

УДК 615.015.36

ВИЗНАЧЕННЯ НА ПТАХАХ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ (LD₅₀) НОВИХ ПЕСТИЦИДІВ "БарКот-5" та "Віспар"

І.М. Варенюк, к.біол.н., А.С. Пустовалов, к.біол.н., М.Е. Держинський, д.біол.н.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

РЕЗЮМЕ. На японських перепелах (*Coturnix coturnix japonica*) було показано, що при пероральному однократному введенні напівлетальна доза (LD₅₀) для нового пестицида "БарКот 5" (діюча речовина: карбендазім — 500 г/л) становить 27036±2102 мг/кг маси тіла; а для пестицида "Віспар" (карбоксин — 350 г/л, тирам — 350 г/л) — 2761±174 мг/кг маси тіла.

Ключові слова: пестициди, гостра токсичність, LD₅₀, птахи.

РЕЗЮМЕ. На японских перепелах (*Coturnix coturnix japonica*) было показано, что при пероральном однократном введении полумлетальная доза (LD₅₀) для нового пестицида "БарКот 5" (действующее вещество: карбендазим — 500 г/л) составляет 27036±2102 мг/кг массы тела; а для пестицида "Виспар" (карбоксин — 350 г/л и тирам — 350 г/л) — 2761±174 мг/кг массы тела.

Ключевые слова: пестициды, острая токсичность, LD₅₀, птицы.

SUMMARY. The avian acute oral toxicity test (avian single-dose LD₅₀) for new pesticides "BarKot-5" (carbendazim — 500 g/l) and "Vispar" (carboxin — 350 g/l and thiram — 350 g/l) was provided. Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*) were treated with a single oral dose of one of these pesticides in different doses. It was shown that LD₅₀ of "BarKot-5" was 27036±2102 mg/kg body weight, LD₅₀ of "Vispar" was 2761±174 mg/kg body weight.

Key words: pesticides, acute oral toxicity test, LD₅₀, birds.

При широкому застосуванні пестицидів у сільському господарстві особливого значення набуває перевірка їх токсичного впливу на тваринний та людський організми [2-7, 10, 12, 14, 15]. Одним з важливих етапів токсиколого-гігієнічної перевірки нових пестицидів є визначення їх гострої токсичності. Метою даної роботи було визначити напівлетальну дозу (LD₅₀) нових пестицидів: "БарКот 5" (діюча речовина: карбендазім — 500 г/л) та "Віспар" (діючі речовини: карбоксин — 350 г/л, тирам — 350 г/л) [8] при пероральному введенні для представника класу птахів — японського перепела (*Coturnix coturnix japonica*).

Матеріали і методи досліджень

Дослідження було проведено на 118 самців і 91 самиці японського перепела (*Coturnix coturnix japonica*) 6-7-тижневого віку. Птахів утримували в умовах стаціонарного віварію, кожна експериментальна група знаходилася в окремій клітці, призначеній саме для вирощування птахів. Світловий режим: 16 годин — світло, 8 годин — темрява. Температура повітря у віварії підтримувалася на рівні +22°C. Вода подавалася без обмежень у спеціальних пташиних поїлках; воду замінювали 1 раз на добу. Годівлю проводили без обмежень комбікормом для перепелів марок ПК 1 22П та ПК 1 18П виробництва АТ "Київ-Атлантик Україна".

Основні етапи досліджень були проведені у відповідності з методичними вказівками по гігієнічній оцінці нових пестицидів [9], правилами Американської агенції з охорони навколишнього середовища для пестицидів і токсичних субстанцій [1] та іншими рекомен-

даціями з токсикологічних досліджень [2, 4, 7, 11, 12, 15].

Для приблизного визначення токсичної дози вищевказаних пестицидів спочатку були проведені попередні дослідження. Для цих досліджень було взято 27 самців японських перепелів, з яких було сформовано експериментальні групи по 3 самці у кожній групі. Птахам кожної групи одноразово перорально за допомогою спеціально переобладнаного шприца вводили пестицид "БарКот-5" у дозах 1000, 5000, 20000, 40000, 50000 мг/кг маси тіла; пестицид "Віспар" у дозах 1000, 2000, 5000, 10000 мг/кг маси тіла. Дозу препарату розраховували індивідуально для кожного птаха, виходячи з маси його тіла. Після введення препарату за підслідними птахами перші 2-3 години вели неперервні спостереження, а потім — періодичні через кожні 2-3 години (для перших 12 годин після введення препарату) і через кожні 12 годин протягом наступних 3-х діб. Спостерігали за наявністю чи відсутністю симптомів отруєння, часом їх появою та зникненням, а також реєстрували час загибелі (якщо смерть мала місце) кожного підслідного птаха. Результати попередніх досліджень були використані для планування основних досліджень.

