possible.

*OECD 216 (Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test). Procedure for Testing Chemicals on Soil Microorganisms.*

Principle of the method: powdered vegetable flour is added to the sifted soil and treated with the test substance or not treated (control).

For testing a pesticide or agrochemical, a minimum of two test concentrations are recommended and should be chosen relative to the highest concentration that is expected when the substance is applied in the field. After 0, 7, 14 and 28 days of incubation, samples of the treated and control soils are extracted with a suitable solvent and the number of nitrates in the extracts is determined. The speed of the adoption of nitrates in the processed soils is compared to the speed of the adoption of them in the control one, the percentage deviation of the treated soil from the control one is calculated. All tests should be carried out for 28 days. If on day 28 the differences between treated and untreated soils are equal to 25% or more, measurements are continued for 100 days. Test results with different concentrations are analysed using an additional regression model and  $EC_x$  values are calculated (that is,  $EC_{50}$ ,  $EC_{25}$ , and/or  $EC_{10}$ ) [21].

*OECD 217 (Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test). Procedure for Testing Chemicals on Soil Microorganisms.*

Principle of OECD Method 217: Add test substance to previously sieved soil. A minimum of two test concentrations are recommended for testing an agrochemical, and these should be selected according to the highest concentration rate foreseen for field application. After 0, 7, 14 and 28 days of incubation, samples of treated and control soils are mixed with glucose and the respiratory rate is measured for 12 hours. The respiratory rate is expressed as the amount of carbon dioxide released (mg of carbon diox-



ту/год) або споживаного кисню (мг кисню/кг ґрунту/год). Середню частоту дихання в оброблених зразках ґрунту порівнюють із частотою дихання в контролі та обчислюють відсоток відхилення обробленої від контролю. Усе тестування проводять принаймні 28 днів. Якщо на 28-й день різниці між обробленими та необробленими ґрунтами рівні до 25 % або більше, вимірювання продовжуються з інтервалом у 14 днів протягом максимум 100 днів. Якщо випробовуються хімічні речовини, крім агрохімікатів, до зразків ґрунту додають серію концентрацій досліджуваної речовини, а через 28 днів вимірюють частоту дихання, спричинену глюкозою (тобто середню кількість утвореного вуглекислого газу або споживаного кисню). Результати тестів із низкою концентрацій аналізуються за допомогою регресійної моделі і обчислюються значення  $EC_x$  (тобто  $EC_{50}$ ,  $EC_{25}$  та/або  $EC_{10}$ ) [22].

Методи визначення гострої токсичності для біологічних тест-об'єктів призначені для визначення ступеня токсичності політантау та оцінки можливої небезпеки його для інших організмів тієї чи іншої екосистеми.

Головні переваги тестів з визначення гострої токсичності – доступність засобів, висока чутливість тест-організмів до мінімальних концентрацій та швидкість випробувань.

Слід зазначити, що наприкінці ХХ сторіччя методи з визначення екоотоксичності стали широко використовуватися в практиці державного екологічного контролю більшості розвинених країн світу, в тому числі і в Україні. Екоотоксикологічні дослідження ввійшли до переліку обов'язкових тестів, необхідних для класифікації екологічної небезпеки пестицидів, агрохімікатів та інших хімічних сполук, оцінки ризику токсикантів для водної та наземної екосистем, реєстрації пестицидів та агрохімікатів в Україні.

**Матеріально-технічне забезпечення підрозділу.** Для виконання досліджень з визначення водної токсичності на сьогодні екоотоксикологічний підрозділ НЦ має необхідне базове обладнання та знаряддя. Це – дослідні акваріуми для імітації водного середовища для піддослідних організмів, кліматична установка з флуоресцентним освітленням для росту рослин та функцією

ide/kg of dry soil/h) or oxygen consumed (mg of oxygen/kg of soil/h). The average respiration rate in the treated soil samples is compared with the respiration rate in the control one and the percentage deviation of the treated soil from the control one is calculated. All testing is carried out for at least 28 days. If on day 28 the differences between treated and untreated soils are up to 25% or more, measurements are continued at intervals of 14 days for a maximum of 100 days.

