

ОЦІНКА ЕКОТОКСИЧНОСТІ ПЕСТИЦИДІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ТВАРИННИХ ТЕСТ-ОРГАНІЗМІВ

Т. В. ФИЛИПЧУК, І. О. СИТНИКОВА

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
Україна, 58012, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2
e-mail: t.fylypchuk@chnu.edu.ua
e-mail: i.sytnikova@chnu.edu.ua

Проведено біотестування екоотоксичної небезпеки пестицидів, використовуваних у садівництві Чернівецької області. Для дослідження відібрано десять пестицидних препаратів, з яких шість фунгіцидів: флінт-стар, хорус, скор, стробі, топсін-М і медян-екстра та чотири інсектициди: бі-58, калінсо, моспілан і актара. Використовували десятикратне розведення (1:10) рекомендованого робочого розчину, зазначеного виробником. В якості тест-об'єктів обрані безхребетні, зокрема нижчі ракоподібні роду *Daphnia O.F. Muller, 1785* (клас зяброногі (*Branchiopoda*)), що належать до зоопланктону та *Ostracoda Latreille, 1802* (клас черепашкові раки (*Ostracoda*)), що належать до зообентосу і хребетні – коропові риби роду *Danio Hamilton, 1822* (клас променепері (*Actinopterygii*), тип хордові (*Chordata*)) – нектон.

Біотестування за допомогою *Ostracoda sp.* і *Daphnia sp.* моделювали в пробірках ($V=50$ мл) ($t = 20 \pm 2$ °C). Біотестування з використанням риб *Danio sp.* здійснювали в акваріумах об'ємом 5 літрів ($t = 23 \pm 2$ °C). Для кожного варіанту застосовували 20 досліджуваних тест-організмів, поділених на групи по 5 особин. Через 1, 2, 3, 4, 5, 24 та 72 години експозиції візуально визначали кількість тварин, що вижили та розраховували відсоток виживання. Токсичність пестицидних препаратів вважали доведеною, якщо відсоток смертності тест-організмів становив ≥ 50 %. Враховуючи відсоток загибелі тест-організмів впродовж певного часу експозиції (до 24 год. або до 72 год.), розроблено шкалу ступенів токсичності пестицидів, яку можна використовувати для визначення їх гострої токсичної дії. За результатами проведеного біотестування показано, що серед досліджених пестицидних препаратів найбільш токсичними для водних екосистем є фунгіциди флінт-стар і скор, які проявляли надвисокий та високий ступені токсичності для зоотестерів різних рівнів біологічної організації. Коропові риби роду *Danio Hamilton, 1822* показали більшу чутливість до впливу фунгіцидів і меншу до інсектицидів, в той час як для нижчих ракоподібних родів *Daphnia O.F. Muller, 1785* та *Ostracoda Latreille, 1802* таких особливостей не виявлено. Чутливість до інсектицидів досліджуваних тест-об'єктів знижувалась у ряді: *Ostracoda sp.* → *Daphnia sp.* → *Danio sp.*

Порівнюючи чутливість нижчих ракоподібних до пестицидів встановлено, що *Ostracoda sp.* є більш чутливим тест-об'єктом, ніж *Daphnia sp.* За однакових умов біотестування абсолютна іммобілізація черепашкових раків у два рази вища, ніж зяброногих.

Ключові слова: *Ostracoda sp.*, *Daphnia sp.*, *Danio sp.*, екоотоксичність, біотестування, пестициди, відсоток виживання, ступінь токсичності.

Вступ. Безпечність – важливий показник споживчих властивостей, яким повинні володіти продукти садівництва. Згідно Закону України «Про якість та безпеку харчових продуктів і продовольчої сировини», безпечний харчовий продукт – це той, який не створює шкідливого впливу на здоров'я людини безпосередньо та опосередковано за умов його виробництва та обігу з дотриманням вимог санітарних заходів (Закон..., 2009). Натомість надмірне використання мінеральних добрив, пестицидів та інших хімічних препаратів разом з промисловим забрудненням ще більше ускладнює екологічну ситуацію в Україні, знижує екологічну стійкість агроландшафтів.

Циркуляція токсичних речовин, що надходять із засобами хімізації у ґрунт, воду, атмосферу, трофічні ланцюги призводить до забруднення біосфери та погіршення її якості. Тому прогноз Біологічні системи. Т. 11. Вип. 1. 2019

небезпеки хімічних засобів захисту, які використовуються у сільському господарстві з метою попередження забруднення екосистем є завданням екоотоксикологічного моніторингу (Сторчоус, 2012).

Взаємодія пестицидів з навколишнім середовищем проявляється у формі процесів розподілення, накопичення (акумуляції), перетворення (трансформації, метаболізму), деградації (деструкції, мінералізації) і міграції сполук. Їх залишки чи продукти метаболізму можуть накопичуватися в різних об'єктах. Висока стійкість пестицидів до розпаду є важливою передумовою їхньої міграції за профілем ґрунту, а також у суміжні середовища (рослини, повітря, воду), що становить небезпеку для природних біогеоценозів і, відповідно, існування людини. Пестициди, що потрапили на поверхню ґрунту, можуть вимиватися в більш глибокі горизонти й

грунтові води, виноситься поверхневим та грунтовим стоком, що обумовлює їх надходження у водні джерела, а потім і у донні відклади, переходити в атмосферне повітря в результаті випаровування або з пилом при вітрової ерозії ґрунту, через рослини мігрувати в організм тварин і людини.

Обов'язковим методом визначення токсичності середовища, за переконанням науковців, повинно бути біологічне тестування (Аристархова, 2017b). У літературних джерелах протягом останніх років багато уваги приділяють доцільності використання кількох високочутливих організмів, які належать до різних рівнів біологічної організації, за допомогою яких можна проводити комплексну оцінку стану водного середовища. Обов'язковими представниками таких тест-наборів повинні бути хребетні тварини (Перевозников, 2003; Скок, 2015). У роботі Е.О. Аристархової (Аристархова, 2017a) показано, що оцінку токсичності вод поверхневих джерел водопостачання та питної води доцільно проводити методом тесту на коропових рибах даніо реріо (*Danio rerio* Hamilton Buchanan), які виявилися більш чутливими до низьких рівнів забруднень, ніж гуппі ретикулята (*Poecilia reticulata* Peters).

Мета роботи – оцінити екоотоксичну небезпеку пестицидів, використовуваних у садівництві Чернівецької області, за допомогою біотестування.