З метою остаточного визначення напівлетальної дози кожного пестициду були проведені основні дослідження. Для основних досліджень було використано 91 самця та 91 самицю японського перепела. Після отримання птахи були акліматизовані до умов віварію. Щоб врахувати можливі статеві відмінності в чутливості перепелів до пестицидів, у кожному

ΔLD_{50} — довірчий інтервал напівлетальної дози;
 t — t -критерій Стьюдента при $P < 0,05$ і числі ступенів свободи $f-1$, де f - кількість тварин, використана в експерименті;

LD_{84} — доза, при якій гине 84 % особин, відповідає пробіту 6;

LD_{16} — доза, при якій гине 16 % особин, відповідає пробіту 4;

N — кількість тварин в групах, для яких пробіти знаходяться між 3,5 і 6,5 [15].

Результати досліджень та їх обговорення

Попередні дослідження. Результати попередніх досліджень показали, що при введенні пестициду "Бар Кот-5" легкі симптоми отруєння з'являються у піддослідних птахів при його введенні у дозі 1000 мг/кг маси тіла і не супроводжуються смертністю. При введенні цього пестициду в дозах 5000 та 20000 мг/кг гине 33,3 % особин; при введенні у дозі 40000 мг/кг — 66,7 %, а при введенні у дозі 50000 мг/кг має місце 100 % смертність. Тобто, попередні дослідження свідчать, що напівлетальна доза (LD_{50}) препарату "Бар Кот-5" для птахів, швидше всього, знаходиться між 20000 мг/кг маси тіла та 40000 мг/кг маси тіла.

При введенні пестициду "Віспар" у дозі 1000 мг/кг маси тіла ніхто з перепелів не гине, при його введенні у дозі 2000 мг/кг маси тіла гине 2 із 3 птахів, а при введенні у дозах 5000 та 10000 мг/кг маси тіла гинуть всі перепели. Отже, на основі попередніх досліджень можна зробити висновок, що напівлетальна доза (LD_{50}) препарату "Віспар" для птахів знаходиться між 1000 мг/кг маси тіла та 5000 мг/кг маси тіла.

Основні дослідження. Для точного визначення напівлетальної дози (LD_{50}) вищезазначених пестицидів були проведені основні дослідження.

Як уже було зазначено, піддослідні птахи були до початку експерименту акліматизовані. Під час акліматизації ніхто з перепелів не загинув і в жодній особини не було помітно будь-яких ознак хвороб.

У перепелів контрольних груп, які отримували чисту дистильовану воду, фактів смертності та будь-яких симптомів отруєння чи аномальної поведінки не зафіксовано.

Введення пестициду "БарКот-5". Показники смертності та основні симптоми отруєння при введенні пестициду "БарКот-5" представлені у таблиці 1. Видно, що при пероральному введенні цього пестициду майже єдиними симптомами отруєння є "опущене пір'я" і гіпоактивність. Однак ці симптоми тривають дуже довго, до 2 тижнів. Смертність також дуже розтягнута в часі (протягом 2 тижнів), без чітко вираженого піка.

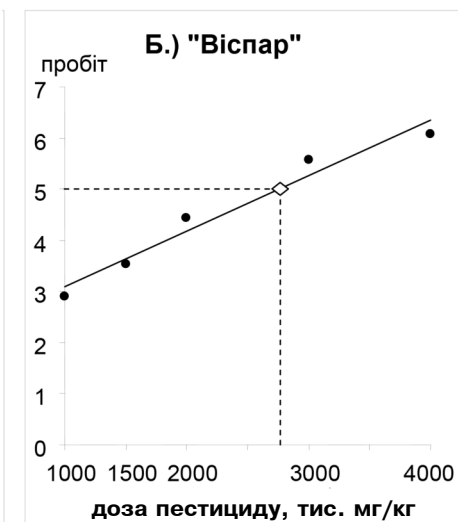
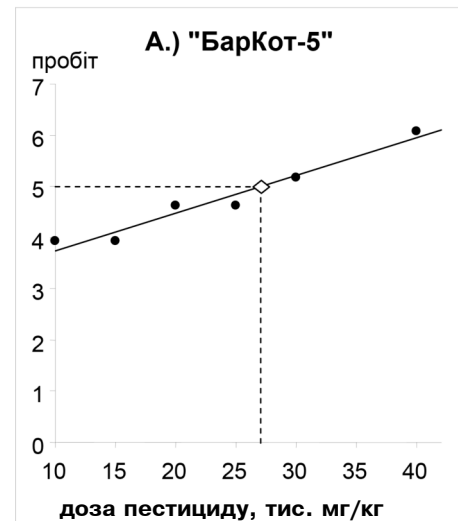