If chemicals other than agrochemicals are being tested, a series of concentrations of the test substance are added to the soil samples and after 28 days the glucose-induced respiration rate (i. e. average amount of carbon dioxide created or oxygen consumed) is measured. The results of low concentration tests are analysed using a regression model and  $EC_x$  values (i. e.  $EC_{50}$ ,  $EC_{25}$  and/or  $EC_{10}$ ) are calculated [22].

Methods for determining acute toxicity for biological test objects are designed to determine the degree of toxicity of the pollutant and assess the possible danger to other organisms of a particular ecosystem.

The main advantages of acute toxicity tests are the availability of tools, the high sensitivity of test organisms to minimal concentrations, and the speed of testing.

It should be noted that at the end of the twentieth century, methods for determining ecotoxicity began to be widely used in the practice of state environmental control in most developed countries of the world, including Ukraine. Ecotoxicological studies are included in the list of mandatory tests required for classifying the environmental hazard of pesticides, agrochemicals, and other chemical compounds, for assessing the risk of toxicants for aquatic and terrestrial ecosystems, as well as for registering pesticides and agrochemicals in Ukraine.

**Material and technical support of the unit.** Today, the ecotoxicological unit of the Scientific Centre has the necessary basic equipment and devices to carry out studies to determine aquatic toxicity. These are experimental aquariums for simulating the aquatic environment for the test organisms, a climatic installation with fluorescent light-

імітування освітлення дня та ночі для інкубаційних процесів у досліді, усі необхідні прилади для вимірювання фізико-хімічних параметрів середовищ у досліді (кондуктометр, оксиметр, рН-метр).

Слід зазначити, що обов'язковою умовою тестів ОЕСР з визначення водної токсичності є підтвердження точними аналітичними методами концентрацій дослідних речовин у досліджуваному водному середовищі. Отже, підрозділ має можливість визначати концентрації хімічних речовин високоточними аналітичними методами (високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), газорідинна хроматографія (ГРХ)) завдяки співпраці з відділом аналітичної хімії НЦ.

Для виконання тестів з визначення наземної екотоксичності на сьогодні підрозділ має базове необхідне обладнання та устаткування. Це – комірки для імітації вуликів для тестування гострої токсичності на бджолах, умови та необхідне знаряддя для утримання птахів у досліді; компоненти та умови для приготування штучного ґрунту, кліматичні камери для інкубаційних процесів, що необхідні для проведення тестів з дощовими черв'яками, ґрунтовими бактеріями, дафніями та водоростями, прилади для вимірювання фізико-хімічних параметрів ґрунтового середовища (рН, вологості, температури), апаратуру для визначення аналітичними методами нітратного та амонійного азоту в ґрунті.

**Класифікації екотоксичності.** Дані з гострої токсичності для водних та наземних екосистем мають важливе значення для класифікації екологічної небезпеки хімічних речовин. В Україні на сьогодні не існує стандартів або класифікацій, затверджених офіційними установами. У своїй діяльності НЦ користується вже існуючою міжнародною (Узгоджена на глобальному рівні система класифікації та маркування хімічних речовин (УГС)) (англ. The Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals (далі GHS)) [23].

Екотоксичність речовини для водної екосистеми класифікується згідно з критеріями, що показані в табл. 1.

ing for plant growth and the function of simulating day and night lighting for incubation processes during the experiment, all the necessary instruments for measuring the physicochemical parameters of the media during the experiment (conductometer, oximeter, pH meter).

It should be noted that a prerequisite for OECD tests to determine aquatic toxicity is the confirmation by accurate analytical methods of the concentration of research substances in the studied aquatic environment. Consequently, the division can determine chemical concentrations with highly accurate analytical methods (i.e. High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Gas Liquid Chromatography (GLC)) through cooperation with the Department of Analytical Chemistry of the Scientific Centre.

To perform tests to determine terrestrial ecotoxicity, the unit currently has the basic necessary equipment and devices. These are cells for simulating beehives for testing acute toxicity on bees, conditions and necessary tools for keeping birds during the experiment; components and conditions for the preparation of artificial soil, climatic chambers for incubation processes necessary for testing with earthworms, soil bacteria, daphnia and algae, instruments for measuring the physical and chemical parameters of the soil environment (pH, humidity, temperature), equipment for determining the analytical methods of nitrate and ammonium nitrogen in the soil.