Матеріали і методи. Екоотоксичність досліджуваних пестицидів визначали в гострому експерименті (протягом 72 год.). Для дослідження відібрано десять пестицидних препаратів, з яких

шість фунгіцидів: *флінт-стар*, *хорус*, *скор*, *стробі*, *топсін-М* і *медян-екстра* та чотири інсектициди: *бі-58*, *каліпсо*, *моспілан* і *актара*.

В якості тест-об'єктів обрані безхребетні тваринні організми, зокрема нижчі ракоподібні родів *Daphnia* O.F. Muller, 1785 (клас зяброногі (*Branchiopoda*), що належать до зоопланктону та *Ostracoda* Latreille, 1802 (клас черепашкові раки (*Ostracoda*), що належать до зообентосу і хребетні – коропові риби роду *Danio* Hamilton, 1822 (клас променепері (*Actinopterygii*), тип хордові (*Chordata*)) – зоонектон.

Токсичність пестицидів визначали аналізуючи десятикратне розведення (1:10) рекомендованого робочого розчину, зазначеного виробником (табл. 1). Відповідно до (Методичні..., 2017; Оценка..., 2012) досліджувані розчини готували на відстояній водопровідній воді не менше 3-х діб (для дехлорування і насичення повітрям), яка, також, слугувала контролем. Дослід проводили у приміщенні, що не містить токсичних парів чи газів при розсіяному світлі, в умовах природньої зміни дня і ночі, під час експерименту тварин не годували.

Біотестування за допомогою *Ostracoda sp.* і *Daphnia sp.* моделювали в пробірках (V=50 мл) (t = 20±2 °C) (Оценка..., 2012). Біотестування з використанням риб *Danio sp.* здійснювали в акваріумах об'ємом 5 літрів (t = 23±2 °C) (Методичні..., 2017). Для кожного варіанту застосовували 20 досліджуваних тест-організмів, поділених на групи по 5 особин. Додаткову аерацію водних розчинів не проводили, оскільки максимальна експозиція тест-організмів не перевищувала 72 годин.

Таблиця 1
Концентрації діючих речовин досліджуваних пестицидних препаратів та їх рекомендоване розведення

Table 1
The concentrations of active substances of pesticide preparations and recommended dilution

№ п/п	Назва пестицидного препарату	Діюча речовина, концентрація	Рекомендований робочий розчин
1.	Флінт-стар	Трифлористробін, 120 г/л	0,5 мл/л
2.	Хорус	Ципродиніл, 750 г/кг	0,3 г/л
3.	Скор	Дифенокназол, 250 г/л	0,2 мл/л
4.	Стробі	Крезоксим-метил, 500 г/кг	0,2 г/л
5.	Топсін-М	Тіофанатметил, 700 г/кг	2 г/л
6.	Медян-екстра	Хлорокис міді, 350 г/л	2 мл/л
7.	Бі-58	Диметоат, 400 г/л	1 мл/л
8.	Каліпсо	Тіаклопрід, 480 г/л	0,2 мл/л
9.	Моспілан	Ацетаміпрід, 200 г/кг	0,1 г/л
10.	Актара	Тіаметоксан, 250 г/кг	0,12 г/л

Через 1, 2, 3, 4, 5, 24 та 72 години експозиції візуально визначали кількість тварин, що вижили. Для нижчих ракоподібних живими вважали організми, які вільно переміщувалися у пробірці через 15 секунд після їх легкого струшування, інших вважали загиблими та розраховували відсоток виживання тест-організмів.

Для визначення відмінностей між контролем і дослідними варіантами застосовано критерій Стьюдента (рівень достовірності $P < 0,05$). Токсичність пестицидних препаратів вважали доведеною, якщо відсоток смертності тест-організмів становив $\geq 50\%$.

Враховуючи відсоток загибелі тест-організмів впродовж певного часу експозиції (до 24 год. або до 72 год.), нами розроблено шкалу ступенів токсичності пестицидів, яку можна використовувати для визначення їх гострої токсичної дії (табл. 2).

Результати та їх обговорення. За результатами біотестування пестицидів за допомогою нижчих ракоподібних роду *Daphnia* O.F. Muller, 1785 абсолютну смертність за короткий проміжок часу показано за дії трьох досліджуваних пестицидних препаратів (рис. 1).

Так, за дії інсектоакарициду *бі-58* абсолютна смертність дафній зафіксована вже через 5 годин його впливу, а за дії фунгіцидів *флінт-стар* та *скор* – через 24 години. Також виявлено, що деякі фунгіциди *хорус*, *стробі* і *топсін* й інсектициди *актара* і *каліпсо* в умовах 5-ти годинної експозиції майже не зменшували показник виживання *Daphnia sp.* (100-80%), однак через 72 години – різко скорочувалося виживання відповідно від 100 до 0%, від 93 до 27%, від 100 до 53%, від 100 до 27% та від 80 до 13%. За дії інсектициду *моспілан* й фунгіциду *медян-екстра* виживання тест-організмів знижувалося поступово і впродовж 72-годинної експозиції складало 60 і 80% відповідно.

Біотестування пестицидів з використанням черепашкових раків роду *Ostracoda* Latreille, 1802 показало, що шість з десяти досліджуваних пестицидних препаратів призводить до їх абсолютної смертності вже за декілька годин. За дії інсектициду *моспілан*, фунгіцидів *флінт-стар* та *скор* зафіксовано абсолютну смертність вже через 2 години експозиції, за дії інсектициду *каліпсо* – через 3 години, а за дії фунгіциду *стробі* й інсектициду *актара* – через 4 (рис. 2).