Рис. 1. Крива "доза-ефект" для пестицидів "БарКот-5" та "Віспар" при їх введенні японським перепелам.

Методом графічного пробіт-аналізу було розраховано напівлетальну дозу (LD_{50}) пестициду "БарКот-5", яка відповідає значенню X на кривій "доза-ефект" при $Y=5$, і становить 27036 мг/кг маси тіла (рис. 1А). Стандартна похибка, визначена за формулою (1), становить:

$$S_{LD_{50}} = \frac{40656 - 13416}{\sqrt{2 \times 84}} = 2102 \text{ мг/кг маси тіла.}$$

95 % й довірчий інтервал (довірчий інтервал при $P < 0,05$) підрахований за формулою (2) і становить:

$$\Delta LD_{50} = 1,96 \times \frac{40656 - 13416}{\sqrt{2 \times 84}} = 4119 \text{ мг/кг маси тіла.}$$

Отже, напівлетальна доза (LD_{50}) пестицида "БарКот-5" для птахів (японських перепелів, *Coturnix coturnix japonica*) при пероральному однократному введенні становить 27036 ± 2102 мг/кг маси тіла, а 95 % й довірчий інтер-

вал (довірчий інтервал при $P < 0,05$) — від 22917 до 31155 мг/кг маси тіла.

Введення пестициду "Віспар". Показники смертності та основні симптоми отруєння при введенні пестициду "Віспар" представлені у таблиці 2. Основними симптомами отруєння пестицидом "Віспар" при нижчих дозах (1000-2000 мг/кг маси тіла) є гіпоактивність і реакція "опущене пір'я", а при вищих дозах (3000-4000 мг/кг маси тіла) до цих симптомів додаються "п'яна хода", утруднене дихання, "тріпотіння крил", стрибки і конвульсії. Смертність має місце протягом 3 діб від моменту введення пестициду. У виживших перепелів симптоми отруєння зникають через 2-4 доби після введення даного пестициду. Самці є більш чутливими до "Віспару" ніж самиці.

Визначення напівлетальної дози (LD_{50}) пестициду "Віспар" методом графічного пробіт-аналізу показало, що вона становить

2761 мг/кг маси тіла (рис. 1Б). Стандартна похибка, визначена за формулою (1), становить:

$$S_{LD_{50}} = \frac{3682 - 1839}{\sqrt{2 \times 56}} = 174 \text{ мг/кг маси тіла.}$$

95 % й довірчий інтервал (довірчий інтервал при $P < 0,05$) підрахований за формулою (2) і становить:

$$\Delta LD_{50} = 1,96 \times \frac{3682 - 1839}{\sqrt{2 \times 56}} = 341 \text{ мг/кг маси тіла.}$$

Отже, напівлетальна доза (LD_{50}) пестициду "Віспар" для птахів (японських перепелів, *Coturnix coturnix japonica*) при пероральному однократному введенні становить 2761 ± 174 мг/кг маси тіла, а 95 % й довірчий інтервал (довірчий інтервал при $P < 0,05$) — від 2420 до 3102 мг/кг маси тіла.