**Ecotoxicity classifications.** Acute toxicity data for aquatic and terrestrial ecosystems are essential for classifying the environmental hazards of chemicals. In Ukraine today there are no standards or classifications approved by official institutions. In its activities, the Scientific Centre uses the existing international classification (The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (hereinafter GHS)) [23].

The ecotoxicity of a substance to an aquatic ecosystem is classified according to the criteria shown in Tab. 1.

Таблиця 1

Класифікація екотоксичності хімічних речовин  
для представників водної екосистеми

Категорія	Еко-токсичність	LC <sub>50</sub> (для риб) 96 год EC <sub>50</sub> (для ракоподібних) 48 год EC <sub>50</sub> (для водоростей) 72 або 96 год, мг/дм <sup>3</sup>
Гостра 1	Надзвичайно екотоксичні	≤ 0,1
	Дуже екотоксичні	>0,1 – ≤ 1,0
Гостра 2	Екотоксичні	> 1,0 – ≤ 10,0
Гостра 3	Небезпечні	> 10,0 – ≤ 100,0
	Мало небезпечні	> 100

Згідно з GHS класифікації щодо оцінки водної токсичності є три категорії токсичності хімічних речовин: *дуже екотоксичні, екотоксичні, небезпечні для всіх водних мешканців*.

Категорія 1 у деяких регулюючих системах може бути розділена, аби включати нижній діапазон при L(E)C<sub>50</sub> < 0,1 мг/л і речовини класифікуються як *надзвичайно екотоксичні*.

Також категорія 3 в деяких регулюючих системах може бути розширена за межі L(E)C<sub>50</sub> 100 мг/л шляхом введення ще однієї категорії – *малонебезпечні*.

Наступна табл. 2 демонструє класифікацію GHS для оцінки наземної екотоксичності для ґрунтових безхребетних, у тому числі дощових черв'яків, а також наземних безхребетних та запилювачів, зокрема бджіл.

Класифікація екотоксичності хімічних речовин для наземних хребетних (дикі птахи) показана в табл. 3.

**Висновки.** Протягом діяльності екотоксикологічного підрозділу в НЦ було проведено ряд досліджень щодо екотоксичності пестицидів і агрохімікатів для риб, дафній, водоростей, бджіл, дощових черв'яків, птахів, ґрунтових бактерій при дотриманні вимог міжнародних методів ОЕСР. Визначено гостру токсичність для водної та наземної екосистем 28 препаративних форм пестицидів, 8 мінеральних добрив і 1 біопрепарату. Концентрації діючих речовин пестицидів у експозиційному водному сере-

Table 1

Classification of ecotoxicity of chemicals  
for the aquatic ecosystem

Category	Ecotoxicity	LC <sub>50</sub> (for fish) 96 hours EC <sub>50</sub> (for crustaceans) 48 hours EC <sub>50</sub> (for algae) 72 or 96 hours, mg/dm <sup>3</sup>
Acute 1	Extremely ecotoxic	≤ 0,1
	Very ecotoxic	>0,1 – ≤ 1,0
Acute 2	Ecotoxic	> 1,0 – ≤ 10,0
Acute 3	Hazard	> 10,0 – ≤ 100,0
	Low hazard	> 100

According to the GHS aquatic toxicity classification, there are three categories of chemical toxicity: *very ecotoxic, ecotoxic, and hazardous to all aquatic life*.

*Category 1* may be subdivided in some regulatory systems to include a lower range at L(E)C<sub>50</sub> < 0.1 mg/l and the substances are classified *as extremely ecotoxic*.

Also, category 3 in some regulatory systems can be extended beyond L(E)C<sub>50</sub> < 0.1 mg/l by introducing another category i.e. *low hazard*.

The following Tab. 2 shows the GHS classification for terrestrial ecotoxicity assessment for soil invertebrates, including earthworms, as well as terrestrial invertebrates and pollinators, in particular bees.

Classification of ecotoxicity of chemicals for terrestrial vertebrates (wild birds) is shown in the table 3.