Таблиця 2
Шкала оцінки ступеню токсичності пестицидних препаратів

Ступінь токсичності	Показник
Надвисокий (НВ)	Загибель тест-організму впродовж 24 годин (100%)
Високий (В)	Загибель тест-організму впродовж 72 годин (76-100%)
Середній (С)	Загибель тест-організму впродовж 72 годин (51-75%)
Низький (Н)	Загибель тест-організму впродовж 72 годин (26-50%)
Допустимий (Д)	Загибель тест-організму впродовж 72 годин (1-25%)

Table 2
The estimation scale of pesticide preparations toxicity

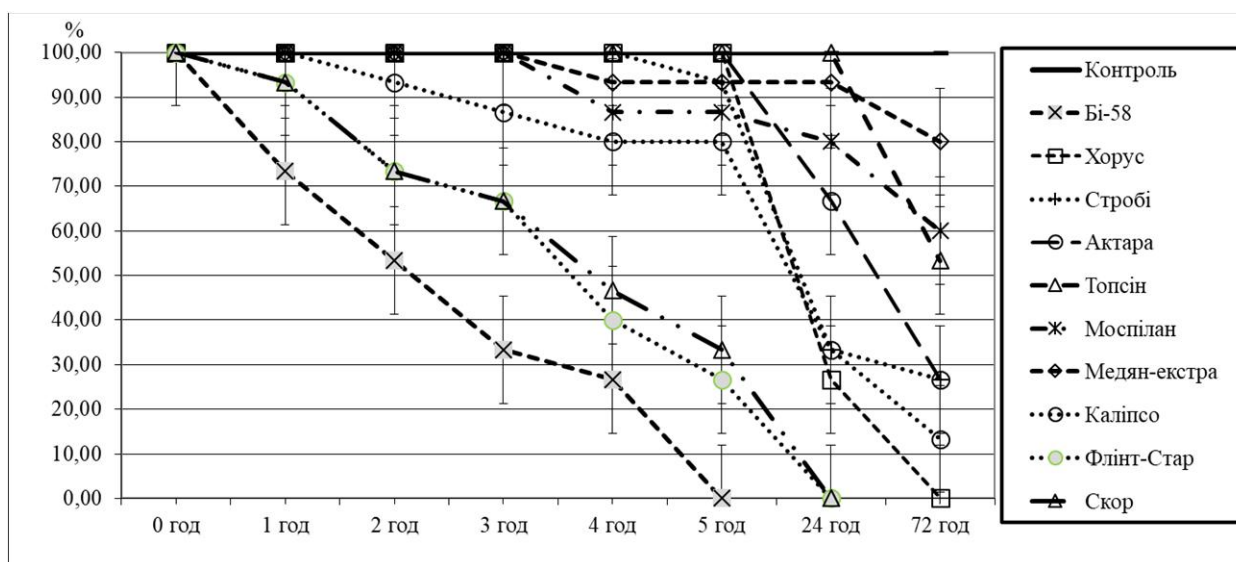


Рис. 1. Динаміка виживання *Daphnia sp.* за дії досліджуваних пестицидних препаратів, у %

Fig. 1. Survival dynamix of *Daphnia sp.* under the influence of the examined pesticide preparations, %

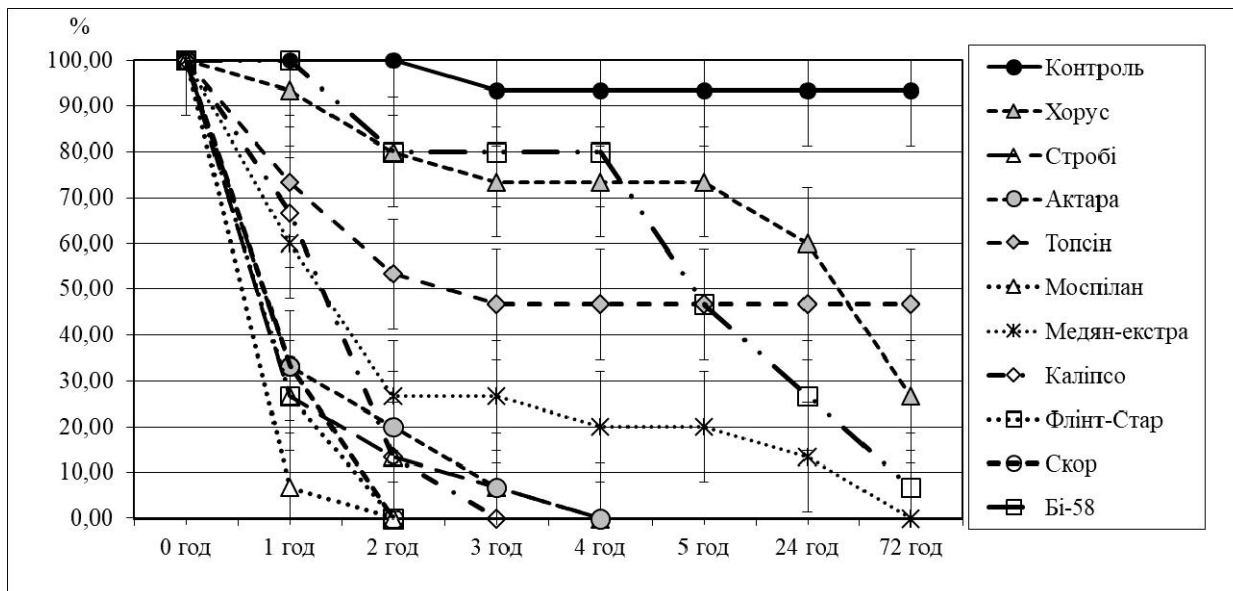


Рис. 2. Динаміка виживання *Ostracoda sp.* за дії досліджуваних пестицидних препаратів, у %

Fig. 2. Survival dynamix of *Ostracoda sp.* under the influence of examined pesticides preparations, %

Фунгіцид *медян-екстра* виявив абсолютну смертність *Ostracoda sp.* через 72 години експозиції. Показано, також, що фунгіцид *хорус* та інсектоакарицид *бі-58* протягом 4-годинної експозиції незначно знижували виживання тест-організмів (73-80 %), однак через 72 години – показник виживання різко зменшувався від 73 до 27 % та від 80 до 7 % відповідно. Натомість, виживання *Ostracoda sp.* за дії *топсіну* різко падало протягом 3-годинної експозиції, а потім не змінювалося.

Результати біотестування пестицидних препаратів із допомогою коропових риб роду

Danio Hamilton, 1822 виявили їх абсолютну смертність вже через 1 годину за дії фунгіциду *флінт-стар* (рис. 3).

За дії фунгіциду *скор* абсолютну смертність *Danio sp.* зафіксовано через 4 години, а за дії фунгіцидів *хорус* та *строби* – через 5 і 72 години відповідно. Фунгіцид *топсін* виявляє дещо менший токсичний ефект, ніж вищеописані і не викликає абсолютної смертності тест-організмів. З рис. 3 видно, що інсектицид *актара* знижує виживання *Danio sp.* тільки після 5-годинної експозиції від 100 до 33 %.