Таблиця 2

Смертність та симптоми отруєння в японських перепелів після однократного введення різних доз препарату "Віспар"

доза, мг/кг маси тіла	стать	середньо-групова маса тіла, г	кількість перепелів у групі	кількість загинув перепелів	час загибелі							смертність, %	симптоми отруєння		
					0-3 год.	3-6 год.	6-12 год.	12-24 год.	2 доба	3 доба	4-14 доба				
кон-троль	самці	194±6	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	відсутні
	самиці	216±10	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	відсутні
1000 мг/кг	самці	187±5	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	"опущене пір'я" (всі 7 особин), сидить і гіпоактивність (1 особина)
	самиці	214±9	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	"опущене пір'я" (6 особин), сидить (1 особина)
1500 мг/кг	самці	194±8	7	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	7,14 %	"опущене пір'я" і гіпоактивність (всі 7 особин), "тріпотіння крил" (2-3 особини)
	самиці	214±6	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	"опущене пір'я" і гіпоактивність (всі 7 особин)
3000 мг/кг	самці	179±7	7	3	0	0	0	2	1	0	0	0	0	28,57 %	"опущене пір'я" і гіпоактивність (всі 7 особин), сидить (3 особини)
	самиці	206±12	7	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	"опущене пір'я" і гіпоактивність (всі 7 особин), сидить (2 особини)
25000 мг/кг	самці	186±6	7	6	0	2	0	1	2	1	0	0	0	71,43 %	"опущене пір'я", гіпоактивність, "п'яна хода", стрибки і конвульсії (всі 7 особин), сидить (3 особини), утруднене дихання (5 особин)
	самиці	209±13	7	4	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	"опущене пір'я", гіпоактивність, "п'яна хода", стрибки і конвульсії (всі 7 особин), сидить (1 особина), утруднене дихання (4 особини)
4000 мг/кг	самці	174±5	7	7	3	1	0	0	1	2	0	0	0	85,71 %	"опущене пір'я", гіпоактивність, утруднене дихання, "тріпотіння крил", стрибки і конвульсії (всі 7 особин), лежить (4 особини)
	самиці	215±10	7	5	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0	"опущене пір'я", гіпоактивність, "п'яна хода", утруднене дихання, стрибки і конвульсії (всі 7 особин), лежить (3 особини)

ЛІТЕРАТУРА

1. Guidelines United States Environmental Protection Agency: Pesticides and Toxic Substances: Avian acute oral toxicity test. — Washington, 1996.
2. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токси- кантов. / [Е.Ю. Афанасьева, Е.Я. Борисова, О.Л. Верста- кова и др.] — Москва: ГЭОТАР — Медиа, 2008. — 1016 с.
3. Экологическая токсикология. / [В.С. Безель, Е.А. Бель- ский, Д.В. Веселки и др.] — Екатеринбург: Изд-во Ураль- ского ун-та, 2001. — 135 с.
4. Токсикологічна хімія з експрес-аналізом гострих інтокси- кацій. / [В.С. Бондар, О.О. Маміна, С.А. Карпушина и др.] — Харків: Видавництво НфаУ, 2004. — 79 с.
5. Захаренко А.В. Гербициды. / А.В. Захаренко — Москва: Изд-во МСХА, 2000. — 95 с.
6. Ісаєнко В.М. Основи екологічної токсикології. / В.М. Ісаєн-ко — Київ: НАУ, 2007. — 67 с.
7. Основы токсикологии. / [П.П. Кукин, Н.Л. Пономарев, К.Р. Та ранцева и др.] — Москва: Высшая школа, 2008. — 279 с.
8. Пестициды: Справочник. / [В.И. Мартыненко, В.К. Про- моненков, С.С. Кукаленко и др.] — Москва: Агропромиз- дат, 1992. — 368 с.
9. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. — Киев, 1988. — 212 с.
10. Михайловська Т.М. Екологічна токсикологія. / Т.М. Ми- хайловська — Чернівці: Рута, 2007. — 88 с.
11. Михайловська Т.М. Методи аналізу токсикологічної хімії. / Т.М. Михайловська. — Чернівці: Рута, 2007. — 88 с.
12. Токсикологическая химия. / [Т.В. Плетнева, Е.М. Сало- матин, А.В. Сыроешкин и др.] — Москва: ГЭОТАР-Ме- диа, 2006. — 509 с.
13. Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. / Н.А. Плохинский — Москва: Изд-во Московского ун-та, 1978. — 265 с.
14. Основы токсикології. / [Г.Г. Рошин, А.П. Строкань, А.С. Тимченко и др.] — Київ: КНУТД, 2007. — 138 с.
15. Ступников А.А. Токсичность гербицидов и арборицидов и профилактика отравлений животных. / А.А. Ступников — Ленинград: Колос, 1975. — 240 с.

Надійшла до редакції 24.10.2013 р.