**Results and Conclusions.** During the activities of the ecotoxicological unit at the Scientific Centre, a number of studies of the ecotoxicity of pesticides and agrochemicals for fish, daphnia, algae, bees, earthworms, birds, soil bacteria were carried out in compliance with the requirements of international OECD methods. Acute toxicity to aquatic and terrestrial ecosystems was determined for 28 formulations of pesticides, 8 mineral fertilizers and 1 biological product. The concentrations of the active ingredients of pesticides in the exposure aqueous medium were determined in the Laboratory

**Класифікація екотоксичності хімічних речовин для ґрунтових безхребетних, наземних безхребетних і запилювачів. / Classification of ecotoxicity of chemicals for soil invertebrates, terrestrial invertebrates, and pollinators**

Категорія/Category	Екотоксичність/ Ecotoxicity	Ґрунтові безхребетні мешканці, в тому числі дощові черв'яки, EC <sub>50</sub> , мг/кг сухої ваги ґрунту / Soil invertebrates, including earthworms, EC <sub>50</sub> , mg/kg soil dry weight	Листові безхребетні та запилювачі, в тому числі бджоли, LD <sub>50</sub> , мкг/бджолу / Leaf invertebrates and pollinators, including bees, LD <sub>50</sub> , µg/bee
Гостра 1 / Acute 1	Дуже екотоксичні / Very ecotoxic	≤ 10	≤ 1
Гостра 2 / Acute 2	Екотоксичні / Ecotoxic	10 < EC <sub>50</sub> ≤ 100	1 < LD <sub>50</sub> ≤ 10
Гостра 3 / Acute 3	Небезпечні / Hazard	100 < EC <sub>50</sub> ≤ 1000	> 10 ≤ 100

Таблиця 3

**Класифікація екотоксичності хімічних речовин для наземних хребетних (дикі птахи)**

Категорія	Еко-токсичність	LD <sub>50</sub> , мг/кг ваги тіла птаха
Гостра 1	Дуже екотоксичні	≤ 5,0
Гостра 2	Екотоксичні	> 5,0 – ≤ 50,0
Гостра 3	Небезпечні	> 50,0 – ≤ 500,0

довищі визначали в лабораторії аналітичної хімії НЦ за допомогою методу ВЕРХ на хроматографі Shimadzu LC-30A з мас-детектором Shimadzu LCMS-8050 згідно з рекомендаціями керівництва ОЕСР 23 [16]. Результати проведених досліджень з визначення екотоксичності, які у своєму складі містили фосфорорганічні компоненти, неонікотиніди, триазоли та інші сполуки оцінювали за допомогою вищезазначеної класифікації. Отримані дані щодо гострої токсичності досліджуваних препаратів не суперечили даним, описаним у міжнародних літературних джерелах для аналогічних пестицидів.

Завдяки цьому НЦ одержав високу оцінку та позитивні відгуки від експертів Міністерства енергетики та захисту довкілля України. Робота екотоксикологічного підрозділу позитивно оцінена фахівцями міжнародної агенції з атестації лабораторій згідно з критеріями GLP SNAS, адже НЦ

Table 3

**Classification of ecotoxicity of chemicals for terrestrial vertebrates (wild birds)**

Category	Ecotoxicity	LD <sub>50</sub> , mg/kg bird body weight
Acute 1	Extremely ecotoxic	≤ 0,1
Acute 2	Ecotoxic	> 1,0 – ≤ 10,0
Acute 3	Hazard	> 10,0 – ≤ 100,0

of Analytical Chemistry of the Scientific Centre using high performance liquid chromatography on a Shimadzu LC-30A chromatograph with a Shimadzu LCMS-8050 mass detector according to the recommendations of the OECD guidelines. The results of studies to determine the ecotoxicity, containing organophosphorus components, neonicotinoids, triazoles and other compounds, were evaluated using the above classification. The data obtained on the acute toxicity of the studied preparations did not contradict the data described in the international literature for similar pesticides.

Thanks to this, the Scientific Centre received a high rating and positive feedback from experts from the Ministry of Energy and Environmental Protection of Ukraine. The work of the ecotoxicological unit was positively assessed by the specialists of the international laboratory certification agency in accordance with the GLP SNAS criteria,

отримав Сертифікат GLP з екоотоксикологічного напрямку (сертифікат відповідності вимогам GLP "Statement of GLP compliance № G-042" issued by SNAS 10.03.2020 р.).

Подальший розвиток наукових досліджень за екоотоксикологічним напрямком у НЦ залежить від потреб сьогодення. Акредитована міжнародним агентством лабораторія повністю здатна проводити випробувальні екоотоксикологічні дослідження, які необхідні для Державної реєстрації пестицидів та агрохімікатів в Україні.