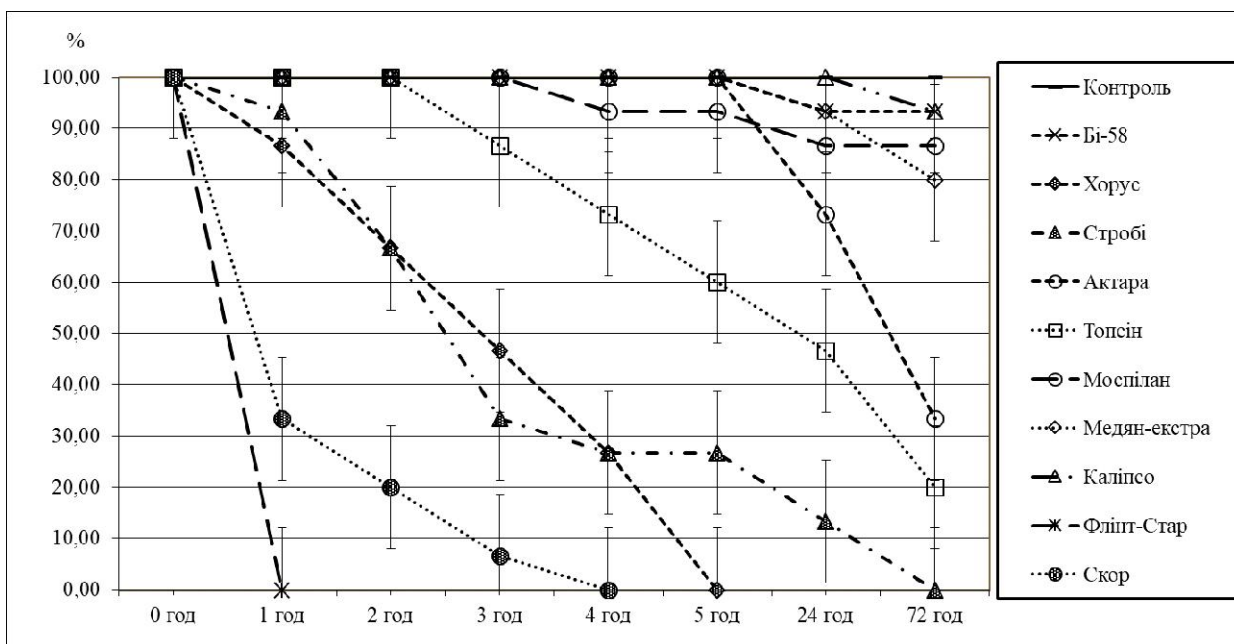


Рис. 3. Динаміка виживання *Danio sp.* за дії досліджуваних пестицидних препаратів, у %

Fig. 3. Survival dynamix of *Danio sp.* under the influence of examined pesticides preparations, %

За результатами проведеного біотестування пестицидних препаратів, що використовуються у садівництві Чернівецької області встановлено їх токсичність для водних екосистем. Серед фунгіцидів найтоксичнішими виявилися препарати *флінт-стар* і *скор*, які за смертністю гідробіонтів різних рівнів біологічної організації виявили надвисокий (НВ) ступінь токсичності (табл. 3). Препарати *хорус* і *стробі* проявляли надвисокий, високий (В) та середній (С) ступені токсичності, що свідчить про їх достатню токсичність для представників водної фауни.

Препарати *флінт-стар* і *стробі* належать до групи стробілуринів – синтетичних аналогів стробілурину А, виділеного з культури грибів *Strobilurus tenacillus*, яка є відносно новою (з'явилась на світовому ринку в 1996 р.) групою фунгіцидів 4-го покоління. Стробілуринові фунгіциди мають високу стійкість до змивання з поверхні рослини завдяки трансламінарній активності, яка виражається у закріпленні фунгіциду на поверхні рослини після проникнення крізь восковий шар. Проте це не зменшує ризик надходження цих пестицидів у інші компоненти екосистеми (повітря, ґрунт, ґрунтові та поверхневі води) внаслідок розпилення. Їх дія заснована на інгібуванні мітохондріального дихання в грибах шляхом блокування переміщення електронів у цитохромах *b* і *c* дихального ланцюга. У наш час

стробілурини застосовують для боротьби майже з усіма поширеними грибовими захворюваннями культурних рослин у всіх країнах світу, в Україні їх почали застосовувати з 2000 р., тому кількість досліджень щодо їх токсичних властивостей на гідробіонти обмежена. Однак це питання є актуальним, оскільки ці фунгіциди здатні утворювати у воді стабільні метаболіти. За даними Н.Л. Колесник (Колесник, 2015), стробілурини з діючими речовинами *трифлористробін* ($C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$) (*флінт-стар*) і *кресоксим-метил* ($C_{18}H_{19}NO_4$) (*стробі*) виявляють високу гостру токсичність для зообентосу, що узгоджується з нашими дослідженнями на остракодах (табл. 3).

Надвисока і висока токсичність препаратів *флінт-стар* і *стробі* для *Danio sp.* у наших дослідженнях підтверджується літературними даними (Федорова, 2010; Федорова, 2011; Федорова 2012), згідно яких у гомогенатах зябр і печінки коропа трифлористробін вже на рівні мінімальних летальних концентрацій ($LK_{16} = 0,073$ мг/л) в початкові строки інтоксикації (до 4-х діб) викликав порушення антиоксидантного балансу, а в концентраціях 0,001 - 0,0025 мг/л мав добре виражений тератогенний вплив на ембріони бестера (порушення у формуванні головного відділу, недорозвинення або відсутність очей).

Таблиця 3
Ступінь токсичності досліджуваних пестицидних препаратів за відсотком смертності тест-організмів

Table 3
The degree of toxicity of examined pesticides' preparations defined by the mortality percentage of test organisms

Тест-організми Пестициди	<i>Ostracoda sp.</i>	<i>Daphnia sp.</i>	<i>Danio sp.</i>
Фунгіциди			
Флінт-стар	НВ*	НВ	НВ
Хорус	С	В	НВ
Скор	НВ	НВ	НВ
Стробі	НВ	С	В
Топсін М	Н	Н	В
Медян-екстра	В	Д	Д
Інсектициди			
Бі - 58	В	НВ	Д
Каліпсо	НВ	В	Д
Моспілан	НВ	Н	Д
Актара	НВ	С	С

Примітка: * – ступені токсичності: НВ – надвисокий; В – високий; С – середній; Н – низький; Д – допустимий.
Comment: * – degrees of toxicity: НВ – ultra high; В – high; С – average; Н – low; Д – admissible.