Маючи вищезазначений перелік інструментів та устаткувань для визначення екоотоксичності пестицидів на нецільових об'єктах навколишнього середовища, до переліку вже впроваджених методів буде додано декілька нових методів ОЕСР, які впроваджуватимуться у практику НЦ. Отже, щоб цикл досліджень щодо з'ясування впливу токсиканту на наземну екосистему був завершений, доцільно впровадити методи дослідження, що визначають екоотоксичність для наземних рослин. У переліку методів ОЕСР для встановлення фітотоксичності вже є офіційно затверджений метод ОЕСР 208 «Наземні рослини: Тест на проростання насіння та ріст розсади» [24]. Цей метод якісно доповнить дослідження щодо з'ясування екоотоксичності токсиканта для наземної екосистеми.

Проблема збереження кількості бджіл і підтримка здоров'я їх популяції в наземній екосистемі в сучасних умовах є однією з пріоритетних в екоотоксикології. Відомо, що бджоли піддаються впливу токсикантів не тільки завдяки споживанню корму, а й при контакті з рослинами, що оброблені небезпечними для них речовинами. Тому необхідним є тестування не тільки гострої оральної токсичності політанту, а й тестування гострої контактної дії. У практику підрозділу буде впроваджено метод визначення гострої контактної токсичності для медоносних бджіл ОЕСР 214 «Тестування хімічних речовин на медоносних бджолах. Тест на гостру контактну токсичність» [25].

Також можливе впровадження вивчення наслідків використання пестицидів на репродуктивну функцію дощових черв'яків (*Eisenia fetida*) в штучному ґрунті згідно з OECD 222 [26].

Важливе значення в розширенні діяльності екоотоксикологічної лабораторії НЦ є

consequently the Scientific Centre received the GLP Certificate in the ecotoxicological direction (certificate of compliance with the GLP "Statement of GLP compliance No. G-042" 002).

Further development of scientific research in the ecotoxicological direction at the Scientific Centre depends on modern needs. The laboratory accredited by an international agency is fully capable of conducting test ecotoxicological studies necessary for the State registration of pesticides and agrochemicals in Ukraine.

Having the above list of tools and equipment for determining the ecotoxicity of pesticides on non-target environmental objects, several new OECD methods will be added to the list of already implemented methods, which will be introduced into the practice of the Scientific Centre. Therefore, to complete the cycle of studies to determine the effect of a toxicant on the terrestrial ecosystem, it is advisable to introduce research methods that determine ecotoxicity for terrestrial plants. In the list of OECD methods for establishing phytotoxicity, the OECD 208 (Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test) has already been officially approved [24]. This method will qualitatively complement the study to determine the ecotoxicity of the toxicant for the terrestrial ecosystem.

The problem of preserving the number of bees and maintaining the health of their population in the terrestrial ecosystem in modern conditions is one of the priorities in ecotoxicology. It is known that bees are exposed to toxicants not only through the consumption of food, but also through contact with plants treated with hazardous substances. Therefore, it is necessary to test not only the acute oral toxicity of the pollutant, but also the testing of the acute contact effect. The unit will implement the OECD 214 (Honeybees, Acute Contact Toxicity Test) [25].

It is also possible to introduce a study of the effects of pesticide use on the reproductive function of earthworms (*Eisenia fetida*) in artificial soil according to OECD 222 (Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*)) [26].

Cooperation with international scientific ecotoxicological centres, internships and



співробітництво з міжнародними науковими екоотоксикологічними центрами, стажування та надбання практичного досвіду. Для впровадження міжнародної практики в роботу НЦ нами налагоджено співпрацю з європейською лабораторією Eurofins. У 2019 році група співробітників НЦ стажувалася на робочому місці в цій установі, що підвищило якість та організацію робіт щодо екоотоксикологічних досліджень.