Ступінь токсичності стробілуринів для *Daphnia sp.* залежить від діючої речовини фунгіциду. Так, *флінт-стар*, до складу якого входить трифлуксистробін виявився більш токсичним, ніж *стробі*, діючою речовиною якого є крезоксим-метил (табл. 3). Дослідженнями М.О. Жердева (Жердев, 2009) показано, що стробілурини є особливо токсичними фунгіцидами для *D. magna* з діапазоном коливань ЛК₅₀ від 0,0007 до 0,173 мг/л (ЛК₅₀ трифлуксистробіну – 0,0007-0,0009 мг/л, а крезоксим-метилу – 0,173 мг/л).

Скор (діюча речовина *дифенконазол*) належить до групи триазолів – найбільша група фунгіцидів, інгібіторів біосинтезу стеринів патогенних грибів. Всі азоли є гідролітично і термічно стабільними, малорозчинними у воді речовинами, які замінили застарілі бензimidазоли (Практичне..., 2016).

Результати нашого біотестування показали надвисокий ступінь токсичності даного фунгіциду за смертністю водних тест-об'єктів різних систематичних груп (табл. 3). Згідно даних М.О. Жердева (Жердев, 2009), саме *дифенконазол* з похідних триазолів виявляє клас токсичності – особливо токсичний для *D. magna* – ЛК₅₀ – 0,022 мг/л. Натомість, за даними А.Г. Каплаушенко (Практичне..., 2016) *дифенконазол* є малотоксичним для риб, що протирічить результатам наших досліджень (табл. 3).

Хорус – (діюча речовина *ципродиніл*) – анілінопіримідини – група фунгіцидів системної дії, з високою стійкістю до змивання дощами. Механізм дії ципродинілу полягає в інгібуванні біосинтезу метіоніну і порушенні життєвого циклу грибів, головним чином, у момент проникнення і росту міцелію у рослинних тканинах.

Як видно з табл. 3, *хорус* спричиняє абсолютну смертність *Danio sp.* за 5 годин і *Daphnia sp.* за 72 години, проявляючи відповідно надвисокий (НВ) та високий (В) ступені токсичності. За смертністю *Ostracoda sp.* фунгіцид виявляє середній (С) ступінь токсичності. Достатньо високий рівень токсичності для досліджуваних тест-організмів різних систематичних груп можна пояснити низькою розчинністю у воді та малою полярністю з дипольним моментом більше 3 (Гунчак, 2017). За результатами М.В. Гунчака, пестициди з груп триазолів, анілінопіримідинів та стробілуринів є малополярними сполуками з величиною дипольних моментів μ від 2 до 6 Дебай, тому швидкість їх детоксикації (розпаду)

в природних екосистемах у декілька разів повільніша, ніж полярних сполук (μ від 6 Дебай).

Топсін-М – (діюча речовина *тіофанатметил*) належить до групи карбаматів – речовин близьких до бензimidазолів, що відносяться до токсичних речовин 2-го та 3-го класів небезпеки. Механізм дії пестициду *топсін-М* заснований на пригніченні дихання патогену, що, як наслідок, затримує продукування мікотоксинів та зупиняє поділ ядра, гальмуючи ріст збудника.

У наших дослідженнях *топсін-М* виявив високий ступінь токсичності для хребетних (*Danio sp.*) та низький для безхребетних організмів (*Ostracoda sp.* і *Daphnia sp.*) (табл. 3). Згідно літератури (Попов, 2003; Федорова, 2012), карбамати діють на риб як нервово-паралітична отрута, формуючи клінічну картину з нетиповою руховою активністю (порушення рівноваги, стрімкі плавальні рухи, підвищена або знижена рухова активність, судоми, тремор).

Медян екстра (діюча речовина *хлорокис міді*) – неорганічний мідьвмісний фунгіцид – відноситься до неспецифічних інгібіторів тіоловмісних ферментів, викликаючи денатурацію білків. Добре змивається дощами, належить до токсичних речовин 3-го та 4-го класів небезпеки (Попов, 2003). Іони міді є дуже шкідливими для водної флори і фауни, оскільки порушують процеси мінералізації органічних речовин через фунгіцидну і бактерицидну дію (Попов, 2003; Хоботова, 2014). Наші дослідження показали високий (В) ступінь токсичності препарату *медян екстра* для зообентосних тест-об'єктів *Ostracoda sp.* (табл. 3), що можна пояснити високою імовірністю осідання неорганічної міді у донних відкладах.

Аналіз результатів біотестування інсектицидів засвідчив меншу ступінь токсичності для хребетних тест-організмів порівняно з безхребетними. Серед безхребетних більш чутливими до дії інсектицидів виявилися черепашкові раки, у яких 100 % смертність спостерігалася протягом 2-4 годин експозиції за дії трьох із чотирьох досліджуваних препаратів (табл. 3).

Бі-58 – (діюча речовина *диметоат*) – фосфорорганічний інсектоакарицид – похідні тіофосфорної та дитіофосфорної кислот, у яких фосфор зв'язаний з сіркою (P=S). Ці сполуки з періодом напіврозпаду більше одного місяця (2-ий клас токсичної небезпеки). Згідно М.В. Гунчака (Гунчак, 2017), фосфорорганічні сполуки є неполярними сполуками, величина дипольних моментів яких менше 2, тому розпадаються в екосистемах у декілька разів повільніше, ніж малополярні ($\mu=2-6$).

Потрапляючи в організм шкідника, дігіофосфати фосфорилують фермент ацетилхолінестеразу (АХЕ), що зумовлює його гальмування. Внаслідок цього відбувається накопичення ацетилхоліну, що призводить до безперервної стимуляції м'язів. Отже, фосфорорганічні сполуки відносять до нервово-паралітичних отрут, які викликають параліч або смерть комах (Попов, 2003).

Біотестування токсичності даного препарату за смертністю тваринних тест-об'єктів показало надвисокий (НВ) ступінь токсичності для дафній та високий (В) – для остракод (табл. 3). З літератури (Колесник, 2015) відомо про особливу токсичність похідних тіофосфорної кислоти для *D. magna* – ЛК₅₀ – 0,000002-0,003 мг/л.

На корошових риб роду *Danio Hamilton*, 1822 інсектоакарицид не виявляв токсичного впливу (табл. 3), що можна пояснити тим, що деякі препарати цієї групи використовують для боротьби з ектопаразитарними захворюваннями риб (Грищенко, 1987).

Висока токсичність фосфорорганічних пестицидів і резистентність комах-шкідників до синтетичних піретроїдів зумовили необхідність розробки і впровадження нового класу інсектицидів – неонікотиноїдов. Ці інсектициди за структурою і механізмом дії схожі з нікотинами. Їм властиві висока біологічна активність проти широкого спектру шкідників сільськогосподарських культур, низькі норми витрат, висока системна дія в рослинах. Наразі неонікотиноїди широко застосовуються для захисту рослин, тому їх використання потребує всебічного вивчення та оцінки ризику шкідливої дії на організм тварин, людини та біоценози.

Три препарати інсектицидів належать до групи неонікотиноїдів (*каліпсо* – діюча речовина *тіаклоприд*, *актара* – діюча речовина *тіаметоксам*, *моспілан* – діюча речовина *ацетаміприд*), дія яких пов'язана з блокуванням постсинаптичних ацетилхолінових рецепторів, що реагують на нікотин. У комах, при цьому, блокується передача нервового імпульсу, що призводить до розвитку у них конвульсій і паралічів з подальшою загибеллю від нервового перенапруження (Попов, 2003). Неонікотиноїди є малополярними сполуками, величина дипольних моментів яких більше 5 і відносяться до 3-го класу токсичної небезпеки (Попов, 2003; Гунчак, 2017).

Препарат *каліпсо* за смертністю досліджуваних гідробіонтів показав надвисокий (НВ) та високий (В) ступені токсичності на нижчі ракоподібні *Ostracoda sp.* та *Daphnia sp.* відповідно (табл. 3), однак не виявив токсичного впливу на корошових риб *Danio sp.* Відомо, що

тіаклоприд, діючи на нервову систему комах, слабо проникає через гемато-енцефалічний бар'єр (ГЕБ) корошових риб (Кулагіна, 2009; Малахов, 2016). У вищих безхребетних – комах і ракоподібних – захисний бар'єр між нейронами і кров'ю представлений винятково гліальною тканиною. У всіх видів хребетних ГЕБ утворений клітинами ендотелію, які ще й виконують бар'єрні функції. Ендотеліальний бар'єр чітко розмежовує функції ендотелію і нейронів, що забезпечує гомеостаз позаклітинного середовища мозкової речовини (Малахов, 2016). Ймовірно, саме тому *каліпсо* виявився токсичним для нижчих ракоподібних і нетоксичним для корошових риб.

Актара при біотестуванні показала надвисокий (НВ) ступінь токсичності для *Ostracoda sp.* та середній (С) – для корошових риб і зяброногих раків (табл. 3). Вивчення токсичних властивостей *моспілану* показало надвисокий (НВ) ступінь токсичності для *Ostracoda sp.* та низький (Н) для *Daphnia sp.* (табл. 3). За даними (Базака, 2013, Базака, 2017) ацетаміприд належить до помірно- і малонебезпечних речовин, викликаючи порушення ритму дихання, координації рухів, тремор, судоми за умов гострої токсичності у тварин.

Отже, чутливість досліджуваних тест-об'єктів до інсектицидів знижувалась у ряді: *Ostracoda sp.* → *Daphnia sp.* → *Danio sp.*

Висновки. Порівнюючи чутливість нижчих ракоподібних при біотестуванні пестицидів встановлено, що *Ostracoda sp.* є більш чутливим тест-об'єктом, ніж *Daphnia sp.* За однакових умов біотестування абсолютна смертність черепашкових раків у два рази вища, ніж зяброногих. Корошові риби роду *Danio Hamilton*, 1822 показали більшу чутливість до впливу фунгіцидів і меншу до інсектицидів, в той час як для нижчих ракоподібних родів *Daphnia* O.F.Muller, 1785 та *Ostracoda* Latreille, 1802 таких особливостей не виявлено. Серед досліджених пестицидних препаратів найбільш токсичними для водних екосистем є фунгіциди *флінт-стар* і *скор*, які проявляють надвисокий та високий ступені токсичності для представників різних трофічних рівнів.

Список літератури:

1. Аристархова Е. О. Біотестування хронічної токсичності вод поверхневих джерел водопостачання та питної води на рибках *Danio rerio* // Вісник аграрної науки. – 2017. – № 7. – С. 59-62.
2. Аристархова Е. О. Експрес-оцінка токсичності вод поверхневих джерел водопостачання з використанням риб *Danio rerio* //

- Рибогосподарська наука України. – 2017. – № 3 (41). – С. 17-25.
3. Базака Г. Я., Духницький В. Б. Загальна характеристика пестицидів групи неонікотиноїдів // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. – 2013. – Т.15, № 1(55), Ч.1. – С. 3-10.
 4. Базака Г. Я., Духницький В. Б., Іщенко В. Д. Порівняння хронічної токсичності моспілану та актари для білих мишей // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування. – 2017. – № 265. – С. 8-17.
 5. Грищенко Л. И. Влияние некоторых пестицидов на восприимчивость рыб к псевдомонозу // Профилактика, лечение и диагностика инфекционных болезней рыб. – 1987. – С. 26-27.
 6. Гунчак М. В. Агроекологічний ризик застосування пестицидів в яблуневих насадженнях в умовах південно-західного лісостепу України // Подільський вісник : сільське господарство, техніка, економіка. – 2017. – № 26. – С. 38–45.
 7. Жердев Н. А. Оценка и прогнозирование экотоксичности пестицидов по *Daphnia magna* Straus : дисс. ... кандидата биол. наук : специальность 03.00.16 – Экология. – Ростов н/Д., 2009. – 170 с.
 8. Закон України «Про якість та безпеку харчових продуктів і продовольчої сировини» [Електронний ресурс]: за станом на 17 груд. 2009 р. / Верховна Рада України. – Режим доступу : http://search.ligazakon.ua/l_doc2
 9. Колесник Н. Л. Токсичний вплив пестицидів на біоту прісних водойм (огляд) // Рибогосподарська наука України. – 2015. – № 4. – С. 31-53.
 10. Кулагина К. В., Каменек В. М. Морфофизиологические особенности *Daphnia magna* в условиях влияния биологического пестицида на основе *Bacillus thuringiensis* // ZOOCENOSIS – 2009. Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах : V Міжнародна наукова конференція. – Дніпропетровськ: Лира, 2009. – С. 63-65.
 11. Малахов В. О., Потапов О. О., Личко В. С. Основы клінічної лікворології : навчальний посібник. – Суми : Сумський державний університет, 2016. – 356 с.
 12. Методичні вказівки щодо виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Основы біоіндикації та біотестування» для студентів денної форми навчання за напрямом 6.051401 – «Біотехнологія» / Укл. С. В. Дігтяр. – Кременчук : вид-во КрНУ імені М. Остроградського, 2017. – 54 с.
 13. Оценка интегральной токсичности объектов окружающей среды методами биотестирования : инструкция по применению / Под ред. к.б.н. Дудчик Н. В. – Минск : ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены», 2012. – 41с.
 14. Перевозников М. А. Ихтиотоксикологические основы экологического мониторинга пресноводных водоемов (пестициды, тяжелые металлы) : дисс. доктора биол. наук : специальность 03.00.16 – Экология. – Петрозаводск, 2003. – 277 с.
 15. Попов С. Я., Дорожкина Л. А., Калинин В. А. Основы химической защиты растений / Под ред. профессора С. Я. Попова. – М. : Арт-Лион, 2003. – 208 с.
 16. Практичне значення та застосування похідних 1,2,3 – тріазолу : Монографія / за наук. ред. Каплаушенка А. Г. – Запоріжжя : вид-во ЗНМУ, 2016. – 187 с.
 17. Скок С. В. Оцінювання якості питної води м. Херсона методом біотестування // Агроекологіч. журн. – 2015. – № 2. – С. 26-30.
 18. Сторчоус І. Екологія і пестициди // Агрономія сьогодні. – 2012. – № 1–2. – С. 224-225.
 19. Федорова Е. А. Оценка токсичности стробилуриновых фунгицидов для гидробионтов : дисс. ... кандидата биол. наук : специальность 03.02.08 – Экология. – Ростов н/Д., 2012. – 143 с.
 20. Федорова Е. А., Левина И. Л., Власенко Е. С. Влияние стробилуриновых фунгицидов на жизнедеятельность дафний // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна 2008–2009 гг. : сборник научных трудов. – Ростов н/Д., 2011. – С. 267-274.
 21. Федорова Е. А., Левина И. Л., Щербакова Н. И. Оценка токсичности стробилуринового фунгицида димоксистробина для пресноводных организмов разных трофических уровней // Современное состояние водных биоресурсов и экосистем морских и пресных вод России: проблемы и пути решения : тез. докл. междунар. науч. конф. – Ростов н/Д., 2010. – С. 295-299.
 22. Хоботова Е. Б., Ларін В. І., Дядик А. Ю. Хімічне осадження хлороксиду міді з відпрацьованих травильних розчинів для утилізації міді // Екологія і промисленість. – 2014. – № 4. – С. 65-68.