Таким чином, створено новий підрозділ НЦ по дослідженню й оцінці небезпечності пестицидів і агрохімікатів для представників різних екосистем, апробовано та впроваджено у практику міжнародні методи визначення гострої токсичності поллютантів для нецільових об'єктів довкілля ОЕСР 202 (Тест на гостру іммобілізацію дафній), ОЕСР 203 (Тест на гостру токсичність для риб); ОЕСР 207 (Тест на гостру токсичність для земляних черв'яків); ОЕСР 213 (Тест на гостру токсичність для бджіл); ОЕСР 216 (Грунтові мікроорганізми: випробування на перетворення азоту); ОЕСР 217 (грунтові мікроорганізми: випробування на перетворення вуглецю); ОЕСР 223 (Тест на гостру оральну токсичність для птахів), розроблено систему якості та контролю екоотоксикологічних досліджень, що дозволило отримати національну і міжнародну акредитацію. Подальша діяльність підрозділу спрямовуватиметься на розширення екоотоксикологічних досліджень за міжнародними методами ОЕСР і дотриманням вимог GLP, що сприятиме розвитку екоотоксикологічного напрямку як у Науковому центрі, так і в Україні.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

gaining practical experience are significant in expanding the activities of the Ecotoxicological Laboratory of the Scientific Centre. To introduce international practice into the work of the Scientific Centre, cooperation has been established with the European laboratory Eurofins. In 2019, a group of employees of the Scientific Centre had an internship at the workplace in this institution, which improved the quality and organization of work on ecotoxicological studies.

Thus, a new unit of the Scientific Centre for the study and assessment of the danger of pesticides and agrochemicals for representatives of various ecosystems was created, international methods for determining the acute toxicity of pollutants for non-target environmental objects were tested and put into practice, such as OECD 202 (Daphnia sp. Acute Immobilisation Test), OECD 203 (Fish, Acute Toxicity Test); OECD 207 (Earthworm, Acute Toxicity Tests); OECD 213 (Honeybees, Acute Oral Toxicity Test); OECD 216 (Soil Microorganisms: Nitrogen Transformation Test); OECD 217 (Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test); OECD 223 (Avian Acute Oral Toxicity Test), it was developed a quality and control system for ecotoxicological studies, which has led to national and international accreditation. Further activities of the unit will be aimed at expanding ecotoxicological research using international OECD methods and compliance with GLP requirements, which will contribute to the development of the ecotoxicological direction both in the Scientific Centre and in Ukraine.

**Conflict of interest.** The Authors declare no conflict of interest.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Кавецкий ВН, Юрченко ТВ, Багацкая ЕН, Рыженко НА. Система экотоксикологического мониторинга потенциально опасных химических веществ в окружающей среде. Материалы международной конференции «Отходы производства и потребления, медико-экологические аспекты», 10–14 октября 2005 г. К.: Знание Украины, 2005: 136–7.
2. Рыженко НА, Кавецкий ВН, Бердников ОМ, Юрченко ТВ. Экоотоксикологическая оценка безопасности поллютантов у системы «грунт-рослина» за кинетическими показателями. Сборка материалов Международной конференции «Сучасні проблеми біології, екології та хімії», присвяченої 20-річчю біологічного факультету ЗНУ 29 березня – 1 квітня 2007 р. Запоріжжя: 341–3.

## REFERENCES

1. Kavetskiy VN, Yurchenko TV, Bagatskaya EN, Ryzenko NA. Sistema ekotoksikologicheskogo monitoringa potentsialno opasnykh khimicheskikh veshchestv v okruzhayushchey srede. Materialy mezhdunarodnoy konferentsii «Otkhody proizvodstva i potrebleniya. mediko-ekologicheskiye aspekty». 10–14 oktyabrya 2005 g. K.: Znaniye Ukrainy. 2005. 136–7.
2. Ryzenko NA, Kavetskiy VN, Berdnikov OM, Yurchenko TV. Ekotoksykologichna otsinka nebezpechnosti poliyutantiv u systemi «grunt-roslyna» za kinetychnymy pokaznykamy. Zbirka materialiv Mizhnarodnoi konferentsii «Suchasni problemy biolohii, ekolohii ta khimii», prysviachenoї 20-richchiu biolohichnoho fakultetu ZNU 29 bereznia – 1 kvitnia 2007 r. Zaporizhzhia. 341–3.

3. Ecotoxicology and Environmental Safety. 1977; 1(2): 151–73.
4. Карсон Рахиль. Безмолвная весна (пер. с англ. – Silent Spring) – М.: Прогресс, 1965. 216 с.
5. Врочинский КК, Саламов ДА, Брагинский ЛП. Охрана открытых водоемов и подземных вод от загрязнения пестицидами. К.: Урожай, 1971. 117 с.
6. Васильев ВП, Кавецкий ВН, Бублик ЛИ. Справочник по контролю за применением средств химизации в сельском хозяйстве. К.: Урожай, 1989. 124 с.
7. Багацька ОН, Бердніков ОМ, Юрченко ТВ, Гринько АП, Кузнецова ЕМ. Вплив фосфорних добрив на швидкість детоксикації десиканту гліфосату на зернових культурах та якість продукції рослинництва. Проблеми харчування. 2004;3(4):46–9.
8. Юрченко АІ. Оцінка впливу фосфорних добрив на поведінку важких металів за допомогою методів математичного моделювання. Збірка матеріалів Міжнародної конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії», присвяченої 20-річчю біологічного факультету ЗНУ 29 березня – 1 квітня 2007 р. Запоріжжя: 495–7.
9. Електронна бібліотека методів ОЕСР / [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems\\_20745761](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761)
10. Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/10329/2002, rev 2 final, 17 October 2002.
11. Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the context of the Directive 91/414/EEC, SANCO/3268/2001, rev 4 final, 17 October 2002.
12. Guidance Document on Risk Assessment for Birds and Mammals Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/4145/2000, final, 25 September 2002.
13. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Publishing, 18 June 2019. 23 p.
14. OECD Guideline for Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №202: Daphnia sp., Acute immobilization Test. OECD Publishing 13 April 2004. 12 p.
15. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test" OECD Publishing July 28, 2011. 25 p.
16. Guidance Document On Aqueous-Phase Aquatic Toxicity Testing Of Difficult Test Chemicals. Series On Testing And Assessment №23 (Second Edition) OECD, Paris, 2019.
17. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №213: Testing of Chemicals on Honeybee, Acute Oral Toxicity Test, adopted on 21st September 1998. 8 p.
18. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №207: Earthworm, Acute Toxicity Test. Adopted: 4 April 1984. 9 p.
19. OECD Test №223: Avian Acute Oral Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing 29 July, 2016. 28 p.
20. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
21. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №216: Soil Microorganisms:
3. Ecotoxicology and Environmental Safety. 1977;1(2), 151–73.
4. Karson Rakhil. Bezmolvnaya vesna (per. s angl. – Silent Spring) – M.: Progress. 1965. 216 s.
5. Vrochinskiy KK. Salamov DA. Braginskiy LP. Okhrana otkrytykh vodoemov i podzemnykh vod ot z'yagryazneniya pestitsidami. K.: Urozhay. 1971. 117 s.
6. Vasilev VP. Kavetskiy VN. Bublik LI. Spravochnik po kontrolyu za primeneniyem sredstv khimizatsii v sel'skom khozyaystve. K.: Urozhay. 1989. 124 s.
7. Bahatska ON, Berdnikov OM, Yurchenko TV, Hrynko AP, Kuznetsova EM. Vplyv fosfornykh dobryv na shvydkist detoksykatsii desykantu hlifosatu na zernovykh kulturakh ta yakist produktsii roslynnnytstva. Problemy kharchuvannya. 2004;3(4):46–9.
8. Yurchenko AI. Otsinka vplyvu fosfornykh dobryv na povedinku vazhkykh metaliv za dopomohoiu metodiv matematychnoho modeliuvannya. Zbirka materialiv Mizhnarodnoi konferentsii «Suchasni problemy biolohii, ekolohii ta khimii», prysviachenoї 20-richchiu biolohichnoho fakultetu ZNU 29 bereznia – 1 kvitnia 2007 r. Zaporizhzhia. 495–7.
9. Elektronna biblioteka metodiv OESR / [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems\\_20745761](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-2-effects-on-biotic-systems_20745761)
10. Guidance Document on Terrestrial Ecotoxicology Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/10329/2002, rev 2 final, 17 October 2002.
11. Guidance Document on Aquatic Ecotoxicology in the context of the Directive 91/414/EEC, SANCO/3268 /2001, rev 4 final, 17 October 2002.
12. Guidance Document on Risk Assessment for Birds and Mammals Under Council Directive 91/414/EEC, SANCO/4145/2000, final, 25 September 2002.
13. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №203: Fish, Acute Toxicity Test. OECD Publishing, 18 June 2019. 23 p.
14. OECD Guideline for Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №202: Daphnia sp., Acute immobilization Test. OECD Publishing 13 April 2004. 12 p.
15. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №201: Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test" OECD Publishing July 28, 2011. 25 p.
16. Guidance Document On Aqueous-Phase Aquatic Toxicity Testing Of Difficult Test Chemicals. Series On Testing And Assessment №23 (Second Edition) OECD, Paris, 2019.
17. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №213: Testing of Chemicals on Honeybee, Acute Oral Toxicity Test, adopted on 21st September 1998. 8 p.
18. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals/Section 2: Effects on Biotic Systems Test №207: Earthworm, Acute Toxicity Test. Adopted: 4 April 1984. 9 p.
19. OECD Test №223: Avian Acute Oral Toxicity Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing 29 July, 2016. 28 p.
20. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 National Research Council (US) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th edition. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.
21. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №216: Soil