References

1. Arystarkhova E. O. Biotesting of chronic toxicity of surface water sources and drinking water on fishes *Danio rerio* [Biotestuvannia khronichnoi toksychnosti vod poverkhnevyykh dzherel vodopostachannia ta pytnoi vody na rybakh *Danio rerio*] *Bulletin of Agrarian Science*. 2017; 7: 59-62 (in Ukrainian).
2. Arystarkhova E. O. Express evaluation of surface water sources toxicity using *Danio rerio* fish [Ekspres-otsinka toksychnosti vod poverkhnevyykh dzherel vodopostachannia z vykorystanniam ryb *Danio rerio*]. *Fishery science of Ukraine*. 2017; 3 (41): 17-25 (in Ukrainian).
3. Bazaka G. Y., Dukhnitsky V. B. General pesticides characteristics of neonicotinoids group [Zahalna kharakterystyka pestytsydiv hrupy neonikotynoidiv]. *Scientific herald of Lviv university named after S. Z. Gzhytsky*. 2013; 15, 1(55), 1: 3-10 (in Ukrainian).
4. Bazaka G. Ya., Dukhnitsky V. B., Ishchenko V. D. Comparison of mospilan and aktara chronic toxicity for white mice [Porivniannia khronichnoi toksychnosti mospilanu ta aktary dlia bilykh myshei]. *Scientific bulletin of the National University of Bioresources and Nature Management*. 2017; 265: 8-17 (in Ukrainian).

5. Grishchenko L. I. The influence of some pesticides on receptivity of fishes to pseudomonosis [Vlianiye nekotorykh pesticidov na vospriimchivost' ryb k psevdomonozu]. *Prevention, treatment and diagnosis of infectious diseases of fish*. M.: 1987: 26-27 (in Russian).
6. Gunchak M. V. Agro-ecological risk of pesticide application in apple plantations under conditions of southwestern forest-steppe in Ukraine [Ahroekolohichniy rizyk zastosuvannya pestytsydiv v yablunevykh nasadzheniakh v umovakh pivdenno-zakhidnoho lisostepu Ukrainy]. *Podilsky Bulletin: agriculture, technology, economics*. 2017; 26: 38-45 (in Ukrainian).
7. Zherdev N. A. Estimation and prognostication of ecotoxicity of pesticides on *Daphnia magna* Straus [Ocenka i prognozovanie jekotoksichnosti pesticidov po *Daphnia magna* Straus]. Diss ... candidate of biol. Sciences: specialty 03.00.16-Ecology. Rostov n/D., 2009: 170 (in Russian).
8. Law of Ukraine «About quality and safety of food products and food raw materials» [Zakon Ukrainy «Pro yakist ta bezpeku kharchovykh produktiv i prodovolchoi syrovyny»: za stanom na 17 hrud. 2009 r] [Electronic resource] –Access mode: http://search.ligazakon.ua/l_doc2 (in Ukrainian).
9. Kolesnik N. L. Toxic influence of pesticides on freshwater biota (review) [Toksychnyi vplyv pestytsydiv na biotu prisnykh vodoim (ohliad)]. *Fishery science of Ukraine*. 2015; 4: 31-53 (in Ukrainian).
10. Kulagina K. V., Kamenek V. M. Morphophysiological features of *Daphnia magna* under conditions of biological pesticide influence on the basis on *Bacillus thuringiensis* [Morfofizyologicheskie osobennosti *Daphnia magna* v usloviyah vlianiya biologicheskogo pesticida na osnove *Bacillus thuringiensis*]. *ZOOCENOSIS-2009. Biodiversity and the role of animals in ecosystems: V International Scientific Conference*. Dnipropetrovsk: Lyra, 2009: 63-65 (in Russian).
11. Malakhov V. O., Potapov O. O., Lychko V. S. Fundamentals of clinical liquorology: a manual. Sumy: Sumy State University; 2016 (in Ukrainian).
12. Methodical instructions on the implementation of laboratory work in the discipline «Fundamentals of bioindication and biotesting» for full-time students studying major 6.051401 - «Biotechnology» [Metodychni vkazivky shchodo vykonannya laboratornykh robit z navchalnoi dystsypliny «Osnovy bioindykatsii ta biotestuvannya» dlia studentiv dennoi formy navchannya za napriamom 6.051401 – «Biotekhnolohiia»]. By editing S.V. Digtyar. Kremenchuk: View of the KrnU named after M. Ostrogradsky; 2017 (in Ukrainian).
13. Estimation of integral toxicity of environmental objects with the methods of biotesting [Ocenka integral'noj toksichnosti ob'ektov okruzhajushhej sredy metodami biotestirovaniya: instrukcija po primeneniju]. Under the editorship of the Ph.D. Dudchik N. V.. Minsk: State Scientific Center «Republican Scientific and Practical Center of Hygiene»; 2012 (in Russian).
14. Perevoznikov M. A. Ichthyotoxicological fundamentals of freshwater reservoirs ecological monitoring (pesticides, heavy metals) [Ihtiotoksikologicheskie osnovy jekologicheskogo monitoringa presnovodnykh vodoemov (pestitsidy, tjazhelye metally)]. Diss. Doctors of Biology. Sciences: specialty 03.00.16-Ecology. Petrozavodsk; 2003: 277 (in Russian).
15. Popov S. Y., Dorozhkina L. A., Kalinin V. A. Fundamentals of Plants Chemical Protection. Dited by Prof. S. Ya. Popova. M.: Art-Lyon; 2003 (in Russian).
16. Practical importance and application of 1,2,3 – triazole derivatives. Under sciences edit Kaplaushenko A. G. Zaporozhye: publishing house ZNMU; 2016 (in Ukrainian).
17. Skok S. V. Evaluation of drinking water quality in Kherson city with the help of biotesting method [Otsiniuvannya yakosti pytnoi vody m. Khersona metodom biotestuvannya]. *Agroecological Journal*. 2015; 2: 26-30 (in Ukrainian).
18. Storchous I. Ecology and pesticides [Ekolohiia i pestytsydy]. *Agronomy today*. 2012; 1-2: 224-225 (in Ukrainian).
19. Fedorova E. A. Estimation of toxicity of strobilurinic fungicides for hydrobionts [Ocenka toksichnosti strobilurinovykh fungicidov dlja gidrobiontov]. Diss. ... candidate biol. Sciences: specialty 03.02.08-Ecology. Rostov n/D; 2012: 143 (in Russian).
20. Fedorova E. A., Levina I. L., Vlasenko E. S. Influence of Strobilurine Fungicides on *Daphnia* vital functions [Ocenka toksichnosti strobilurinovogo fungicida dimoksisstrobina dlja presnovodnykh organizmov raznykh troficheskikh urovnej]. *The main problems of fisheries and protection of fisheries of the Azov-Black Sea basin 2008-2009: collection of scientific papers*. Rostov n/D.; 2010: 295-299 (in Russian).
21. Fedorova E. A., Levin I. L., Shcherbakova N. I. Estimation of toxicity of strobilurin fungicide dimoxystrobin for freshwater organisms of different trophic levels [Ocenka toksichnosti strobilurinovogo fungicida dimoksisstrobina dlja presnovodnykh organizmov raznykh troficheskikh urovnej]. *The current state of aquatic bioresources and ecosystems of marine and fresh waters of Russia: problems and solutions: report international scientific conf*. Rostov n/D.; 2010: 295-299 (in Russian).
22. Khabotova E. B., Larin V. I., Dyadyk A. Y. Chemical precipitation of copper chloroxide from waste etching solutions for copper utilization [Khimichne osadzhennia khloroksydu midi z vidpratsovanykh travlynykh rozchyniv dlja utylizatsii midi]. *Ecology and industry*. 2014; 4: 65-68 (in Ukrainian).

THE ESTIMATION OF PESTICIDES TOXICITY WITH THE HELP OF ZOOTEEST METHOD

T. V. Fylypchuk, I. O. Sytnikova

The following article is the result of biotesting of ecotoxicological danger of pesticides, which are used in gardening in Chernivtsi region. Ten pesticide preparations were selected for the research, six of them are fungicides: flint-star, chorus, score, stroby, topsin-M and median-extra and four of them are insecticides: bi-58, calypso, mospilan and actara. Toxicity of pesticides was identified through analyzing ten times dilution (1:10) of the recommended solution specified by the manufacturer. Not less than three days old tap water served as control. Invertebrates were selected as test objects, in particular the lower crustaceans of the genus *Daphnia* O.F. Muller, 1785 (class Branchiopoda), belonging to zooplankton and *Ostracoda* Latreille, 1802 (class Ostracoda), belonging to zoobentos and vertebrates – carp fishes of the genus *Danio* Hamilton, 1822 (class Actinopterygii, type Chordata) – nekton.

Biotesting with the help of *Ostracoda* sp. and *Daphnia* sp. was carried out in test tubes ($V = 50$ ml) with tested pesticide solutions ($t = 20 \pm 2$ °C), in which 5 test-organisms were placed. Biotesting where *Danio* sp. fishes were used was conducted in 5 liters volume aquariums ($t = 23 \pm 2$ °C), each containing 5 testers. After 1, 2, 3, 4, 5, 24 and 72 hours of exposure the number of dead animals was visually determined and the percentage of survival of testers was calculated. The toxicity of the pesticide preparations was considered as proven if the percentage of test organisms mortality rate was $\geq 50\%$. The scale of pesticide toxicity degree was developed, including the percentage of test organisms mortality during certain exposure time (up to 24 or 48 hours). It can be used to define its acute and toxic effect. According to the results of biotesting, flint-star and score are the most toxic among the examined pesticide preparations fungicides for aquatic ecosystems, as they showed ultrahigh and high levels of toxicity for zoo tests of different levels of biological organization. Carp fishes of the genus *Danio* Hamilton, 1822 showed greater sensitivity to the influence of fungicides and lower to insecticides, while for aquatic crustaceous *Daphnia* O.F. Muller, 1785 and *Ostracoda* Latreille, 1802 these features were not detected. The sensitivity of the tested test objects to insecticides decreased in an order: *Ostracoda* sp. → *Daphnia* sp. → *Danio* sp.

Comparing the sensitivity of aquatic crustaceous in the process of the pesticides biotesting, it was found out that *Ostracoda* sp. is more sensitive test object than *Daphnia* sp. Under the same conditions of biotesting, an absolute immobilization of ostracods is two times higher than the immobilization of Branchiopoda.

Keywords: *Ostracoda* sp., *Daphnia* sp., *Danio* sp., ecotoxicity, biotesting, pesticides, percentage of survival, degree of toxicity.

Отримано редколегією 22.05.2019