- Nitrogen Transformation Test. – OECD Publishing, 2000. 10 p.
22. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №217: Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test. – OECD Publishing, 2000. 10 p
23. UN/SCEGHS/12/INF/5 Sub-Committee of Experts on the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals Twelfth session, 12 (p.m)-14 July 2006 Item 2 (c) of the provisional agenda ENVIRONMENTAL HAZARDS.
24. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №208 Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Publishing, 2006. 17 p.
25. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №214: Testing of Chemicals on Honeybee, Acute Contact Toxicity Test, adopted on 21st September 1998. 7 p.
62. OECD Test №222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Effects on Biotic Systems 29 Jul 2016. 29 p.
- Microorganisms: Nitrogen Transformation Test. – OECD Publishing, 2000. 10 p.
22. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №217: Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test. – OECD Publishing, 2000. 10 p
23. UN/SCEGHS/12/INF/5 Sub-Committee of Experts on the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals Twelfth session, 12 (p.m)-14 July 2006 Item 2 (c) of the provisional agenda ENVIRONMENTAL HAZARDS.
24. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №208 Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test. OECD Publishing, 2006. 17 p.
25. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals / Section 2: Effects on Biotic Systems Test №214: Testing of Chemicals on Honeybee, Acute Contact Toxicity Test, adopted on 21st September 1998. 7 p.
62. OECD Test №222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Effects on Biotic Systems 29 Jul 2016. 29 p.

#### ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ

**Жмійко Петро Григорович** – доктор біологічних наук, завідувач відділу «Інститут експериментальної токсикології і медико-біологічних досліджень» Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна.

**Юрченко Тетяна Володимирівна** – кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник відділу «Інститут експериментальної токсикології та медико-біологічних досліджень» Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна.

**Проданчук Микола Георгійович** – доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України, директор Державного підприємства «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України», вул. Героїв Оборони, 6, 03127, м. Київ, Україна, ORCID 0000-0002-9229-9761.

**Повозніков Микола Гаврилович** – доктор сільськогосподарських наук, професор, академік академії наук вищої освіти України, завідувач кафедри конярства і бджільництва Національного університету біоресурсів і природокористування України, вул. Генерала Родіміцева, 19, 03041, м. Київ, Україна.

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Zhminko Petro** – Doctor of Biological Science, Head of the Department Institute of Experimental Toxicology and Biomedical Research of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), Kyiv, Ukraine, 6 Heroiv Oborony st., 03127, Kyiv, Ukraine.

**Yurchenko Tetiana** – PhD in Agricultural Science, Senior Researcher of the Department Institute of Experimental Toxicology and Biomedical Research of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), Kyiv, Ukraine, 6 Heroiv Oborony st., 03127, Kyiv, Ukraine.

**Prodanchuk Mykola** – Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding Member of NAMS of Ukraine, Director of the LI Medved's Research Centre of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health, Ukraine (State Enterprise), Kyiv, Ukraine, 6 Heroiv Oborony st., 03127, Kyiv, Ukraine, ORCID0000-0002-9229-9761.

**Povoznikov Mykola** – Doctor of Agricultural Science, Professor, Academician of the Academy of Sciences of Higher Education of Ukraine, Head of the Department of Horse Breeding and Beekeeping of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 19 Henerala Rodimtseva st., 03041, Kyiv, Ukraine.

Стаття надійшла до редакції 15.02.2022

The article was received by the editors 02.15.2022